

Мундарижа

1-Лаборатория иши	1
2-Лаборатория иши	7
3-Лаборатория иши	8
4-Лаборатория иши	11
5-Лаборатория иши	13
6-Лаборатория иши	16
7-Лаборатория иши	19
8-Лаборатория иши	22
9-Лаборатория иши	24
10-Лаборатория иши	27

1-Лаборатория иши

Мавзу: МИКРОСКОП ВА МИКРОБЛАР

МОРФОЛОГИЯСИ

МИКРОСКОП ВА УНИНГ ТУЗУЛИШИ

Керакли жихозлар: микроскоп, буюм ва коловчи ойналар, микробларни шакли тасвирланган расмлар.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Куз билан куриб булмайдиган жуда майда организмларнинг шакли ва хажмини, хаёт фаолиятини, оддий йул (кундалангига ёки узунасига булиниш) билан купаядиган бир хужайрали тирик организмларнинг хаёт фаолиятини, шунингдек, актиномицетларни, ачитки ва могор замбуругларини баъзи сув утларини ва энг содда тузилган хайвонларни микробиология фани урганади. Табиатда майда тирик организмлар борлигини 1665 йилда голландиялик олим Антон Левенгук аниклаган.

Микроорганизмларни урганиш учун хар хил тузилган микроскоплар ишлатилади. Хозир оддий биологик микроскопдан ташкари, электрон микроскоп хам куп ишлатилади. У бактериялар хужайрасини 100 — 200 000 марта катталаштириб курсатади.

Деярли хамма урта мактаблар лабораториясида биологик микроскоп ишлатилиши сабабли унинг тузилиши

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЕТ

Генкель П. А. Физиология растений о основами микробиологии.. Учпедиз, Москва, 1962.

Федоров М. В. Микробиология. Сельхозиздат, Москва, 1963.

Чистяков Ф. М.. Мудрецова-Висс. К. А. Микробиология. Изд-во Торговой литературы», Москва. 1962.

Панкратов А. Я- Микробиология. Сельхозгиз, Москва, 1958.

Селибе р Г. Л. ва бош к а л а р. Микробиология в оғштах. Изд-во «Академии Педагогических наук РСФСР». Москва. 1953.

Бичкин П. В. ва бошкалар. Практикум по микробиологии. Издательство «Колос». Москва, 1964.

Черенсинов Н. А. ва бошкалар. Практикум по микробиологии. Изд-во «Высшая школа», Москва, 1961.

Федоров М. В. Руководство и практические занятия по микробиологии. Сельхозгиз. Москва. 1951.

Мустакимов Г.Д. Усимликлар физиологияси ва микробиология асослаидан амалий машгулотлар. Укитувчи. Тошкент 1977



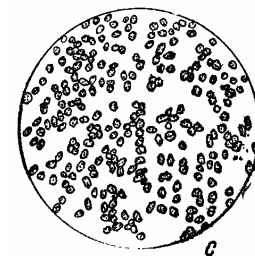
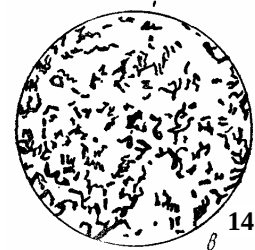
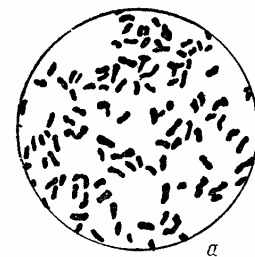
91- расм. Нитрификация процессининг иккинчи фазасида иштирок этадиган нитробактер (Nitrobacter).

устида кискача тухталиб утамиз (1- расм).

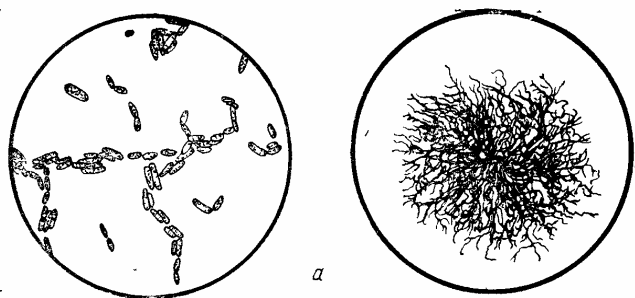
Штатив (1) микроскопнинг айрим қисмларини урнатиш учун ишлатилади. Тубус (2) га текшириладиган объектни турли катталиқда курсатадиган окуляр (3) урнатилган, окулярнинг курсатиш даражаси унинг халкасидаги 7х, 10х ва 15х белгилар билан ифодаланади. Тубуснинг пастки учига револьвер (4) воситасида объектив (5) урнатилган. Объективлар устига 8х, 40х, 90х ва 120х ишоралар ёзилган бўлиб, улар объективларнинг кучини, яъни текшириладиган объектни неча марта катта қилиб курсатаётганлигини ифодалайди. Микроскопнинг неча марта катта қилиб курсатаётганлигини аниқлаш учун, объективдаги ракам окулярдаги ракамга купайтирилади. Масалан, объектив 8х, окуляр 15х га тенг бўлса, объективнинг катталиги шу сонларни бир-бирига купайтириш натижаси ($8 \times 15 = 120$) га тенг келади. Демак, кузатиладиган объект 120 марта катта бўлиб қуринади. Кузатиладиган объект микроскопдаги макровинт (5) ёрдамида топилади. Текшириладиган объектни аниқроқ қуриш учун микровинт (7) ишлатилади. У жуда нозик ишланган механизм билан боғлиқ бўлганидан уни ортиқча бураш ярамайди. Икки қаватли столча (8) нинг остки қавати штативга маҳкам бېкирилган бўлиб, у столчанинг устки қавати (9) ни тутиб туради. Столчанинг устки қавати

харакатчан булиб, уни унга, чапга, оркага ва олдинги суриш мумкин. Бунинг учун столчанинг икки томонидаги винтлар (10) дан фойдаланилади. Буюм ойнаси кул билан олдинга ёки бир чеккага сурилганида текширилатган объект кузга чалинмай қолиши мумкин. Шу сабабли уни кул билан эмас, балки столчани ҳаракатга келтирадиган винтлар билан суриб, микроскоп доирасининг марказига келтириш керак. Аббе конденсатори (11) махсус ойналардан тузилган булиб, микроскопга ёруғлик туплаш мақсадида ишлатилади. Конденсор юқорига қутарилса, тубусга тушадиган ёруғлик нурининг қучи ортади. Конденсорни ҳаракатга келтириш учун микроскоп столчаси остига урнатилган винт (12) буралади. Микроскопдаги ойна (13) ёруғликни улчаш мақсадида қулланилади. Ёруғлик қучайиб кетса, у ҳолда конденсор остидаги халқача (14)га ок ёки ҳаво ранг ва бошқа тусдаги шиша филтрлар урнатилади. Буюм ойнасини силжитмай бир уринда саклаш мақсадида ойнани маҳкамловчи қисқич (15)лар ишлатилади.

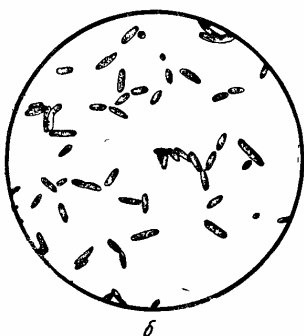
Микроорганизмларни текширганда, асосан, 90х ёки 120х ли объективлар қулланилади. Бу объективлар иммерсион ёки мойли объектив дейилади. 90х ва 120х ли объективларни ишлатиш вақтида тайёрланган ва қузатилаётган объектга кедр ёки касторка мойи



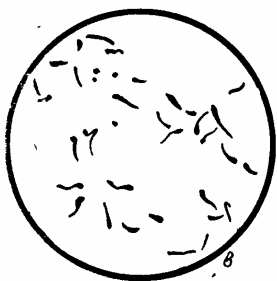
90- расм. Нитрификация процессининг биринчи фазасида иштирок этадиган нитрозомонас (Nitrosomonas) номли бактериянинг а, в, с хиллари.



a

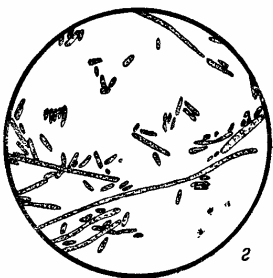


b



в

13-расм



г

89-расм. Аммонификация процессида ип-тирок этадиган микроорганизмлар:

a — бациллус микоидес (*Bacillus mycoides*) — чапда спора ҳосил қилиш олдидаги вегетатив ҳужайралари, ўнгда колониялари; б — бациллус субтилис (*Bacillus subtilis*); в — бациллус путрификус (*Bacillus putrificus*); г — протеус вулгарис (*Proteus vulgaris*).

томизилади. Сунгра мой томчисига иммерсион объективнинг учи ботирилади. Конденсор юқорига сурилиб охиригача кутарилади. Бу пайтда конденсорда тупланган ёругликнинг хаммаси мой томчиси оркали утиб, мухитда тарқалмасдан иммерсион объективга боради. Текшириляётган объект эса жуда аниқ ва равшан куринади. Курук системада, яъни 8х ёки 40х объективларда қаралганда мой ишлатилмайди. Объектив билан объект уртасида ҳаво бушлиги бўлади. Ҳаво бушлиги оркали утган ёругликнинг бир қисми объективга бормасдан йуқолади. Чунки ҳавонинг ёруглик синдириш коэффициентини ($n=1,0$), буюм ойнасининг ёруглик синдириш коэффициентини ($n=1,52$) дан пастроқ бўлади. Бунда ёругликнинг бир қисми йуқолиши натижасида объект ҳам яхши курунмайди. Шу сабабли иммерсион система қулланилади. Бунда мойнинг ёруглик синдириш коэффициентини ($n=1,515$) билан буюм ойнасининг ёруглик синдириш коэффициентини ($n=1,52$) бир-бирига яқин бўлиши ёругликнинг четга тарқалишига йул қуймайди. Ёругликнинг хаммаси объектив ичига утиб кетади. 8х ли объектив ишлатилганда конденсор охиригача пастга туширилган ҳолда бўлади, 40х ли объектив ишлатилганда эса бир оз юқорига кутарилади.

Текшириш тугалангандан сунг 90х ёки 120х ли объектив устидаги кедр мойини аввал филтёр қогоз, сунгра

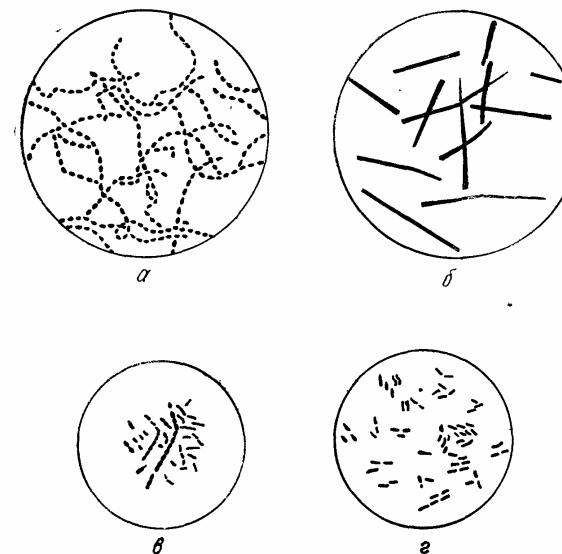
бензин шимдирилган майин латта билан артиб олиш зарур. Иммерсион объективларни эҳтиётлик билан ишлатиш керак.

БАКТЕРИЯЛАРНИНГ МОРФОЛОГИК ТУЗИЛИШИ

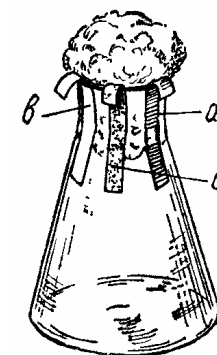
Бактерияларнинг шакли ва улчами хилма-хил булади. Шарсимон бактерияларнинг диаметри 1—2 мкм, дан катта булмайди, бироқ тиофиса валутанс (*Thiophusa valutans*) нинг диаметри 18 мкм га етади. Шарсимон бактериялар энг оддий тузилган микроорганизмлардир.

Якка-якка жойлашган бактериялар *кокк* (*Cocci*), иккитадан жойлашганлари *диплококк* (*Diplococci*) турттадан жойлашганлари *тетракокк* (*Tetracocci*), саккизтадан жойлашганлари *сарцина* (*Carcina*) ва булиниш натижасида занжир хосил килганлари *стрептококк* (*Streptococci*), узум шингили шаклидагилари *стафилококк* (*Staphylococci*) деб аталади.

Таёкчасимон бактерияларнинг узунлиги 1—4 мкм, кундаланг кесими 0,5—1 мкм дан ошмайди. Лекин гугурт бактерияси—беггиато мирабилис (*Begiatoa mirabilis*) нинг кундаланг кесими 50 мкм га етади. йирик бактериялар унчалик куп учрамайди. Таёкчасимон бактериялар асосан спора хосил киладиган хамда спора хосил килмайдиган икки катта группага булинади. Спора хосил килувчи



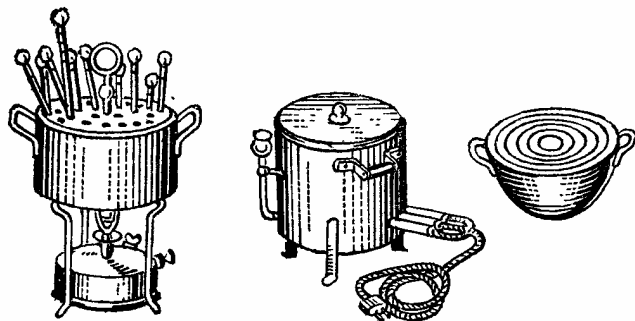
80-расм. Сут кислотали бижриш процессида иштирок этадиган бактериялар:
а — стрептококкус лактис (*Streptococcus lactis*); б — бактерийум булгарикум (*Bacterium bulgaricum*); в — бактерийум куккумерис ферментат (*Bacterium cucumeris fermentati*); г — бактерийум коли (*Bacterium coli*).



12-расм

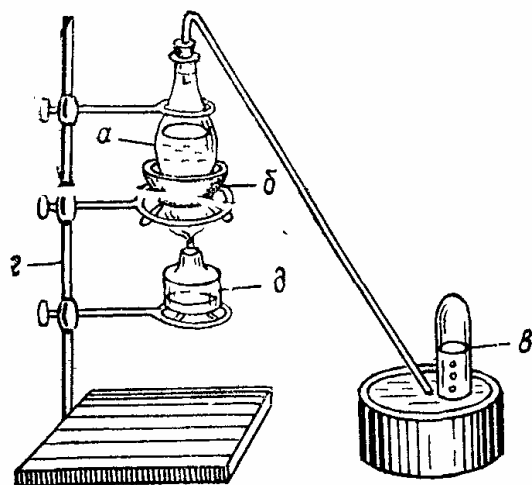
88-расм. Аммонификация процессини текшириш учун тажриба қўйиш:

а — қизил лакмус қоғоз; б — оксалат кислота ($H_2C_2O_4$) ва в — кўррошин ацетат [$Pb(CH_3COO)_2$] тузи эритмалари шимдирилган фильтр қоғозлар



77-расм. Сув ҳаммомининг турлари.

10-расм



78-расм. Спиртли бижтиш процессини ку-
11-расм атиш асбоби:

а — шакар билан ачитқи аралаш эритма солин-
ган колба; б — сув ҳаммоми; в — спиртли биж-
тиш процессида ажралиб чиққан CO_2 ни тўплаш
учун қўйилган сувли пробирка; г — штатив; д —
спирт лампа.

бактериялар *бациллар* дейилади. Хужайраси бир оз букилиб турган бактериялар *вибрион* (Vibrio), бир неча марта оддий букилиб спираль шаклида булганлари *спирилла* (Spirilla) ва оддий спираль шаклидагилари *спирохета* (Spirocheta) дейилади (2-расм).

Булардан ташқари, оддий микроскопда куринмайдиган 0,02—0,03 мкм ёки 20—30 нм катталикидаги тирик организмлар ҳам бор. Улар махсус фильтр орқали утиб кетганлиги сабабли *фильтрланувчи вируслар* деб аталади. Фильтрланувчи вируслар ёки ультрамикроблар каторига *бактериофаглар* ҳам киради. Бактериофаглар лизин моддаси ажратади. Лизин таъсирида зарарли микроблар нобуд бўлади, яъни эриб кетади.

Микробиологияга оид машгулотлар вақтида юқумли касалликлар билан зарарланмаслик учун, эҳтиётлик билаи ишлаш, жумладан, машгулот бошлашдан олдин ва уни тугатгандан сунг кулни совунлаб ювиш ҳамда бошқа санитария-гигиена коидаларини бажариш зарур, акс холда кунгилсиз окибатлар юз бериши мумкин.

Назорат саволлари

1. Микрибиология фани нимани урганади?
2. Микроскопни тузулишини айтинг.
3. Кандай объективлардан фойдаланилади?

4. Бактерияларнинг тузулишини айтинг.

5. Вирусларнинг тузулишини айтинг.

Таянч иборалар.

Микрометр, нонометр, филтрланувчи вируслар,
бактериофаглар

2- Лаборатория иши

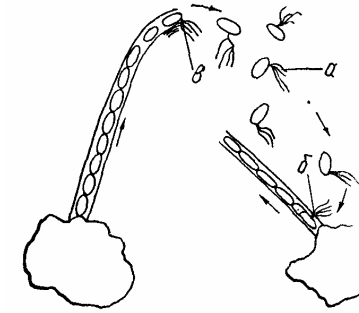
МАНЗУ: Микроорганизмларни фиксацияланган

ва бўялган холда текшириш.

Керакли жихозлар: микроскоп, буюм ойнаси,
бактериал илмок, спирт лампа, тухтаб колган сув ёки тиш
кири, филтр коғоз, лёффлер синькаси ёки фуксин бўёги.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши:

Бу машгулотда тухтаб колган ифлос сувдан ёки тиш
киридан бактерияли препарат тайёрлаш учун оддий буюм
ойнаси ишлатилади. У яхшилаб артилиб стерилланади.
Бунинг учун ойна спирт лампа алангаси устидан 2—3 марта
утказилади. Сунгра текшириладиган суюкликдан
стерилланган бактериал илмок ёрдамида бир томчи олиб,
буюм ойнасига суркалади, яъни мазок тайёрланади. Мазок
куритилади. Сунгра бактерияларни ойна устида
фиксациялаш мақсадида, ойна спирт лампа алангаси
устидан 2—3 марта утказилади. Тайёрланган препарат
устига 2—3 томчи лёффлер синькаси ёки фуксин бўёги

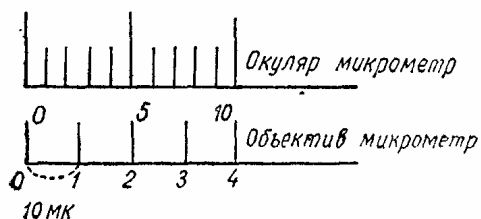


66-расм Ипсимон бактериялар (Cladotrix)нинг ривожланиш босқичлари (схемаси):

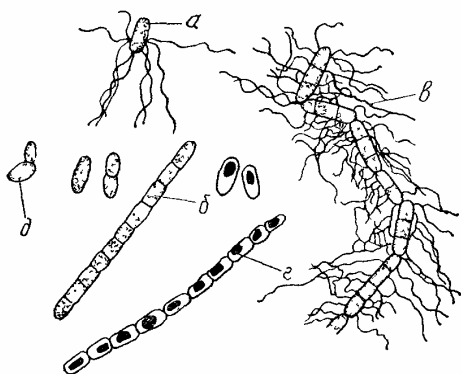
а — ҳаракатчан бактериялар; б — сув остидаги ифлосга ёпишиб қўпариш пайти; в — воёга етган ҳужайранинг узилиб, қичиқичдан чиқиб кетиши



67-расм. Зооглея ичи, уланган бактерияларнинг қўриниши.
9-расм



59- расм. Окуляр микрометр чизиқлари орасидаги масофа қийматини аниқлаш.
6-расм



65- расм. Пичан бациллеси (*Bacillus subtilis*) нинг ривожланиш босқичлари (схема):
а — ҳаракатчан хужайра; б — хивчинини йўқотиб бўлинаётган пайти; в — хивчинлар қайтадан ҳосил бўлиш босқичи; д — споралар ҳосил бўлиш даври, е — спорадан ўсиб чиқиши.

7-расм

томизилади. Орадан 1—2 минут утгач, буёк ювилади. Препарат устидаги сув томчилари филтр коғозга шимдириб куритилади. Сунгра мазок устига бир томчи кедр ёки касторка мойидан томизиб, у аввал курук (мойга ботирилмаган, 8х ли) ва кейин иммерсион объектив оркали текширилади. Препаратда шарсимон, таёксимон, спиралсимон ва бошқа шаклдаги микроблар борлиги аникланади.

Назорат саволлари.

1. Керакли жихозларни айтинг.
2. Стериллашни айтинг.
3. Мазок тайёрлашни айтинг.
4. Препарат тайёрлашни айтинг.
5. Микроблар шакллари айтинг.

Таянч тушунчалар.

1. Фиксациялаш, буяш, мазок тайёрлаш, лёффлер синькаси, фуксин буёги.

3- Лаборатория иши

МAB3У: Микроорганизмларнинг улчамини

аниклаш

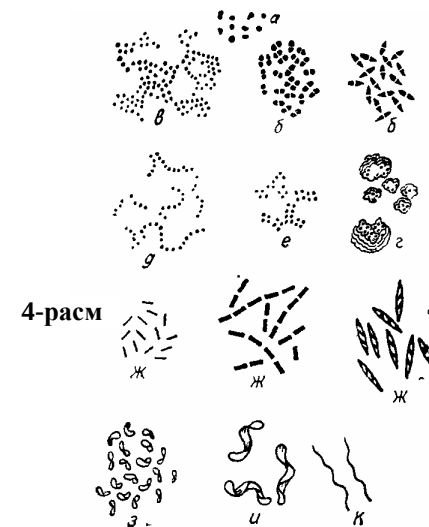
Керакли жихозлар: микроскоп, объектив микрометр, окуляр микрометр.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Бу

машгулотда окуляр ва объектив микрометрлар кулланилади. Окуляр микрометр шишадан тайёрланган доирадан иборат. Доиранинг диаметри микроскоп окулярининг диаметридан бир оз кичикрок булади. Окуляр микрометр доирасининг марказида 5 мм узунликдаги 50 та чизик бор. Чизикларнинг ораси 0,1 мм га тенг келади (3-расм).

Машгулотни бошлашдан олдин окуляр микрометр микроскоп окулярининг ичига жойланади. Микроскопда караган вақтда окуляр микрометрнинг чизиклари аниқ куринади, лекин чизиклар уртасидаги ораликлар юкорида курсатилган даражага тенг булмайди. Микроскопнинг окуляр микрометр чизиклари уртасидаги ораликни аниқ белгилаш мақсадида объектив микрометрдан фойдаланишга тугри келади. Объектив микрометр буюм ойнасига ишланган, яъни ойнанинг марказига узунлиги 1 мм келадиган масофада 100 та чизик чизилган. Бу чизиклар ораси 0,01 мм, яъни 10 мкм га тенг келади.

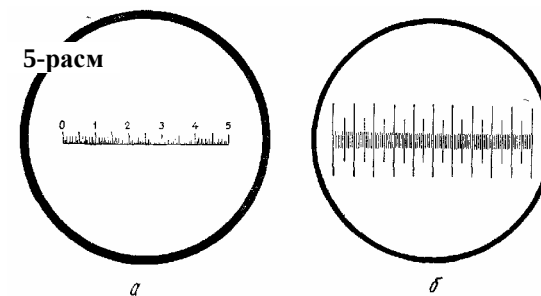
Объектив микрометр ёрдамида окуляр микрометр чизиклари уртасидаги ораликлар неча микронга тенглиги аникланади. Бунинг учун объектив микрометр микроскоп столчасига жойланиб, сунгра окуляр микрометр чизиклари объектив микрометр чизиклари билан таккослаб курилади (4-расм). Агар объектив ва окуляр микрометр чизиклари



4-расм

57- расм. Микроорганизмларнинг шакли:

a — кокклар; *b* —диплококклар; *в* — стафилококклар; *г*—сарпиналар; *д* — стрептококклар, *е* — тетракокклар; *ж* — таёксимон бактериялар ва багиллалар; *з* — вибрион лар, *и* — спириллалар, *к* — спирохеталар.



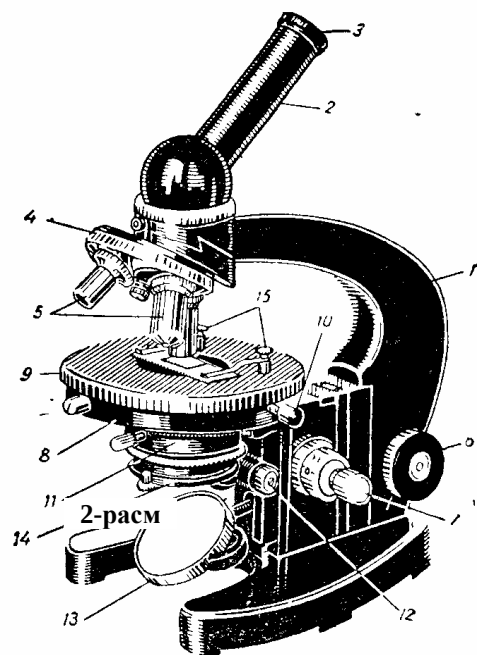
5-расм

65- расм.

a — окуляр; *б* —объектив микрометр.

2- машгулот. Микроорганизмларнинг ўлчамини аниқлаш

А с б о б л а р: микроскоп, объектив микрометр, окуляр микрометр.



56- расм. Замонавий биологик микроскоп (МБ1-1):

1 — штатив; 2 — тубус; 3 — окуляр; 4 — револьвер; 5 — объектив; 6 — макровинт; 7 — микро-винт; 8 — икки қаватли столчанинг остки қавати; 9 — столчанинг ўсгки қавати, 10 — столчани су-риш винтлари; 11 — Аббе конденсори; 12 — конденсорни ҳаракатга келтирувчи винт; 13 — микроскоп ойнаси; 14 — конденсор остидаги ҳалқача; 15 — қисқичлар.

3-рasm

бир-бирига тугри келса, окуляр микрометр чизиклари уртасидаги ораликлар 10 мкм га тенглигини курсатади. Борди-ю, окуляр чизик оралигининг бештаси объективдаги 2 та чизик оралигига тугри келса (расмга қаранг), у ҳолда окулярдаги чизик оралигн 4 мкм га тенг булиб қолади. Окуляр микрометрдаги 5 та чизик ораси объектив микрометрдаги чизикларнинг 10 булагига тугри келса, у ҳолда окуляр микрометр чизикларининг ораликлари 2 мкм га тенг булади.

Объект ёки буюмни текшириш вақтида ишлатилаётган окуляр ёки объектив узгартирилса, окуляр микрометрда куринган чизик ораликларининг киймати ҳам узгаришини ҳисобга олиш лозим. Масалан, 8х ли объективда куринган чизик ораликларн 40х ли объектив ишлатилганда бошқа сонга тенглашиб қолади. Демак, бу сонни аниклаш учун микроскоп столчасига объектив микрометрни қуйиб, окулярда куринган чизик ораликларининг кийматини қайтадан аниклаб олиш лозим.

Окуляр микрометр чизиклари ораликларининг киймати аниқлангандан сунг микроскопда куринган ҳар қандай объектнинг улчамини бемалол аниклаб олиш мумкин.

Назорат саволлари.

1. Окуляр микрометрнинг тузулишини айтинг.
2. Объектив микрометрнинг тузулишини айтинг.
3. Окуляр микрометрнинг чизиклари уртасидаги ораликни аниқлашни айтинг.
4. 10, 4, 2 микрометрга тенглиги кандай аникланади?
5. Текшириш вақтида ишлатилаётган окуляр ёки объектив узгартирилса нима қилиш керак?

Таянч тушунчалар.

Окуляр микрометр, объектив микрометр.

4- Лаборатория иши

МABЗУ: Пичан бацилланинг электив культурасини тайёрлаш

Керакли жихозлар: курук пичан, тарози, битта катта ва бир нечта кичик колба, электр плитка, ок бур, термостат.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Бир неча хил микроорганизмлар аралашмасида бир турнинг ривожланишини таъминлаш усули *электив культура тайёрлаш* деб аталади. Электив культура тайёрлашдан олдин текшириладиган организмнинг яшаш ва ривожланиш шароитини билиб олиш керак. Пичан бацилланинг яхши ривожланиши учун аэроб (кислородли) шароит бўлиши лозим. Бундан ташқари, бу бацилла гетеротроф организм

иммерсион системада кузатилади. Биринчи колбадаги нитрозомонас (*Nitrosomonas*) бактериялари шарсимон, иккинчи колбадаги нитробактер (*Nitrobacter*) ингичка ва узун таёкчалар шаклида куринади (13 ва 14- расмларга қarang).

Назорат саволлари

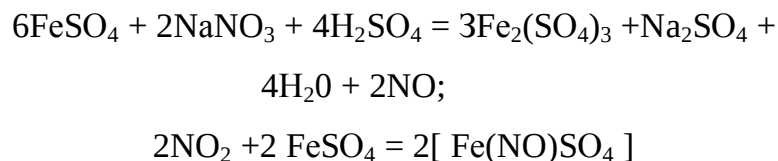
1. Машгулотни утказишда кандай шартларга амал қилинади?
2. Нитрификациянинг биринчи фазасида бактерияларни туплаш.
3. Нитрификациянинг иккинчи фазасида бактерияларни туплаш.
4. Биринчи колбадаги эритмани аниқлаш.
5. Иккинчи колбада нитрат кислота борлигини аниқлаш.

Таянч тушунчалар:

Виноградский колбалари, Несслер реактиви, рух-йод-крахмал эритмаси, аорганик тузлар.

суюкликдан озгина кушилади. Агар текшириладиган эритма таркибида нитрат кислота булса, у холда эритма дастлаб кукиш-бинафша ва кейинрок кукиш-кунгир рангда товланиб турадиган булут хосил килади. Бирок нитрит кислота билан ҳам шундай реакция боради. Шу сабабли дастлаб эритмадаги нитрит кислотани йукотиш керак. Бунинг учун текшириладиган эритмага 10% ли NH_4Cl дан бир оз кушиб, аралашма киздирилади.

2. Кичик пробиркага FeSO_4 тузининг туйинган эритмасидан куйиб, унга текшириладиган суюклик аралаштирилади. Сунгра бу аралашмага жуда эхтиётлик билан кучли сульфат кислота кушилади (сульфат кислотани пробирка девори буйлаб куйиш керак). Агар реакция натижасида аралашмада кунгир рангли халка хосил булса, бу ходиса нитрат кислота борлигини курсатади. Бу реакция факат нитрат кислотага хос булиб, тубандагича боради:



Нитрификация жараёнини кузговчи бактериялар билан танишиш учун биринчи ва иккинчи колбадаги эритмадан буюм ойнасига бир томчи томизиб мазок тайёрланади. Мазок Циль фуксини билан буялади ва

булганлиги сабабли унинг ривожланиши учун етарли микдорда органик озик ҳам талаб этилади. Бу шароитда купчилик микроорганизмларнинг яшаш ва ривожланиш жараёни анча кулай булади. Улар орасидан пичан бацилласини ажратиб олиш учун бацилла спорасининг иссикка чидамлилигидан фойдаланилади. Пичан бацилласининг споралари 2 соат кайнатилганда ҳам уз хаёт фаолиятини йукотмасдан саклаб қолади. Спора хосил килувчи бактерияларнинг купчилиги ва спора хосил килмайдиган бактерияларнинг хаммаси эритма кайнатилгандагина нобуд булади.

Пичан бацилласининг электив культураси куйидагича тайёрланади: 20—25 г майдаланган курук пичан хажми 200—300 мл сувли колбага солиниб, 30 минут кайнатилади. Бу аралашмадаги шароитни нейтраллаш учун унга 1—2 г майдаланган ок бур кушилади. Аралашма кайнатилганда пичан таркибидаги органик моддалар эритмага утади ва спорадан ушиб чиккан бацилла учун озик булади. Юкорида курсатилган вакт утгандан сунг кайнатилган суюкликдан 3 та тоза колбага 1 — 2 см³ дан куйиб олинади. Колбаларнинг огзи пахтадан килинган пробка билан бекитилади ва 30° иссик термостатда 1—4 кун сакланади. Сунгра текширилади.

Назорат саволлари.

1. Керакли жихозларни айтинг.
2. Электив культура тайёрлашни айтинг.
3. Пичан бацилласининг хусусиятини айтинг.
4. Ишнинг бажарилишини айтинг.
5. Кайнатилган аралашмага нима учун ок бур кушилади.

Таянч тушунчалар.

Электив культура, спора, бацилла, гетеротроф.

5- Лаборатория иши

МAB3У: Пичан бацилласининг ривожланиш циклини текшириш

Керакли жихозлар: микроскоп, кедр мойи, буюм ойналари, коплагич ойна, бактериал илмок, Циль-карбол фуксини ва синька буёклари, фильтр когоз, пичан бацилласининг 1, 2, 3 ва 4 кунлик электив культураси, 5% ли хромат кислота, спирт лампа, 5% ли сульфат кислота, термостат.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Колбада колган пичан кайнатмаси ичида асосан пичан бацилласининг споралари тупланган булади. Споралар учун кулай шароит яратилиши билан улардан вегетатив хужайралар усиб чика бошлайди. Термостатда бир кун

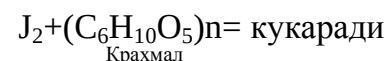
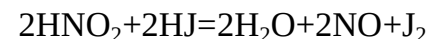
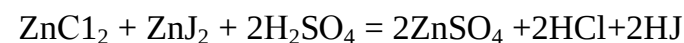
суюкликдан бир неча томчи куйилиб, устига Несслер реактиви томизилади. Агар аммиак оксидланмасдан колган булса, суюклик кизгиш жигар ранг ёки заргалдок тусга киради. Бу реакция куйидагича боради:



кизгиш- жигар ранг

ёки заргалдок тус

Юкоридагича тайёрланган эритмада нитрит кислота борлиги рух-йод-крахмал реактиви ёрдамида аникланади. Бунинг учун ок чинни устига 3 томчи рух-йод-крахмал эритмаси ва бир томчи суюлтирилган сульфат кислота томизиб аралаштирилади. Сунгра биринчи колбадаги эритмадан бир неча томчи олиб унга кушилади. Нитрит кислота таъсирида суюклик кукариб колади. Бу реакция тубандагича боради:



Иккинчи колбада нитрат кислота борлигини аниклаш учун куйидаги реакциялар утказилади:

1. Ликопчага 2—3 томчи концентрланган H_2SO_4 кислота томизилиб, унда дифениламин кристаллари эритилади. Сунгра тайёрланган эритмага текшириладиган

температура яратилади.

Нитрификация жараёнининг биринчи фазасида иштирок этадиган бактерияларни туплаш учун 100 мл сувга тубандаги тузлар кристалли кушиб эритилади:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ —0,4 г	FeSO_4 —0,04 г
K_2HPO_4 —0,1г	CaCO_3 ёки MgCO_3 —0,5 г
MgSO_4 —0,5г	NaCl —0,2 г

Нитрификация жараёнининг иккинчи фазасини кузговчи бактерияларни купайтириш мақсадида тубандаги тузлар эритмаси ишлатилади:

NaNO_2 —0,1 г	K_2HPO_4 —0,05 г
Na_2CO_3 —0,1 г	MgCO_3 —0,05 г
NaCl —0,05 г	FeSO_4 - 0,04 г

Тайёрланган эритмалар Виноградский колбаларига 5—10 мл дан куйилади ва хар бирига бир чимдимдан тупрок кушиб аралаштирилади. Сунгра колбаларнинг огзи пахтадан ясалган пробка билан бекитилиб, 30° ли термостатга жойланади. Орадан 15—20 кун утгач биринчи фазада нитрит, иккинчи фазада нитрат кислота хосил булганлиги текширилади ва бу жараёнларни кузговчи бактериялар билан танишилади.

Бунинг учун ок чинни лycopчaгa биринчи колбадаги

турган пичан кайнатмасидан стериллангаи бактериал илмок билан бир томчи олиниб, осма ёки эзилган томчи тайёрланади. Бу препаратда спорадан усиб чиккан харакатчан бациллалар куринади. Уларнинг бутун танаси хивчинлар билан уралган булади (5- расм, а).

Пичан кайнатмаси икки кун саклангандан сунг унда хавонинг камайиши ва озик моддалар етишмаслиги натижасида харакатчан бациллалар хивчинларини ташлаб, харакатсиз холатга утади. Бу пайтда улар тезлик билан купая бошлайди. Бациллаларнинг купайиши натижасида колониялар хосил булади, хар кайси хужайра узидан шилимшик модда чикаради. Бу шилимшикли бациллаларнинг колонияси *зооглея* деб аталади. Зооглея суюклик бетиде юпка парда шаклида булади (7- расм).

Зооглея ичидаги бациллаларни куриш учун суюклик бетидеги пардадан олиб буюм ойнасига юктирилади ва очик хавода куритилади. Куритилган препарат фиксация килингандан сунг фуксин ёки синька билан буялиб, микроскопнинг 8х ва 40х ли объективлари оркали кузатилади. Бунда препаратда бир-бирига уланган ип шаклидаги хужайралар куринади. Сунгра бир неча кун сакланган пичан бацилласи культурасидан мазок тайёрланади ва фиксация килинади. Мазокни фиксация килгандан кейин унинг устига 5% ли хромат кислота

куйилиб 5 минут тиндирилади. Шундан кейин хромат кислота сув билан ювилади. Ювилган препарат ёки мазок устига Циль-карбол фуксини буёгидан 6—7 томчи томизилади ва буёкни буглантириб туриш учун у спирт лампа алангаси устида 5 минут тутилади. Бунда буёк куриб колмаслиги керак. Агар куриб коладиган булса, мазокка буёкдан кушиб турилади. Шундан кейин препаратдаги буёк сув билан ювилиб, устига 5% ли H_2SO_4 куйилади. Орадан 10—15 секунд утиши билан сульфат кислота хам ювилади. Сунгра препарат устига 2—3 томчк Лёффлер синькаси томизилиб, 2 минут утгандан кейин у хам ювиб ташланади. Препаратда колган сув томчилари фильтр когозга шимдириб олинади.

Шу тартибда тайёрланган препарат устига бир томчи кедр мойи томизилиб, у микроскопнинг курук ва иммерсион системалари оркали текширилади. Препаратдаги споралар пушти рангга, вегетатив хужайралар эса хаво рангга буялганлиги аникланади.

Назорат саволлари.

1. Пичан кайнатмасидан препарат тайёрлашни айтинг.
2. Зооглея нима ва уни хосил булишини айтинг.
3. Зооглея ичидаги бациллаларни куришини айтинг.
4. Бир неча кун сакланган пичан бацилласи

айтинг.

Таянч тушунчалар:

Пептон, пичан бацилласи, кургошин ацетат, оксалат кислота.

10- Лаборатория иши

МABЗУ: Нитрификация жараёнини кузговчи бактерияларни аниклаш

Керакли жихозлар: Виноградский колбалари, текстда курсатилган тузлар, Несслер реактиви, рух-йод-крахмал эритмаси, дифениламин кристаллари, H_2SO_4 нинг концентрланган эритмаси, NH_4Cl нинг 10% ли эритмаси, окчинни ликопчалар, микроскоп, буюм ойналари, Циль фуксини.

Назарий тушунча ва ишнинг бориши: Бу машгулотни утказиш учун тубандаги шартларга амал килиш керак:

- 1) аорганик тузлардан озик модда тайёрланади;
- 2) озик модда таркибида органик моддалар булмаслиги таъминланади;
- 3) у хаво билан етарли даражада таъминланади;
- 4) озик модда таркибида ишкорий шароит яратиш учун унга ок бур кушилади;
- 5) бактерияларнинг ривожланиши учун зарур

Оксилнинг анаэроб шароитда парчаланишида катнашадиган бациллус путрификанс (*Bacillus putrificans*) нинг бор-йуклигини аниклаш учун колбадаги сувнинг пастки катламидан бир томчи эритма олиб мазок тайёрланади. Мазок курилгандан сунг буялади ва микроскопда текширилади. Буялган мазокда спора хосил килувчи, барабан таёкчаси шаклидаги бацилла борлиги куринади (12- расм, в).

Протеус вулгарус (*Proteus vulgaris*) номли бактерия эса ингичка таёкчалар шаклида куринади (12-расм, з). Бу бактерия спора хосил килмайди. Оксилнинг парчаланиши натижасида индол ва H_2S хосил булади. Агар мухитга углевод берилса, бу холда карбонат ангидрид ва водород газлари хам ажралади. Протеус вулгарис факультатив анаэроб бактерия булиб, аэроб ва анаэроб шароитда хаёт кечиради.

Назорат саволлари.

1. Оксил чириши жараёнида катнашадиган бактерияларни аниклаш.
2. Бактерияларни куриш кандай амалга оширилади?
3. Кандай бактериялар аникланди ва шаклини айтинг.
4. Анаэроб ва факультатив анаэроб бактерияларни аниклашни айтинг.
5. Нитрификация жараёни тугрисида тушунчангизни

культурасидан препарат тайёрлаш.

5. Препаратни кузатиш ва натижани айтинг.

Таянч тушунчалар.

Зооглея, термостат, пичан кайнатмаси, вегетатив хужайра.

6- Лаборатория иши

МАВЗУ: Хаво таркибидаги микроорганизмларни аниклаш ва уларни бир-биридан ажратиб олиш

Керакли жихозлар: Петри идишлари, пробиркада стерилланган ГПА ёки ГПЖ озик мухитлари, термостат, Вольфгюгель камераси.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Хаво микрофлораси: Тупрокдан кутариладиган чанг узи билан бирга микроорганизмларни хам хавога таркатиб, хавони ифлослайди. Хавонинг курук булиши ва ультрабинафша нурларнинг таъсири хаводаги микроорганизмларнинг хаёти учун хавфлидир.

Хаводаги микроорганизмларнинг сони йил фаслларига караб узгайиб туради. Бу микроорганизмлар киш фаслида оз, ёзда куп, кузда ва бахорда уртача булади. Хавонинг юкори катламларига кутарилган сари микроорганизмлар сони камая боради.

Бу машгулотни утказишда Кох усулидан фойдаланиш мумкин. Бунда гушт пептон-агарли (ГПА) ёки гушт-пептон-желатинали (ГПЖ) каттик озик мухити ишлатилади.

Машгулот учун керакли озик мухити Петри идишига солиниб, пластинка шаклида котирилади, сунгра идишнинг копкоги олиниб, бир неча (5—10) минут очик колдирилади. Кейин копкогини бекитиб, 25—30° ли термостатга куйилади.

Каттик озик мухитидаги хар бир микроорганизм хужайраси купайиб узига хос колониялар хосил килади. Бу колониялар (тудалар) микроорганизмнинг турига караб хар хил шаклда булади ва турли рангда товланиб туради. Бир неча кун утгандан сунг Петри идишидаги каттик озик мухитида пайдо булган колонияларнинг сони хаво таркибида канча микроорганизм борлигини аниклашга имкон беради.

Петри идишидаги озик мухитидаги бактериялар сонини Вольфгюгель камераси ёрдамида аниклаш жуда осон. Бунинг учун камера ичига Петри идиши тунтариб куйилади. Камеранинг юкори томонидаги ойна 1 см² га тенг булган катакларга булинган. Петри идишининг сатхига рупарама-рупара келган 10—20 катакчадаги колонияларнинг сонини санаб, 1 см² сатхга тенг келган

текширилади. Жумладан, кизил лакмус когоз жараён вактида ажралиб чиккан аммиак таъсирида кук рангга киради. Кургошин ацетат тузининг эритмаси шимдирилган когоз Н₂С иштирокида кора рангга, оксалат кислота шимдирилган когоз индол таъсирида пушти рангга буялади.

Бу реакцияларнинг хаммаси аммонификаторлар таъсирида пептоннинг парчаланиши натижасида вужудга келган махсулот борлигини исботлайди.

Аэроб шароитда яшаб, оксилнинг чиришида иштирок этадиган бактерияларни куриш учун колбадаги суюкликнинг юза каватидан стерилланган илмок ёрдамида бир томчи олиб мазок тайёрланади. Мазок куритилиб, фиксациялангандан ва фуксин билан буялгандан сунг унга бир томчи кедр мойи томизилиб, микроскопнинг иммерсион системаси оркали текширилади.

Микроскопда овал шаклли спора хосил киладиган кичик таёкча—бациллус микоидес (*Bacillus mycoides*) борлиги куринади. Бу бацилла перитрих типда жойлашган хивчинли булиб, оксилни аммиаккача парчалайди. Каттик озик мухити бетида замбуруг мицеллалари (иплари) га ухшаш колониялар хосил килади (12-расм, а). Оксилнинг чиришида пичан бациллуси (*Bacillus subtilis*) хам актив катнашади (12- расм, б).

9- Лаборатория иши

МABЗУ:Оксил чириши жараёнида иштирок

этадиган бактерияларни аниклаш

Керакли жихозлар: колба, пептон (эрувчан оксил), тупрок, кизил лакмус когоз, кургошин ацетат $[Pb(CH_3COO)_2]$ тузи эритмаси ва оксалат кислота ($H_2C_2O_4$), шимдирилган когозлар, пробка тайёрлаш учун пахта, буюм ойналари, фуксин, микроскоп, бактериал илмок, иммерсион мой (кедр мойи).

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Бу ишни бажариш учун 200 мл хажмли колбага унинг 3/4 кисмигача 3% ли пептон эритмаси тулдирилиб, эритма ичига 0,5 г чамасида тупрок аралаштирилади. Тупрок таркибидаги аэроб ва анаэроб бактериялар таъсирида бу аралашмада аммонификация жараёни бошланади.

Колба огзига куйилган пахта пробканинг бир жойига кизил лакмус когоз, иккинчи жойига концентрланган оксалат кислота ($H_2C_2O_4$) ва учинчи жойига кургошин ацетат $[Pb(CH_3COO)_2]$ тузи эритмаси шимдирилган когоз парчалари осиб куйилади (11-расм). Бактерияларга кулай шароит яратиш учун колба 30° иссик термостатга куйилади.

Орадан бир неча кун утгач, колба пробкасига осиб куйилган когозларнинг ранги узгарган-узгармаганлиги

бактерияларнинг уртача сони топилади, сунгра бу сон идишдаги озик мухитининг умумий сатхига купайтирилади. Натижа хавонинг микроорганизм билан ифлосланганлик даражасини курсатади.

1 m^3 хаво таркибидаги микроорганизмлар сонини топиш учун аввал 100 cm^2 озик мухитидаги микроорганизмлар колониясини аниклаш керак. Чунки В. С. Омелянский маълумотига кура, 10 л хаво таркибида булган микроорганизмлар 5 минут ичида 100 cm^2 юзага утирар экан. Бу курсаткич аниклангандан сунг 1 m^3 , яъни 1000 литр хаво таркибидаги микроорганизмлар сонини аниклаш жуда осон булади. Масалан, Петри идишининг умумий сатхини 70,84 cm^2 га тенг деб олиб, тажриба натижасига кура, ундаги озик мухитида 25 дона бактерия колонияси бор деб фараз килайлик, у вақтда 100 cm^2 юзага тугри келадиган микроорганизмлар колониясини аниклаш учун куйидагича пропорция тузилади:

$$\frac{70,84}{100} = \frac{25}{x}$$

$$x = \frac{100 \times 25}{70,84} = \frac{2500}{70,84} = 35 \text{ колония}$$

Демак, В. С. Омелянский маълумотларига асосланиб, 10 литр хаво таркибида 35 дона бактерия колонияси борлиги аникланди. Энди 1 м^3 , яъни 1000 л хаво таркибидаги бактериялар колониясини аниклаш учун тубандагича пропорция тузилади:

$$x = \frac{1000 \times 35}{10} = \frac{3500}{1} = 3500 \text{ дона}$$

(100 см²) 10 л 35

(1м³) 1000л x

Назорат саволлари.

1. Хаво микрофлорасини айтинг.
2. Кох усулини тушунтиринг.
3. Бактериялар сонини Вольфгюгель камераси ёрдамида аниклашни айтинг.
4. В.С. Омелянский маълумотини тушунтиринг.
5. 10 л ва 1000 л хаво таркибидаги бактериялар колониясини аниклашни айтинг.

Таянч тушунчалар.

ГПА, ГПЖ, Вольфгюгель камераси, Кох усули, В.С.Омелянский усули.

бактериум булгарикум куринади (10- расм, а, б).

Бодринг намакобида бактериум куккумерис ферментати, карам намакобида эса бактериум брассика номли бактериялар майда таёкча шаклида куринади.

Назорат саволлари.

1. Уффельман реакциясида сут кислота хосил булишини айтинг.
2. Катикдан препарат тайёрлаш усулини айтинг.
3. Сут кислотали бижгиш жараёнини кузговчи бактерияларни аниклашни айтинг.
4. Препарат кандай махсулотлардан тайрланади.
5. Катик, бодринг ва карам намакобидан кайси бактериялар аникланади ҳамда уларнинг шакли кандай?

Таянч тушунчалар.

Уффельман реакцияси, стрептококкус лактис, куккумерис ферментати, бактериум брассика.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Сут кислота хосил булганлигини аниклаш учун Уффельман реакцияси утказилади. Бунинг учун пробиркага фенолнинг 1 %ли эритмасидан 3 *мл* куйиб, унга бир неча томчи FeCl_3 эритмаси кушилса, аралашма кук рангга киради. Шу пробиркага тузланган бодринг ёки карам намакоби кушилгандан кейин эритманинг ранги саргайса, бу ходиса сут кислота борлигини курсатади. Катик таркибида сут кислота борлигини аниклашда ҳам шу ходиса юз беради.

Сут кислотали бижгиш жараёнини кузговчи бактерияларни аниклаш учун тузланган бодринг ва карам намакобидан бактерияли препарат тайёрланади.

Катикдан куйидаги усулда препарат тайёрланади: оддий буюм ойнасида катикдан мазок тайёрланиб, куритилади. Фиксация килиш учун мазок устига 10 томчи спирт-эфир аралашмаси томизилиб, сунгра 5—10 минут тинч колдирилади. Спирт-эфир аралашмаси таъсирида катик таркибидаги ёг заррачалари йуколади, бактериялар эса нобуд булиб, ойнага ёпишиб колади. Маълум вақтдан сунг мазок Лёффлер синькаси билан буялади ва микроскопда каралади.

Микроскопда каралганда бу препаратда овал шаклда ва бир-бирига занжир халкаларига ухшаб уланган стрептококкус лактис ҳамда узун таёкча шаклидаги

7- Лаборатория иши

МABЗУ: Спиртли бижгиш ва бу жараёни кузговчи тирик организмлар

Керакли жихозлар: микроскоп, колбалар, эгри шиша най урнатилган каучук пробка, сувли идиш, пробиркалар, курук ачитки, пиво ачиткиси, сув хаммоми, термометр, шакарнинг 10% ли эритмаси, ишкорнинг 10% ли эритмаси, буюм ва коплагич ойналар, йод эритмаси, ховонча.

Назарий тушунча ва ишнинг бажарилиши: Бу машгулотни утказиш учун аввал 3—5 *г* курук ачиткига шакарнинг 10% ли эритмасидан 10 *мл* кушиб, ховончада эзилади (эритилади) ва 40—60 минут тиндирилади. Сунгра 100 *мл* хажмли колбага шакарнинг 10% ли эритмасидан 50 *мл* куйиб, унга юкоридагича тайёрланган ачитки-шакар аралашмаси кушилади. Колбанинг огзи эгри шиша най урнатилгап каучук пробка билан махкам бекитилади. Бижгиш жараёни актив утиши учун колба 30—35° ли сув хаммомига жойланади (8-расм). Найнинг иккинчи учига сув тулдирилган пробирка тункариб кийгизилиб, сувли идишга ботириб куйилади (9- расм).

Орадан 20—30 минут утгач, бижгиш жараёни вақтида ажралиб чикаётган карбонат ангидрид (CO_2) пробиркага тупланади. Кейин пробирканинг огзи бармок билан бекитилиб, пастга каратилган холда бармок олинади ва

дархол 10% ли ишкор куйилган стаканга ботириб куйилади. Пробиркадаги CO₂ гази ишкор билан реакцияга киришади. Ундаги газ урнини ишкор олади, яъни пробиркани тулдиради. Аини вақтда колбадан ажралиб чиқаётган газ иккинчи пробиркага тулдириб олинади ва у ёнишга ёрдам бермаганлиги аникланади,

Ачитки замбуругларини микроскопда куриш учун пиво ачиткисидан фойдаланиш мумкин. Агар пиво ачиткиси булмаса, курук ачитки (хамиртуруш) сувда эзилади ва эритилади. Шу тартибда тайёрланган эритмадан буюм ойнасига бир томчи томизиб, усти коплагич ойна билан ёпилади.

Препаратда куртаклиниш йули билан купаяётган сахаромицес серевизия (*Saccharomyces cerevisiae*) номли замбуруг борлиги кузга ташланади. У овал шаклда булади. Шу препаратнинг узида бошка шаклдаги замбуругларни хам куриш мумкин.

Замбуруглар таркибида хайвон крахмали — гликоген туланади. Уни аниклаш учун препаратга йод эритмаси томизилади. Йод таъсирида гликоген кизгиш-кунгир рангга киради.

Э с л а т м а: гликоген ва гранулёзани аниклашдан олдин препаратдаги мазок спирт лампа алангасида фиксацияланмасдан, спирт-эфир аралашмаси билан

фиксацияланиши зарур.

Назорат саволлари:

1. Бижгиш жараёнини бориши учун нима ишлар килинади?
2. CO₂ газининг ишкор билан реакцияси ва ёнмаслигини айтинг.
3. Ачитки замбуругларини кузатиш.
4. Замбуруглар таркибидаги хайвон крахмали (гликоген)ни аниклаш.
5. Гликоген ва гранулёзани аниклашда кандай фиксацияланади?

Таянч тушунчалар:

Ачитки-шакар аралашмаси, куртаклиниш, гликоген, гранулёза.

8- Лаборатория иши

МАВЗУ: Сут кислотали биџгиш жараёнида хосил булган сут кислотани ва бу жараёни кузговчи бактерияларни аниклаш

Керакли жихозлар: микроскоп, буюм ойналари, бактериал илмок, катик, тузланган бодринг ва карам намакоблари, 1%ли фенол эритмаси, FeCl₃ нинг 1% ли эритмаси, Лёффлер синькаси ва фуксин буёклари.