

LABORATORIYA MASHG‘ULOTI
MATERIALLARI

MIKROSKOPNING TUZILISHI. FIKSIRLANGAN VA BO`YALGAN PREPARAT TAYYORLASH

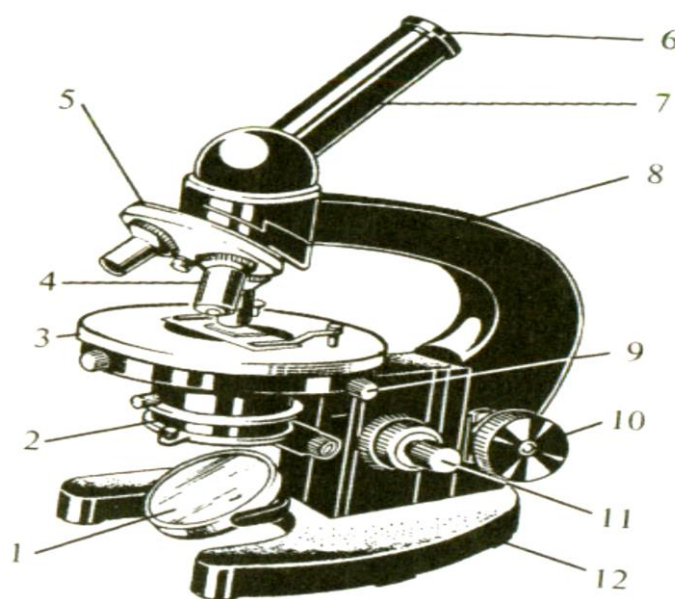
Mikroorganizmlar juda kichik o'lchamga ega bo'lganligini nazarda tutib, mikroorganizmlar mikrometrlar (mkm) va ularning qismlari bilan o'lchanadi, ularning turli tumanligi, morfologiyasi va hujayrasining tuzilishi mikroskop vositasida o'rganiladi. Mikroskoplar o'rganilayotgan ob'ektlarni yuzlab (yorug'lik mikroskoplari) va yuz minglab (elektron mikroskoplari) kattalashtirishi mumkin.

Mikrobiologiyadan amaliy mashg'ulotlarda odatda MBI-I, MBR-I kabi yorug' maydonli mikroskoplar qo'llaniladi. Bulardan tashqari **faza-kontrast qurilmali, qorong'u-maydonli va lyuminestsent mikroskoplar** yordamida ham ko'riladi.

2.1. MBR-I mikroskopining tuzilishi

Mikroskopning **mexanik** va **optik** qismlari mavjuddir.

Mexanik qismiga **buyum stolchasi** va **tubus** mahkamlangan **shtativ (tutqich)** kiradi (1-rasm). Buyum stolchasiga preparat o'rnatiladi. Preparatni qisqichlar yordamida qisish, o'ng va chap tomondagi ikki vintlar yordamida gorizontal tekislikda harakatga keltirish mumkin. Buyum stolchasi tagida **kondensor kronshteyni** mahkamlangan. Shtativni yuqori qismi tubus tutqichni **makrometr va mikrometr vintlar** yordamida harakatlantirish mumkin. Bu vintlarni soat mili yo'nalishida bursalsa tubus tutqich pasayadi, soat miliga teskari tomonga burilsa - ko'tariladi. Mikrometr vintni bir aylanishi tubusni **0,1 mm** ga suradi. Mexanik qismiga yana obyektivlar buralib joylashtiriladigan **revolver** kiradi. Tubusni yuqori uchiga **okulyar** mahkamlanadi. Optik qismiga **yoritgich apparat, obyektiv va okulyar** kiradi. Yoritgich apparat esa **kondensor** va **ko'zgudan** tuzilgan bo'ladi. Ko'zguni bir tomoni yassi va ikkinchi tomoni botiq ko'rinishga ega.



1- rasm. MBR – 1 mikroskopi

1 - ko'zgu, 2 – kondensor, 3 – buyum stolchasi, 4 – obyektiv, 5 – revolver, 6 – okulyar, 7 – tubus, 8 – tubus ushlagich, 9 – buyum stolchasining harakatga keltiruvchi murvat, 10 – makrometrik murvat, 11 – mikrometrik murvat, 12 – taqasimon taglik.

Kondensor linzalar tizimidan tashkil topgan bo'lib, yorug'lik manbaidan keluvchi va ko'zguda qaytarilgan parallel nurlarni to'plab berish vazifasini bajaradi. Yorug'lik o'tishi jadalligi, iris diafragma orqali boshqarilishi mumkin. Diafragma ostida nurfiltrlar uchun gardish

joylashgan. Kondensorni tik yo`nalishda maxsus vint yordamida harakatga keltirish mumkin. Kondensor bilan ishlanganda ko`zguning faqat tekis tomonligidan foydalaniladi.

Obyektiv metall gardishda joylashtirilgan linzalar tizimidan tuzilgan bo`lib, ularning eng asosiysi tashqi (frontal) linzadir. Obyektivni kattalashtirishi uni fokus masofasi va egriligiga bog`liqdir. MBR-1 mikroskopida **8x, 40x (quruq) va 90x (immersiya yoki moy)** marta kattalashtiruvchi obyektivlar bor. Quruq obyektivlarning frontal linzasi bilan obyekt orasida havo bo`ladi, moy (immersiya) obyektivlarda esa mahsus moy bo`lib, uning nur sindirishi buyum oynanikiga teng bo`ladi ( $n = 1,5$ ). Natijada, yorug`lik nurlari obyektidan va moydan o`tib tarqalib ketmaydi. Mikroorganizmlarni kuzatganda ko`pincha immersiya obyektivi ishlatiladi.

Okulyarlar ikki linzadan tashkil topadi: yuqori - **ko`z** va quyi - **to`plagich**. Ular orasida umumiy gardishda diafragma joylashadi. Kattalashtirish imkoniga ko`ra okulyarlar har xil bo`ladi: 5x, 7x, 10x, 12x, 15x va 20x marta kattalashtiruvchi okulyarlardir. Eng muhimi mikroskopning kattalashtirishi va ko`rsatish imkoniyatidir.

Mikroskopning **umumiy kattalashtirishini** topish uchun obyektiv kattalashtirishini okulyar kattalashtirishiga ko`paytirish kerak. Masalan: immersiya obyektivi ishlatilganda (90 x) okulyar 7x bo`lsa, umumiy kattalashtirish 630 martaga teng bo`ladi.

Mikroskopning ko`rsatish imkoniyati** deb ma`lum mikroskopda ikki nuqta orasidagi eng kichik ko`ra oladigan masofaga aytiladi. Bu masofa ko`ra **bilish masofasi (d) deyiladi. Uning kattaligi nurning to`lqin uzunligiga ( $\lambda$ ), **obyektivning appertura soniga ( $A_1$ )** va **kondensorning appertura soniga ( $A_2$ )** bog`liq.

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

Agar $A_1 = A_2$,

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

Appertura soni quyidagi formula bilan aniqlanadi:

$$A = \sin u \cdot n$$

u - obyektivga kiruvchi nurning yarim burchagi;

n - obyektiv va preparat orasidagi muhitning nur sindirish ko`rsatkichi.

Agar, **u 90°**, **n esa 1,5** (immersion moyning nur sindirish ko`rsatkichi) bo`lsa, unda **A = 1,5**. Yorug`lik nurining uzunligi **600 nm (0,6 mkm)** bo`lsa, unda **d = 0,2 mkm** bo`ladi. Yorug`lik nuri o`rniga ultrabinafsha nur ishlatsa bu ko`rsatkichni kuchaytirish mumkin va hakoza. Agarda **d** ning absolut qiymati qancha kichik bo`lsa, shuncha mikroskopning ko`rsatish imkoniyati katta bo`ladi va shuncha kichik obyektini ko`rish mumkin.

Mikroorganizmlarni mikroskop orqali kuzatish uchun, avvalo, preparat tayyorlanadi. Tayyorlangan preparatlar "**ezilgan tomchi**", "**osilgan tomchi**", "**nusxa olish**" usulida, "**fiksirlangan bo`yalgan**" va hakoza bo`lishi mumkin.

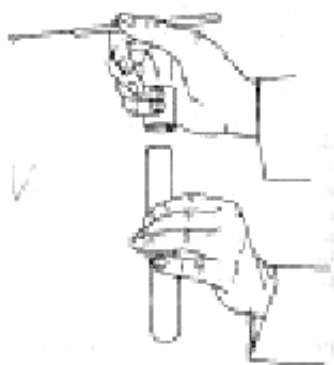
2.2. Fiksirlangan bo`yalgan preparat tayyorlash.

Preparat suyuq yoki agarli ozuqa muhitida o`stirilgan ma`lum yoshdagi bakteriya kulturasidan tayyorlanadi. Ozuqa muhitlari tayyorlashning ko`pdan-ko`p retseptlari ishlab chiqilgan bo`lib, ulardan ishlashga eng qulay va tayyorlashga osoni "**pepton ozuqa muhiti**" deb shartli nomlangan ozuqa muhitidir: gr/litr vodoprovod suvida, pepton - 10, saxaroza yoki glukoza - 2, K_2NRO_4 - 0,5, $MgSO_4-K_2HPO_4$ - 0,5, NaCl - 0,5. Qattiq ozuqa muhiti olish uchun 15-20 g agar-agar solinadi. Qizitib eritilgan holda bu ozuqa probirkalarga quyiladi va

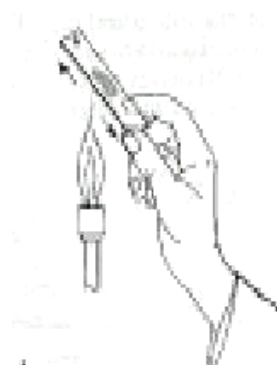
sterillanadi, qiyshaytiriladi va natijada "**qiyshiq agar**" hosil bo`ladi. Qiyshiq agar yuzasiga bakteriya kulturasi ekiladi va u o`ziga xos sharoitda o`stiriladi va ko`zga ko`ringan o`sgan bakteriyadan preparat tayyorlashda ishlatiladi.

Mikroorganizmlar bilan ishlaganda 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 shtativ, bo`yoqlar, imersion moy va mikroskop ostida ko`rishda ishlatiladigan reaktivlar hamda suv solingan kolba.

Surtma (mazok) tayyorlash. Buyum oynasiga tomizilgan tomchi suvga o`rganilayotgan kulturaning biomassasidan ozgina solinadi va bakterial ilmoq bilan aralashtiriladi. Biomassaning ortiqcha qismi kuydirib tashlanadi. Hosil bo`lgan kuchsiz loyqa buyum oynasi ustiga diametri 2 sm doira shaklida tarqatiladi, havoda quritiladi va surtma tayyorlanadi (2, 3 - rasmlar). To`g`ri tayyorlangan surtmada bakteriyalar ayrim-ayrim bo`lib, yupqa qatlam hosil qiladilar.



2 - rasm



3 - rasm

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

Preparat **nordon** yoki **ishqoriy anilin** bo`yoqlari bilan bo`yaladi. Nordon bo`yoqlarda xromofor (rang beruvchi ion) - anion, ishqoriylarda esa kation bo`ladi. Ishqoriy bo`yoqlarga quyidagilar kiradi: **moviy rang metilen**, **ishqoriy fuksin**, **siyoh rang 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`ozi bilan qoldiq suvlar shimdiriladi so`ng mikroskopda ko`riladi.

2.3. 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 revolveridagi **90x obyektiv (immersiya obyektivi)** preparatni ko`rishga moslanadi, yon tomondan kuzatilgan holda obyektiv linzasi moyga botiriladi. Okulyarga qaragan holda makrovint yordamida ob'ekt topiladi. Aniq ko`rinishga erishish uchun mikrovintdan foydalaniladi. Mikrovintdan juda ehtiyotlik bilan foydalaniladi - soat mili yo`nalishida yoki aksincha, faqat 1-2,5 aylanishdan ortiq buralmaydi. Preparatni yoritilishini kondensorni vertikal yo`nalishda xarakatga keltirib,

kamaytiriladi yoki ko'paytiriladi. Bo'yalgan preparatlarni kuzatganda kondensor taqalguncha tepaga ko'tariladi.

Mikrobiologiyadan amaliy mashg'ulotlar uchun tutilgan maxsus **albomga** ko'rish maydoniga o'xshash, 3-4 sm lik doira chiziladi. Unga o'rganilayotgan hujayralarning rasmi solinadi, o'lchamlari va shakllariga alohida ahamiyat beriladi, 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.

Adabiyotlar

1. Gerxart F. Metodi obshey bakteriologii. M.: "Mir", 1983. T.I, S. 16-45.
2. Yegorov N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1983. S. 33-41.

3. BAKTERIYALARNING MORFOLOGIYASI VA SITOLOGIYASI

3.1. Tayoqchasimon bakteriyalarning shakllari va spiroxetalar

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

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

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

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

4. Agar 0,5 litr shisha stakandagi oddiy ariq suviga pishgan tovuq tuxumining oqidan solib, 7-10 kun 28-30^oS temperaturada inkubatsiya qilinsa suyuqlik loyqalanadi va ustida parda hosil bo'ladi. U stakandagi suyuqlikda yirikligi 1,5-2x 30-70 mkm li buralgan *Spirillum*

avlodiga kiruvchi spirillalarni ko`rish mumkin. Fiksirlangan bo`yalgan preparatlarda 3-4 cho`lg`amga ega donador ko`rinishli hujayralarni ko`rish mumkin.

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

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

Adabiyotlar

1. Yegorov N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1983. S. 6-8.
2. Mishustin E.N. Yemsev V.T. Mikrobiologiya. M.: "Kolos", 2008 S. 36-39
3. Xoult J. Kratkiy opredelitel bakteriy Bergi. M.: "Mir" 1980

3.2. Sharsimon bakteriyalar

Sharsimon bakteriyalar kokklar (coccus - yunoncha so`z bo`lib, don yoki sharcha degani). Kokklarning diametrlari 0,5-1 mkm atrofida bo`ladi. Hujayralarning bo`linish tekisligini qandayligiga qarab va bo`lingandan so`ng hujayralarning bir - biri bilan bog`liqligini saqlanishi va natijada hujayralarning joylanishiga ko`ra quyidagi morfologik guruhlarga ajratiladi (4 - rasm).

Mikrokokklar hujayralari sferasimon bo`lib, 0,5-3,5 mkm diametriga ega. Ular bo`linganda bir necha tekislikda bo`linish xususiyatiga ega. Bittadan o`chraydi yoki to`p-to`p bo`lib har xil to`plamlar hosil qiladi. Ular havoda, suvda, tuproqda, oziq-ovqatlarda va boshqa substratlarda yashaydi. Ularning oralarida ko`pincha rangli, pigmentlilari topiladi.

Diplokokklar (diplos - lotincha ikkilik degani) hujayralari bir tekislikda bo`linadi so`ngra tarqalmaydi, natijada ikkitadan birlashgan hujayralar hosil bo`ladi. Ular orasida kasal qo`zg`atuvchilari bor: **pnevmoniya, gonoreya, meningit** kabi kasalliklar.

Tetrakokklar (tetra - lotincha to`rt so`zidan) to`rt hujayradan tashkil topgan. Bu esa hujayralarning ikki bir-biriga perpendikular bo`lgan tekislikda bo`linishidan hosil bo`ladi. Tetrakokklarning hamma ma`lum vakillari saprofitlardir.

Streptokokklar (streptus - yunoncha zanjir degani) hujayralarning bir tekislikda bo`linishidan hosil bo`lgan hujayralar zanjiridir. Hujayralar dumaloq yoki sal cho`zilgan shaklga ega bo`lib, diametri 2 mkm chadir.

Streptokokklar ichida ham saprofitlari, ham kasal qo`zg`atuvchilari (odam va hayvonlarda) yiringli yara hosil qiluvchilari bordir.

Sartsinalar (sarcina - lotincha birlashtiraman degani) 8 va undan ko`p hujayradan kubsimon joylashgan paketlar hosil qiladi. Uning har bir tomonida 4 tadan hujayra bo`ladi. Bu shakl hujayraning uchta bir-biriga perpendikular tekislikda bo`linishidan hosil bo`ladi. Hujayralar shakllari sharsimon bo`lib, diametrlari 1,8-3,0 mkm bo`ladi. Sartsinalarning har xil turlari havoda keng tarqalgandir. Ularning hammasi saprofitlar, patogenlari hali uchratilmagan.

Stafilokokklar (**staphilo** - yunoncha **uzum shingili** degani) hujayraning har xil tekislikda tartibsiz bo`linishidan hosil bo`ladi va uzum shingilining joylashishini eslatadi. Hujayra sharsimon bo`lib, diametri 0,8 - 1,5 mkm ni tashkil etadi. Stafilokokklar odam va

hayvonlarda yiringli yaralar hosil qiladi. Shuni eslash o`rinli bo`ladiki, yuqorida aytilgan sharsimon hujayralarning ayniqsa, **Staphylococcus aureus**(Tillasimon stafilokokk) to`plamlari, 2-4 tadan birikkan to`plamlari turg`un



4-rasm. **Tillasimon stafilokokk** hujayralari

bo`lmasdan ayrim-ayrim hujayralarga oson ajratiladi.

Sharsimon bakteriyalarning tashqi ko`rinishlari bilan tanishish uchun "ezilgan tomchi" usulida preparat tayyorlanadi. Buning uchun buyum oynasiga vodoprovod suvidan bir tomchi tomiziladi. So`ngra o`rganilayotgan mikroorganizm kulturasidan ozgina olib aralashtiriladi va qoplag`ich oyna bilan yopiladi. Qattiq ozuqa muhitida o`stirilgan kulturani bir tomchi suvga bakteriya ilmoqi vositasida solib aralashtirib preparat tayyorlansa, suyuq ozuqa muhitidagi bakteriya kulturasini steril pipetka bilan olib buyum oynasiga tomiziladi va qoplag`ich oyna bilan yopiladi. Demak, ikkinchi holatda bir tomchi suvni buyum oynasiga tomizish shart emas. Olingan tomchining hajmi shunchalik kichik bo`lishi kerakki, qoplag`ich oyna yopilganda ortiqcha suyuqlik bo`lmagani ma`qul. Aks holda ortiqchasi filtr qog`ozi yordamida yo`qotiladi. Tayyorlangan preparatlar immersiya obyektivi yordamida mikroskopda ko`riladi.

1. **Mikrokokklar** preparatlarini 3-4 sutka davomida pepton agarida o`stirilgan *Micrococcus roseus* (pushti rangdagi kokklar) kulturasidan tayyorlanadi. Preparatda ayrim yoki to`p-to`p bo`lib, tartibsiz to`plamlar holida joylashgan mayda sharsimon hujayralar ko`rinadi.

2. **Sartsinalar** preparatlarini 3-4 sutkali pepton agarida o`stirilgan **Sarcina flava** (sariq rangli) kulturasidan tayyorlanadi. Ular 8 yoki 16 ta hujayradan iborat **paketlar** hosil qiladi.

3. **Streptokokklar** bilan tanishish uchun qattiq yoki smetanadan olib tayyorlangan fiksirlangan, bo`yalgan preparat ishlatiladi. Unda gomofermentativ sut kislotali bijg`ishni olib boruvchi *Streptococcus lactis* kuzatiladi. Yog`sizlantirilgan qatiqdan (prostokvasha) buyum oynasiga surtma tayyorlanadi, fiksirlangandan so`ng ishqoriy moviy metilen bo`yog`i bilan 1-2 minut davomida bo`yaladi, filtr qog`ozi bilan quritiladi va immersiya tizimida ko`k rangdagi sharsimon hujayralar zanjirchalari ko`rinadi.

4. **Stafilokokklar** bilan tanishish uchun tayyor fiksirlab bo`yalgan tillasimon stafilokokk **Staphylococcus aureus** preparati ko`riladi. Bunda sharsimon hujayralarning shingillarini ko`rish mumkin (4 - rasm).

Adabiyotlar

1. Yegorov N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1983.S. 55.
2. Tepper E.Z., Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii. M., Agropromizdat, 1987. S. 27-29.

3. Xoult J. Kratkiy opredelitel bakteriy Bergi. M.: "Mir". 1980.

3.3. Aktinomitsetlar va ularga yaqin organizmlar

Bu guruhga **korineform bakteriyalar, mikobakteriyalar, aktinomitsetlar** va boshqa mikroorganizmlar kiradi.

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

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

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

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

Aktinomitsetlarning mitseliylari differentsiallashtirgandir: bir qismi substratda joylashgan bo'lib, unga **substrat mitseliysi** deyiladi, boshqa qismi substrat ustida joylashgan bo'lib - **havo mitseliylari** deyiladi. Mitseliy shoxlariga **gifalar** deyiladi. Bu organizmlar har xil usulda ko'payadilar, xususan, sporalar yordamida. Aytish kerakki, har xil vakillarda spora hosil qilish har xil darajada shakllangan. Masalan, Nocardia avlodiga kiruvchi **proaktinomitsetlarda** havo mitseliysi umuman yo'q yoki kuchsiz rivojlangan. Yosh davrida ular mitseliy hosil qiladi, keyinchalik tezgina tayoqchasimon fragmentlarga bo'linadi, ular esa qisqarib tayoqcha yoki kokklarga aylanadi. Monosporali aktinomitsetlar vakillaridan **Mikromonospora** da mitseliy fragmentlarga bo'linmaydi, yakka sporalar substrat mitseliysida hosil bo'ladi.

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

Aktinomitsetlarda sporalar ikki tipda hosil bo'lishi kuzatiladi: **fragmentatsiya va segmentatsiya**.

Birinchi holda gifalarda bir tekis tarqalgan nukleoid atrofida tsitoplazma to'plana boshlaydi, so'ngra hosil bo'layotgan spora maxsus qobiq bilan o'raladi. Gifaning po'sti ma'lum vaqtgacha saqlanadi va keyinchalik yoriladi va spora tashqi muhitga chiqadi.

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

Oziqa muhitlarida aktinomitsetlar momiqsimon, duxobasimon, unsimon yoki terisimon substrat bilan birga o'sgan koloniyalar hosil bo'ladi. Ular pigmentlar hosil qiladi va koloniyalar havo rang, ko'k, siyoh rang, pushti, qo'ng'ir, jigarrangga bo'yaladi. Ba'zi aktinomitsetlar

vakillari kamfara, iodoform, ammiak, meva hidlarini ajratadi hamda geosmin deb ataladigan maxsus moddaning borligi tuproq hidini beradi. Aktinomitsetlar orasida dorivor moddalar-antibiotiklar hosil qiladiganlari ham topilgan. Streptomitsetlar oziqa manbalariga juda ham talabchan emas, shuning uchun ular tabiatda keng tarqalgan. Ular organik murakkab moddalarni minerallashtirish jarayonida ishtirok etadi. Odamlarda aktinomikoz kasalliklarini tarqatuvchi patogen formalari ham bor.

1. **Artrobakterlar** bilan tanishish uchun agarli Chapek ozuqa muhitida o`stirilgan 1 va 7 sutkalik **Arthrobacter globiformis** kulturasidan "ezilgan tomchi" usulida preparat tayyorlanadi. Bu organizm tuproq biotasining vakili bo`lib, murakkab organik birikmalarni minerallashtirish jarayonlarida ishtirok etadi. Bir sutkalik Arthrobacter globiformis preparatida mikroskopda uning hujayralari ayrim **tayoqchalar** ko`rinishida va "**qisqich**" ko`rinishida bo`lib, uzunligi 1,2 - 2,0 mkm atrofida bo`ladi.

Etti sutkalik kulturada esa 0,6 - 0,7 mkm diametrli **kokk** formal hujayralar ko`rinadi.

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

3. **Chin aktinomitsetlar** – streptomitsetlar - koloniyalarining morfologiyasi bilan tanishish uchun agarli oziqa muhitida (suv agari vodoprovod suvi - 1 litr, agar-agar - 20 g) bir tekis o`sgan yoki ayrim koloniyalardan tig` yordamida kichik-kichik bo`lakchalar (mikroorganizmlarning ustki tomoni tepaga qaragan holda) kesib olinib buyum oynasiga qo`yiladi. Preparatni 7 sutkalik to`g`ri va spiralsimon sporabandlik **Streptomyces sp.** kulturasidan tayyorlanadi. Avvalo, quruq tizimli obyektivlar bilan - 8 va 40 taliklarda ko`riladi, sporabandlilari rasmga solinadi. Sporalarini ko`rish uchun yuqorida ko`rsatilgandek qirqib tayyorlangan aktinomitset koloniyalarga qoplagich oynani pinset yordamida koloniya ustiga ohista tekiziladi va qayta ko`tarib olinadi. Buyum oynasiga bir tomchi suv tomizib unga shu qoplag`ich oynani koloniya izi tushgan tomoni bilan yopiladi, va mikroskopni 90 obyektivida ko`riladi. Preparatda zanjir bo`lib yoki ayrim-ayrim joylashgan sporalar ko`rinadi.

Adabiyotlar

1. Babyeva I.P., Zenova G. M. Biologiya pochv. M.: Izd-vo MGU, 1983. S. 69-79.
2. Yegorov N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1983. S. 55 - 56.

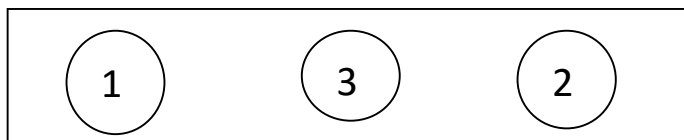
3.4. Gram usulida bo`yash

Mikrobiologiya amaliyotida bakteriya hujayralarini **Gram** bo`yicha differentsial bo`yash usuli keng tarqalgandir.

Bu usulda bo`yash 1884 yili daniyalik olim X. Gram tomonidan kiritilgan va o`sha davrdan boshlab diagnostika belgisi sifatida ishlatiladi. Bakteriyalar **grammusbat (Gram⁺)** **grammanfiy (Gram⁻)** deb farqlanadi. Grammusbat bakteriyalarni gensianviolet bo`yog`i bilan bo`yab, ba`zi moddalar bilan ishlov berib (protravlivanie), so`ngra 96<sup>0</sup> etanol bilan ishlov berilsa, binafsha rang saqlanib qoladi. Grammanfiy bakteriyalarda esa, gensianviolet bilan bo`yalsa ham, etanol ta`sir etganda rangsizlanib qoladi. Ularni qo`shimcha birorta bo`yoq masalan, fuksin bilan bo`yash mumkin. Shunday qilib, Gram usulida bo`yashning bosqichlarini amalga oshirgandan so`ng, grammusbat bakteriyalar binafsha rangga, grammanfiylari esa - qizil rangga bo`yaladi.

Qator mualliflarning tadqiqotlari shuni ko'rsatadiki, Gram⁺ va Gram⁻ bakteriyalar faqatgina bo'yashda farqlanmasdan, balki ba'zi antibiotiklarni (penitsillina) ta'siriga, sulfamid preparatlarini, lizotsimni, proteolitik fermentlarni va boshqalarni ta'sirlariga bo'lgan sezgirliklariga qarab ham farqlanadi. Yana aniqlanishicha, Grammusbat bakteriyalar 1% NaOH da erimaydi. Grammanfiy bakteriyalar esa to'la erib ketadi.

Hozirgi vaqtda ko'pgina mualliflar Gram bo'yicha bo'yalgan bakteriyalarni bu xususiyatlarini hujayra devorini molekulyar qurilishi va kimyoviy tuzilishiga bog'lashmoqda.



Gram usulida bo'yash sxemasi:

1. **Saccharomyces cerevisiae** (Achtitqilar) - (Grammusbat);
2. **Pseudomonas melochlora** - (Grammanfiy);
3. Tadqiqot qilanadigan kultura - (Gram X)

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

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

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

Surtmalarni juda ham yupqa qilib tayyorlash kerakki, ular oyna yuzasida bir tekis tarqalgan bo'lsinlar. Preparat issiqlik yordamida havoda quritiladi, alangada fiksirlanadi va sovutiladi. So'ngra ikki minut davomida **gensianviolet** bilan bo'yaladi. Buning uchun surtmaga gensianviolet bo'yog'i shimdirilgan qog'oz yopiladi. Bo'yash vaqti tugagandan so'ng bo'yoqli qog'oz olib tashlanadi va suv bilan yuvmasdanoq yodni kaliy yodli suvdagi eritmasi bo'lgan **Lugol** eritmasi bilan ikki minut davomida ishlov beriladi. Lugol eritmasi tashlanib, surtma suv bilan yuviladi va filtr qog'ozi bilan quritiladi. So'ngra esa mas'uliyatli ish qilinadi: preparat qisqa muddat **96 gradusli etanol** bilan 30 sekunddan to 1 minutgacha rangsizlantiriladi. Tezda suv bilan yuviladi va qaytadan 2 minut davomida **fuksin** bo'yog'i bilan bo'yaladi, suv bilan yuvib tashlangandan so'ng filtr qog'ozi bilan quritiladi va immersiya tizimida mikroskopda ko'riladi. Agar preparat to'g'ri bo'yalgan bo'lsa **grammusbat mikroorganizmlar (Gram⁺) binafsha, grammanfiylar (Gram⁻) qizil** rangda bo'yaladi.

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

Adabiyotlar

1. Yegorov N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1983. S. 63.
2. Rabotnova I.L., Obshaya mikrobiologiya. M.: "Visshaya shkola" 1969, S. 39.

3.5. Bakteriyalarning hujayraviy strukturalari va zahira moddalari

3.5.1. Hujayra devori

Yorug` maydonli mikroskopda bakteriyalarning hujayra devorini ko`rish uchun hujayralar maxsus usulda bo`yaladi.

1. Buning uchun yog`sizlantirilgan buyum oynasida tadqiqotdagi bakteriyalardan surtma tayyorlanib, issiqlik ta`sirida havoda quritiladi va 5 minut davomida 5% li **fosforomolibden kislotsi** eritmasi bilan fiksirlanadi. So`ng preparat suv bilan yuviladi va 15 sekund davomida **kristallovioletning 0,02%** li eritmasi bilan bo`yaladi. So`ng preparat yana suvda yuviladi, quritiladi va immersiya moyi bilan mikroskopda ko`riladi. Bunda **hujayra devori qora va sitoplazma och binafsha** rangda ko`rinadi.

2. Hujayra devorini **Gutshteyn usuli** bilan ham bo`yash mumkin. Buning uchun surtma 15 minut davomida **Karnua suyuqligida** saqlanadi, 25 minut davomida 10% **tannin** eritmasida tutiladi, suv bilan yuviladi va 30-60 sekund davomida 0,02% li **kristallviolet** eritmasi bilan yoki suvli **fuksin** eritmasi bilan bo`yaladi. Preparat yuvilib, quritilgach, immersiya moyi yordamida ko`riladi.

3.5.2. Kislota chidamlilikni aniqlash

Kislota chidamlilik xususiyati ba'zi mikobakteriya va nokardiyalarga xos. Bunday bakteriyalar kislota bilan ishlov berilganda, ular bo`yoqni saqlab qoladi. Bu jarayon bakteriyalarning hujayra devorining kimyoviy tarkibi bilan bog`liq. Kislota chidamlilik **Sil-Nilsen** usulida aniqlanadi. Yog`sizlantirilgan buyum oynasida ikkita surtma tayyorlanadi: tadqiqotdagi bakteriyalar va kislota chidamli mikobakteriyalar. Surtma issiqlik ta`sirida havoda quritilgach, alangada fiksirlanadi. So`ng surtmalar ustiga filtr qog`ozi qo`yilib, unga **Sil karbol fuksini** qo`yiladi va 2-3 marta bug`i chiqquncha preparat qizdiriladi (buyum oynasini alangadan ancha baland tutib). Chetdan nazorat qilish jarayonida, bug` paydo bo`lgach preparat chetga suriladi. Preparat sovigandan so`ng filtr qog`ozi olinadi, bo`yoq to`kiladi va surtma suv bilan yuviladi. So`ng preparat **5% li sulfat kislotsi** eritmasi bilan rangsizlantiriladi. Buning uchun buyum oynasi 2-3 marta kislotali stakanga botiriladi. Preparat suv bilan yaxshilab yuvilib, 3-5 minut davomida **Loffler moviy metilen** bo`yog`i bilan qo`shimcha bo`yaladi. Bo`yoq to`kilgach, preparat yuvib, quritiladi va immersiya bilan ko`riladi. Ish to`g`ri bajarilgan bo`lsa, kislota chidamli bo`lgan hujayralar **qizil**, chidamli bo`lmaganlari **ko`k** rangda bo`ladi.

3.5.3. Kapsula

Ba'zi bakteriyalar uglevodlarga boy va azot kam bo`lgan muhitda o`sinh vaqtida shilimshiq, hujayra atrofida joylashgan qatlam - kapsula hosil qiladi. Bu xususiyatga ayrim kasallik tug`diruvchi bakteriyalar, saprofitlardan esa **Bacillus polymyxa**, **Azotobacter chroococcum** va boshqalar ega.

Kapsulalar ko`pincha gel konsistensiyada bo`lib, mikroskop ostida tirik hujayralarda yaxshi ko`rinmaydi. Kapsulalarni aniqlash uchun bo`yashning turli usullaridan foydalaniladi. Suyuq **tush** (tush bilan distillangan suv 1:10 nisbatda) yordamida "**negativ**" bo`yash (**negativ** kontrastlash) usuli yaxshi natija beradi. Unga 3-5 sutkalik azotsiz **Eshbi** muhitida o`stirilgan **Azotobacter chroococcum** kulturasining biomassasi solinadi. Ehtiyotlik bilan aralashtiriladi va qoplag`ich oyna bilan yopilib, kuzatiladi. Preparatning umumiy qora fonida **Azotobacter chroococcum** hujayralarini o`rab turgan **rangsiz yirik kapsulalar** ko`rinadi.

Sporali kapsula hosil qiluvchi **Bacillus sp.** bakteriyalarining yosh kulturasidan yuqoridagidek preparat tayyorlanadi. Mikroskop ostida preparatning qora fonida **Bacillus sp.** ning tayoqchasimon hujayralarini o`rab turgan rangsiz kapsulalar ko`rinadi.

Sporalarni **Burri-Gins** usulida bo'yab ko'rish mumkin. Buning uchun **Bacillus polymyxa**dan maxsus oyna yordamida **tushda** (1:10) surtma tayyorlanadi. Surtma quritilib, alangada 5-6 marta fiksirlanadi. So'ng 1 - 2 min davomida suvli **fuksin** bilan bo'yaladi. Suv bilan yuviladi, xavoda quritiladi, mikroskopda ko'riladi. Bunda qora fonda **qizil** ho'jayralarni o'rab turgan **rangsiz yirik kapsulalar** ko'riladi.

3.5.4. Nukleoid

Yorug' maydonli mikroskopda **nukleoid** qiyin ko'riladi. Uni ko'rish uchun hujayraga dastlab **ribonukleaza yoki xlorid kislotasi** bilan ishlov beriladi. So'ng ishqoriy bo'yoqlar bilan bo'yaladi. **Proteus vulgaris**, **Azotobacter chroococcum**, **Bacillus megaterium**, **Bacillus mycoides**, **Bacillus subtilis** larda nukleoid ravshan ko'riladi. Buning uchun buyum oynasida bir sutkali bakteriyalardan surtma tayyorlanadi, havoda quritiladi va 2 - 3 minut davomida **osmiy kislotasi**ning 2% li eritmasi bug'ida fiksirlanadi. Shu maqsadda Petri likopchasi tagiga 2 - 3 tomchi fiksator tomizilib, uning tepasiga buyum oynasidagi surtma o'rnatiladi. Fiksatsiya vaqti tugagach, preparat 2-3 minut davomida **1n. HCl** eritmasi bo'lgan stakanga solinadi. Bunda ribosomal RNK gidrolizlanadi. Stakan 60⁰S li suv hammomida saqlanadi. Gidrolizdan so'ng preparat tez suv bilan yuvilgach, 15 minut davomida **formalinning** 1% li eritmasiga solinadi, yana yuviladi va 1-2 minut davomida **ishqoriy fuksinning** 0,1-1,0% suvli eritmasi bilan bo'yaladi. Preparat yuvilib quritilgach immersiya moyi bilan ko'riladi. **Sitoplazma pushti rang, nukleoid qizil rangda** bo'ladi.

3.5.5. Uglevodli granulalar

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 kulturalarini **Rushman** ozuqa muhiti tuproq ekib olish mumkin. Ozuqa muhiti maydalab tozalangan kartoshkadan tayyorlanadi. Kartoshka solingan probirkalar tagiga ozgina bo'r solinadi, so'ngra suv qo'shib sterilizatsiya qilinadi. Tuproq ekilgan ozuqa muhiti 5 - 7 kun 26-28⁰Cda termostatda inkubatsiya qilinadi.

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

3.5. 6. Lipidli granulalar

Poli-oksibutirat donachalarini lipofil bo'yoqlar - **sudan III yoki qora sudan** bilan bo'yab, ko'rish o'mumkin. Buning uchun **achitqilar** hujayrasidan yupqa 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.

3.5.7. Polifosfatlar

Polifosfatlar Volutin - **Omelanskiy** usulida bo'yalganda oson namoyon bo'ladi. Usul **volyutinni** kislotalar eritmasida yaxshi erimasligiga asoslangan. Bunda alangada fiksirlangan

surtma yuzasiga **Tsilning karbolli fuksini** qo`yiladi. Hujayralar 0,5 - 1 sekund davomida 1%li **sulfat kislota** bilan rangsizlantiriladi. So`ng kislota 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 **Lofflarning** moviy metileni bilan bo`yaladi. Bo`yoq to`kilgach, preparat suv bilan yuviladi va quritilmagan holda surtma yuzasiga 1 tomchi 1% li **sulfat kislota** tomiziladi. Uning ustiga qoplovchi oyna yopilib mikroskopda ko`riladi. Volutin donalari **ko`k-siyoh rangda** bo`lib, och havorang sitoplazmada ko`rinadi.

3.5.8. Parasporal 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. Parasporal 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 pushti rangda bo`ladi.

3.6. Bakteriyalarning spora hosil qilishi

Prokariotlar olamida endospora hosil qiluvchi bakteriyalar topilgan. Bunday spora hosil qiluvchi bakteriyalar **batsillalar** deyiladi. Spora hosil qilish xususiyatiga ega bo`lgan bakteriyalar (tayoqchasimon) **Bacillus, Clostridium, Desulfotomaculum, Sporolactobacillus** avlodiga kiradi, shu bilan birga ularga ba'zi **sharsimon sartsinalar** ham kiradi.

Spora vegetativ hujayraning ichida hosil bo`ladi. Odatda bitta endospora hosil bo`ladi. Spora vegetativ hujayradan sitologik, fiziologik va kimyoviy xususiyatlari bilan farq qiladi. Spora vegetativ hujayraga nisbatan yuqori nur sindirish ko`rsatkichiga ega bo`lib, oddiy usullarda bo`yalmaydi. Ular murakkab, ko`p qavatli qobiqqa ega. Ularda tashqi va ichki hamda qalin **korteks** qavatlari mavjuddir. Ko`pgina bakteriyalarning tashqi qavati ustida yana bir struktura - **ekzosporium qavati** bor.

Fiziologik jihatdan prokariotlarning sporalari modda almashinuv faolligi ancha pastligi bilan xarakterlanadi. Ular vegetativ hujayraga nisbatan har xil faktorlarga: yuqori va past temperaturaga, radiatsiyaga, mexanik ta'sirlar va hokazolarga o`ta chidamli bo`ladi.

Sporalarda **dipikolin kislota**si va yuqori miqdorda kaltsiy ionlari topilgan. Ko`pgina batsillalarda spora hosil bo`lishida hujayra shakli o`zgarmaydi. Bu **batsillyar spora hosil qilish tipi Bacillus** avlodi vakillarida kuzatiladi. **Clostridium** avlodiga kiruvchi bakteriyalarda **klostridial va plektridial** xil spora hosil bo`ladi.

Batsillyar spora hosil qilishda endospora hujayraning markazida **ekssentral** ravishda yoki **terminal** joylashadi, bu o`z navbatida bakteriyaning turiga bog`liq bo`ladi. Bu xil spora hosil qilish bilan tanishish uchun uch kunlik pepton agaridagi **Bacillus mycoides** kulturasidan "ezilgan tomchi" usulida preparat tayyorlanadi. Mikroskop ostida kuzatilganda silindrsimon tayoqcha ichida sporalar ko`rinadi.

Bir qator anaerob batsillalarda spora hosil bo`lganda hujayra o`rtasi birmuncha kengayadi va dugsimon shaklga aylanadi. Spora kengaygan qismida joylashadi-markazda yoki birmuncha markazdan chetroqda joylashadi. Bu **klostridial** tipdagi spora hosil qilish bo`lib, ko`pincha klostridium avlodiga kiruvchi bakteriyalarda uchraydi, jumladan, **Cl. pasteurianum** turida. Bu tip spora hosil qilishini kuzatish uchun **Eshbi oziqa** muhitining boyitilgan kulturasidan "ezilgan tomchi" preparati tayyorlab, ko`riladi. Preparat tayyorlash uchun probirka

devoridan material qirib olinadi. Preparatda **dugsimon** ko`rinishdagi hujayralar ichida **yirik yaltiroq sporalar** ko`rinadi.

Uchinchi xil spora hosil qilish - **plektridial spora hosil qilishdir**. Bunda hujayra kengayib, bir tomoni dumaloqlashadi va **baraban tayoqchasiga** yoki **tennis raketkasiga** o`xshab qoladi.

Spora hosil bo`lishining plektridial tipi klostridial tipi singari **Clostridium** avlodining vakillariga xarakterlidir.

Spora hosil bo`lishining bunday tipi bilan tanishish uchun tayyor fiksirlangan va bo`yalgan preparatdan foydalaniladi. Plektridial shakllar anaerob moy kislotali bakteriyalarning (**C. felsineum**) boyitilgan kulturalarida shu bilan birga anaerob ammonifikatsiya qiluvchi batsillalarning (**C. sporogenes** va **C. putrificum**) boyitilgan kulturasida oson aniqlanadi.

Sporalarni bo`yash uchun **Peshkov usulidan** foydalaniladi. Bu usulda sporalar va tsitoplazma qizdirilib, bo`yaladi. Preparat suv bilan yuvilganda, tsitoplazma rangsizlanadi, spora esa bo`yoqni saqlab qoladi. Yog`sizlantirilgan buyum oynasida surtma tayyorlanib, havoda quritiladi alangada fiksirlanadi. So`ngra **Lofflarning** moviy metilen bo`yog`i surtma ustiga qo`yiladi. Buyum oynasi alanga tepasida tutilib, bo`yoq qaynaguncha qizdiriladi. Qurigan bo`yoq o`rniga yana yangisi quyilib turiladi. Shu tarzda 10 - 20 sekund davomida bo`yaladi. Buyum oynasi sovitilgach esa preparat suv bilan yuviladi va 30 sekund davomida 0,5% li **neytral qizil yoki safraninning suvdagi eritmasi** bilan bo`yaladi. Bo`yoq to`kilgach preparat yuvib quritiladi va immersion sistema bilan ko`riladi. To`g`ri bo`yalgan **hujayralar qizil, sporalar ko`k rangda** bo`ladi.

Sporalarning temperaturaga chidamliligini aniqlash uchun quyidagi tajriba o`tkaziladi. 100 ml hajmli kolbaga yo`ng`ichqa yoki xohlagan boshqa bir o`simlikning mayda novdachalari solinadi. Bu o`simlikning ustki qismida har xil mikroorganizmlarning sporalari, shu bilan birga **Bacillus subtilis** - pichan tayoqchasi bor. Unga 50 ml suv solinadi. Kolbani paxta probka bilan yopib, 45 minut qaynatiladi. Qaynatish vaqtida novdadan suvga har xil moddalar chiqadi va pichanli tiniq qaynatma hosil bo`ladi. Qaynatish past olovda olib boriladi. Vaqt qaynash boshlangandan keyin belgilanadi. Keyin tajriba kolbalari bir necha kun 28 - 30<sup>0</sup> li termostatga qo`yiladi. Bu sharoitda pichanli qaynatmadagi temperaturaga chidamli batsillalarning sporalari o`sadi. Hujayralar faol yashab ular parda hosil qiladi, qaynatma biroz loyqalanadi. Tajriba tahlil qilinganda pichanli qaynatma o`zgargani aniqlanadi. Kultural suyuqligi mikroskop ostida ko`riladi.

3.7. Bakteriyalar harakati

Ko`pgina prokariotlarning ustki qavatida hujayralarni harakatlantiruvchi tuzilmalar bor. Bular xivchinlardir. Ular bir qator **tayoqchasimon bakteriyalarda**, ba'zi bir **kokklarda**, **spirillalarda**, **vibrionlarda** va **ipsimon bakteriyalarda** topiladi. Xivchinlarning soni 1 tadan 100 tagacha bo`ladi. Xivchinlarning qalinligi 0,01 nm atrofida, uzunligi 20 mkm gacha etadi. Xivchinlarni yorug`lik mikroskopi ko`rsata olmaydi, shuning uchun ular elektron yoki qorong`i maydonli mikroskopda ko`riladi. Bakteriyalar xivchinlarning soniga va joylanishiga qarab hujayra quyidagi tiplarga bo`linadi:

1. **Monotrixlar** - 1 ta xivchin hujayraning bir qutbida joylashgan;
2. **Lofotrixlar** - xivchinlar to`pi hujayraning bir qutbida joylashgan;
3. **Politrixlar** - (**amfitrixlar**) - xivchinlar to`pi hujayraning har qutbida joylashgan;
4. **Peritrixlar** - ko`p sonli xivchinlar hujayrani butunlay qoplagan;

Bakteriyalarning harakati bilan tanishish uchun quyidagi preparatlar tayyorlanadi:

1. **Pseudomonas** - avlodining vakillarida monotrixial yoki lofotrixial xivchinlar kuzatiladi. Shuning uchun **Pseudomonas sp.** 12 - 18 soatli kulturasidan "ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi. Mikroskop tagida ingichka harakatchan tayoqchalar ko`rinishi kerak. Ularning harakati juda tez, parmasimon va bir tomonga yo`nalgan bo`ladi. Hujayralar aylanma harakat qilmaydi.

2. Xivchinlarning peritrixal joylanishida ularning harakati bir tekisda bo`ladi va tebranma harakatlanadi, aylanma harakatlanishi mumkin. Bunday tipdagi harakatni **Bacillus subtilis** dan tayyorlangan "ezilgan tomchi" preparatlarida ko`rish mumkin.

Xivchinlarni yorug`lik mikroskopida kuzatish uchun maxsus murakkab bo`yash metodlaridan foydalaniladi, bunda xivchin qalinligi kattalashadi. Ularning bir necha bo`yash usullari bor. Bunda har xil ishlov beruvchi moddalaridan foydalaniladi, ular xivchinning ustki qismida cho`kadi va shu sababli diametri oshadi va xivchinlar ko`rinadi

Xivchinlarni Lyoffler usulida bo`yash

Bo`yash uchun 12 - 16 soatli kulturadan foydalaniladi. Hujayralar ilmoq bilan asta olinib, probirkadagi sterillangan suvga solinadi. Tayyorlangan suspenziyadan 3 - 4 kichik yog`sizlantirilgan buyum oynasiga tomiziladi. Tomchilar oynada tez yoyilib, tez qurishi shart. Qurigan surtma yuzasiga protrava quyiladi. Protrava qurib qolmasligi kerak. 15 minut o`tgach protrava distillangan suv bilan yuviladi va preparat 5 minut davomida **Silning suyultirilgan fuksini** bilan surtma eritmaga botirilgan holda bo`yaladi. So`ngra preparat suv bilan yuvilib, quritiladi va immersion tizim bilan ko`riladi. Bunda xivchinlarning joylashishiga, ularning soniga, uzunligiga e`tibor qilinadi.

Adabiyotlar

1. Borisov L.B. Rukovodstvo k laboratornim zanyatiyam po mikrobiologii. M., Meditsina, 1984,
2. Gusev M.B., Mineev L.A. Mikrobiologiya. M.: Izd-vo MGU, 2005, 33-34. S. 62-69.
3. Yegorov N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii. M.: Izd-vo MGU, 1983. S. 59-60.
4. Xoult J. Kratkiy opredelitel bakteriy Bergi. M.: "Mir". 1980, S. 286.
5. Shlegel G. Obshaya mikrobiologiya. M.: "Mir". 1987 S. 72-74.

4. TUPROQ MIKROPEYZAJINI O`RGANISH

Mikroorganizmlarning turli morfologik formalarini bilishda toza kulturalardan tashqari to`g`ridan to`g`ri tabiiy sharoitda kuzatish usullarini ham tatbiq qilsa bo`ladi. Bu usullar qatoriga **Rossi-Xolodniyning** shisha yuzasida o`sish metodi kiradi. Bu usul asosan dala sharoitida qo`llaniladi, ammo uni laboratoriya sharoitida ham bajarish mumkin. Buning uchun quyidagilar kerak bo`ladi: tuproq namunasi, chinni likopcha, tuproq namunalari olish uchun texnik tarozi, shpatel, pinset, havoncha, 1 - 2 mm li g`alvir, kolbada sterillangan suv, 2 ta buyum oynasi.

O`rganilayotgan tuproqdan 230-250 grami havonchaga solinadi, pinset bilan mexanik aralashmalar olib tashlanadi. Tuproqni tarqatib yubormasdan asta maydalab, g`alvirdan o`tkaziladi. So`ng suv bilan namlanadi (to`la namlikdan 60% gacha bo`lishi kerak). **To`la namlik hajmi deb, tuproq to`yinganda saqlanib qoladigan suvning miqdoriga aytiladi.** Masalan, 100 g bo`z tuproq 37 g gacha suvni o`zida saqlab qoladi. Buni to`la namlik hajmining 100% deb qabul qilinadi. To`la namlikdan 60% esa quyidagi formula bo`yicha aniqlanadi:

$$x = \frac{60\% \times 37}{100\%} = 22,2 \text{ ml}$$

Agar 250 gr tuproq olinsa, nazariya bo`yicha 60% namlik hosil qilish uchun 55,5 ml suv qo`shilishi lozim. Amalda tuproqni namlash asta-sekin bo`ladi. Bunda butun yuzani 10 ml suv

tomizib namlanadi, so`ngra 5 ml dan tomiziladi. Har bir namlashdan keyin tuproqni yaxshilab chinni belkurakcha bilan yoki shpatel bilan aralashtiriladi. Tuproqning namligi shunday holatda bo`lishi kerakki, unda uning tashqi ko`rinishi mayda qumoq-qumoq, yaxshi strukturalangan, yumshoq va nam bo`ladi. Bunday tuproqqa, odatda, o`simlik urug`i ekiladi. Tayyorlangan tuproq Kox likopchasiga solinadi va unga pinset yordamida 2 ta buyum oyna tik joylashtiriladi, uzun tomoni bilan pastga qaratiladi. Oynachalar oralig`i 2 - 2,5 sm, tuproq esa ularga zich yopishgan bo`lishi kerak. Kox likopchasini qopqoq bilan bekitib, ustiga kim tomonidan va qachon bajarilganligi yozib qo`yiladi. Kox likopchasining tuproq va oynachalar bilan birga og`irligini aniqlab, xona haroratida qalpoq tagiga qo`yiladi. Daftarga yoki albomga tuproqning og`irligi, tuproqning qisqa tavsifi yoziladi. Oynachalar tuproqda 3 hafta saqlanadi. Bu orada har hafta likopcha og`irligi o`lchanib, tuproq holatiga qarab suv bilan namlanadi. Shu orada, ya'ni oynachalar tuproqda turganda, ularning usti tuproq kolloidlari bilan qoplanadi. Buning hisobiga mikroorganizmlar ko`payadi. Natijada oynachalarni tuproq bakteriyalari, zamburug` va boshqa organizmlar o`sib qoplaydi. 3 hafta o`tgach, tuproq Kox likopchalaridan toza yaltiroq qog`ozning varag`iga olinadi. Ehtiyotkorlik bilan pinset yordamida, ustini qirqib yubormasdan oynachalar olinadi, yopishib qolgan tuproq qoldiqlaridan silkitib olinadi. Bitta oynaning yuzi surtma sifatida foydalaniladi, ikkinchisi esa tuproq qoldiqlaridan tozalanadi. Surtmani flambirlab fiksirlanadi, sovutiladi va uzoq vaqt nordon karbolli eritrozin bilan engil isitilib bo`yaladi. Shuningdek genitsian-violet bilan 2-3 min bo`yalganda ham yaxshi natija beradi. Bo`yalgandan keyin preparat yuviladi. Quritiladi va mikroskopda kamida 10 ta ko`rish maydoni ko`riladi. Bunda mikroorganizmlarning turli-tuman shakllariga, ularning o`zaro bog`lanish xususiyatiga, bakteriyalarning zamburug` gifalari ustida hosil qilgan to`plamlari va shu kabilar tabiiy holatda kuzatiladi. Hamma kuzatishlar albomda 10 -12 ta rasmda tasvirlanadi.

Adabiyotlar

1. Zvyaginsev D.G. Metodi pochvennoy mikrobiologii i bioximii. M.: Izd-vo MGU, S. 26-27.
2. Krasilnikov N.A. Metodi izucheniya pochvennix mikroorganizmov i ix metoboliti. M.: Izd-vo MGU, 1960. S. 30-31.

5. HAVO MIKROORGANIZMLARI

Havo turli - tuman mikroorganizmlarga boy tabiiy muhitdir. Ularni aniqlash uchun har xil, oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi. Oddiy usullarga **Koxning "cho`kish" usuli** kiradi. Bu usul bo`yicha qattiq ozuqa muhitli Petri likopchasi 5 minut davomida ma'lum xonada - o`quv auditoriyasida, koridorda, oshxonada, ochiq havoda va boshqa joylarda ochiladi. Bu muddat ichida mikroorganizm hujayralari ozuqa muhiti ustiga tushadi. Petri likopchasining qopqog`i yopiladi va qopqoq ustiga kim, qachon, qaerda tajriba o`tkazganligi yozib qo`yiladi. So`ng termostatda 28-30<sup>0</sup> S da o`stiriladi va 7 kundan keyin tahlil qilinadi.

Qulay sharoitda ozuqa muhitga tushgan hujayralar ko`payadi va ko`zga ko`rinuvchi to`plamlar - **koloniyalar** hosil qiladi. Har bir koloniya bir hujayradan hosil bo`lgan deb hisoblaniladi.

Mikroorganizmlarning koloniyalari shakllari, rangi, kattaligi, konsistensiyasi, optik xususiyatiga ko`ra turli tumandir. Havo mikroorganizmlarini tahlil qilish vaqtida, avvalo, koloniyalarning umumiy soni hisoblanadi va uning asosida havoning tarkibiy mikrob soni **Omelanskiy tenglamasi** bo`yicha aniqlanadi:

$$x = \frac{a \cdot 100 \cdot 1000 \cdot 5}{S \cdot 10 \cdot t}$$

bunda:

x - 1 m³havodagi mikroblar soni,

a - likopchadagi koloniyalar soni,
 S - likopcha yuzi, sm² (78,5),
 t - vaqt, likopcha qancha ochiq turgan vaqti, min.,
 5 - Omelanskiy hisobi bo'yicha belgilangan vaqt,
 10 - 5 min davomida hujayrada o'tirib qolgan havo hajmi, litr hisobida,
 100 - cho'kish yuz bergan yuza, sm² hisobida,
 1000 - tekshiriladigan havo hajmi, litr hisobida

Olingan natijalar jadval bilan solishtirilib havoning tozaligi belgilanadi.

Havo tozaligining bakteriologik ko'rsatkichi
 (G.N. Chistovich bo'yicha, 1968)

Xonalar	Mikrob soni
Jarrohlik xonasining holati:	
Ishdan oldingi	500 gacha
Jarrohlik tugagandan so'ng	1000 gacha
Tug'ruqxona	1500 dan ko'p bo'lishi mumkin emas
Yangi tug'ilgan chaqaloqlar xonasi	—“—
Kasalxonalarning havosi	
yozda	3500 dan kam
qishda	5000 dan kam
Turar joylar havosi:	
yozda	1500 gacha
qishda	4500 gacha

Tajribadan so'ng differensial hisob o'tkaziladi va o'sib chiqqan mikroorganizmlar: zamburug', bakteriyalar tasvirlanadi, eng xarakterli bakteriya koloniyalaridan (pushti, sariq, rangsiz) "ezilgan tomchi" usulida preparatlar tayyorlab, mikroskopda ko'riladi. Kuzatishlar ko'rsatadiki, ko'pincha havoda turli sharsimon: pigmentli mikrokokklar, sarsinalar va boshqalar uchraydi.

Adabiyotlar

1. Borisov L.B. Rukovodstvo k laboratornim zanyatiyam po mikrobiologii. M., Meditsina, 1984, S. 85.
2. Zikov M.N. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii, immunologii i virusologii. M., Meditsina, 1977, S. 82-85.
3. Omelyanskiy V.L. Prakticheskoye rukovodstvo po mikrobiologii. M. -L.: Izd-vo AN SSSR. 1940. S. 322-324.

6. BA'ZI OZIQ-OVQAT MIKROORGANIZMLARI

6.1. Sutdagi mikroorganizmlar

Sut mikroorganizmlar uchun yaxshi muhitdir. Uning tarkibida oqsillar, pepton, erkin aminokislotalar, sut yog'i, sut qandi, vitaminlar (**A**, **D**, **E**, **C**, **PP** va **B** guruhi) mavjud. Shuning uchun mikroorganizmlar sutda tez ko'payib, uning sifatini o'zgartiradi. Sutda **mikrokokklar**, **sut kislotali bakteriyalar**, **streptokokklar**, **sarsinalar**, ifloslangan sutda esa ichak tayoqchasi

guruhi bakteriyalari, moy **kislotali bakteriyalar** uchraydi. Sutning mikrobiologik tadqiqotida bakteriyalarning umumiy soni, **ichak tayoqchasi titri** aniqlanadi hamda **reduktazaga sifat belgisi** analizi o'tkaziladi. Reduktaza miqdori sutda mikroorganizmlar ko'paygan sari ortib boradi. Reduktazaning bor-yo'qligi **moviy metilen yoki rezazurin bo'yoqlari rangsizlanishiga ko'ra aniqlanadi**. **Moviy metilen** bilan reduktaza analizini o'tkazish uchun bo'yoq sutga qo'shiladi. Bunda sut ko'k rangga bo'yaladi. Agar sutda reduktaza bo'lsa, u sutni rangsizlantiradi. Yangi sog'ilgan sut juda kech rangsizlanadi. Turib qolgan sut esa tez rangsizlanadi. Rangsizlanish tezligiga ko'ra unda mikroorganizmlar soni va sutning ifloslanish darajasi aniqlanadi. Analiz o'tkazish uchun namuna 50 ml miqdorida yaxshi aralashtirilgan sutdan olinadi, sterillangan idishga solinib, sterillangan paxta tiqin bilan yopiladi. Toza probirkaga 1 ml **moviy metilen** bo'yog'i quyilib, unga 20 ml 38-40⁰S gacha qizdirilgan sutdan quyiladi. Aralashtirilgach, probirka 38 - 40⁰S li termostatga qo'yiladi va rangsizlantirilishi nazorat qilinadi. Nazorat vaqti 20 minut; 2 soat; 5,5 soat. Rangsizlanish vaqtiga ko'ra sutlar 4 sinfga bulinadi:

	1	2	3	4
Rangsizlanish vaqti (soat)	5,5	5,5-2	2-0,5	20 min
Bakteriyalarning taxminiy miqdori, mln	0,5	0,5-4	4-20	20 min
Sutning sifati	yaxshi	o'rtacha	yomon	juda yomon

6.2. Go'shtning mikrobiologik tadqiqoti

Yangi so'yilgan mol go'shtida mikroorganizmlar deyarli bo'lmaydi. Kasal molning go'shtida aerob va anaerob mikroorganizmlar uchraydi. Go'shtning yuzasiga tushgan bakteriyalar asta-sekin uning ichiga o'tadi. O'tish tezligi haroratga va mikroorganizmlar turiga bog'liq. Go'sht mikroorganizmlar ko'payishi uchun qulay haroratda saqlangan holda turli mikrobiologik jarayonlar o'tadi. Taxminan, 3 - 4 kundan so'ng go'shtning ichki qatlamlarida anaeroblar ham ko'payadi.

Sifatiga ko'ra go'sht **yaxshi, juda yaxshi bo'lmagan va iste'molga yaramaydigan** turlarga ajratiladi. Go'shtning sifatini aniqlash uchun ikki xil sortdagi go'sht olinadi: yangi so'yilgan va yangi bo'lmagan go'sht. Ularning yuzasi va ichki qatlamidan sterillangan qaychi bilan 0,5 - 1 grammlari namuna kesib olinadi va buyum oynasiga ulardan nusxa olinadi. Nuxsalar havoda quritilib, **spirt (etanol) va efir** aralashmasi bilan fiksirlanadi, **fuksin** bilan bo'yaladi va mikroskopda ko'riladi. Bunda mikroorganizmlarning soni va shakli nazorat qilinadi.

Yangi so'yilgan go'shtda, odatda, mikroorganizmlar deyarli uchramaydi. Yangi bo'lmagan go'shtda, odatda, mikroorganizmlar soni o'nlab bo'ladi. **Aeroblardan - Bacillus subtilis, Bacillus mycoides, fakultativ anaeroblardan - Proteus vulgaris, anaeroblardan - Clostridium putrificus, Clostridium sporogeneslar.**

7. MIKROORGANIZMLARNI O'STIRISH USULLARI

7.1. Aseptika texnikasining qoidalari

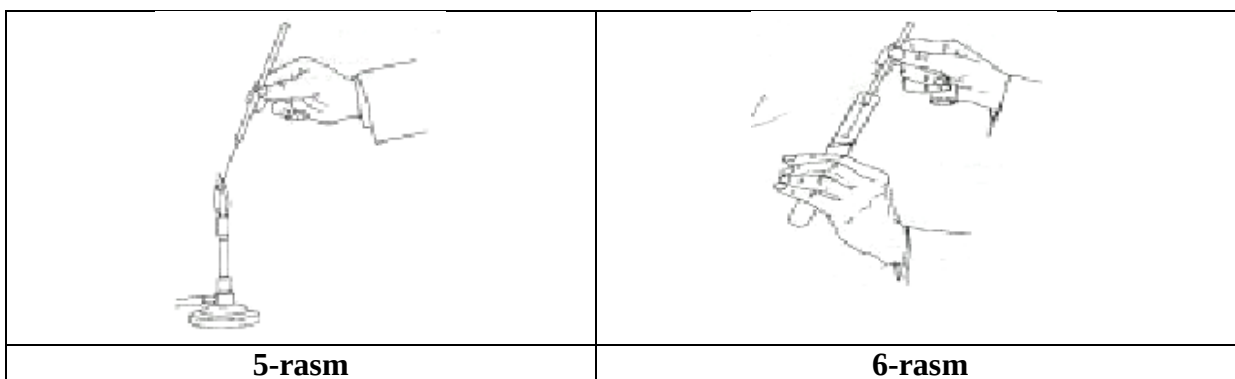
Tirik mikroorganizmlar populyatsiyasiga kultura deyiladi. Laboratoriyada kulturalar turli shaklda bo'ladi; suyuq muhitlarda, agarli "**kosyak**"larda, Petri likopchalaridagi qattiq muhitlarda. **Mikroorganizmlar kulturesi faqat bir turdan iborat bo'lsa, u sof kultura**

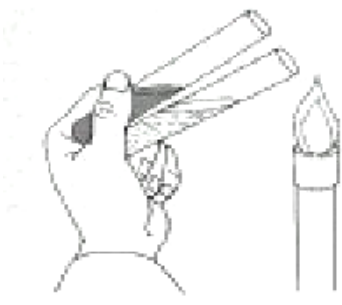
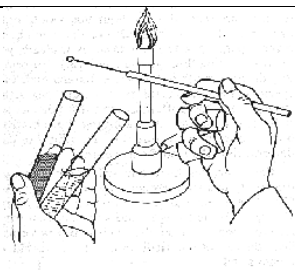
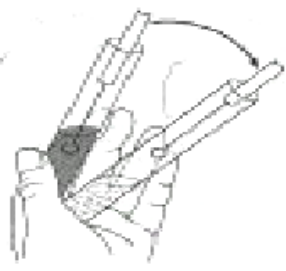
deyiladi. Mikrobiologlar deyarli hamma vaqt sof kulturalar bilan ish tutadilar. Agar kultura bittadan ortiq mikroorganizmlar turini tutsa, u kultura **aralash yoki iflos** deyiladi. Shuning uchun sof kulturalarni tozaligini saqlash mikrobiologlarning asosiy vazifalaridandir, chunki aks holda tadqiqotlarda olingan natijalar to'g'ri bo'lmaydi. Mikroorganizmlar keng tarqalganligi tufayli ularni sof kulturalarga tushmasligini ta'minlash uchun choralar ko'rish muhim, ya'ni **aseptika texnikasiga amal qilish** lozim. Demak, aseptika texnikasiga ko'ra, mikroorganizmlar sterillangan oziqa muhitida o'stiriladi va bu muhitni atrofda mikroorganizmlar tushmasligidan saqlash kerak. Sof kultura oziqa muhitga ekilganda qo'yidagi aseptika texnikasi qoidalariga amal qilinadi:

- 1) sof kulturaga tegishi mumkin bo'lgan barcha narsalar oldindan sterillanadi;
- 2) oziqli muhit sterillanadi;
- 3) ekish va qayta ekish vaqtlarida kultura ifloslanishidan saqlanishi uchun ehtiyot qilinadi; Buning uchun quyidagi choralar amalga oshiriladi:
 - a) barcha idish va oziqli muhitlar tayyor bo'lishi bilan darhol sterillanadi;
 - b) havodagi mikroblar tushmasligi uchun oziqli muhitlar yopiq idishlarda saqlanadi. Bunda paxta va dokadan tayyorlangan tiqinlardan foydalaniladi, va ular faqat ekish vaqtida olib turiladi, lekin hech qachon stol yoki boshqa vositalarga qo'yilmaydi.
 - v) sterillangan idishlarni ichki va ulardagi steril oziqli muhitlarga hamda sof kulturalarga tegishi mumkin bo'lgan barcha vositalar avvaldan sterillanadi, masalan, bakteriologik ilmoq;
 - g) ekish va qayta ekish vaqtida ishlatiladigan probirka va kolbalarni og'zi ishdan oldin flambirlanadi va iloji boricha kam vaqt davomida ochiq holda qoldiriladi.
 - d) Ish joyini mikroorganizmlar bilan ifloslanishdan saqlash lozim, ilmoqlar ishlatilgandan so'ng ham sterillanadi, pipetkalar esa dezinfeksion suyuqliklarga solinib qo'yiladi.

Laboratoriya sharoitida probirkadagi suyuq muhitdan boshqa probirkadagi muhitga ekish, yoki Petri likopchasidagi agarli qattiq muhitga ekish kabi ishlar tez-tez amalga oshirib turiladi. Talabalar bunday mashg'ulotlarni bajarib, aseptika texnikasi qoidalarini amalda qo'llanishini o'rganishlari lozim. Probirkadan probirkaga ekishda qo'yidagi ishlar bajariladi:

1. Marker yordamida ekiladigan probirkalarga talabani nomi, guruhining raqami yoziladi.
2. Ilmoq alanganing yuqori qismida cho'g' holatigacha flambirlanadi, 10 daqiqa davomida sovutiladi, lekin stolga qo'yilmaydi (5 – 10 rasmlar).



	
7-rasm	8-rasm
	
9-rasm	10-rasm

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

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

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

6. Bo'sh qo'l bilan ekiladigan probirka olinadi va yuqoridagiday ochilib, og'zi steril qizdiriladi.

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

8. Ilmoqdagi tomchilarni probirkani ichida qoldirish uchun ilmoq probirkani ichiga, suyuqlik tugagan joyiga tegiziladi.

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

10. Ilmoq cho'g' holatigacha qizdiriladi.

Probirkadan Petri likopchasiga ekishda qo'yidagi ishlar amalga oshiriladi.:

1. Petri likopchasining ustiga marker yordamida talabaning ismi, guruhining nomeri, sana yoziladi.

2. Yuqorida aytilganday, probirkadan ilmoq bilan kultura solinadi.

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

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

5. Petri likopchasi yopiladi.

6. Ilmoq flambirlanadi va joyiga qo'yiladi.

Ekmalar 28⁰S da keyingi darsgacha o'stiriladi.

7.2. Sterillash usullari

Sterillash (lotincha sterilis - naslsiz) fizik va kimyoviy usullar yordamida mikroorganizmlarni o'ldirishdir.

Mikrobiologiya amaliyotida sterillash eng asosiy va zarur usullardan biridir. U faqat sterillanayotgan obyektning sirtidagi mikroorganizmlarni o'ldiribgina qolmay, balki obyekt ichidagi mikroorganizmlarni ham o'ldiradi. Oziqli muhitlar, idishlar, har xil asboblarda va boshqa narsalar sterillanadi. Klinik va profilaktik tibbiyot uchun sterillashning ahamiyati katta. Mikroorganizmlarni o'ldirish oziq moddalarni **konservalash**ning asosidir.

Mikrobiologiya amaliyotida shisha idishlar (Petri likopchasi, kolba, pipetka, probirkalar) oziqli muhitlar, asboblarda va boshqa materiallar (masalan: qog'oz, paxta, doka va boshqalar) sterillanadi.

Sterillanadigan material mikroorganizmlar qayta tushmasligi uchun sterillashdan oldin quyidagicha ma'lum bir usul bilan himoyalanaadi. Petri likopchalari ayrim-ayrim qilib yoki 2-5 tagacha qog'ozga o'raladi, probirka va kolbalarni og'zi paxta dokali tiqin va qog'oz qopqoqlar bilan yopiladi. Pipetkaning uchi paxta tiqini bilan bekitiladi, qog'oz lentalar (kalka va shunga o'xshash) bilan o'raladi, bir nechtasini birlashtirib, bitta qog'ozga yoki, maxsus metall penallarga solib sterillanadi. Probirkalar 10-20 tadan qilib bitta qog'ozga o'raladi. Sterillashda har xil o'lcham va shakldagi (dumaloq yoki kvadrat) metall qutichalar keng ishlatiladi.

Kulturani ekishda Petri likopchalariga oziqa muhitini quyganda va boshqa ishlardagi kulturalarga mikroorganizmlar tushib qolmasligi uchun xona, kiyim va atrofdagi narsalar toza bo'lishi shart. Mikrobiologik ekishlarni shunday sharoitda olib borish zarurki, bu kulturalarning tashqi muhitdan zararlanmasligi lozim, ya'ni aseptik sharoit yaratish lozim.

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

Sterillash usuli asosan 2 guruhga bo'linadi:

1. **Issiq sterillash.**
2. **Sovuq sterillash**

7.2.1. Issiq sterillash usullari

Haroratni maksimumdan oshirish mikroorganizmlarga kuchli ta'sir qiladi, ko'pgina sterillash usullari yuqori haroratga asoslangan. Yuqori haroratga turli mikroblarning chidamliligi har xildir. Issiq yoki termik sterillashda buni esdan chiqarmaslik zarur. Termik sterillashning bir qancha turi ma'lum:

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

b) **Quruq issiq - ta'sirida sterillash** maxsus sterillagichlarda yoki quritish shkaflarida amalga oshiriladi. Quritish shkaflari to'g'riburchakli yoki dumaloq shaklda bo'ladi va yonmaydigan materiallardan - metall va asbestdan qilinadi. Shkafning ichida tokchalar bo'lib: unga sterillanayotgan material qo'yiladi, tepa qismidagi oraliqqa shkafning ichidagi haroratni o'lchaydigan termometr joylashtiriladi. Termometrning simobli sharsimon qismi shkafning ichida bo'lishi va shkafga tegmasligi lozim. Quritish shkafida sterillash paytida harorat nazoratda bo'lishi lozim, chunki u pasayib ketsa, sterillash amalga oshmaydi. Harorat 175° dan oshganda qog'oz probkalar qorayadi va maydalanadi. Quritish shkafining sterillash rejimi 165-175° da material ikki soat davomida tutib turiladi. Sterillash tugaganda, shkaf ichidagi harorat 70-100° gacha pasayganda shkaf ochiladi, aks holda ichki va tashqi haroratning farqi

shishalarning darz ketishiga sabab bo'ladi. Quruq issiq yordamida shisha idishlar, asboblari, qog'oz, paxta va boshqa issiqqa bardoshli materiallar sterilanadi. Bu usul oziqli muhitlarni sterillash uchun yaroqsiz, chunki ular yuqori harorat ta'sirida buziladi. Ularni sterillash asosan me'yoridagi yoki yuqori bosimli qaynab turgan suv bug'ida amalga oshiriladi.

v) **Qaynatish** - ayrim buyumlar (metall asboblari, filtrli membranalar) ba'zan distillangan suvda uzoq qaynatish davomida sterilanadi. Mikrobiologik amaliyotda bu usul kam ishlatiladi, chunki uzoq qaynatib olinadigan materialga putur etkazishi mumkin, kam vaqtda esa material to'liq sterilanmaydi, chunki ayrim mikroorganizmlarning sporalari qaynatishdan keyin ham bir necha soat yashaydi.

g) **O'tuvchi bug'lanish** - bu usulda sterillash me'yoridagi bosimda Kox apparatida amalga oshiriladi. Kox apparati-metall silindr bo'lib, issiqni saqlovchi tashqi qobiqqa ega. Silindrning ichiga, taglik ustiga g'alvirsimon chelak qo'yiladi, uning tagida suv qaynaydi. Chelakka sterilanadigan material qo'yiladi, tsilindr teshikli qopqoq bilan yopiladi, bu teshikdan qaynatish davomida bug' chiqadi. Kox apparati isitgich ustiga qo'yiladi (gaz gorelkasi, elektr plita va boshqalar). Qopqoq teshigidan bug' chiqq boshlaganda sterillash vaqti belgilanadi. Bu usulda maxsus tartibga amal qilinadi- 3 kun davomida 30 minutdan. Birinchi kunda bug' harorati 100⁰S etganda issiqqa sezgir bo'lgan yoki vegetativ hujayralar nobud bo'ladi, sporalar saqlanadi. 24 soatda (bir sutkada) sporalar o'sib vegetativ hujayralarga aylanadi va ertasi kuni sterillash paytida nobud bo'ladi. Sterillash to'liq bo'lishi uchun uchinchi marta takrorlanadi. Ayrim oziqli muhitlar bug' yordamida sterilanadi, chunki ular yuqori haroratga chidamsiz bo'ladi.

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

Sterillash rejimi quyidagicha:

60-75⁰C da – 15 - 30 minut;

80⁰C da - 10 minut;

90⁰C gacha qizdirib, shu zahotiyoq sovutiladi.

Bu usuldan oziq-ovqat sanoatida keng foydalaniladi. Bu usul qaynatilganda ta'mini va oziqli sifatlarini yo'qotuvchi oziq-ovqat turlari, ya'ni sut, meva sharbatlari, vino, pivo uchun ma'quldir.

e) **Avtoklavda bosim ostida to'yingan bug' yordamida sterillash** (avtoklavlash). Bu usuldan keng foydalaniladi, xususan tibbiyot va mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladi. Avtoklavlash asosan materiallarni termik kamerada, atmosfera bosimi yuqori bo'lgan to'yingan bug' yordamida qizdirishga asoslangan. Avtoklav 3 silindrdan iborat qalin devorli qozon bo'lib, yuqori bosimga chidaydi. Tashqi silindr - qobig'i temirdan ishlangan bo'lib, bug' qozonini har hil zararlardan va avtoklav oldida ishlovchilarni kuyishdan himoyalaydi. Avtoklavning oyoqchalari uni poldan yuqoriga ko'tarib turadi. Avtoklavning eng asosiy qismi - bug' kamerasidir. U yuqori bosimga dosh beradi. Bug' kamerasi ichida sterillash kamerasi o'rnatilgan bo'lib, uning ichiga sterilanadigan material joylashtiriladi. Sterillash kamerasining ustidagi teshik orqali maxsus jo'mrak yordamida bug' kamerasiga bug' o'tadi. Avtoklavning pastki qismida ham jo'mrak bo'lib, u sterillash kamerasini tashqi muhit bilan birlashtirib turadi. Avtoklav germetik holatga kelishi uchun qopqoq yaxshilab yopiladi, metall vintlar buraladi.

Sterillash oldidan avtoklavga voronka yordamida distillangan suv quyiladi. Avtomat avtoklavlar asosan 2 ta manometrga ega bo'lib, ulardan biri suv - bug' kamerasi, boshqasi - sterillash kamerasiga bog'liqdir. Sterillash kamerasiga sterilanadigan material joylashtiriladi, bunda bug' kameraning hamma qismlarga erkin o'tishi lozim. Avtoklav qopqog'i yopiladi va jo'mrak ochiladi, bu sterillash kamerasini tashqi havo bilan bog'lab turadigan jo'mrakdir. Suv bug' kamerasidan sterillash kamerasiga bug'ni o'tkazib turuvchi jo'mrak yopiqdir. Avtoklav elektr tokka ulanadi. Suv bug' kamerasida qaynaydi, bug' hosil bo'ladi, bosim oshadi. Suv-bug' kamerasidagi bosim ma'lum chegaraga (bir atmosfera) yetganda, jo'mrak ochiladi va

bug` sterillash kamerasiga o`tdi. Avtoklavning pastki qismidagi ochiq jo`mrak orqali chiqqan bug` sterillash kamerasidagi havoni siqib chiqarishi lozim. Avtoklavdan havoning siqib chiqarilishining kerakligi shundaki: bug` bilan havo aralashmasiga qaraganda to`yingan bug` bakteriyalarga kuchli ta'sir qiladi va bir xil bosimda bug` va havo aralashmasining harorati bug` haroratidan past bo`ladi. Sterillash kamerasida bosim yetarli miqdorga yetganda, sterillashning boshlanish vaqti belgilanadi va 35-40 minut sterillanadi. Bosim avtomatik ravishda bir miqdorda ushlanadi. Bosim ortishi bilan avtoklav ichidagi qaynab turgan suv bug`ining harorati ham oshadi:

bosim 0,5 atm. - temperatura 112⁰C;

-"- 1,0 atm. - "-" 121⁰C;

-"- 2,0 atm. - "-" 132⁰C;

Bosim 0,5 atm. bo`lganda qand tutuvchi oziqli muhitlar, sharbatlar, sutlar sterillanadi. Oziqli muhitlar, idishlar va boshqa materiallar bosim 1 atm. bo`lganda sterillanadi. Tuproq bosim 2 atm. bo`lganda sterillanadi. Sterillash tugagandan keyin suv - bug` kamerasini sterillash kamerasi bilan bog`lab turgan jo`mrak yopiladi va sterillash kamerasini tashqi havo bilan tutashtiruvchi jo`mrak ehtiyotkorlik bilan ochiladi. Jo`mrakning tez ochilishi bosimning pasayishiga olib keladi, natijada suyuqlik qaynaydi, kolbalardan oziqli muhit tiqinni olib yuborishiga va sterillashning buzilishiga olib keladi.

7.2.2. Sovuq sterillash usullari

1) Filtrli sterillash.

Filtrli sterillash mikrobiologiya amaliyotida keng qo`llaniladi. Asosan, substratlar qizdirishga chiday olmaganda: termolabil oqsillar, vitamin, shakar va ayrim antibiotiklarni tutuvchi oziqli muhitlar, uchuvchi moddalar, masalan: uglevodorodlar va boshqalarga ishlatiladi. Filtrlashda kultural suyuqliklar mikroorganizmlarning hujayralaridan tozalanadi, bunda modda almashinuv mahsulotlari o`zgarmagan holda saqlanadi. Suyuqliklarni filtrlashda ular maxsus mayda teshikli filtrlardan o`tkaziladi. Mikroorganizmlar mexanik ravishda filtrda tutib qolinadi, yana mikroorganizmlar adsorbtsiya bo`ladi, chunki ko`pchilik suvli suspenziyalik mikroorganizmlarda elektr zaryadi bo`ladi. Filtr va idishlar oldindan sterillanadi. Filtrlash bakterial filtr orqali bo`ladi va nasos yordamida o`tkaziladi. Bakterial filtrlar har xil materiallardan tayyorlanadi. Ular teshiklarning shakli va diametri bilan farqlanadi. Ayrim paytlarda filtrlarni har xil nomerlar bilan belgilab ishlab chiqiladi.

Zeytts filtrlari - ular qalin disklar bo`lib, asbest va selluloza aralashmasidan ishlab chiqiladi. Filtr zanglamaydigan maxsus tutqichga solinadi, u Bunzen kolbasi bilan bog`lanadi.

Shamberlan shamlari - ma'lum teshikli farfor filtrlar, sham shaklida bo`lib, bir uchida teshik bor. Filtrlash paytida suyuqlik Bunzen kolbasida yig`iladi. Bunzen kolbasiga shamlar rezina tiqin yordamida o`rnatiladi. Dag`al chinni filtrlar ishlatishdan oldin tekshiriladi, hamma mikroorganizmlar yoki ma'lum o`lchamdagi mikroorganizmlarni ushlab qoladigan ma'lum teshiklilari olinadi.

Shishadan qilingan filtrlar. Sterillashda foydalaniladigan shishali filtrlar qo`sh qavat disklar ko`rinishida bo`lib, "Pireks" shisha parchalaridan eritib yasaladi. Pastki qismi teshikli bo`lib, teshiklar 15-40 mkmdir. Uning tepasida bakteriya o`tkazmaydigan yuqori qavat joylashgan. U kichik teshikli plastinkadan iborat bo`lib, teshiklarga ko`ra 3 turga bo`linadi.

Membranali filtrlar diametri 35mm, qalinligi 0,1 mm bo`lgan disklar bo`lib, ular nitroselluloza asosida ishlab chiqilgan. Teshiklarning o`lchamiga ko`ra ular 1-5 raqamli bo`ladi. Membranali filtrlarning teshiklari kichik bo`lganligi uchun mikroorganizmlarni tutib qoladi. Bunda adsorbtsiya unchalik ahamiyatga ega emas.

2) **Ultrabinafsha nurlar.** Ayrim paytlarda sterillash ultrabinafsha (UB) nurlar yordamida amalga oshiriladi, masalan, sentrifuga probirkalar, ular termolabil plastmassadan qilinadi. Laboratoriya bokslari, operatsiya xonalari UB nurlar yordamida sterillanadi. Bunda maxsus kvarts chiroqlaridan foydalaniladi, eng samarali nurning to`lqin uzunligi 260 nm. UB

nurlar berish vaqti tajriba asosida belgilanadi. Gamma nurlar ham sterillashda samaralidir. Nurlanish universal kobalt qurilmasida amalga oshiriladi.

3) **Gazli sterillash.**

Ular turli gaz aralashmasi yordamida maxsus germetik yopiladigan apparatlarda olib boriladi. Eng samarali aralashma etilen oksidi va metil bromiddir (OB aralashmasi). Og'irligi 1:1, 4:4 nisbatda bo'ladi. Ko'p vaqtlarda gazli sterillash yuqori haroratda (45-70⁰S gacha) 24 soat davomida olib boriladi. Bunda gazning konsentratsiyasi, bosimi, namlik, harorat, davomiylik nazorat ostida bo'ladi. Sterillanish tamom bo'lgandan so'ng gaz kameradan chiqariladi va tozalangan havo bilan to'ldiriladi. Gaz yordamida sterillangan buyumlar 24 soatdan keyin ishlatilishi mumkin.

4) **Dezinfeksiya.** Sterillash usullaridan tashqari, dezinfeksiyadan ham foydalaniladi. Bunda kassalik tug'diruvchi mikroorganizmlar, spora hosil qilmaydigan ko'pgina patogen mikroorganizmlar zararsiz holga keltiriladi. Odam yoki xona va kiyim dezinfeksiya qilinadi. Dezinfeksiyada har xil kimyoviy moddalar, uchuvchan va uchmaydigan - **lizol, fenol, formaldegid, xloroform, xloramin, spirt, vodorod peroksid, kaliy permanganat** va boshqalar ishlatiladi.

7.3. Oziqli muhitlar

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

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

Tarkibi bo'yicha oziqli muhitlar tabiiy, tarkibi ma'lum bo'lmagan va sintetik ma'lum bir kimyoviy moddalarni o'z tarkibida ushlaydigan muhitlarga bo'linadi. Hayvon va o'simlik muhitlardan tuzilgan oziqli muhitni tabiiy oziqli muhit deyiladi. Bu sut, tovuq tuxumining qaynagan oqsilining bir qismi, qon zardobi, sabzavot, mevalar va ularning qaynatmalari, go'shtning qaynatmasi va gidrolizati, baliq va achitqilardir. Laboratoriya sharoitida tabiiy muhitlar qatorida go'sht - pepton bulyoni va go'sht pepton agari keng qo'llaniladi, yana uzum va solod suslosidan keng foydalaniladi.

Sintetik oziqli muhit tarkibiga ma'lum bir miqdorda, ma'lum kimyoviy tarkibli aralashmalar kiradi. Mikroorganizmlarning modda almashinuvi, fiziologiyasi, bioximiyasini o'rganishda sintetik oziqli muhitlar keng ishlatiladi.

S.H. Vinogradskiy elektiv (saylanma) muhitlar degan usulni amaliyotga kiritdi. Ular fiziologik xususiyati bir xil bo'lgan bir guruh yoki biror tur mikroorganizmning o'sishiga qulay sharoit yaratadi. Bu muhitlar mualliflarni nomi bilan ataladi va mikroorganizmlarning tabiiy yashash joyidan ajratib olish uchun qo'llaniladi. Masalan, **elektiv oziqli muhitlar** yordamida tuproqdan azotning har xil formalari va ayrim uglerod formalari almashinuvida ishtirok etuvchi asosiy agronomik mikroorganizm guruhlari ajratib olinadi. Molekular azotni bog'lovchi mikroorganizmlar Eshbi muhitida yahshi rivojlanadi. Bunda ozuqa muhit tarkibidan azotli moddalar olib tashlanadi. Agar bu muhitga tuproq eksak, unda hamma mikroorganizmlar orasidan birinchi bo'lib, molekular azotni assimillatsiya qiladigan shakllari rivojlanadi. Boshqa mikroorganizmlar ham shu muhitga tushadi, lekin azotli moddalar bo'lmaganligi tufayli ularning rivojlanishiga imkon bo'lmaydi.

7.4. Mikroorganizmlarning boyitilgan kulturasini olish

Mikroorganizmlarning boyitilgan kulturasini olish uchun tuproq yoki substrat quyidagi oziqli muhitlarga ekiladi:

1) **Pepton buloni** - organik azotni (oqsilni) ammiakgacha parchalaydigan mikroorganizmlar (ammonifikatorlar) uchun. Muhit tarkibi: 1litr vodoprovod suvi pepton - 10g. NaCl - 5g, Na₂HCO₃ - 0,1g.

2) **Vinogradskiy muhiti** - nitrifikatorlar uchun, ular ammiakni azot oksidi va keyinchalik azot kislotagacha oksidlaydi:

NH₃ → NO₂ → NO₃. Ular avtotrof, shuning uchun organik uglerod manbai oziqli muhitga kiritilmaydi. U mineral tuzlardan tayyorlanadi: (1 litr distillangan suvda, g: (NH₄)₂SO₄ - 2; K₂HPO₄ - 1; Mg SO₄ x 7H₂O - 0,5; NaCl - 2; FeSO₄ - 0,4; CaCO₃ - 10).

3) **Giltay muhiti** - denitrifikatorlar uchun, ular azot kislotasini molekular azotgacha qaytaradi: NO₃ → N₂ (1 litr distillangan suvda, g/l natriy sitrati - 2,5; KNO₃ -2; pepton- 1; KH₂PO₄ -2; MgSO₄ x 7H₂O -2; CaCl₂ x 6H₂O - 0,2; FeCl₃ -izi. Muhitga 1 - 2 ml 1% li spirtli ko'k rangli **bromtimol indikator** yashil rang bo'lguncha qo'shiladi.

4) **Eshbi muhiti** - erkin yashovchi azotfiksatorlar uchun - atmosferadagi erkin molekulyar azotni o'zlashtiradi. (1 litr distillangan suvda, g/l mannit - 20; K₂HPO₄ - 0,2; MgSO₄ x 7H₂O - 0,2; NaCl - 0,2; K₂SO₄ - 0,1; CaCO₃ - 5,0). Bu muhit "azotsiz" degan nom bilan aytiladi, chunki unga azotli moddalar qo'shilmaydi.

5) **Rushman muhiti** - moy kislotali bakteriyalar uchun, ular qandlarni moy kislotagacha parchalaydi: C₆H₁₂O₆ → CH₃CH₂CH₂COOH. Mayda qilib kartoshkani probirkalarga to'g'rab, unga 0,05g bo'r solinib, uni vodoprovod suvi bilan to'ldiriladi.

6) Kletchatkani aerob parchalovchilar uchun **Getchinson va Kleyton muhiti** tayyorlanadi (1 litr distillangan suvda, g: K₂HPO₄ - 1; CaCl₂ x 6H₂O - 0,1; MgSO₄ x 7H₂O - 0,3; NaCl - 0,1; FeCl₃ x 6H₂O - 0,01; NaNO₃ - 2,5. Quruq probirkalarga oldindan filtr qog'oz parchalari solinadi (1 x 7sm), ular olingan mikroorganizmlar guruhlar uchun uglerod (kletchatka) manbai hisoblanadi, va mineral eritmada filtr qog'ozining yarmigacha qo'yiladi).

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

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

Boyitilgan kultura keyingi darslarda tahlil qilinadi.

7.5. Sof kulturalarni ajratib olish

Sof kultura boyitilgan kulturalardan ajratib olinadi. Uni alohida koloniyadan yoki yakka hujayradan ajratib olish mumkin. Alohida koloniyadan ajratib olish usuli R. Kox tomonidan taklif etilgan. Aerob mikroorganizmlarning sof kulturasini ajratib olish uchun qattiq muhit yuzasiga boyitilgan kulturalardan ekiladi. Ekish uchun **Drigalskiy shpatelidan** foydalaniladi. Bunda bir tomchi boyitilgan kultura dastlab birinchi Petri likopchasi yuzasidagi muhitga so'ngra 2, 3, 4 chi likopchalardagi muhitlarga birin-ketin shpatel yordamida surtiladi. Shu tarzda ekilganda, odatda, inkubatsiya davridan so'ng ohirgi likopchalarda alohida koloniyalar o'sib chiqadi. Ularning tozaligini aniqlash uchun bir qancha usullar mavjud: vizual, mikroskopik nazorat va oziqli muhitlarga ekish yo'li bilan.

Adabiyotlar

1. Vilkovich V.A. Dezinfektsionnoye delo M. : "Meditsina", 1987, S. 138-140, 143-156.

2. William Glaus. Understanding microbes. A laboratory textbook for microbiology. New York, 1989, p.5 - 7.

8. Mikroorganizmlarni tarqalishi va bazi misollar

Mikroorganizmlarni odam terisiga va atrofdagi narsalarga tushish yo'llari va shaxsiy gigienaga amal qilishning mikroorganizmlar bilan ifloslanishini oldini olishdagi ahamiyati.

1) Mikroorganizmlar turli yo'llar bilan bir joydan ikkinchi joyga o'tishi mumkin. Ularni orasida kasal chaqiruvchi, yani patogenlari ham bo'lish ehtimoli bor. Ko'p hollarda odam terisiga va uning atrofidagi narsalarga (kundalik ishlatiladigan buyumlar: pul, eshiklarning tutqichlari, jihozlar va boshqalar) oson tushadigan mikroorganizmlar turli kasalliklarning sababchisi bo'ladi. Mikroorganizmlar odam terisi va atrofdagi narsalarga inson tasavvur qila olishidan ham oson o'tishi mumkin. Masalan, *janob A biznesmen* va u kasal. U ishida yig'ilish o'tkazmoqda va shu payt aksa uradi. Bunda u og'zini qo'li bilan yopadi. Uning qo'lida kasal chaqiruvchi mikroorganizmlar qoladi. Yig'ilish bir soatdan ortiq vaqt davom etadi va *janob A* kasalligini unutib *janob B* bilan qo'l siltashib xayrlashadi. Bunda *janob A* ning qo'lidagi mikroblarining bir qismi *janob B* ga o'tadi. Keyichalik *janob B* shu qo'li bilan saqichni ochadi va mikroblar bilan birga og'ziga soladi. Uch - to'rt kundan so'ng *janob B* *janob A* bo'lgan kasal bilan kasallanadi. Lekin *janob A* ning kasali faqat *janob B* gagina o'tib qolmaydi, chunki *janob A* uchrashuv bo'lgan xonadan ketayotganda uning qo'lidagi mikroblarning bir qismi eshik tutqichida qoladi. Ular undan keyin chiqayotgan *janob S* ning qo'llariga o'tdi. *Janob S* bo'lib o'tgan yig'ilish natijalaridan qoniqmasdi va aeroportga ketayotib, yo'lda tirnoqlarini tishlab mikroorganizmlarni og'ziga kiritib yubordi. Xonani yig'ishtirish bilan shug'ullanuvchi xodim navbatdagi zararlanuvchi bo'ldi. U mikroblarni *janob A* ushlagan va tushirib yuborgan qalamdan yuqtirdi. Farrosh qo'lini yuvmay, buterbrod eganida mikroblar uning og'ziga tushdi. Bu vaziyat uydirma bo'lsa-da, infeksiya taxminan shunday yo'lda har erga tarqaladi. Buning oldini olishning yagona yo'li - shaxsiy gigienaga amal qilish va zarur bo'lgan gigienik muolajalarni o'z vaqtida bajarishdir.

Ushbu amaliy mashg'ulotda talabalar mikroorganizmlarni odam qo'lga va eshik tutqichlariga tushishining yo'llarini amalda ko'rib chiqadilar va qo'l yuvishning effektivlik darajasini sovunli suv va faqatgina suv bilan yuvishda namoyon bo'ladigan farqini aniqlaydilar.

2) Talabalar nomer oladilar va mashg'ulotni birinchi nomerdan boshlab birin-ketin bajaradilar. Dastlab oziqli agar tutuvchi Petri ismi sharifi hamda mashg'ulot bajarish uchun olgan nomeri yoziladi. Petri likopchalaridan biriga "avval", ikkinchisiga "suv" va uchinchisiga "sovun" deb yoziladi. Talabalar o'ng qo'llariga sterillangan qo'lqop kiyadilar va uni steril holatda o'qituvchi aytgan vaqtgacha saqlab qoladilar.

Mashg'ulot boshida birinchi nomerli talaba qo'lqop kiyilgan qo'li bilan *Serratia marcescens* kulturasidan ozgina oladi va ikkinchi nomerli talabani qo'lini siqadi. Ikkinchi nomerli talaba uchinchi nomerni qo'lini siqadi va hokazo. Qo'l siqishda barmoqlar o'qituvchi ko'rsatgan holatida bo'lishi lozim.

So'ng talabalar qo'lqopdagi barmoqlarini "avval" deb yozilgan Petri likopchasidagi oziqli agar yuzasiga tegizadilar. Bundan so'ng qo'llarini suv bilan yuvadilar va "suv" deb yozilgan agarni ushlaydilar. Yana qo'llarini sovun bilan yuvib "sovun" deb yozilgan agarni ushlaydilar. Qo'lqoplarni yechib tashlaydilar. Petri likopchalarini 28°S bir hafta davomida inkubatsiya qiladilar.

Keyingi mashg'ulotda *Serratia marcescens* eshik tutqichiga yuqtiriladi va talabalar birinchi nomerdan boshlab birin-ketin uni ushlab chiqadilar. So'ng "avval" deb yozilgan agarni yuzasiga qo'lqopdagi barmoqlarini tegizadilar. Qo'llar suv bilan yuviladi va "suv" deb yozilgan likopchalardagi agarga tegiziladi. So'ng qo'llar sovun bilan yuviladi va "sovun" deb yozilgan likopchalardagi agarga tegiziladi. Qo'lqoplar yechiladi. Petri likopchalari 28°S da bir hafta davomida inkubatsiya qilinadi.

Inkubatsiya vaqti tugagach, natijalar tahlil qilinadi. Bunda Petri likopchalarida *Serratia marcescens* o'sganligi aniqlanadi (pushti rang yoki qizil koloniyalar). Natijalar jadvalda aks ettiriladi.

"Qo'l siqish" va "eshik tutqichi" mashg'ulotlarida olingan natijalar (**Serratia marcescens** koloniyalarining o'sishi).

Talabalar №	Qo`l siqish			Eshik tutqichi		
	Likopchalarda o`lishi (koloniyalar soni)					
	avval	suv	sovun	avval	suv	sovun
1.						
2.						

Olingan natijalarga asoslanib mikroorganizmlarni odamdan odamga yuqish yo'llari haqida va uni oldini olishda shaxsiy gigiyenani ahamiyati haqida xulosa qilinadi.

Adabiyotlar

1. William Claus. Understanding microbes: A laboratory textbook for microbiology. 1989, New York, NY, USA.

9. MIKROORGANIZMLARNING AZOT VA UGLEROD AYLANISHIDAGI ISHTIROKI

9.1. Ammonifikatsiya jarayoni va ammonifikatorlar

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

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

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

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

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

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

I. Pepton bulyonidagi ammoniylashtiruvchilarning boyitilgan kulturasining tahlili.

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

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

3) ammoniylashtiruvchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini mikroskopda tekshirish-undan "ezilgan tomchi" usulida tirik preparat hamda fiksirlanagan va bo'yalgan preparatlarni tayyorlash;

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

II. Ammoniylashtiruvchi bakteriyalarning toza kulturasini "ezilgan tomchi" preparatida ko'rish tavsiya etiladi.

1. Sporasiz grammanfiy bakteriyalar.

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

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

2. Spora hosil qiluvchi grammusbat bakteriyalar.

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

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

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

9.2. Nitrifikatsiya va denitrifikatsiya jarayonlari

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

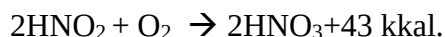
Ammiakni nitritgacha va so'ngra nitratlarga oksidlanishi nitrifikatsiya deyiladi. Nitrifikatsiya jarayoni nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar yordamida amalga oshadi. Bu bakteriyalar avtotrof bo'lib, uglerod manbai sifatida karbonat angidrididan foydalanish xususiyatiga ega. Buning uchun zarur bo'lgan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

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

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



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



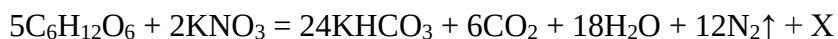
Nitrifikatsiya jarayonini o'rganish va nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini olish uchun tuproqni (yoki boshqa substratni) **Vinogradskiy** oziqa muhitiga ekish kerak. Bu muhit mineral tuzlar eritmasidan iborat, jumladan, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ tuzi eritmasidan iborat. ("Oziqa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

1. Boyitilgan kulturasini mikroskopda fiksirlangan va gentsian-violet bilan bo'yalgan preparatni tayyorlab ko'rish;

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

3. Nitratlarga sifat reaksiyasi - nitratlar to'planganligini konsentrlangan sulfat kislotali difenilamin reaktivi yordamida aniqlanadi. Chinni idishga boyitilgan kulturadan 0,5-1 ml quyiladi va idish devori bo'ylab 1-2 tomchi reaktivdan tomiziladi. Nitratlar to'plangan bo'lsa, suyuqliklarning uchrashgan joyida jadal ko'k rang kuzatiladi. Nitrifikatsiya jarayoni davomida hosil bo'lgan nitratlar, ularning eruvchanligi tufayli tuproqlarning past qatlamlariga tushadi, yuqori o'simliklar va mikroorganizmlarga azot manbai bo'lib xizmat qiladi, mikrobiologik usulda denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar yordamida qaytariladi.

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



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

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

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

Giltay oziqa muhitidagi denitrifikatorlarning boyitilgan kulturasining tahlili.

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

2. Denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini mikroskop ostida ko'rish - "ezilgan tomchi" tirik preparati, fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlanadi.

3. Nitritlarning va nitratlarning sifat reaksiyasini 38 va 39 betdagi nitrifikatsiya mavzusidan ko'rilsin.

II. Denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning toza kulturalari:

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

b) ***Pseudomonas fluorescens*** - oziqa muhitiga ko'k, havorang fluorestsirlovchi pigment ajratadi. Bular ingichka 0,6 x 1 - 2 mkmli to'g'ri, harakatchan (monotrixlar), sporasiz, xemoorganotrof tayoqchalar.

Adabiyotlar

1. Babyeva I.P., Zenova G.M. Biologiya pochv. I.: Izd-vo MGU, 1983. S. 139-143.
2. Koleshko O.I. Ekologiya mikroorganizmov pochvi. Laboratorniy praktikum. Minsk.: "Visheyschaya shkola", 1981. S. 97-103.
3. Tepper E.Z. Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii. M.: Agropromizdat, 1987. S. 118-125.
4. Xoult J. Kratkiy opredelitel bakteriy Bergi. M.: "Mir". 1980.

9.3. Azotfiksatsiya jarayoni va azotfiksatorlar

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

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

Azotfiksirlovchi mikroorganizmlar tuproqda erkin holda yoki yuqori o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi. Shuning uchun erkin yashovchi va simbioz holatda yashovchi azotfiksatorlar farqlanadi.

Erkin yashovchi azotfiksatorlar

Erkin yashovchi azotfiksatorlar orasida ***Azotobacter* va *Clostridium*** avlodlarining turlari qiziqarlidir. Azotobakter oson o'zlashtiriladigan organik moddalarni tutuvchi, neytral yoki kuchsiz ishqoriy reaksiyali tuproqlarda keng tarqalgan. Azotobakteriyaning hamma turlari - geterotroflar va aeroblar. Ular orasida eng yaxshi o'rganilganlari **Az. *Chroococcum* va Az. *vinelandii*** ning turlaridir.

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

Azotobakterni tabiiy yashash muhitdan - tuproqdan ajratish uchun va uning miqdorini aniqlash uchun har xil usullardan, shu qatorda tuproq bo'lakchalari usulidan foydalaniladi. Sterillangan Petri kosachasiga azotsiz Eshbi agarli muhit quyiladi. Qotgandan so'ng agar ustiga sterillangan ilmoq yordamida 1g. tuproqni diametri 2mm cha bo'lgan 50 - 100 bo'lakchalari joylashtiriladi. Tuproq oldindan bir oz namlanadi. Bo'lakchalarning to'g'ri joylashishi uchun andozadan foydalaniladi. Tuproq ekilgan likopchalarni 28 - 30⁰Sda 5 - 7 kunga nam kameraga joylashtiriladi. Bunday sharoitda azotobakter bo'lsa, bo'lakchalar xira, avval rangsiz, keyin och jigarrang yoki to'q qoramtir rangli shilliq bilan qoplanadi.

Azotobakter bilan qoplangan tuproq bo'lakchalarni miqdori ekilgan bo'lakchalar umumiy sonidan protsent hisobida sanaladi. Bo'lakchalar atrofida shilliq biomassadan tushli preparat tayyorlanadi va mikroskopda ko'riladi. Bunda qorong'i fonda qalin rangsiz kapsula bilan o'ralgan donador Az. *chroococcum* ning hujayralari ko'rinadi.

Azotobakterning boyitilgan kulturasini tuproqni suyuq, azotsiz Eshbi muhitiga ekib ham olish mumkin. Ekilgan narsalar 28-30⁰S o'stiriladi va bir haftadan so'ng analiz qilinadi:

1. Probirka devoridagi loyqa va halqasimon shilliq g'ubor borligi oddiy ko'z bilan tekshiriladi.

2. Kultural suyuqlik va halqasimon g'ubor mikroskop ostida suyuq tush (1:10) tomchisida ko'riladi

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

Azotobacter chroococcum yosh davrida tayoqcha shaklida bo'ladi. Ular harakatchan, peritrixlar, gomogen bir me'yorda bo'yalgan plazmali, yakka yoki juft bo'lib birlashgan. Ularning uzunligi 2 - 3 dan 4 - 6 mkm gacha bo'lishi mumkin. Sekin-asta tayoqchalar katta, diametri 4 mkm li sharsimon ko'pincha 8 soniga o'xshash qo'shaloq hujayralarga aylanadi, qarigan sari hujayralar harakatini yo'qotadi va shilliq kapsula bilan qoplanadi, plazma donador bo'lib qoladi.

Tuganak bakteriyalar

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

Tuganak bakteriyalar odatda, tuproqda uchraydi. Ular uzunasiga 3 mkm dan oshmaydigan mayda, harakatchan, grammanfiy tayoqchalar bo'lib, psevdomonadalarga 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 tukchalarining 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: tayoqchalardan kolbasimon shishgan hujayralarga - **bakteroidlarga** aylanadi. Turli dukkakli o'simliklarning tuganaklarining shakli va o'lchamlari turlicha bo'ladi.

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

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

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'shilib aralashtiriladi, qoplagich oyna bilan yopib mikroskopda ko'riladi. Preparatda **bakteroidlar** - harakatsiz, yo'g'onlashgan, rogatkasimon, hamda kolbasimon shishgan, noksimon yoki sferik hujayralar ko'rinishi kerak.

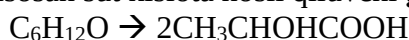
Adabiyotlar

1. Koleshko O.I. Ekologiya mikroorganizmov pochvi. Laboratorniy praktikum. Minsk.: "Visheyshaya shkola", 1981. S.78-79.

9.4. Sut kislotali bijg`ish

Uglerodli organik moddalar mikrobiologik o`zgarishlarga uchraydi va har xil oraliq moddalar yoki oddiy moddalar CO<sub>2</sub> va suv hosil bo`ladi. Organik moddalarni qaysi yo`l bilan parchalanishiga qarab, erkin kislorodsiz o`ladigan bijg`ish va aerob sharoitida o`ladigan oksidlanish jarayonlari farqlanadi.

Bijg`ish jarayonida doimo oxirgi mahsulot sifatida to`la oksidlanmagan moddalar - etanol, sut kislota va boshqalar hosil bo`ladi. Bunda hosil bo`ladigan asosiy mahsulotlarga qarab bijg`ishlar spirtli, sut kislotali, moy kislotali va hokazolar deb nomlanadi. Sut kislotali bijg`ishni sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalar olib boradi, ular mono- va disaxaridlarni parchalab sut kislota hosil qiladi. Sut kislotali bakteriyalar 2 guruhga bo`linadi: geksozadan quyidagi tenglama bo`yicha asosan sut kislota hosil qiluvchi **gomofermentativ** bakteriyalar:



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



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

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

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

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

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

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

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

Streptokokklardan tashqari preparatda *Lactobacillus* avlodiga kiruvchi tayoqchasimon bakteriyalar ko`rinadi. Masalan, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* va boshqalar. Hujayralar yakka, juft-juft va zanjirsimon joylashgan. Sut kislotali tayoqchalar streptokokklarga o`xshab o`simlik ustida, tuproqda, sut mahsulotlarda, odam va hayvonlar ichagida uchraydi.

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

Adabiyotlar

1. Tepper E.Z. Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii. M.: Agropromizdat, 1987. S.95-100.
2. Mishustin E.N., Yemseva V.T. Mikrobiologiya.: "Kolos", 2008. S. 105-110.
3. Shlegel G. Obshaya mikrobiologiya. M.: "Mir". 1987. S. 247-255

9.5. Moy kislotali bijg`ish

Moy kislotali bijg`ish bakteriyalar yordamida o`tdi va ularga faqat anaerob nafas oluvchi bakteriyalar kiradi. Bijg`ish natijasida quyidagi asosiy mahsulotlar hosil bo`ladi:



Bijg`ish asosiy mahsulotlari bilan bir qatorda etil spirti va atseton hosil bo`ladi. Moy kislotali bijg`ishni qo`zg`atuvchilar *Clostridium* avlodiga kiradi va klostridial yoki plektridial tipda spora hosil qiluvchi, harakatchan tayoqchalardir. Moy kislotali bakteriyalarning o`ziga xos xarakterli belgilaridan biri bu - xujayralarda zapas oziqa modda – granuloza to`plashdir.

Uglerod birikmalari manbai sifatida moy kislotali bakteriyalar mono-va disaxaridlarni o`zlashtiradi. Bu organizmlar tuproqda, go`ngda, ifloslangan suvlarda, o`simlik qoldiqlarida, o`sib turgan o`simliklar ustida keng tarqalgan. Tabiiy sharoitda moy kislotali bakteriyalar anaerob sharoitda kletchatkani va pektin moddalarining parchalanishida katta ahamiyatga ega.

Ba'zi holatlarda: sut kislotali achishda, siloslashda moy kislotali bijg`ish o`rinsiz bo`ladi va natijada moy kislota hosil bo`lib, bu mahsulotlarga yoqimsiz hid beradi. Shu bilan birga sanoatda moy kislotali bakteriyalarning sof kulturalaridan foydalanib zavodlarda moy kislota olinadi.

Moy kislotali bakteriyalar bilan tanishish uchun **Rushman** muhitiga tuproq ekilib boyitilgan kulturadan "ezilgan tomchi" preparat tayyorlanadi. Buning uchun buyum oynasidagi Lugol reaktivi tomchisiga suyuqlik bilan birga Rushman oziqli muhitidagi kartoshkaning kichik bo`lakchasi qo`shiladi, aralashtiriladi va qoplagich oyna bilan yopilib, immersion tizimda mikroskopda ko`riladi. Preparatda binafsha rangga bo`yalgan granulozali yirik hujayralar ko`rinadi. Granulozaning joylashishiga ko`ra hujayralar to`liq, qisman to`liq yoki dona-dona bo`ladi.

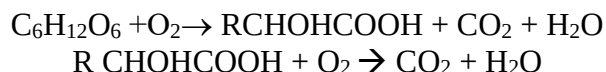
Adabiyotlar

1. Mishustin E.N., Yemseva V.T. Mikrobiologiya.: "Kolos", 2008.C.111-113.
2. Tepper E.Z. Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii. M.: Agropromizdat. 1987. C.100-103.
3. Shlegel G. Obshaya mikrobiologiya. M.: "Mir". 1987. C.265-272.

9.6. Klechatkaning aerob parchalanishi

Kletchatka (selluloza) o'simlikning quruq vaznining 45-80% foizini tashkil etadi. U polisaxarid bo'lib, kuchli kimyoviy reaktivlar ta'sirida ham qiyin parchalanadi. Tabiiy sharoitda sellulozaning juda katta miqdori tuproqqa tushadi va u erda tuproq mikroorganizmlari yordamida biologik o'zgarishlarga uchraydi. Bu mikroorganizmlar, kletchatkani **glukozaga** gidrolizlovchi va so'ngra aerob sharoitlarda **SO₂ va H₂O** gacha oksidlovchi **sellulaza va sellobiaza fermentlari** hosil qiladi.

Oraliq mahsulotlar sifatida organik kislotalar hosil bo'ladi.



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

Miksobakteriyalar bir necha turga birlashtiriladi: **Cytophaga, Sporocytophaga, Sorangium, Archangium, Polyangium** va boshqalar. Bu organizmlar tuproqda yashaydilar, ular ko'p miqdorda go'ngda va go'ng bilan o'g'itlangan tuproqlarda hamda chuchuk suv havzalarida va dengiz loyqalarida uchraydi. Sellulozaning aerob parchalanishini **Getchinson va Kleyton muhitida** kuzatish mumkin (1 litr distillangan suv, K₂HPO₄ - 1 gr., CaCl₂ x 6H₂O - 0,1 gr., MgSO₄ x 7H₂O - 0,3 gr., NaCl - 0,1 gr., FeCl₃ x 6H₂O - 0,01 gr., NaNO₃ - 2,5 gr.).

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

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

Adabiyotlar

1. Koleshko O.I. Ekologiya mikroorganizmov pochvi. Laboratorniy praktikum. Minsk.: "Visheyshaya Shkola", 1981. C.110-114.
2. Mishustin E.N., Yemseva V.T. Mikrobiologiya.: "Kolos", 2008, C.118-122.
3. Tepper E.Z. Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii. M.: Agropromizdat, 1987. C. 107-111.
4. Shlegel G. Obshaya mikrobiologiya. M.: "Mir" 1987. C.110-111.