

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
OLYI VA O‘RTA MAXSUS TA‘LIM VAZIRLIGI**

**TOSHKENT VILOYATI  
CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA INSTITUTI**

**Fayziyev V.B.  
Jo‘rayeva U.M.  
Eshboyev F.B.  
Vahabov A.H.**

# **UMUMIY MIKROBIOLOGIYA**

**O‘quv qo‘llanma**

**Toshkent  
«Universitet»**

**2020**

**Fayziyev V.B., Jo‘rayeva U.M., Eshboyev F.B., Vahabov A.H.**  
**Umumiy Mikrobiologiya. O‘quv qo‘llanma.**  
–T.: “Universitet”, 2020, 108 bet.

**UO‘K: 579(075.8)**

**КБК: 28.4ya73**

**U 52**

Ushbu o‘quv qo‘llanma pedagogika oliy o‘quv yurtlarining “5110400-Biologiya” ta’lim yo‘nalishi o‘quv rejasidagi “Umumiy mikrobiologiya” va “Mikrobiologiya va virusologiya” magistratura mutaxassisligi bo‘yicha “Mikrobiologiya va virusologiya tadqiqot usullari” fanlaridan o‘quv dasturlari asosida laboratoriya mashg‘ulotlarini o‘tish uchun tayyorlangan.

Настоящее руководство по лабораторным работам по микробиологии подготовлено для проведения лабораторных работ для студентов вузов, обучающихся по направлению «5110400-Биология» в соответствии с существующей программой бакалавриата по предметам «Общая микробиологии» и а также для магистрантов по специальному курсу «Методы исследований по микробиологии и вирусологии».

Present manual laboratory work on microbiology is prepared for Conduction laboratory work for student of high education establishments, training on the discipline of "Biology" in accordance with existing program of Bachelor’s degree on the subject "General Microbiology". As well as for Master’s degree students on a special course "The methods of researchin microbiology and virology".

**Tuzuvchilar:**

**Fayziyev V.B.** – TVCHDPI Biologiya kafedراسi mudiri, biologiya fanlari nomzodi, dotsent.

**Jo‘raeva U.M.** – O‘zMU Mikrobiologiya va biotexnologiya kafedراسi dotsenti, biologiya fanlari nomzodi.

**Eshboyev F.B.** – O‘zR FA O‘simlik moddalari kimyosi instituti ilmiy xodimi, biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori (PhD).

**Vahabov A.H.** - O‘zMU Mikrobiologiya va biotexnologiya kafedراسi professori, biologiya fanlari doktori.

**Taqrizchilar:**

**A.G. Sherimbetov** – O‘zR FA Genetika va o‘simliklar ekspremental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi, biologiya fanlari bo‘yicha falsafa doktori.

**K.A. Mutalov** – TVCHDPI Biologiya kafedراسi dotsenti, biologiya fanlari nomzodi.

**Mazkur o‘quv qo‘llanma O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligining 2020 yil 30 iyundagi 359-sonli buyrug‘iga asosan nashr etishga tavsiya qilindi (Ro‘yxatga olish raqami 359-008).**

**ISBN: 978-9943-6555-3-9**

© “Universitet” nashriyoti, Toshkent, 2020 y.

## Kirish

Mikroorganizmlar dunyosi hayotning ko‘zga ko‘rinmas tiriklik shakli hisoblanib, yer yuzida juda keng tarqalgan va inson hayotida katta ahamiyatga ega. Ularning shakli tayoqchasimon, sharsimon, buralgan vibrionsimon, spiralsimon bo‘lib, 4 xil: ya‘ni suv, havo, tuproq va tirik organizmlar kabi muhitlarda hayot kechirib, yer yuzida modda va energiyaning davriy aylanishida juda muhim ahamiyat kasb etadi. Bu mihitlarning har birida o‘ziga xos mikroorganizmlar guruhi tarqalgan bo‘lib, ular o‘zaro va shu muhitda hayot kechirayotgan organizmlarga ijobiy va salbiy ta‘sir qilish xususiyatiga ega. Misol tariqasida oladigan bo‘lsak, yuqorida sanab o‘tilgan muhitlardan biri bo‘lgan tuproq, mikroorganizmlar keng tarqalgan muhit hisoblanib, bu mikroorganizmlarning faoliyati tufayli tuproq unumdorligini yaxshilash, o‘simliklarni turli kasalliklardan himoya qilish, mineral o‘g‘itlar ishlatishni kamaytirish kabi muammolarni hal qilinishida foydalanish mumkin.

Yuqoridagilarni e‘tiborga olib pedagogik OTMlarining 5110400-Biologiya ta‘lim yo‘nalishi o‘quv rejasiga kiritilgan “Umumiy mikrobiologiya” fani uchun, asosan laboratoriya ishlarini bajarish uchun bugungi kungacha o‘zbek tilida o‘quv adabiyotlarning mavjud emasligi talabalarga bir qator qiyinchiliklarning paydo bo‘lishiga olib kelmoqda. Bu muammo ushbu kurs bo‘yicha o‘zbek tilida o‘quv adabiyotlarini tayyorlashni talab etadi. Shuning uchun ushbu tayyorlangan o‘quv adabiyoti o‘z vaqtida tayyorlangan va talabalar biliminining chuqur bo‘lishi uchun muhim ahamiyat kasb etadi.

Ushbu o‘quv qo‘llanma biologiya o‘qitish metodikasi ta‘lim yo‘nalishi bakalavr talabalari uchun tayyorlangan bo‘lib, qo‘llanmaning birinchi qismida talabalar mikroorganizmlar haqida to‘liqroq ma‘lumotga ega bo‘lishi uchun mikroorganizmlar tuzilishi va turlari haqida ma‘lumotlar keltirilgan bo‘lsa, ikkinchi qismida esa, mikrobiologik tadqiqotlar uchun zarur bo‘lgan asbob-uskunalarining tuzilishi va ishlash mexanizmi, sterillash usullari, ozuqa muhitlari va ularni tayyorlash, namunalarni olish, mikrobiologik tadqiqotlar uchun tayyorlash, ozuqa muhitiga ekish texnikasi, mikroorganizmlar sonini aniqlash, ularning boshqa mikroorganizmlarga antogonistik ta‘siri, o‘simliklarga salbiy va ijobiy ta‘siri, toza kultura olish va ularning tahlili, mikroorganizm hujayrasini Gramm usulida bo‘yash orqali identifikatsiya qilish, mikroorganizmlar kulturasini saqlash kabilar kiritilgan bo‘lib, bu talabalarning amaliy ishlarini sifatli bajarilishida va chuqur bilim olishiga ko‘maklashadi. Bundan tashqari bajariladigan har bir ishga alohida yondashilgan bo‘lib, dastlab ishning maqsadi, ish uchun zarur

asbob-uskunalar va reaktivlar berilgan bo‘lib, bu ishni bajarishdan avval fan o‘qituvchisiga hamda talabaga ish uchun zarur bo‘lgan ashyolarni tayyorlab olish imkonini beradi. Ishni boshlashdan avval berilgan nazariy ma’lumotlar talabaning ushbu mashg‘ulot uchun zarur nazariy tushunchalar olishiga yordam beradi, bu o‘z navbatida talabalarning bilimni oshirilishiga katta ta’sir ko‘rsatadi. Shu bilan bir qatorda ishning bajarish tartibi keltirilgan hamda ishning so‘ngida keltirilgan savol va topshiriqlar talabaning ushbu ish bo‘yicha olgan bilimi va xulosalarini umumlashtirishga ko‘maklashadi.

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

Shu bilan bir qatorda ushbu o‘quv qo‘llanma mualliflar va mutaxassislarning fikr mulohazalari asosida tayyorlangan bo‘lib, unda mavjud xato va kamchiliklarni tuzatish uchun bildirilgan fikrlar uchun mualliflar jamoasi o‘z minnatdorchiligi bildiradi.

## **BIRINCHI QISM**

### **1. MIKROORGANIZMLARNING UMUMIY TAVSIFI**

Mikroorganizmlar juda mayda mavjudodlar bo`lib, ularni oddiy ko`z bilan ko`rib bo`lmaydi. Ular bir-biridan morfologik, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlari bilan farqlanadi. Hujayraviy tuzilishga ko`ra barcha mikroorganizmlar prokariotlarga va eukariotlarga ajratiladi. Prokariotlarning yadro apparati "nukleoid" deb nomlanib, ko`pincha, u bitta xromosoma tutadi, halqasimon bo`lgan DNK molekulasidan iborat. Eukariotlarda yadro bir qator xromosomalar tutadi va sitoplazmadan membrana bilan ajratilgan bo`ladi. Eukariot va prokariotlarning yadro apparatining tuzilishidagi farqi ularning boshqa xususiyatlari bilan bog`liq.

#### **1.1. Prokariotlar**

Prokariotlar orasida bakteriyalar (yoki eubakteriyalar) va arxeylar (arxebakteriyalar) ajratiladi. Aksariyat prokariotlar eubakteriyalarning turli guruhlaridir. Prokariotlar, asosan, bir hujayrali organizmlar bo`lib, ularning o`rtacha o`lchami 0,2-10,0 mkm. Bakteriyalarning shakli turli o`lchamdagi tayoqchalar, sharsimon hujayralar (kokklar) hamda buralgan shakllar - vibrion, spirilla va spiroxetalardan iborat. Bundan tashqari, uchburchak, kvadrat va o`simtali shaklga ega bo`lgan hujayralar ham topilgan. Hujayralar to`plami ba'zida bakteriyalarning sistematik o`rnini aniqlashga yordam beradi. Ular yakka-yakka, juft, qisqa va uzun zanjir shaklida (streptokokklar), tartibsiz shaklda (stafilokokklar), paket holatida (sartsinalar), to`rsimon va rozetkasimon bo`lishlari mumkin. Aktinomitsetlar guruhidagi ko`pchilik bakteriyalar mitseliy hosil qiladi. Trixom hosil qiluvchi ko`p hujayrali prokariotlar ham topilgan.

##### **1.1.1. Prokariotlarning tuzilishi**

Ko`pchilik prokariotlar rigid hujayra devoriga va uning ostida joylashgan sitoplazmatik membranaga ega. Hujayra devorining tuzilishi va tarkibi muhim taksonomik belgi bo`lib, uning asosida prokariotlar quyidagi guruhlarga ajratiladi: grammusbat, grammanfiy, hujayra devoriga ega bo`lmagan bakteriyalar va arxeylar. Grammusbat bakteriyalar tarkibida grammanfiylarga nisbatan hujayra devoridagi murein (peptidoglikan) miqdori ancha ko`p bo`lib, tashqi membrana ham bo`lmaydi. Arxebakteriyalar murein o`rnida, asosan, psevdomurein tutadi.

Aksariyat bakteriyalar yuzasida fimbriyalar yoki pililar, harakatchan bakteriyalarda esa xifchinlar bo`ladi. Ko`pchilik bakteriyalar yuzasida turli

qalinlikdagi kapsulalar bo`ladi. Ular asosan, polisaxarid, glikoproteid va polipeptidlardan tuzilgan.

Prokariotlarning ichki hujayraviy tuzilishi oddiy. Ko`pchilik bakteriyalar kiritmalar tutadi. Ular orasida sitoplazmatik membrana hosilalari ajratiladi; fototroflarda xromatofor va tilakoidlar, nitrifikator va metan oksidlovchi bakteriyalarning ichki membranalari bor. Ba'zi bakteriyalar gaz vakuolalariga (aerosomalar) ega. Aksariyat bakteriyalar hujayralarida zahira moddalar bo`ladi. Ba'zi spora hosil qiluvchi turlar oqsil tarkibidagi parasporal tanachalarga ega.

### **1.1.2. Prokariotlarning o`shishi va ko`payishi**

Ko`pchilik bakteriyalar ikkiga bo`linib ko`payadi. Kurtaklanish yo`li bilan ko`payadiganlari ham bor. Aktinomitsetlar esa sporalar yoki mitseliy bo`laklari bilan ko`paydi. Bir qator sianobakteriyalar ko`p qismlarga bo`linib ko`payadi. Ko`p hujayrali prokariotlar trixomdan bir qancha hujayra ajrashi yo`li bilan ko`payadi.

## **1.2. Eukariotlar**

Prokariotlardan farqli o`laroq eukariotlarga mikro va makroorganizmlar kiritiladi. Eukariot mikroorganizmlar tarkibiga zamburug`lar, bir qator suvo`tlari va sodda hayvonlar kiradi.

### **1.2.1. Zamburug`lar**

Zamburug`lar tabiatda keng tarqalgan geterotrof mikroorganizmlar bo`lib, ularning aksariyati saprofitlar. Lekin parazitik turlari ham uchraydi. Ko`pchilik zamburug`larning asosiy xususiyati - mitseliyning hosil bo`lishidir. Mikroskopik zamburug`larning 3 guruhi mavjud: zigomitsetlar, askomitsetlar va deyteromitsetlar. Mikrobiologlarning asosiy obyektlaridan biri bo`lmish achitqilar askomitsetlarga kiritiladi. Achitqilar harakatsiz yakka-yakka hujayralar bo`lib, asosan, kurtaklanib ko`payadi. Mikrobiologik tadqiqotlarda keng qo`llaniladigan achitqilar - *Saccharomyces* avlodiga kiruvchi achitqilardir, masalan, *S. cerevisiae*.

### **1.3. Mikroorganizmlarga tashqi muhit omillarining ta'siri**

Harorat mikroorganizmlarga ta'sir etuvchi omillardan biri. Mezofillar uchun optimal harorat 25-40°C tashkil etadi. Okeanlar tubida, tundrada psixrofil mikroorganizmlar yashaydi, ular uchun optimal harorat 5-15°C

tashkil etadi. Ekstremal termofillar 70-110°C da yashay oladi.

Osmotik bosim mikroorganizmlarning o`shishiga ta'sir etuvchi omillardandir. Ko`pchilik organizmlar 0,5 M NaCl konsentratsiyasiga ham chiday olmaydi, ekstremal galofillar esa NaCl ning 2,5 M va undan baland konsentratsiyalarida yashay oladi.

Mikroorganizmlar muhitning nordonligiga ham sezgir bo`ladi. Ekstremal atsidofillar pH 0,5-1,0, alkalofillar esa pH 10,0-11,0 gacha bo`lganda yashaydi, lekin mikroorganizmlarning asosiy guruhlari neytral pH muhitlarida yashaydi. Ular neyetrofillar deb nomlanadi. Molekular kislorodga nisbatan chin aerob va anaeroblarga ajratiladi. Kam kislorodli (1,0-5%) muhitda yashay oladigan mikroorganizmlar mikroaerofillar deb ataladi. Anaerob mikroorganizmlar fakultativ, aerotolerant va chin anaeroblarga ajratiladi.

#### **1.4. Mikroorganizmlarda modda almashinuvi**

Mikroorganizmlarda amalga oshadigan konstruktiv va energetik jarayonlar ko`p qirraliligi bilan ajralib turadi. Konstruktiv modda almashinuvida foydalaniladigan uglerod birikmalariga ko`ra mikroorganizmlar avtotrof va geterotroflarga ajratiladi. Geterotroflarning asosiy qismini saprofitlar tashkil qiladi. Azot birikmalarining o`zlashtirilishida mikroorganizmlarning imkoniyatlari keng namoyon bo`ladi. Mikroorganizmlar orasida molekulyar azotni o`zlashtiruvchilar, tayyor aminokislotalarga muhtoj bo`lganlar va azotni anorganik birikmalardan o`zlashtiruvchilari bor. Fosfor, oltingugurt kabi elementlarni mikroorganizmlar fosfat, sulfat va qaytarilgan oltingugurt birikmalaridan oladi. Mikroorganizmlar amalga oshiradigan energetik jarayonlar orasida fotosintez, bijg`ish, aerob va anaerob nafas olishlar ajratiladi.

#### **1.5. Mikroorganizmlarning tarqalishi va ahamiyati**

Tabiatdagi ekologik sistemalarning butunligini ta'minlovchi muhim omillardan biri mikroorganizmlar yig`indisidir. Ma'lum sharoitlarda mikroorganizmlar yagona hayot shakli bo`lishi mumkin. Evolutsiya davomida ular orasida turli tipdagi munosabatlar takomillashib borgan (simbioz, mutualizm, parazitizm va hokazo).

Yerdagi bo`lib o`tadigan moddalar aylanishida mikroorganizmlar faol ishtirok etadi. Turli organik birikmalarni o`zlashtirib, CO va CO<sub>2</sub> ni yutib, metan hosil qilib va o`zlashtirib, ular uglerod aylanishida faol ishtirok etadi. Molekular azotni o`zlashtirib, ammiak va nitritlarni oksidlab,

denitrifikatsiyani amalga oshiradi. Ular tabiatdagi azot aylanishini ta'minlaydi, qaytarilgan oltingugurt birikmalarini oksidlab va oksidlangan birikmalarni qaytarib oltingugurt aylanishini amalga oshiradi. Ba'zi mikroorganizmlar inson va o'zga organizmlarda kasalliklar chaqiradi, qishloq xo'jaligi mahsulotlari, binolar, truboprovodlar, metallkonstruksiyalarining chirishiga olib keladi. Bakteriya va zamburug'lar yordamida non, vino, pivo, kvas, turli sut mahsulotlari, atseton, butanol, sirka, limon kislotasi, vitaminlar, fermentlar, antibiotiklar va hokazolar olinadi. Mikroorganizmlarning amaliy ahamiyati beqiyosdir.

### **Talaba bilimini mustahkamlash uchun qo'llanilgan texnologiyalar: «FSMU» metodi**

**Texnologiyaning maqsadi:** Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi umumiy fikrlardan xususiy xulosalar chiqarish, taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni o'zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko'nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan ma'ruza mashg'ulotlarini mustahkamlashda, o'tilgan mavzuni so'rashda, uyga vazifa berishda hamda amaliy mashg'ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

#### **«FSMU» metodi**

<b>F</b>	• fikringizni bayon eting
<b>S</b>	• fikringiz bayoniga sabab ko'rsating
<b>M</b>	• ko'rsatgan sababingizni isbotlab bering va misol keltring
<b>U</b>	• fikringizni umumlashtiring

#### **Topshiriqlar:**

1. Mikroorganizmlarning prokariot va eukariot kabi guruhlariga ajratilishining asosini FSMU texnologiyasi asosida izohlab bering.
2. Mikroorganizmlarga tashqi muhit omillarining ta'siri va uning ahamiyatini izohlab bering.
3. Mikroorganizmlarning tirik organizmlar evolyutsiyasidagi ahamiyatini izohlab bering.



## IKKINCHI QISM

### MIKROBIOLOGIYA LABORATORAYASI VA UNDA ISHLASH QOIDALARI

#### 1-laboratoriya mashg'uloti

#### Mavzu: Mikroorganizmlar bilan ishlashda rioya qilinadigan qoidalar

**Mashg'ulot maqsadi:** Mikrobiologiya laboratoriyasida mikroorganizmlar bilan ishlash qoidalari va asseptika texnika qoidalari bilan talabalarni tanishtirish.

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

Demak, aseptika texnikasiga ko'ra, mikroorganizmlar sterillangan ozuqa muhitida o'stiriladi va bu muhitni atrofda mikroorganizmlar tushishidan muhofaza qilinadi. Sof kultura ozuqa muhitga ekilganda quyidagi aseptika texnikasi qoidalariga amal qilinadi:

1) sof kulturaga tegishi mumkin bo'lgan barcha buyumlar oldindan sterillanadi;

2) oziqli muhit sterillanadi;

3) ekish va qayta ekish vaqtlarida kultura ifloslanishidan saqlanishi uchun 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 ustidan doka bilan o'ralgan tiqinlardan foydalaniladi va ular faqat ekish vaqtida olib turiladi, lekin hech qachon stol

yoki boshqa buyumlarga qo'yilmaydi;

v) sterillangan idishlarni ichki va ulardagi steril oziqli muhitlarga hamda sof kulturalarga tegishi mumkin bo'lgan barcha vositalar avvaldan sterillanadi, masalan, bakteriologik ilmoq;

g) ekish va 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 saqlanadi, bakterial ilmoqlar ishlatilgandan so'ng ham sterillanadi, pipetkalar esa dezinfeksiya qiladigan suyuqliklarga solib qo'yiladi.

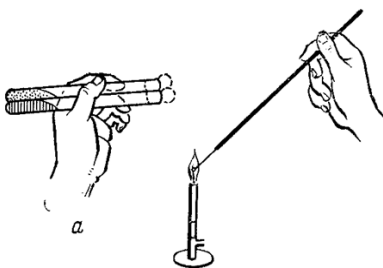
### **Ishning borish tartibi:**

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

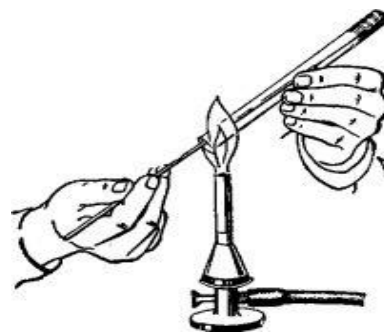
1. Mum qalam yordamida ekiladigan probirkalarga talabaning ismi, guruh raqami yoziladi.

2. Bakterial ilmoq alanganing yuqori qismida cho'g' holatigacha flambirlanadi (1-rasm) va 10 daqiqa davomida sovutiladi, lekin stolga qo'yilmaydi.

3. Chap qo'l bilan kulturali probirka olinadi va ilmoq ushlagan qo'l ni bo'sh barmoqlari bilan probirkaning tiqini olinadi, lekin tiqin stolga qo'yilmay ushlab turiladi. Probirkaning og'zi olovda qisqa vaqt qizdiriladi (2, 3-rasmlar).



**1-rasm. Bakterial ilmoqni sterillash**



**2-rasm. Olovda qizdirib ilmoq bilan sof bakteriya kulturasini olish**

4. Ilmoqdan foydalanib probirkadagi suyuqlikdan olinadi (4-5-rasmlar), bunda ilmoq probirkaning ichki tomoniga tegmasligi kerak.

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

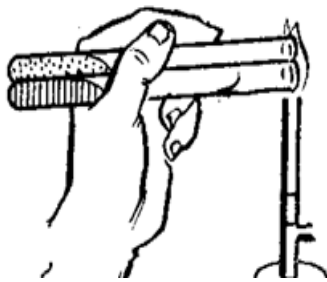
6. Bo'sh qo'l bilan ekiladigan probirka olinadi va yuqoridagidek ochilib, og'zi sterillash uchun qizdiriladi.

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

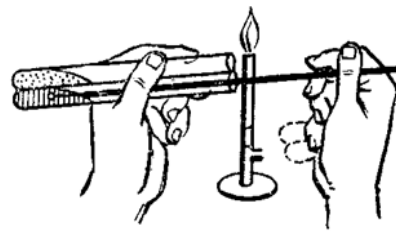
8. Ilmoqdagi tomchilarni probirkani ichida qoldirish uchun ilmoq probirkani ichidagi suyuqlik tugagan joyiga tegiziladi.

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

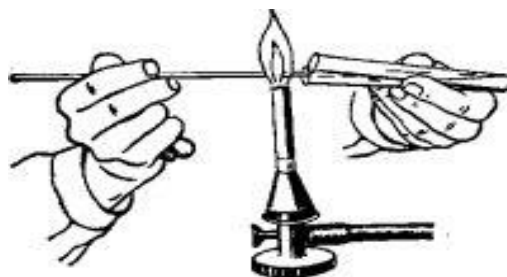
10. Ilmoq cho'g' holatigacha qizdiriladi.



**3-rasm. Probirkaning og'zini olovda qisqa vaqt qizdirish**



**4-rasm. Ilmoqdan foydalanib probirkadagi suyuqlikdan olish**



**5-rasm. Bakterial ilmoq yordamida bir probirkadagi suyuqlikdan ikkinchisiga o'tkazish**

Probikadan Petri likopchasiga ekishda quyidagi ishlar amalga oshiriladi:

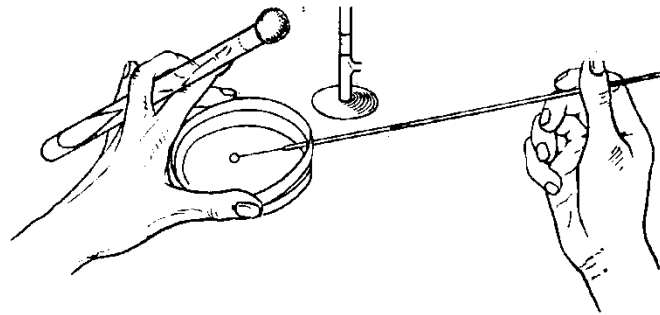
1. Petri likopchasining ustiga mum qalam yordamida talabaning ismi,

guruhining raqami, sana yoziladi.

2. Yuqorida aytilgandek, probirkadan ilmoq bilan kultura olinadi.

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 (6-rasm).



**6-rasm. Petri likopchasidagi oziqli muhitga ilmoqdagi kulturani  
"shtrix" usulida ekish**

5. Petri likopchasi yopiladi.

6. Ilmoq flambirlanadi va joyiga qo'yiladi. Ekmalar 28°C da keyingi darsgacha o'stiriladi. Aseptika qoidasiga rioya qilingan bo'lsa, Petri likopchasida faqat sof kultura o'sadi, aksincha qoidaga rioya qilinmasa likopchada har xil rangli va har xil kattalikdagi bakteriya koloniyalari o'sib chiqadi. Preparat tayyorlab mikroskop ostida kuzatilganda ko'rish maydonida biz ishlayotgan kulturadan tashqari shakli va o'lchamlari turlicha bo'lgan mikroorganizmlarni kuzatish mumkin. Bunday mikroorganizmlar bilan ishlash usuli mikrobiologik aseptika qoidalariga xilof bo'ladi va ishni qaytadan bajarish talab qilinadi.



**Nazorat savollari:**

1. Toza kulturaga tavsif bering.
2. Aralash kultura deb nimaga aytiladi?
3. Aseptika va antiseptika nima?
4. Laboratoriya sharoitida amal qilinadigan aseptika qoidalariga misollar keltiring.
5. Probirkadan Petri likopchasiga ekish qanday amalga oshiriladi?
6. Qiyshiq agar qanday tayyorlanadi?

7. Petri chashkasiga shtrix usulida mikroorganizmni ekish qanday amalga oshiriladi?

8. Bakteriya kulturasini deb nimaga aytiladi?

## **2-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Mikrobiologik tadqiqotlar uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalar**

**Mashg'ulot madsadi:** Talabalarni mikrobiologiya laboratoriyalarida ishlatiladigan asbob-uskunalar bilan tanishtirish, ularning ishlash prinsiplari, qo'llanilishi bo'yicha ma'lumotlar berish.

**Nazariy ma'lumot.** Inkubatsiya qilish uchun uskunalar. Termostat - mikrobiologik laboratoriya uchun zarur bo'lgan qurilmalardan biri bo'lib, haroratni doimiy tarzda tutib turadi va mikroorganizmlar kulturasini inkubatsiya qilish uchun qulay sharoit yaratadi. Bakteriologik termostat ikki qavat mis plastinka devordan iborat bo'lgan shkaf ko'rinishida bo'lib, bu qavatlar orasi distillangan suv bilan to'lgan bo'ladi. Shkaf devorlarining barcha qismini o'rab turgan suv elektr elementlar yordamida avtomatik qo'shilish va ajratilish natijasida qizdirilib turiladi. Shkafning ichki burmali devoriga metall ugolniklar biriktirilgan bo'lib, u alyumindan yasalgan setkali tokchalarni tutub turish vazifasini bajaradi. Termostatning teploizolyatsiyasida asbest va mineral paxtadan fodalaniladi. Termostatning yuqori qismida ikkita kichik tuynuk (ochiq) mavjud bo'lib, ularning biri termometr uchun bo'lsa, ikkinchisi esa ventilyatsiya uchun qoldirilgan.

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

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

Bir xil haroratda juda ko'p miqdordagi mikroorganizm kulturalari inkubatsiyalanuvchi (o'quv muassasalarining ishlab chiqaruvchi, tadqiqot va kuzatuv) laboratoriyalari maqsadga muvofiq teploizolyatsiyalangan va maxsus isitiluvchi termostat xonalari bilan jihozlanishi zarur.

Mikroorganizmlar kulturalarini devorga yaqin tokchalarga joylashtirish mumkin. Bunday xonalarni dizinfeksiyalanishida aerazol dezinfeksiyalovchi vositalar yaxshi samara beradi.

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

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

Ayrim hollarda anaerostat o'rnida vakuum eksikatoridan foydalanish mumkin, ammo u manometr bilan jihozlanmagan, broq vakumni bu hodisada birgina kislorod indikatorini yordamida nazorat qilish mumkin.

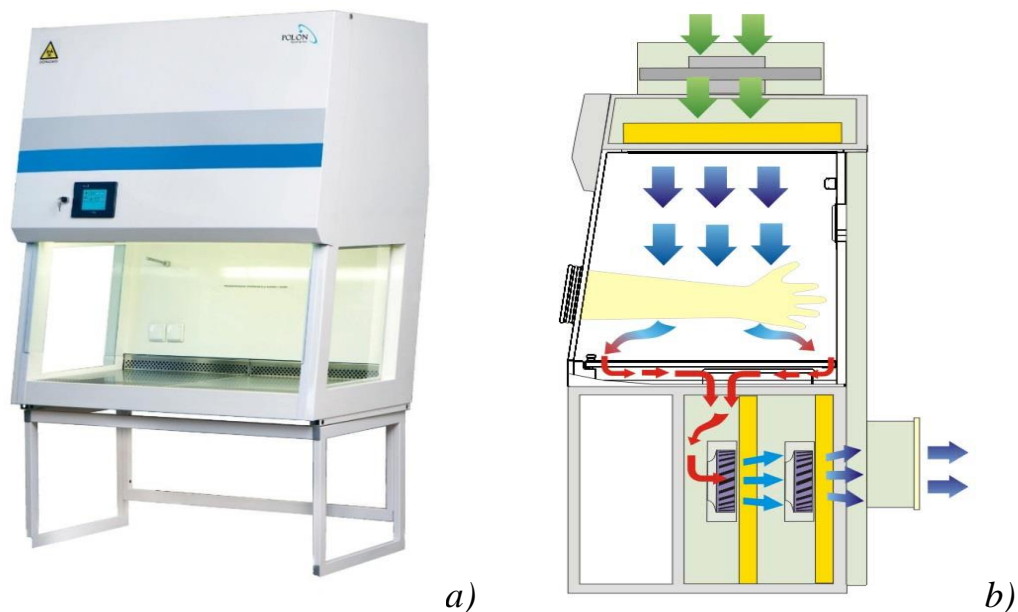
Germaniya va bir qator davlatlarda anaerob bakteriyalarni ko'paytirish uchun anaerob termostatlari ishlab chiqariladi, unda harorat 30-70°C hamda naytral kislorodsiz atmosfera sharoiti yaratiladi.

**Sovutgichlar.** Odatda laboratoriyalarda maishiy xo'jalik muzlatgichlari ishlatiladi, ammo ilmiy tadqiqot ishlari uchun isitish va sovutish sistemasiga ega bo'lgan SR-114 Labor kabi maxsus qurilma zarur bo'lib, bu zarur harorat rejimini tez va aniq ushlab turish imkoniyatini beradi. Laboratoriya sovutgichlari haroratni 4-5°C oralig'ida ushlab turadi va ular keng miqyosda qo'llaniladi. Ularda tayyor va sterillanmagan ozuqa muhitlarini (bir sutkadan ortiq bo'lmagan muddatda), tekshirish uchun yig'ilgan tuproq, go'ng va o'simlik namunalari saqlanishi mumkin. Yig'ilgan bunday namunalarning mikrobiologik analizi tez muddatlarda o'tkazilishi zarur, chunki ularning mikroflorasi son va sifat jihatdan o'zgarishi mumkin.

Mikroorganizmlar kulturalarini alohida sovutgichda (5°C), namlik bilan zararlanishini oldini olgan holda saqlanishi zarur. Uchuvchan

moddalar va gazlar solingan idishlar germetik holatda yopilgan bo'lishi zarur. Oziq ovqat mahsulotlarining mikrobiologik laboratoriyada saqlanishi mutlaqo ta'qiqlanadi.

**Shkaflar, laminar bokslar va ekish kabinalari.** Mikrobiologiya amaliyotida ekish uchun ishlatiladigan shkaflar zanglamaydigan metallardan yasalgan bo'ladi. Bu shkaflarning oldingi yuzasining yuqori qismi oynadan yasalgan bo'lib, 45° burchak asosida gorizontal holatda joylashgan. Quyi qismida ikkita maxsus qo'l uchun joy qilingan bo'lib, unda rezina qo'lqop mahkamlangan. Shkaflarning orqa qismida elektr provada va gaz olib kelish uchun trubalar mahkamlangan bo'ladi. Ularni dezinfeksiyalovchi moddalar yoki ultrabinafsha lampalari yordamida sterillanadi. So'ngi yillarda sterillash kabinasining o'rnida laminar boks ishlatiladi. Laminar bokslarning oldingi qismi to'liq ochiq holatda bo'ladi va unda doimiy va sekin sterillangan havo oqimi doimiy esib turadi. Havoning laminar oqimi porasi 0,3 mkm bo'lgan "Hepa" filtri orqali o'tib keladi. Havo oqimining yo'nalishiga qarab laminar bokslar vertikal va gorizontal (7-rasm) ko'rinishda tuzilgan xillarga bo'linadi.

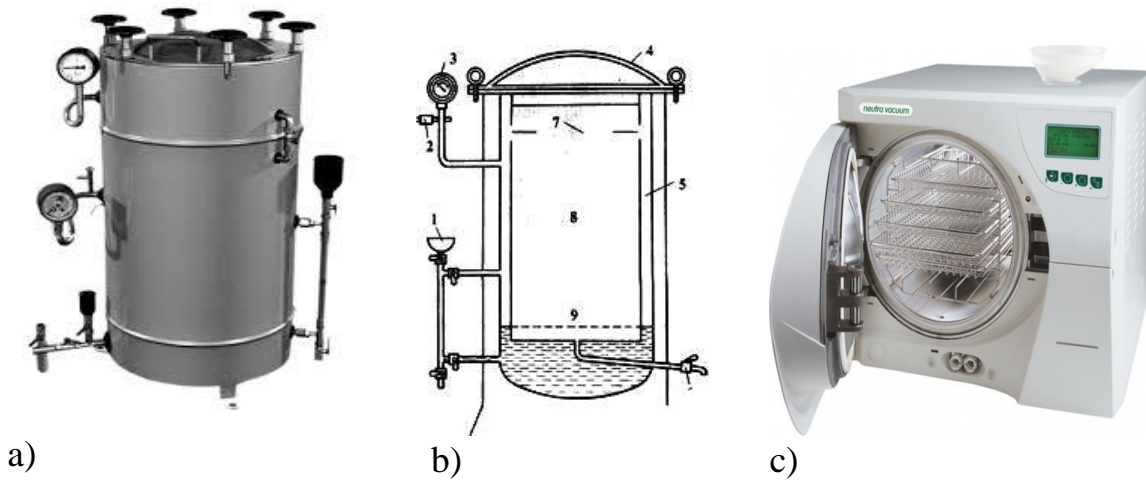


**7-rasm. Laminar boks (a) va unda havo oqimi (b).**

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

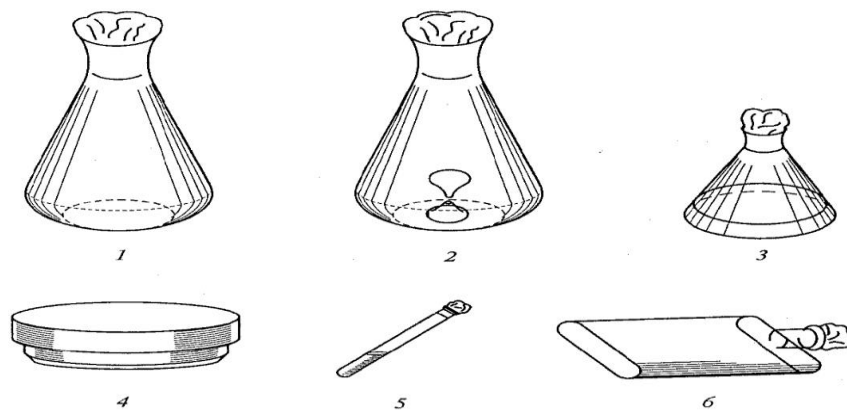
Sterillash uchun turli qurilmalar ishlatiladi va bugungi kunda avtoklavlar ishlatiladi. Avtoklavlarning bugungi kungacha vertikal va

gorizontal turlari mavjud bo‘lib, ular to‘liq sterillash ishlarida qo‘llaniladi (8-rasm).



**8-rasm. Avtoklav tuzilishi: a) vertikal avtoklav; b-avtoklav ko‘ndalang kesimi va qismlari; zamonaviy avtoklav:** 1-avtoklavga suv quyish uchun voronka; 2-klapan predoxraniteli; 3-manometr; 4-avtoklav qopqog‘i; 5-suv bug‘i kamerasi; 6-havo chiqishi uchun jumrak; 7-bug‘ kirish teshigi; 8-sterilizatsiya kamerasi; 9-sterilizatsiya qilinadigan buyumlar uchun taglik.

Laboratoriyada mikroorganizmlar probirkalar, matraslar, kolbalar yoki Petri chashkasiga quyilgan qattiq va suyuq ozuqa muhitlarida o‘stiriladi (9-rasm). Ozuqa muhitlari va idishlarni sterillash talab etiladi. Ozuqa muhitlarni tayyorlash va sterillash yo‘llarini keyingi bo‘limlarda ko‘rib chiqamiz.



**9-rasm. Mikroorganizmlarni ko‘paytirish uchun zarur bo‘lgan idishlar:** 1-2 -kachalka kolbasi; 3- tagi yassi kolba; 4-Petri chashkasi; 5- probirka; 6- matras.

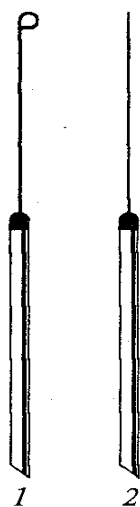
Mikroorganizmlarni sterillangan ozuqa muhitiga o‘tkazib *ekish* yoki *inokulyatsiya* deyiladi. Mikroorganizmlarni ekish vaqtida boshqa mikroorganizmlar tushib qolishdan saqlash uchun belgilangan qoidalarga



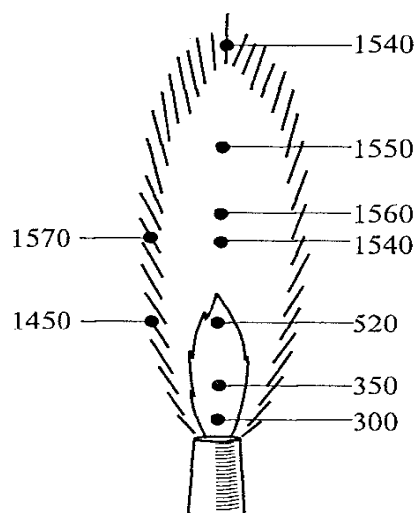
amal qilishni talab etadi. Ekish oldidan probirkaga (kolba yoki Petri chashkasiga) mikroorganizm nomi va ekish vaqtini aniq yozish zarur.

Ekish uchun olinadigan mikroorganizm hujayralari (10-rasm), agar mikroorganizm qattiq ozuqa muhitida o‘stirilgan bo‘lsa, bakteriologik ilmoq yoki igna bilan olinadi. Agar mikroorganizm suyuq ozuqa muhitida o‘stirilgan bo‘lsa, uni ilmoq bilan emas balki sterillangan pipetka yordamida ekish qulay hisoblanadi. Bakteriologik ilmoq va igna yupqa volfram yoki nixromdan yasaladi va metal yoki shisha dastakka mahkamlanadi. Bakteriologik ilmoq uchki ilmog‘ining diametri 4-5 mm bo‘ladi.

Bakteriologik ilmoq (igna) yordamida mikroorganizm hujayrasini olish uchun, uni sterillash zarur. Buning uchun ilmoq olovda laqqa cho‘g‘ rangiga kirguncha qizdiriladi va ilmoq dastagining yarmigacha olovda qizdirib olinadi, chunki u mikroorganizm ekilgan idishga kiritiladi. Ilmoqni gaz gorelka olovida deyarli vertikal holatda ushlab turish talab etadi. Shuni esda saqlash zarurki, gaz garelkasi alangasining eng yuqori harorati uning uchki va markazdan chetki qismida shakllanadi (11-rasm), shuning uchun ilmoqni to‘liq gaz gorelkasiga tushirish tavsiya etilmaydi.



**10-rasm. Bakteriologik ilmoq (1) va bakteriologik igna (2).**



**11-rasm. Gaz gorelka alangasining va turli uchastkalaridagi harorat (°C).**

Ilmoq (igna)ni sterillashdan so‘ng birdaniga mikroorganizm ekilgan idishga tushirish tavsiya etilmaydi. Mikroorganizm hujayrasini zararlamaslik uchun, ilmoqni (ignani) dastlab sovutib, keyin idishdagi

mikroorganizmlardan xoli bo'lgan ozuqa muhiti yuzasiga tekkiziladi va ozgina miqdordagi mikroorganizm kulturasidan olinadi.

### **Ishning borish tartibi:**

1. Mikrobiologiya laboratoriyasi asbob-uskunlar haqidagi nazariy ma'lumotlar bilan tanishib chiqing;
2. Bu qurilmalarning vazifasi haqidagi ma'lumotlarni o'zlashtirib oling;
3. Mikrobiologiya laboratoriasidagi asbob-uskunalarni ishlatish texnikasini o'qituvchi va laborant ishtirokida o'zlashtirib oling.



### **Nazorat savollari:**

1. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlatiladigan qanday asbob-uskunalarni bilasiz va bu qurilmalar nima maqsadda ishlatilishi haqida ma'lumot berdi?
2. Inkubatsion uskunalar qaysi uskunalar kiritiladi va u nima maqsadda ishlatiladi?
3. Termostat qanday tuzilishga ega?
4. Anaerostat qanday qurilma va u nima uchun ishlatiladi?
5. Avtoklav qanday tuzilgan va nima maqsadda ishlatilishini aytib o'ting?
6. Sovutgich qurilmalar qanday maqsadlarda ishlatiladi?
7. Bakteriologik ilmoq nima maqsadda ishlatiladi?
8. Avtoklavning qanday turlari mavjud?

## **3-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Ozuqa muhitlari va idishlarni sterillash usullari bilan tanishish**

**Mashg'ulot maqsadi:** Talabalarni sterillash va sterillash usullari bilan tanishtirish hamda nima maqsadlarda ishlatilishi haqida ma'lumotlar berish.

**Kerakli jihozlar:** Falga qog'ozi, shisha idishlar, bakteriologik ilmoq, turli bo'yoqlar (ishqoriy fuksin, genetsent violet), avtoklav, termostat, anaerostat, buyum oynasi va qoplag'ich oyna, Petri chashkasi, turli o'lchamdagi pipetka, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Sterilizatsiya mikrobiologiya amaliyotida qo'llaniladigan muhim va zarur usullardan biri hisoblanadi. "Sterilizatsiya"

so‘zi lotin tilidan olingan bo‘lib, “naslsizlantirish” degan ma‘noni anglatadi. Amaliy ishlarda sterillash deganda sterillanayotgan obyektning yuzasi hamda ichidagi hayot shaklini yo‘qotish qobiliyatiga ega bo‘lgan usullar tushuniladi. Umuman sterillashning ikki turi aniqlangan bo‘lib, ular issiq va sovuq sterillashga bo‘linadi. Issiq sterillashga: olovda qizdirish va yoqish, quruq issiq yordamida sterillash (issiq havo yordamida), to‘yingan bug’ va bosim bilan (avtoklavlash), o‘tuvchi bug‘lanish yordamida (tendalizatsiya) hamda qaynatish yordamida sterillash kiradi. Sovuq sterillashga: filtrlash yordamida sterillash, gazlar yordamida sterillash, kimyoviy usulda, ultrabinafsha va boshqa nurlar yordamida sterillash kabilar kiradi. U yoki bu sterillash usullarining qo‘llanilishi birinchi navbatda sterillanayotgan material tarkibi va tadqiqot maqsadiga bog‘liq bo‘ladi.

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

1-jadval

**Turli bosimlardagi to‘yingan bug’ning harorati**

<b>Bosim</b>		<b>Harorat, °C</b>
<b>Normal atm bosimi</b>	<b>kPa</b>	
1,0	101,32	100
1,5	151,98	111
2,0	202,65	121
2,5	251,20	128
3,0	299,75	134

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

Avtoklav yoqori bosimga chidamli, ikki qavat metall qobiq bilan o‘ralgan va ichiga sterillanadigan narsalar qo‘yiladi kamerasi mavjud bo‘lgan maxsus qurilma hisoblanadi (8-rasm). Sterillangan narsalar uning

ichiga juda zich qo'yilmasligi lozim, agar ularning orasidan bug' o'tmasa, yetarlicha harorat hosil bo'lmasdan, narsalar sterillanmasdan qolishi mumkin. Sterilizatsiya tugagandan so'ng, avtoklav ichidagi bosim tashqi muhit bosimiga tenglashgandan so'ng ochilishi mumkin. Avtoklavning jumragini tez ochilishi uning ichidagi bosimning tez pasayishiga va yuqori harorat ta'sirida qaynab turgan ozuqa muhitlarining tiqinlarini otilishiga va sterillashning buzilishiga sabab bo'lishi mumkin.

***Avtoklavda ishlashga maxsus tayyorlangan kishilargagina ruxsat beriladi!***

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

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

Ozuqa muhitni avtoklavlash vaqti va haroratining tarkibidagi komponentlarning termostabilligi yoki termolabilligiga qarab belgilanadi. Sut yoki jelatina kabi tarkibida qand, vitaminlar tutuvchi tez buziluvchi (pivo suslosi, sharbatlar, achitqi avtolizati) substratlar 0,5 atmda 15-30 daqiqa davomida sterillanadi. Go'shtli peptonli ozuqa muhitlar 1,0 atmda 20 daqiqa davomida sterillanadi. Turli poroshoklar (mas., talk), ba'zi suyuqliklarni (glitserin, vazelin yog'i) avtoklavda sterillash bir qadar murakkablik tug'diradi, shuning uchun ularni quritish shkaflarda 160°C da 2 soat yoki 1 soat 170 °C da sterillashni talab etiladi. Bunday holatda idishdagi yog' yoki parashok qalinligi 1,5 smdan oshmasligi lozim. Avtoklavlashdan so'ng ozuqa muhitlarning sterilligini tekshirish maqsadida 30°C da 2-3 sutka davomida termostatga qo'yiladi. Agar ozuqa muhitida mikroorganizmning o'sishi kuzatilsa, uni qaytadan tayyorlanadi.

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

100°C dan past bo'lgan haroratda bir marta qizdirish pasterizatsiya usuli deb ataladi. Bu usul Paster tomonidan taklif qilingan bo'lib, sporasiz mikroorganizmlarni yo'qotishga mo'ljallangan. Kuzatilishicha, ko'pgina hollarda bu usul to'liq sterillashni ta'minlay olmaydi. Pasterizatsiya 60-80°C da 10 – 30 daqiqa davomida amalga oshiriladi va juda tez 10-11°C gacha sovutiladi. Bu usul oziq-ovqat sanoatida sut, meva sharbatlarini, vino, pivo kabilarni sterillashda qo'llaniladi.

**Filtrlash yordamida sterillash.** Filtrlash yordamida vitaminlar, aminokslotalar (sistein va sistin), oqsillar, uglevodlar antibiotiklar kabi bir qator yuqori haroratda tez parchalanuvchi va uchuvchi tarkibga ega bo'lgan ozuqa muhitlar hamda mikroorganizm kultural suyuqliklar sterillanadi. Suyuqliklar kichik porali materiallardan iborat bo'lgan filtrlar yordamida o'tkazilsa, mikroorganizm hujayralari esa oson adsorbsiyalanuvchi materiallar: *azbest, selluloza, farfor, kaolin* va boshqalardan iborat bo'lgan filtrlardan o'tkaziladi.

Sterillovchi filtrlarning poralari nazariy jihatdan 0,20 mkm dan oshmaydi. Mikrobiologiya amaliyotida keng qo'llaniladigan filtrlar bu – membranali filtrlar bo'lib, ularning poralar o'lchamiga qarab turli sterillash va filtrlashda qo'llaniladi.

Azbest va sellulozadan iborat bo'lgan disklar Zeyts filtrida ishlatiladi. Ularga poralar o'lchamiga ko'ra turli indekslar qo'yiladi.

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

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

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

2-jadval

**Shisha idishlarni quruq issiq yordamida sterillash uchun zarur bo‘lgan harorat**

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

Sterillanadigan shisha idishlar sterillashdan avval yaxshilab yuvilib, sterillashdan so‘ng yana mikroorganizmlar bilan ifloslanmasligi uchun qog‘oz bilan o‘ralishi shart. Undan so‘ng quritish shkaflariga sterillanadigan ididshlar tig‘iz bo‘lmagan holatda havo oqimi yaxshi aylanadigan holatda qilib joylashtiriladi.

Sterillanishdan so‘ng quritish shkafi ichidagi harorat 80°C tushguncha ochilmasligi lozim, aks holda shisha idishlarning darz ketishiga sabab bo‘lishi mumkin.

*Asbob-uskunalarni sterillash.* Kichik metal asboblar – ilmoq, ignalar, pensetlar, pichoq, shpatellar ishlatishdan oldin olov yordamida sterillanadi. Bundan tashqari buyum va qoplag‘ich oynalar, shisha tayoqchalar va shpatellar, chinni (forfor) hovoncha va stupkalar, kolbalarining bo‘yni, probirkalar, butilkalar, shu bilan bir qatorda paxta tiqinlar kulturalarni ekish oldidan qisqa muddatli olovda kuydirib olinadi. Olovda mikroorganizmlarning vegetativ hujayralari va sporalari nobud bo‘ladi.

Shprislar quruq issiq yordamida 160°C da yig‘ilgan holatda yoki yig‘ilmagan holatda sterillanadi. Bunda birinchi holatda sterillanish vaqti 75 daqiqa, ikkinchi holatda esa 60 daqiqa davomida sterillanadi. Yig‘ilgan shpris ignasi bilan probirka ichida, paxta probka bilan yopilgan holatda, yig‘ilmagan shpris esa qog‘oz yoki lattaga o‘ralgan holatda avtoklavda 1 atm da 15-20 daqiqa davomida sterillnadi. Odatda ularni yig‘ilgan holatda sterillash maqsadga muvofiq hisoblanadi, aks holda mikroorganizm bilan ifloslanishi mumkin.

**Gazlar yordamida sterillash.** Turli oynali qurilmalar, optik va radioelektron qurilmalar, shu bilan bir qatorda termolabil plastmassadan yasalgan, masalan sentrifuga probirkalari gazlar yordamida sterillanadi.

Gazlar yordamida sterillash uchun sporotsid ta'sirga ega bo'lgan gazlar aralashmasidan foydalaniladi. Bularga: *etilen oksidi, metilbromid, propilen oksidi, formaldegid, glyutaraldegid, beta-propiolakton, ozon* kabi moddalarni sanab o'tish mumkin. Gaz yordamida sterillash maxsus germetik idishlarda amalga oshiriladi. Sterillanadigan buyumlar maxsus kameraga xuddi avtoklavda yoki quritgich shkaflarida sterillanadigandek yopiq, o'ralgan holatda joylashtiriladi. Gazlar yordamida sterillash jarayonida ularning zaharlilik darajasini e'tiborga olgan holatda ishlash zarur.

**Nurlar yordamida sterillash.** Binolarni sterillashda, qurilmalar, bir qator tibbiyot inshootlarini (operatsion xonalar), oziq-ovqat mahsulotlarini sterillashda: infraqizil, ultrabinafsha, rentgen nuri,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - kabi radioktiv elementlar nurlaridan foydalaniladi. Ko'p hollarda mikrobiologiya amaliyotida ultrabinafsha nuridan foydalaniladi. Bu nurning ta'sir kuchi *bakt* larda o'lchanadi. UB-nurining turli mikroorganizmlar uchun (sporadan tashqari) ta'sir miqdori, 5 mkb/sm<sup>2</sup> ni tashkil etadi.

#### **Ishning boorish tartibi:**

1. Turli idishlar va ozuqa muhirlari hamda sterillanadigan narsalarni sterillashga tayyorlash;
2. Falga qog'ozini 25-30 sm uzunlikdagi va 2-3 sm enlilikdagi tasmalar shaklida kesib tayyorlang.
3. Uni o'qituvchi ishtirokida pipetkalarining uchki qismini sterillashga tayyorlash uchun foydalangan holda o'rab chiqing va pipetkaning orqa tomonini preporaval igna yordamida paxta bilan berkiting.
4. Petri chashkalarini gazeta yoki bir varoqqa (A4) teskari holda joylashtiring va uni o'qituvchi yordamida (konfet shaklida) o'rang va sterillashga tayyorlang.



#### **Nazorat savollari:**

1. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlatiladigan inkubatsion qurilmalarga nimalar kiradi va ularning ishlash prinsipi qanday bo'ladi?
2. Qanday sovutkichlar ishlatiladi?
3. Sterillashning qanday turlari mavjud?
4. Issiq sterillash va ularga mansub bo'lgan usullarni hisoblab bering.
5. Avtoklav yordamida sterillash qanday amalga oshiriladi?
6. Sovuq sterillash nima va u qanday hollarda qo'llaniladi?
7. Gazlar yordamida sterillashda qanday gazlar ishlatiladi?
8. Qanday nurlar sterillashda ishlatiladi?

## Talaba bilimini mustahkamlash uchun qo'llaniladigan texnologiyalar: «FSMU» metodi

**Texnologiyaning maqsadi:** Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi umumiy fikrlardan xususiy xulosalar chiqarish, taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni o'zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko'nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan ma'ruza mashg'ulotlarida, mustahkamlashda, o'tilgan mavzuni so'rashda, uyga vazifa berishda hamda amaliy mashg'ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

### «FSMU» metodi

F	• fikringizni bayon eting
S	• fikringiz bayoniga sabab ko'rsating
M	• ko'rsatgan sababingizni isbotlab bering va misol keltring
U	• fikringizni umumlashtiring

### Topshiriqlar:

1. Nima uchun sterillash zarurati paydo bo'lgan?
2. Nima uchun sterillashning har ikkala turini har doim ham ishlatib bo'lmaydi?
3. Issiq sterillashning qo'llanilish sohalarini sanab bering va ahamiyatini izohlab bering.
4. Zamonaviy sterillash usullari haqida fikringizni bildiring.

### 4-laboratoriya mashg'uloti

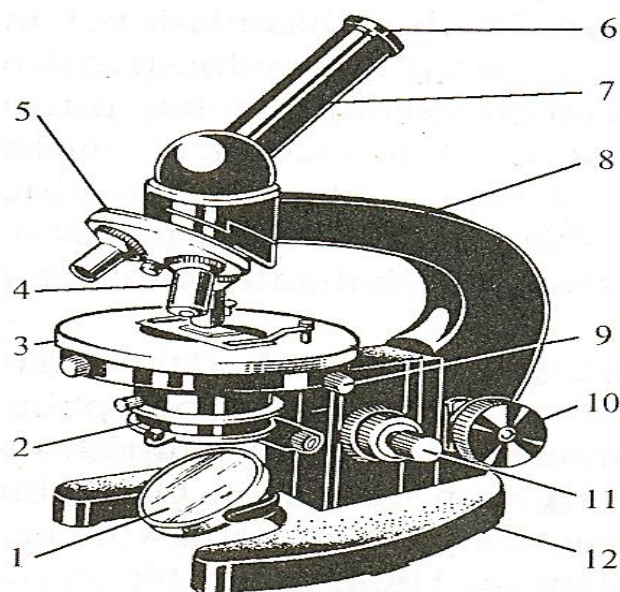
#### Mavzu: MBR-1 mikroskopining tuzilishini o'rganish

**Mashg'ulot maqsadi:** Biologik mikroskopning tuzilishi va unda ishlash qoidalari bilan tanishish.

**Kerakli jihozlar:** Falga qog'ozi, shisha idishlar, bakterilogik ilmoq, turli bo'yoqlar (ishqoriy fuksin, gentsent violet), avtoklav, termostat, anaerostat, buyum oynasi va qoplag'ich oyna, Petri chashkasi, turli o'lchamdagi pipetka, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.



**Nazariy ma'lumot.** Mikroskop mexanik va optik qismlardan tuzilgan. Mexanik qismiga: buyum stolchasi va tubus mahkamlanagan shtativ (tutqich) kiradi (12-rasm).



**12-rasm. MBR-1 mikroskopi:** 1 – ko‘zgu; 2 – kondensor; 3 – buyum stolchasi; 4 - obektiv; 5 – revol‘ver; 6 – okulyar; 7 – tubus; 8 – tubus tutqichi; 9 – buyum stolchasini harakatga keltiruvchi muruvat; 10 – makromuruvat; 11 – mikromuruvat; 12 – mikroskopning taqasimon tayanchi.

Buyum stolchasiga ko‘riladigan preparat o‘rnatiladi. Preparatni qisqichlar yordamida qisish va o‘ng va chap tomondagi ikki murvati yordamida gorizontal tekislikda harakatga keltirish mumkin. Buyum stolchasi tagida kondensor kronshteyni mahkamlangan. Shtativni yuqori qismi tubus tutqichni makro- va mikromurvatlar yordamida harakatlantirish mumkin. Bu murvatlarni soat mili yo‘nalishida buralsa tubus tutqich pasayadi, soat miliga teskari tomonga buralsa - ko‘tariladi. Mikromurvatni bir aylanishi tubusni 0,1 mm ga suradi. Mexanik qismiga yana revolver kirib, unga obektivlar buralib joylashtiriladi. Tubusni yuqori uchiga okulyar mahkamlanadi. Optik qismiga yoritgich apparat, obektiv va okulyar kiradi. Yoritgich apparati esa kondensor va kozgudan tuzilgan bo‘ladi. Ko‘zguni bir tomoni yassi va ikkinchi tomoni botiq ko‘rinishga ega. 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‘tish jadalligi iris diafragma orqali boshqarilishi mumkin. Diafragma ostida yorug‘lik nuri filtrlari uchun gardish joylashgan. Kondensorni tik yo‘nalishda maxsus murvat yordamida harakatga keltirish mumkin. Kondensor bilan ishlanganda ko‘zguning faqat tekis tomonidan foydalaniladi.

Obektiv metall gardishda joylashtirilgan linzalar tizimidan tuzilgan bo‘lib, ularning eng asosiy tashqi (frontal) linzadir. Obektivning kattalashtirishi uning fokus masofasi va egriligiga bog‘liqdir. MBR-1 mikroskopida 8, 40 (quruq) va 90 (immersion yoki moy) marta kattalashtiruvchi obektivlar bor. Quruq obektivlarning frontal linzasi bilan obekt orasida havo bo‘ladi, immersion (moyli) obektivlarda esa maxsus moy bo‘lib, uning nur sindirish ko‘rsatkichi buyum oynasinikiga teng bo‘ladi (1,5). Natijada, yorug‘lik nurlari obektdan va moydan o‘tib tarqalib ketmaydi. Mikroorganizmlarni kuzatganda ko‘pincha immersion obektiv ishlatiladi. Okulyarlar ikki linzadan tashkil topadi: yuqori – ko‘z, quyi – to‘plagich linzalar. Ular orasida umumiy gardishda diafragma joylashadi. Kattalashtirish imkoniga ko‘ra okulyarlar har xil bo‘ladi: 5x, 7x, 10x, 12x, 15x va 20 marta kattalashtiruvchi okulyarlar. Eng muhimi mikroskopning kattalashtirish va ko‘rsatish imkoniyatidir.

Mikroskopning umumiy kattalashtirish darajasini topish uchun obektiv kattalashtirish sonini okulyar kattalashtirish soniga ko‘paytirish kerak. Masalan: immersiya obektivi (90x) ishlatilganda 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 ( $\lambda$ ), obektivning appertura soniga ( $A_1$ ) va kondensorning appertura soniga ( $A_2$ ) bog‘lik bo‘ladi.

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

Agar  $A_1 = A_2$ ,

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

Appertura soni quyidagi formula bilan aniqlanadi:  $A = \sin u \times n$

$u$  - obektivga kiruvchi nurning yarim burchagi;

$n$  - obektiv va preparat orasidagi muhitning nur sindirish ko‘rsatkichi.

Agar,  $u = 90^\circ$ ,  $n$  esa = 1,5 (immersion moyning nur sindirish ko‘rsatkichi) bo‘lsa, unda  $A = 1,5$ . Yorug‘lik nurining uzunligi  $\lambda = 600$  nm (0,6 mkm) bo‘lsa, unda  $d = 0,2$  mkm bo‘ladi. Demak yorug‘lik mikroskopining ko‘rsatish quvvati 0,2 mkm bo‘ladi. Yorug‘lik nuri o‘rniga ultrabinafsha nur ishlatilsa bu ko‘rsatkichni kichraytirish mumkin va hokazo. Agarda  $d$  ning mutloq qiymati qancha kichik bo‘lsa, shuncha mikroskopning ko‘rsatish imkoniyati katta bo‘ladi va shuncha kichik obektni ko‘rish mumkin.

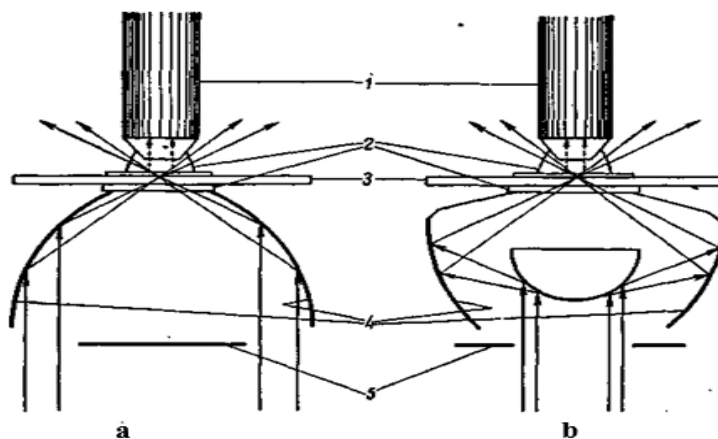
Mikroorganizmlarni mikroskop orqali kuzatish uchun, avvalo,

preparat tayyorlanadi. Tayyorlangan preparatlar "ezilgan tomchi", "osilgan tomchi", "nusxa olish usuli", fiksirlangan bo'yalgan va hokazo usullarda tayyorlanadi.

Biologik mikroskop uchun qo'shimcha moslamalar uning hamma imkoniyatlarini maksimal darajada ishlatish imkonini beradi, ishlash sharoitini osonlashtiradi va qo'llash diapazonini ancha kengaytiradi. Mikrobiologik laboratoriyalarda odatda quyidagi moslamalardan foydalaniladi:

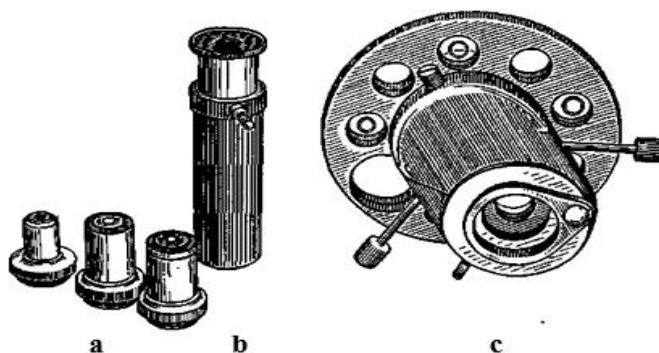
1. Qorong'u maydonli kardiod – va paraboloid-kondensorlar.
2. Faza-kontrastli KF-1, KF-4 moslamalar va boshqa modellar.
3. Mikroskopda kuzatishni tabiiy ko'rish sharoitiga yaqinlashtiruvchi binokulyar moslama.
4. OI-7, OI-19 yoritgichlari, ular optimal va turg'un yorug'likni ta'minlaydi. Yorug'lik intensivligi (jadalligi) reostat yordamida tartibga solinadi.
5. Mikroskopik ob'ektlarni o'lchash uchun mo'ljallangan okulyar-mikrometr va ob'ekt-mikrometrlar.
6. Mikroskop buyum stolchasi o'rniga o'rnatilgan isituvchi stolcha doimiy haroratni ta'minlash va uzoq vaqt davomida tirik mikroorganizmlarni kuzatishda qo'llaniladi.
7. Preparatni chizib olish uchun rasm chizuvchi apparat. Uning yordamida bir vaqtda ob'ektning tasvirini va mikroskop yaqinidagi stolda joylashgan qog'ozni ko'rish va qog'ozda obekt konturini chizib olish mumkin.
8. Yorug'lik manbai va mikroskop orasida joylashtiriladigan rangli, neytral va issiqlikli optik svetofiltrlar. Ulardan mikroskopda kuzatishning maxsus usullarida foydalaniladi.
9. Mikroskopik obektlarni rasimga olish uchun mo'ljallangan MFN-1, MFN-3 va boshqa modeldagi mikronasadkalar.
10. Seytrafer mikrokinotasvirlar uchun mikroqurilma faza-kontrastli mikroskopiya bilan birgalikda mikroorganizmlar rivojlanishi va ko'payish dinamikasini, ularga turli faktorlarning ta'sirini va boshqa ko'pgina masalalarni o'rganishda qo'llaniladi.

**Qorong'u maydonli mikroskopiya.** Ko'rish qorong'u maydonidagi mikroskopiya suyuqlikda o'ta mayda zarrachalar (Tindal effekti) ning yon tomondagi kuchli yoritilishida yorug'lik difraktsiyasi hodisasiga asoslangan. Bu biologik mikroskopda odatdagi kondensorning o'rnini bosuvchi paraboloid– yoki kardiod-kondensor yordamida amalga oshiriladi (13-rasm. a, b).



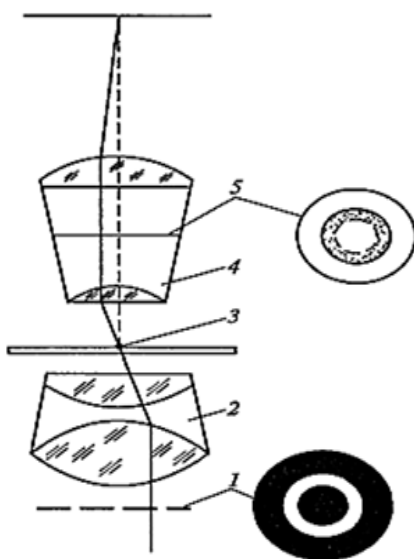
**13-rasm. Qorong'u maydonli kondensordalarda nurning tarqalishi.** a – paraboloid-kondensor; b–kardiod-kondensor; 1–ob'ektiv; 2–immersion moy; 3–preparat; 4–oynali yuza; 5–diafragma.

Paraboloid-kondensor markazida yorug'likning markaziy nurlarini ushlab qoluvchi qorong'ulikka va nurlarni qaytarish uchun ichki oynali yuzaga ega (14-rasm). Kardiod-kondensorda nurlar avval qavariq yuzadan, keyin botiq yuzadan qaytadi. Qorong'u maydonli kondensordan chiquvchi chetdagi nurlar qiyshiq yo'nalishida o'tadi va obektivga tushmaydi, shu sababli ko'rish maydoni qorong'uligicha qoladi. Obektivga obektdan qaytgan nurlar keladi, ular qorong'u fonda mavjud mikroorganizmlarining va boshqa zarrachalarning aniq yorug'lik tarqatuvchi tasvirini hosil qiladi.



**14-rasm. Fazo-kontrastli moslama;** a—fazaviy obektivlar; b—ko'makchi mikroskop; c—fazaviy kondensor.

**Fazo-kontrastli mikroskopiya.** Bu usuldagi mikroskopiya fazali (shaffof) deb ataladigan obektlar orqali yorug'lik nuri o'tishida yuzaga keluvchi faza bo'yicha o'zgarishlarni, ko'z bilan ilg'ab olinadigan, amplituda bo'yicha o'zgarishlarga aylantirishga asoslangan. Faza-kontrastli moslama yordamida (14-rasm), obekt orqali o'tuvchi yorug'lik to'lqini o'zgarishlari amplitudaga aylantiriladi va shaffof obektlarni mikroskopda ko'rish mumkin bo'ladi. Bunda ular tasviri yuqori kontrastlikka ega bo'ladi, u pozitiv yoki negativ bo'lishi mumkin. Pozitiv fazali kontrastli deb yorug' ko'rish maydonida obektning qora tasviriga aytiladi, negativ faza-kontrastli esa qorong'u fonda obektning yorug' tasviriga aytiladi (15-rasm).



**15-rasm. Fazo-kontrast moslama ishlatishda nurlarning o'tish sxemasi:** 1-halqasimon diafragma; 2-kondensor; 3-obyekt; 4- obyektiv; 5-fazaviy plastinka.

Faza-kontrastli mikroskopiya uchun oddiy mikroskop va qo'shimcha faza-kontrastli KF-1 yoki KF-4 moslamasi ishlatiladi. Bu komplekt ichiga quyidagilar kiradi:

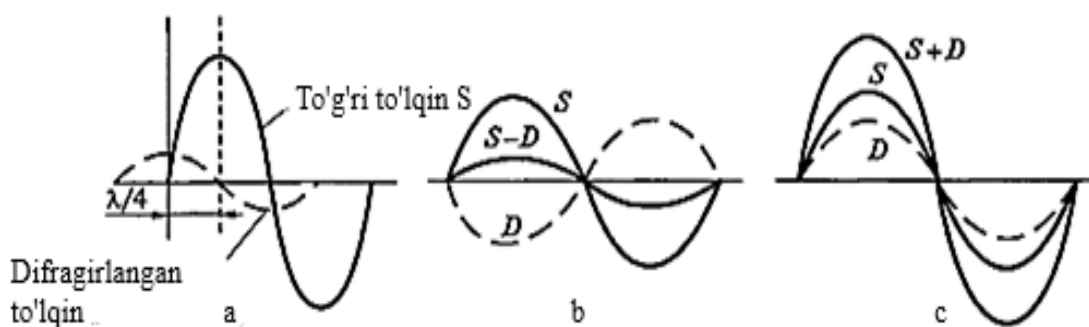
1. Yorug'lik to'lqini amplitudasini kamaytiruvchi fazani o'zgartiruvchi fazali halqali maxsus obektivlar. Fazali obektivlar ro'parasida qo'shimcha "F" harfli indeks ifodalangan: F-10, F-20, F-40 va FOI-90.

2. Har bir obektiv uchun maxsus halqali diafragmasi revolverli fazali kondensor "O" indeksi bilan irisli diafragmada preparatni oddiy usulda kuzatish uchun mo'ljallangan teshikcha belgilangan.

3. Kichik kattalashtiruvchi ko'rsatkichli yordamchi mikroskop, unda yorug'likni markazlashtirish kuzatilganda okulyar almashtiriladi.

Faza-kontrastli mikroskopiya OI-7 yoki OI-19 tipidagi yoritgichlar

ishlatiladi va unda tasvirning hosil bo'lish sxemasi quyida keltirilgan (16-rasm).



**16-rasm. Faza-kontrast prinsipini tushuntiruvchi sxema:**  
a-difragirlangan (D) va to'g'ri (S) to'lqinlar orasidagi fazalarning surilishi;  
b-qoramtir kontrast; c-oqish kontrast.

Lyuminissent (yoki flyuoesent) mikroskopiya. U fotolyuminessentsiya hodisasiga asoslangan. Lyumenetsentsiya (lumen - yorug'lik) – moddalarga qandaydir bir energiya manbai ta'sir ettirilgandan keyin ularning nurlanishi: ionizirlovchi nurlanish, nurlar, elektron nurlar. Fotolyuminessentsiya qo'zg'atuvchi nurga qaraganda juda katta to'lqin uzunligiga ega. Shu sababli lyuminessentsiyani qisqa to'lqinli nurlar yordamida qo'zg'atadilar. Agar lyuminessirlanuvchi obektni havo rang bilan yoritilsa, unda u qizil, sarg'ish yoki yashil rangdagi nurlarni tarqatadi. Natijada obektning rangli tasviri yuzaga keladi. Tarqaluvchi nur to'lqin uzunligi (lyuminessentsiya rangi) lyuminessirlanuvchi moddaning fizik-kimyoviy xususiyatlariga bog'liq bo'ladi.

Birlamchi lyuminessentsiyada obektning taxminiy bo'yalishi kuzatiladi, ikkilamchi (yuzaga keltirilgan) preparatlarni maxsus lyuminessirlovchi bo'yoqlar-flyuroxromlar bilan bo'yalgandan keyin yuzaga keladi. Lyuminessent mikroskopiya oddiy usullarga nisbatan bir qator ustunliklarga ega: "tirik mikroorganizmlarni o'rganish imkoniyati va kontrastlik darajasi yuqori bo'yalganligi tufayli o'rganilayotgan materialda ular miqdori kam bo'lganda ham aniqlay olish imkonini beradi". Laboratoriya amaliyotida lyuminessent mikroskopiya ko'pgina mikroorganizmlarni aniqlash va o'rganish uchun qo'llaniladi.

Elektron mikroskopiya. Bu usul yorug'lik mikroskopning ko'rish xususiyati (0,2 mkm) chegaralaridan tashqarida yotgan o'lchamli obektlarni kuzatish imkonini beradi. Elektron mikroskopiya viruslar, turli mikroorganizmlar, makromolekulyar tuzulmalar va boshqa submikroskopik

obektlar noziq strukturalarini o'rganish imkoniyatini beradi.

Bunday mikroskoplardagi yorug'lik nuri, ma'lum tezliklarda 0,005 nm, ya'ni ko'rinadigan yorug'lik to'lqin uzunligidan 100000 marta qisqa bo'lgan elektronlar oqimiga almashtiriladi. Elektron mikroskopning yuqori 0,1-0,2 nm tashkil qiluvchi ko'rsatish xususiyati 1000000 martagacha umumiy foydali kattalashishni olish imkonini beradi.

“Yoritish” turdagi asbob-uskunalar bilan bir qatorda skanirlovchi elektron mikroskoplardan foydalaniladi, ular ob'ekt yuzasining relefli tasvirini namoyish etadi. Bu asbob-uskunalar ko'rsatish xususiyati “yoritish” turdagi elektron mikroskoplarnikidan ancha pastdir.

### **Ishni borish tartibi:**

Har qanday mikroskop bilan ishlash ko'rish maydoni va preparatning yorug'ligini to'g'ri tanlashdan va uni turli obektivlar bilan mikroskopda kuzatishdan iborat. Yoritish tabiiy (kunduzgi) yoki sun'iy bo'lishi mumkin, buning uchun yorug'lik maxsus manbalari ishlatiladi, masalan OI-7 yoritgichlari.

Immersion obektivda preparatlarni kuzatish:

1. Tayyorlangan bo'yalgan surtmaga ehtiyotlik bilan immersion moy tomchisini tomizib, preparatni buyum stolchasiga joylash kerak;

1. Revolverni immersion obektiv - 90 ga burish kerak;

2. Mikroskop tubusini obektiv moy tomchisiga botgunicha tushirish kerak;

4. Makrometrik vint yordamida orientirli fokusni aniqlash kerak;

5. Mikrometrik vint yordamida, uni faqatgina bitta aylanish chegarasida aylantirib, preparat oxirgi tasviri tiniqlashguncha amalga oshiriladi.

Obektiv preparatga tegmasligi kerak, chunki bu holatda preparat yoki frontal linzalar sinib ketishi mumkin (immersion obektiv erkin masofasi 0,1-1 mm).

Ishni tugatgandan so'ng mikroskopning immersion obektivini toluol bilan artib, mikroskop ishsiz holatga keltiriladi, ya'ni revolver quruq obektiv - 8 ga o'tkazilishi shart.

Faza-kontrastli mikroskopiya texnikasi bilan ishlash qoidalari:

1. Mikroskopga fazali kondensator va mos keluvchi fazali obektivni

o‘rnatish. Kondensor revolverini “0” holatga keltirish.

2. Preparatni buyum oynasiga joylashtirish.

3. Yorug‘likni shunday topish kerakki, unda elektr lampa ipining aniq tasviri kondensor iris-diafragmasi to‘liq ochiq yuzasida joylashsin.

4. Okulyarni MIR-4 yordamchi mikroskopni bilan almashtiriladi va uning okulyarini o‘rnini almashtirib, obektiv fazali halqasini aniq qora kulrang tasvir olingunicha fokuslash.

5. Diafragmani fazali obektivga mos holda to‘g‘irlash, ko‘rish maydonida diafragmaning oqish halqasini paydo bo‘ladi.

6. Kondensor sentrirovkalovchi vinti yordamida oqish va qoramtir halqalarni to‘liq moslashtirish.

7. Yordamchi mikroskopni okulyar bilan almashtirish va preparatni mikroskopda kuzatish.

8. Obektivni yoki preparatni almashtirganda halqali diafragmaning fazali halqa bilan markazlashuvini yana qayta tekshirish. Hamma shartlarni to‘g‘ri bajarish tasvirning yuqori kontrastligini ta‘minlaydi.

Qorong‘u maydonli mikroskopiya texnikasi:

1. Mikroskopdagi oddiy kondensorni qorong‘u maydonli (parabaloid yoki kardiod-kondensor) bilan almashtirish.

2. Optik gomogen muhitni yaratish uchun qorong‘u maydonli kondensor yuqori linzasiga 1 tomchi distillangan suv yoki immersion moy tomizish kerak. Kondensorni suv tomchisi yoki moyning buyum oynasi bilan to‘qnashguncha ko‘tarish.

3. Yetarlicha kuchli va stabil holdagi yorug‘lik manbaini (masalan, OI-7 yoritkichi) yaratish va mikroskop yorituvchi tizimi aniq sozlash amalga oshirish.

Qorong‘u maydonda mikroskopda kuzatishdagi yuzaga keluvchi xatoliklar kondensor va buyum oynasi orasida havo pufakchalarining mavjudligi, kondensorning noto‘g‘ri moslashganligi va hokazolar bilan bog‘liq.

Lyuminessent mikroskopiya texnikasi. Odatdagi ishlarda, ob‘ekt odatda ob‘ektiv orqali tushuvchi yorug‘lik yordamida tiniqlashtiriladi. Bunda havo rangli yorug‘lik filtrlari FS-1 (2mm), FS-2 (4mm) va ko‘zni



himoya qilish uchun J-18 sariq filtridan foydalaniladi.

ML-2 mikroskopi bilan ishlaganda quyidagilar zarur:

- 1) mikroskop oziqlanishi bloki vilkasini elektr tarmog'iga ulash;
- 2) soat mili yo'nalishida qizil nuqtadagi kuchlanish regulyatori tutqichini to'g'irlash;
- 3) oziqlanish bloki yuz tomonidagi tumblarni yoqildi "vkl" holatiga keltirish va mikroskop yoqish lampasi tugmasini bosish; agarda lampa yonmasa, kuchlanish regulyatori tutqichini soat mili bo'yicha bir necha mm-ga burab, yana tugmani bosish (knopka 2-3 sekunddan ortiq bosilmaydi);
- 4) lampa yoqilgandan keyin ishchi tok regulyator tutqichini 4A belgisigacha keltirish; mikroskop lampasi yoqilgandan 10 daqiqadan so'ng preparatni kuzatishni boshlasa bo'ladi. Lyuminessent mikroskopiyani qorong'i xonada amalga oshiriladi.

Qorong'u maydonli, faza-kontrast va lyuminessent mikroskopiya uchun preparatlarni tayyorlash usullari. Qorong'u maydonli mikroskopiya uchun nativ preparatlar (ezilgan tomchi va h.) tayyorlanadi; 40x li yoki iris-diafragmali maxsus immersion obektivlar yordamida mikroskopda kuzatiladi, ular sonli aperturani 1,25 dan 0,85 gacha sozlash imkonini beradi. Buyum oynalarining qalinligi 1-1,5 mm, qoplagich oynalarniki esa 0,15-0,2 dan oshmasligi kerak.

Lyuminessent mikroskopiya uchun buyum oynalarida surtma-preparatlar yoki nativ preparatlar tayyorlanadi, ular maxsus fluoressent bo'yoqlar bilan bo'yaladi; sariq akridin, to'q sariq akridin, auromin, korifosfin. Immersion obektiv bilan ishlanganda flyurestsirlamaydigan moy ishlatiladi. Elektron mikroskopda kuzatish uchun tayyorlanadigan preparatlar bir qator o'ziga xosliklarga ega. Preparatlar maxsus plyonka-tagliklarda (plyonka-podlojka) tayyorlanadi, chunki shisha elektronlarni o'tkazmaydi. O'rganilayotgan obekt ortiqcha aralashmalardan maksimal darajada tozalanadi va tayanchli metal setkachaga taxminan joylashtirilgan plyonka-taglikka joylanadi.

Mikroorganizmlarni mikroskop ostida kuzatish uchun turli usullarda preparatlar tayyorlanadi: ezilgan tomchi, osilgan tomchi, nusxa olish, fiksirlangan bo'yalgan va h.k.



### **Nazorat savollari:**

1. Mikroskop qanday qismlardan iboratligini izohlab bering?
2. Mikroskopning qanday turlari mavjud?
3. Mikroskopning optik qismiga qaysi qismlar kiradi?
4. Mikroskopning kattalashtirishini qanday hisoblab topish mumkin?
5. Elektron mikroskopiya qanday maqsadlarda ishlatiladi?
6. Qorong'u maydonli, fazo-kontrast va lyuminessent mikroskopiya uchun preparatlarni tayyorlashning qanday usullari mavjud?
7. Lyuminessent mikroskopiya qanday maqsadlarda ishlatiladi?
8. Immersion tizim deb nimaga aytiladi?

### **Talaba bilimini mustahkamlash uchun qo'llanilgan texnologiyalar: «AQLIY HUJUM» metodi**

**Texnologiyaning maqsadi:** Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi tezkor fikrlash, hozirjavoblik, axborotni o'zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko'nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan ma'ruza mashg'ulotlarida, mustahkamlashda, o'tilgan mavzuni so'rashda, uyga vazifa berishda hamda amaliy mashg'ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

#### **Topshiriqlar:**

1. Ilk yaratilgan mikroskop va uning tuzilishi qanday?
2. Mikroskopning optik qismiga nimalar kiradi?
3. Mikroskopning mexanik qismlariga nimalar kiradi?
4. Mikroskopning ko'rish imkoniyati nima va qanday aniqlanadi?
5. Mikroskopning kattalashtirish darajasi qanday aniqlanadi?

### **5-laboratoriya mashg'uloti**

#### **Mavzu: Mikroorganizmlarning tirik preparatini tayyorlash va mikroskopda kuzatish**

**Ishning maqsadi:** Mikroorganizmlarning tirik preparatini tayyorlash va mikroskop ostida kuzatishni o'rganish.

**Kerakli jihozlar va uskunalar:** mikroskop, spirtovka, narvoncha bilan vannacha (obzan), buyum va qoplog'ich oynalar, bakterial ilmoq,

probirkalar uchun mo'ljallangan shtativ, bo'yoqlar, immersion moy, mikroskop ostida ko'rishda ishlatiladigan reaktivlar hamda suv solingan kolba, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

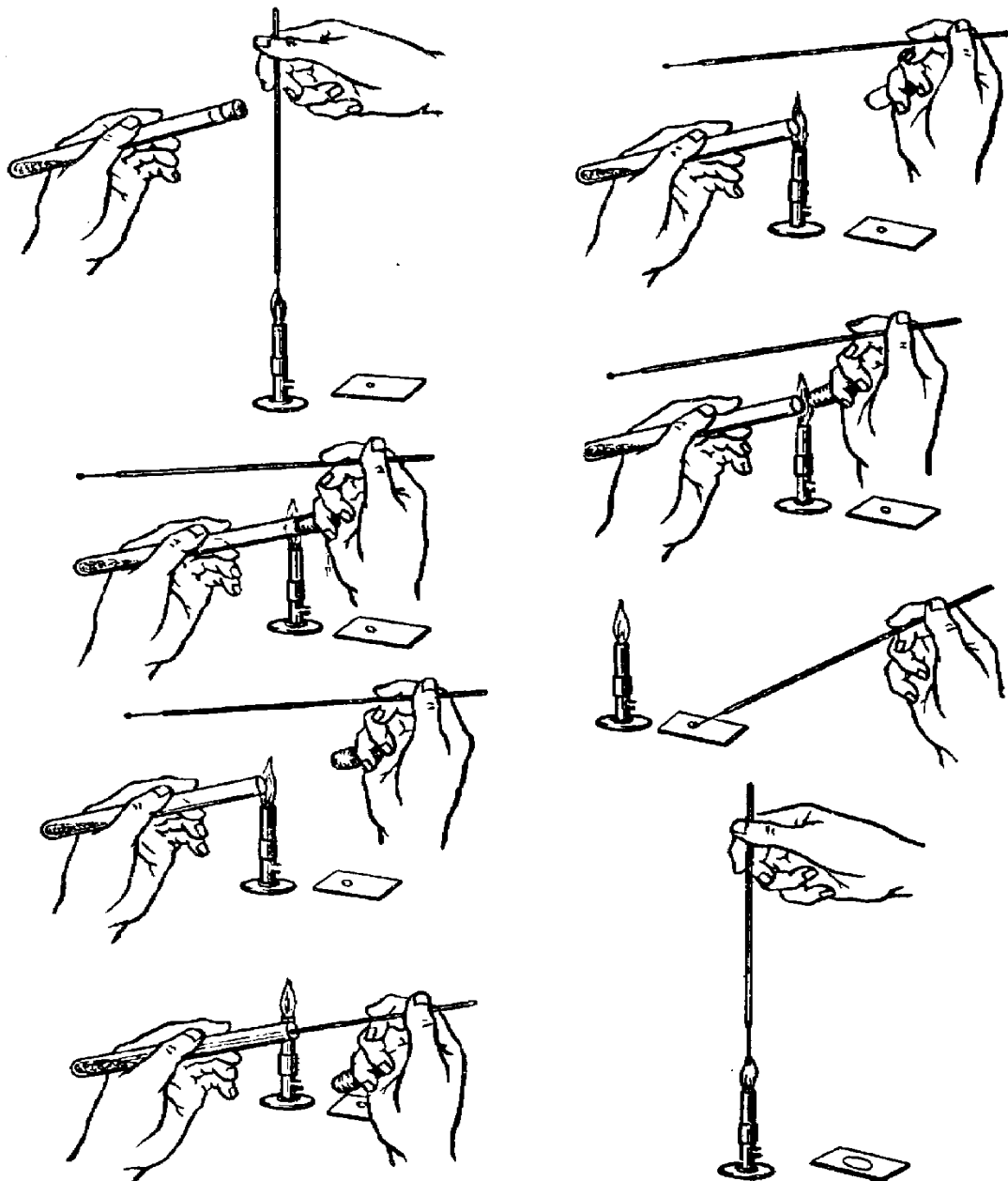
**Nazariy ma'lumot.** Preparat suyuq yoki agarli oziqa muhitida o'stirilgan ma'lum yoshdagi bakteriya kulturasidan tayyorlanadi. Oziqa muhitalari tayyorlashning ko'pdan-ko'p retseptlari ishlab chiqilgan bo'lib, ulardan ishlashga eng qulay va tayyorlashga osoni pepton ozuqa muhiti deb shartli nomlangan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

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 yuqorida keltirilgan asbob va uskynalarni tayyorlab olishi kerak.

### **Ishning borish tartibi:**

#### **Preparat tayyorlash quyidagicha amalga oshiriladi:**

1. Buyum oynasi markaziga shisha tayoqchada 1-2 tomch suv tomiziladi;
2. Tomizilgan tomchi suvga o'rganilayotgan kulturaning biomassasidan bakterial ilmoq bilan ozginasi olib solinadi va aralashtiriladi (17- rasm);
3. Bakterial ilmoqdagi biomassaning ortiqcha qismi spirt lampasi alangasida kuydirish orqali sterillanadi;
4. Hosil bo'lgan kuchsiz loyqa ustiga ohistalik bilan qoplag'ich oyna yopiladi;



**17-rasm. Bakterial ilmoq bilan namuna olish va tirik preparat tayyorlash**

5. Qoplagich oyna yopilgandan so‘ng uning atrofiga chiqqan suvning ortiqcha qismi filtr qog‘oz bilan shimdirib olinadi.

6. So‘ngra qoplagich oyna ustiga bir tomchi immersion moy tomiziladi va mikroskopda kuzatiladi.

**Mikroskopda ishlash qoidalari quyidagilardan iborat:**

1. Mikroskopni talaba o‘ziga nisbatan perpendikulyar holda qo‘yadi;
2. Ko‘zgodan va kondensorning iris diafragmasidan foydalanib, kunduzgi yorug‘likda yoki maxsus yoritgichlar, masalan, OI-19 dan foydalanib yorug‘lik topiladi;

3. Preparatga bir tomchi immersion moy tomiziladi va mikroskopning buyum stolchasiga joylashtiriladi;

4. Mikroskop revolveridagi 90x obektiv (immersion obektiv) preparatni ko'rishga moslanadi, yon tomondan kuzatilgan holda obektiv linzasi moyga botiriladi;

5. Okulyarga qaragan holda makrovint yordamida ob'ekt topiladi;

6. Aniq ko'rinishga erishish uchun mikrovintdan foydalaniladi.

7. Mikrovintdan juda ehtiyotlik bilan foydalaniladi - soat milli yo'nalishida yoki aksincha, faqat 1-2,5 aylanishdan ortiq buralmaydi.

8. Preparatni yoritilishini kondensorni vertikal yo'nalishda harakatga keltirib, kamaytiriladi yoki ko'paytiriladi.

Laboratoriya mashg'ulotlari uchun tutilgan maxsus albomga ko'rish maydoniga o'xshash, 3-4 sm li doira chiziladi. Unga o'rganilayotgan mikroorganizmlarning rasmi chiziladi, o'lchamlari va shakllariga alohida ahamiyat beriladi, kerakli ma'lumotlar yoziladi.

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



### **Nazorat savollari:**

1. Mikroorganizmning tirik preparatini tayyorlash uchun qanday mikroorganizm preparatdan foydalaniladi?

2. Tirik preparat qanday tayyorlanadi?

3. Mikroskopda ishlash qoidalarini izohlab bering.

4. Laboratoriya ishining so'ngida talaba tomonidan qanday ish bajariladi?

5. Tirik preparat tayyorlashda nima uchun qoplag'ich ishlatilishini izohlab bering.

6. Obyekt qanday usulda topiladi?

7. Yorug'lik yetarli bo'lmagan paytda yoritilish qanday amalga oshiriladi?

8. Ish tugagandan so'ng mikroskop ustida qanday ishlar amalga oshirilishini aytib bering?

## 6-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlash

**Ishning maqsadi:** Mikroorganizmlarning fiksirlangan preparatini tayyorlash va mikroskop ostida kuzatishni o'rganish.

**Kerakli jihozlar va uskunalar:** mikroskop, spirtovka, narvoncha bilan vannacha (obzan), buyum va qoplog'ich oynalar, bakterial ilmoq, probirkalar uchun mo'ljallangan shtativ, bo'yoqlar, immersion moy, mikroskop ostida ko'rishda ishlatiladigan reaktivlar hamda suv solingan kolba, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

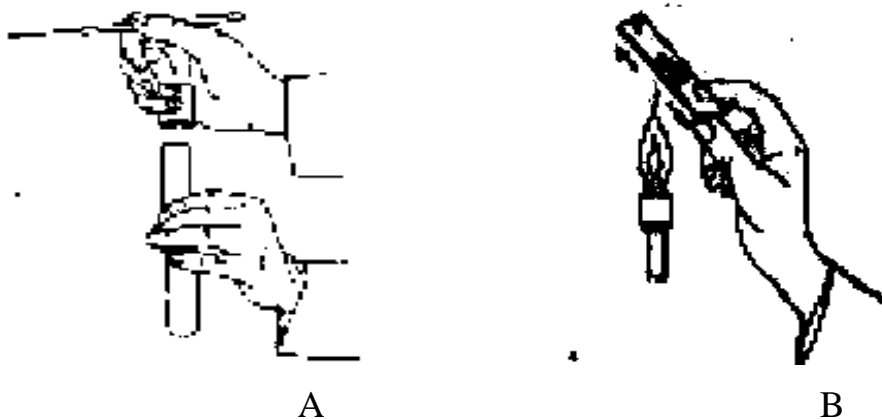
**Nazariy ma'lumot.** Preparat suyuq yoki agarli oziqa muhitida o'stirilgan ma'lum yoshdagi bakteriya kul'turasidan tayyorlanadi. Preparat tayyorlash uchun ishlatiladigan mikroorganizmlar oziqa muhitlari tayyorlashning ko'pdan-ko'p retseptlari ishlab chiqilgan bo'lib, ulardan ishlashga eng qulay va tayyorlashga osoni pepton oziqa muhiti deb shartli nomlangan oziqa muhitidir: gr/litr vodoprovod suvida, pepton - 10, saxaroza yoki glyukoza - 2,  $K_2NPO_4$  - 0,5,  $MgSO_4$  - 0,5, NaCl - 0,5 qattiq oziqa muhiti olish uchun 15-20 g agar-agar solinadi. Qizitib eritilgan holda bu oziqa probirkalarga quyiladi va sterillanadi, qiyshaytiriladi va natijada "qiyshiq agar" hosil bo'ladi. Qiyshiq agar yuzasiga bakteriya 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 joyiga yuqoriga zarur asbob va ashyolarni tayyorlashi zarur.

### Ishning borish tartibi:

Mikroorganizmlarning fiksirlangan bo'yalgan preparatini tayyorlash quyidagi tartibda amalga oshiriladi:

**Surtma (mazok) tayyorlash.** Buyum oynasiga tomizilgan tomchi suvga o'rganilayotgan kulturaning biomassasidan ozgina solinadi va bakterial ilmoq bilan aralastiriladi (18-rasm). Biomassaning ortiqcha qismi kuydirib tashlanadi. Hosil bo'lgan kuchsiz loyqa buyum oynasi ustiga diametri 2 sm doira shaklida tarqatiladi, havoda (vaqti-vaqti bilan alangaga yaqinlashtirib-uzoqlashtirib) quritiladi va surtma tayyorlanadi. To'g'ri tayyorlangan surtmada bakteriyalar ayrim-ayrim bo'lib, yupqa qatlam hosil qiladilar (18-rasm, A va B).



**18-rasm. Probirkadagi toza kul'turadan surtma tayyorlash.** A - bakterial kulturani chap qo'l barmoqlari bilan ushlab, o'ng qo'lning jinjalog'i bilan probirka tiqinini alanga oldida ochish; B – surtmani quritish.

**Fiksatsiya** yuqori harorat yordamida (flambirlash) yoki kimyoviy usulda olib boriladi. Birinchi usulda preparat uch marta surtmasini alangaga qaratgan holda spirtovka yoki gaz gorelkasi alangasidan o'tkazilib fiksatsiya qilinadi. Fiksatsiya qilinganda hujayralar o'ladi va oynaga yaxshi yopishadi, tirik hujayraga qaraganda bo'yalishi yengillashadi.

**Bo'yash.** 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 rangli metilen, ishqoriy fuksin, siyoh rang genetsian va boshqalar. Agar bo'yoq filtr qog'ozga avvaldan shimdirilgan va quritilgan bo'lsa, bo'yash osonlashadi. Bir- ikki daqiqa davomida bo'yalgandan so'ng, bo'yoq oqova suv bilan yuviladi, filtr qog'ozi bilan qoldiq suvlar shimdiriladi, so'ng mikroskopda ko'riladi.

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

Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlari uchun tutilgan maxsus albomga ko'rish maydoniga o'xshash, 3-4 smlik doira chiziladi. Unga o'rganilayotgan hujayralarning rasmi chiziladi, ol'chamlari va shakllariga alohida ahamiyat beriladi, kerakli ma'lumotlar yoziladi.

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



### **Nazorat savollari:**

1. Fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlash nechta bosqichni o'z ichiga oladi?
2. Surtma (mazok) tayyorlashga tavsif bering.
3. Qanday tayyorlangan surtma eng to'g'ri tayyorlangan preparat hisoblanadi?
4. Preparatni bo'yashda ishlatiladigan bo'yoqlarning qanday turlari mavjud?
5. Fiksatsiyalashning qanday turlari mavjud?
6. Preparatlarni bo'yashda ishlatiladigan ishqoriy anilin bo'yoqlar qanday bo'yoqlar hisoblanadi?
7. Bakteriologik ilmoqda qolgan ortiqcha mikroorganizm qanday yo'qotiladi?
8. Preparatni mikroskopda ko'rish qanday amalga oshiriladi?

### **Talaba bilimini mustahkamlash uchun qo'llanilgan texnologiyalar: «FSMU» metodi**

**Texnologiyaning maqsadi:** Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi umumiy fikrlardan xususiy xulosalar chiqarish, taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni o'zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko'nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan ma'ruza mashg'ulotlarida, mustahkamlashda, o'tilgan mavzuni so'rashda, uyga vazifa berishda hamda amaliy mashg'ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.



## «FSMU» metodi

F	• fikringizni bayon eting
S	• fikringiz bayoniga sabab ko'rsating
M	• ko'rsatgan sababingizni isbotlab bering va misol keltring
U	• fikringizni umumlashtiring

### Topshiriqlar:

1. Nima uchun bakteriologik ilmoqni dastlab qizdirib olinadi?
2. Surtma nima uchun yupqa va bir tekis bo'lishi kerak?
3. Nima uchun preparat fiksatsiya qilinadi?

## 7-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Pichan batsillasining elektiv kul'turasini tayyorlash

#### va mikroskopda kuzatish

**Ishning maqsadi:** Pichan basillasining sof kul'turasini tayyorlash va pichan batsillalarini mikroskopda kuzatish

**Kerakli asbob va reaktivlar:** quruq pichan, tarozi, bitta katta va bir nechta kichik kolbalar, elektr plitka, oq bo'r, termostat, mikroskop, kedr moyi, buyum oynasi, qoplagich oyna, bakterial ilmoq, sil-karbol fuksini va sinka bo'yoqlari, filtr qog'oz, pichan batsillasining 1,2,3 va 4 kunlik elektiv kulturasi, 5 % li xromat kislota, spirt lampa, 5 % li sulfat kislota, termostat, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Sof kul'tura (elektiv kul'tura) - mikroblar to'plamidan bir turga kiruvchi mikroorganizmlarni ajratib olish hisoblanadi. Bunda bir necha xil mikroorganizmlar aralashmasidan bir turning rivojlanishi ta'minlanadi. Sof kul'turani ajratish mikrobiologik tekshirishlarning asosiy bosqichlaridan hisoblanadi. Sof kul'tura tayyorlashdan oldin tekshiriladigan organizmning yashash va rivojlanish sharoitini o'rganish lozim.

Pichan batsillasi (*Bacillus subtilis*)ning sof kul'turasini tayyorlash uchun aerob (kislrodli) sharoit bo'lishi zarur. Bu batsilla geterotrof bo'lganligi sababli yetarlicha miqdorda organik oziq ham bo'lishi kerak.

Bunday sharoitda ko'pchilik mikroorganizmlarning yashashi va rivojlanishi ancha qulay bo'ladi. Pichan batsillasining sporalari 2 soat qaynatilganda ham o'z hayot faoliyatini saqlab qoladi. Lekin spora hosil qilmaydigan bakteriyalarning hammasi eritma qaynatilganda nobud bo'ladi.

### **Ishning borish tartibi:**

Pichan batsillasining sof kul'turasi quyidagicha tayyorlanadi:

1. 10-15 g maydalangan quruq pichan hajmi 200-300 ml bo'lgan suvli kolbaga solinib, 30 daqiqa qaynatiladi.

2. Aralashmani neytrallash uchun unga 1-2 g maydalangan bo'r qo'shiladi. Aralashma qaynatilganda pichan tarkibidagi organik moddalar eritmaga o'tadi va sporadan o'sib chiqqan batsilla uchun oziq bo'ladi.

3. Keyin qaynatilgan suyuqlik 3 ta toza kolbaga 1-2 sm<sup>3</sup> hajmda quyib olinadi.

4. Kolbalarning og'zi paxtadan qilingan tiqin bilan berkitiladi va +30°C termostatda 1-4 kun saqlanadi va undan preparat tayyorlanib mikroskopda tekshiriladi. Kolbada qolgan pichan qaynatmasida pichan batsillalarning sporasi bo'ladi.

5. Termostatda bir kun turgan pichan qaynatmasidan sterillangan bakterial ilmoqda bir tomchi olinib, osma yoki ezilgan tomchi usulida preparat tayyorlanadi.

6. Bu preparat mikroskopda kuzatilganda sporadan o'sib chiqqan harakatchan batsillalar ko'rinadi. Ularning butun tanasi xivchinlar bilan o'ralgan bo'ladi.

Pichan qaynatmasi ikki kun saqlanganda so'ng unda havoning kamayishi va oziq moddalarning yetishmasligi natijasida harakatchan batsillalar xivchinini tashlab, harakatsiz holatga o'tadi va tezlik bilan bo'lina boshlaydi. Batsillalarning bo'linishi natijasida koloniyalar hosil bo'ladi, har qaysi hujayra o'zidan shilimshiq modda chiqaradi. Bu shilimshiq bakteriyalarning koloniyasi zoogleya deb ataladi. Zoogleya suyuqlik yuzasida yupqa parda shaklida bo'ladi. Zoogleya ichidagi batsillalarni ko'rish uchun quyidagi ishlarni amalga oshirish talab etiladi:

1. Buning uchun bakterial ilmoq yordamida suyuqlik yuzasidagi pardaning ozginasi buyum oynasiga surtiladi va ochiq havoda quritiladi.

2. Quritilgan preparat fiksatsiya qilinadi va undan so'ng fuksin yoki sinka bilan bo'yalib, mikroskopning 8x va 40x li obektivlari orqali kuzatiladi. Bunda preparatda bir-biriga ulangan ip shaklidagi hujayralar ko'rinadi.

3. Soʻngra bir necha kun saqlangan pichan batsillasi kulturasidan surtma tayyorlanadi va fiksatsiya qilinadi, ustiga 5% li xromat kislota tomizilib, 5 daqiqa davomida boʻyaladi.

4. Xromat kislota suv bilan yuvib tashlanadi, soʻngra preparatning ustiga sil-karbol fuksini boʻyogʻidan tomiziladi va boʻyoqni bugʻlantirish uchun spirt lampa alangasi ustida 5 daqiqa tutib turiladi.

5. Bunda boʻyoq qurib qolmasligi kerak, agar qurib qolsa yana boʻyoq qoʻshib turiladi.

6. Shundan keyin preparatdagi boʻyoq suv bilan yuvilib, ustiga 5%  $H_2SO_4$  tomiziladi, oradan 10-15 soniya oʻtishi bilan kislota yuvib tashlanadi.

7. Soʻngra preparat ustiga 2-3 tomchi Lyoffler sinkasi tomizilib, 2 daqiqa oʻtgandan soʻng u ham yuvib tashdanadi.

8. Preparatda qolgan suv tomchilari filtr qogʻozi bilan shimdirib olinadi.

Shu tartibda tayyorlangan preparat ustiga bir tomchi kedr moyi tomizilib, mikroskopning quruq va immersion sistemalari orqali qaraladi. Bunda preparatdagi sporalar pushti, vegetativ hujayralar esa havo rangga boʻyalganligi kuzatiladi.



#### **Nazorat savollari:**

1. Sof kulʼtura deb nimaga aytiladi?
2. Pichan batsillasining elektiv kulturasi qanday olinishini izohlab bering?
3. Pichan batsillasi maʼlum muddat oʻsgandan soʻng nimaga aylanadi?
4. Zooliya nima va bunday holda qanday koʻrinishda boʻladi?
5. Pichan tayoqchasi tabiat uchun qanday ahamiyatga ega?
6. Pichan bakteriyasi sistematik guruhini tahlil qilib bering.
7. Pichan tayoqchasi maʼlum muddat oʻsgandan soʻng qanday oʻzgarishga uchraydi?
8. Pichan tayoqchasi asosida qanday preparatlar tayyorlash mumkin?

## 8-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Tayoqchasimon bakteriyalarning morfologik tuzilishini o'rganish

**Ishning maqsadi:** Bakteriyalarning morfologik tuzilishini mikroskop ostida kuzatish.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** termostat, mikroskop, kedr moyi, buyum oynasi, qoplagich oyna, tayoqchasimon bakteriyalarning kulturalari, bakterial ilmoq, fuksin, filtr qog'oz, spirt lampi, toluol, filtr qog'ozga shimdirilgan genetsian violet bo'yog'i, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Prokariot organizmlarning shakli tayoqchasimon, sharsimon, qiyshiq, burama va hokazo ko'rinishlarga ega. Odatda bir hujayrali tayoqchasimon bakteriyalar (bacter - yunoncha tayoqcha) deb ataladi. Silindrsimon to'g'ri tayoqchalar keng tarqalgan. Ular spora hosil qilmaydigan tayoqchasimonlar bo'lib, chin bakteriyalar (eubakteriya), masalan, tuproqda ko'p uchraydigan *Pseudomonas* avlodi vakillaridir. Spora hosil qiluvchilarning xarakterli vakillaridan *Bacillus* avlodi batsillalardir. Organik moddalarga va boshqa substratlarga boy suv havzalarida kasallik qo'zg'atuvchi spiralsimon buralgan tayoqchalar – vibrionlar, spirillalar va spiroxetalar uchraydi. Bakteriyalar, batsillalar, vibrionlar va spirillalar "qattiq" hujayra devoriga (po'sti) ega. 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.

#### Ishning borish tartibi:

Tayoqchasimon bakteriya, spirilla va spiroxetalar bilan tanishish uchun quyidagi mikroorganizmlardan fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlanadi:

1. *Pseudomonas sp.* - ingichka 0,3-0,4x3-5 mkm, yakka sporasiz, to'g'ri tayoqchalar. 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'rtacha

o'lchami 0,6-0,7x3-5 mkm ga teng bo'lib, spora hosil qiluvchi tayoqchadir. PA da 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. Agarda 0,5 l shisha stakandagi oddiy ariq suviga pishgan tovuq tuximining oqidan solib, 7-10 kun davomida +2 8-30 °C haroratda inkubatsiya qilinsa, suyuqlik loyqalanadi va ustida parda hosil bo'ladi. U stakandagi suyuqlikda yirikligi 1,5-2x30-70 mkm li buralgan *Spirillum* avlodiga kiruvchi spirillalarni ko'rish mumkin. Fiksirlangan, bo'yalgan preparatlarda 3-4 burmali 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, sovutiladi va ishqoriy fuksin bilan filtr qog'ozi orqali 2 daqiqa 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 kiradi.

Hamma bakteriya va mikroorganizmlarning preparatlari immersion obektiv orqali ko'riladi, albomga suratlari chiziladi, tagiga nomi yoziladi. Ish mikroskopning 90 lik obektivni paxtaga shimdirilgan toluol bilan artish, uni ishsiz holatga keltirish, ohistalik bilan shkafga joylashtirish va o'z ish joyini tartibga solish bilan tugallanadi. Bu qoidalarga mikrobiologiya darslarida doimo amal qilinadi.



### **Nazorat savollari:**

1. Tayoqchasimon bakteriyalarning qanday turlari mavjud?
2. Tayoqchasimon bakteriyalarning spora hosil qilmaydigan turlari nima deb yuritiladi?

3. Spora hosil qiluvchi tayoqchasimon bakteriyalarga nima deb ataladi?

4. Buralgan, noregid tayoqchasimon bakteriyalar bilan qanday tanishish mumkin?

5. Spora hosil qilmaydigan tayoqchasimon bakteriyalarga qaysilar kiradi?

6. Spiralsimon bakteriyalarni tabiiy muhitdan qanday ajratib olsa bo'ladi?

7. Tuproqda keng tarqalgan yirik tayoqchasimon bakteriyalarni tavsivlab bering.

8. Tayoqchasimon bakteriyalardan tirik organizmlar qoldiqlarini parchalash jarayonida ishtirok etadigan tayoqchasimon bakteriyalarga qaysi mikroorganizmlar kiradi?

## **9-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Sharsimon bakteriyalarning morfologik tuzilishini o'rganish**

**Ishning maqsadi:** Bakteriyalarning morfologik tuzilishini mikroskop ostida kuzatish.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** termostat, mikroskop, kedr moyi, buyum oynasi, qoplagich oyna, sharsimon bakteriyalarning kulturalari, bakterial ilmoq, fuksin, filtr qog'oz, spirt lampa, toluol, filtr qog'ozga shimdirilgan genetsian violet bo'yog'i, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Sharsimon bakteriyalar kokklar (coccus - yunoncha so'z bo'lib, don yoki sharcha degani). Kokklarning diametrlari 0,5-1mkm atrofida bo'ladi. Hujayralarining bo'linish tekisligini qandayligiga qarab va bo'lingandan so'ng hujayralarning bir-biri bilan bog'liqligining saqlanishi va natijada hujayralarning joylanishiga ko'ra quyidagi morfologik guruhlar ajratiladi.

Mikrokokklar hujayralari sferasimon bo'lib, 0,5-3,5 mkm diametrga ega. Ular bo'linganda bir necha tekislikda bo'linish xususiyatiga ega. Bittadan uchraydi 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 topilgan.

Diplokokklar (diplos - lotincha ikkilik degani) hujayralari bir tekislikda bo'linadi, so'ngra tarqalmaydi, natijada ikkitadan birlashgan

hujayralar hosil bo‘ladi. Ular orasida pnevmoniya, gonoreya, meningit kabi kasalliklarning qo‘zg‘atuvchilari bor.

Tetrakokklar (tetra - lotincha to‘rt so‘zidan) to‘rt hujayradan tashkil topgan. Bu esa hujayralarning ikki bir-biriga perpendikulyar bo‘ladigan 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 tashkil qiladi.

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

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 perpendikulyar tekislikda bo‘linishidan hosil bo‘ladi. Hujayralar 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 (staphylo - 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 tashkil qiladi. Stafilocokklar odam va hayvonlarda yiringli yaralar hosil qiladi. Shuni eslash o‘rinli bo‘ladiki, yuqorida aytilgan sharsimon hujayralarning, ayniqsa to‘plamlari 2-4 tadan birikkan to‘plamlari turg‘un bo‘lmasdan ayrim-ayrim hujayralarga oson ajraladi (19-rasm).

### **Ishning borish tartibi:**

Sharsimon bakteriyalarning tashqi ko‘rinishlari bilan tanishish uchun “ezilgan tomchi” yoki fiksirlangan bo‘yalgan usullarda preparat tayyorlanadi.

1. Buning uchun buyum oynasiga bir tomchi suv tomiziladi. So‘ngra o‘rganilayotgan mikroorganizm kulturasidan ozgina olib aralashtiriladi va qoplag‘ich oyna bilan yopiladi.

2. Qattiq oziqa muhitida o‘stirilgan kulturani bir tomchi suvga bakteriya ilmog‘i vositasida solib, aralashtirib preparat tayyorlanadi.

3. Suyuq oziqa 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.

4. 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.

5. Tayyorlangan preparatlar immersiya obektivi yordamida mikroskopda ko'riladi.



19-rasm. *Staphylococcus aureus*

Sharsimon bakteriyalarni o'rganish uchun quyidagi mikroorganizmlardan preparatlar tayyorlanadi va o'rganiladi:

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 sutkalik 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 qatiq 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 oynasida 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.



9. Stafilokokklar bilan tanishish uchun tayyor fiksirlab bo‘yalgan tillasimon stafilokokk *Staphylococcus aureus* preparati ko‘riladi. Bunda sharsimon hujayralarning shingillarini ko‘rish mumkin (19-rasm).



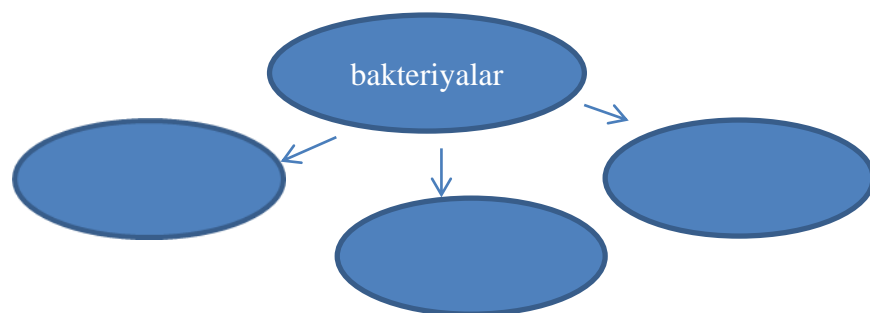
### Nazorat savollari:

1. Sharsimon bakteriyalarning qanday turlarini bilasiz?
2. Diplokokklarga qanday bakteriyalar kiradi?
3. Kasallik keltirib chiqaruvchi va ijobiy tayoqchasimonlar vakillariga misollar keltiring.
4. Sharsimon bakteriyalarning qanday turlari mavjud?
5. Sharsimon bakteriyalarga tavsif bering.
6. Stafilokokklar qanday mikroorganizmlar hisoblanadi va ular asosan qaysi muhitda keng tarqalgan?
7. Streptokokklar asosan qanday muhitda keng tarqalgan?
8. Sarsinalar qanday mikroorganizmlar va ular qaysi tabiiy muhitda tarqalgan?

### Talaba bilimini mustahkamlash uchun qo‘llanilgan texnologiyalar: «KLAUSTER» metodi

**Texnologiyaning maqsadi:** Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni o‘zlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash ko‘nikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan amaliy mashg‘ulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

#### «KLAUSTER» metodi



### **Topshiriqlar:**

1. Bakteriyalar morfologiyasi bo'yicha klaster tuzing.
2. Sharsimon bakteriyalar turlari bo'yicha klaster tuzing va izohlab bering.
3. Tayoqchasimon bakteriyalar morfologiyasi bo'yicha klaster tuzing.

## **10-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Suv mikroflorasini o'rganish**

**Ishning maqsadi:** Suv tarkibidagi mikroorganizmlarni o'rganish va suvning tozalik darajisini baholash.

**Kerakli jihozlar va uskunalar:** avtoklavda sterillangan yarim litrli butilkalar, spirt, paxta tamponni, kolbalar, probirkalar, pipetkalar, turli o'lchamli menzurkalar, Petri likopchalari, termostat, GPA va Endo ozuqa muhtlari, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Suvni sistematik bakteriologik tekshirish quyidagilardan iborat: 1) 1 ml suvdagi mikroorganizmlarning umumiy sonini hisoblash; 2) koli-indeks (1 l suvdagi *E. coli* sonini topish) va kolititr (*E. coli* vakili tutuvchi minimal suv miqdorini aniqlash) bo'yicha suvning fekal ifloslanish intensivligini aniqlash. Bu maqsadlarni amalga oshirish uchun suv namunasini to'g'ri olish zarur. Tekshiriladigan suv quritish shkafida yoki avtoklavda sterillangan yarim litrli butikalarga solinadi.

Vodoprovoddagi suv kran jo'mragi spirt shimdirilgan paxta tamponni yopib, taxminan sterillanib olinganidan so'ng suv 10 daqiqa oqizib qo'yilganidan keyin olinadi. 500 ml xlorlangan suvga xlorning bog'lanishi uchun 2 ml 1,5 % natriy giposulfati qo'shiladi. Ochiq suv havzalaridan suv namunasini 15 sm chuqurlikda batometr yordamida olinadi. Suv namunasini laboratoriyaga etkazib berish oraliq'i 2 soatdan oshmasligi zarur. Yoz faslida u muzda, qishda esa grellalarda etkazib beriladi.

### **Ishning borish tartibi:**

#### **Bakteriyalarning umumiy sonini aniqlash:**

1. Tekshirilayotgan suv avval 9 ml steril suv tutuvchi bir-nechta probirkalarda suyultiriladi.

2. Buning uchun tekshirilayotgan suvdan 1 ml olinib 9 ml distillangan suv solingan probirkaga solinadi va bu birinchi suyulish bo‘lib, uning suyulish darajasi 1:10 marta deb belgilanadi.

3. Bu suyulishdan yana 1 ml olinib ikkinchi 9 ml distillangan suv solingan probirkaga toza pipetka yordamida olib solinadi va bu probirkadagi namunaning suyulish darajasi 1:100 deb belgilanadi.

4. Xuddi shu tartibda suyultirish darajasi  $10^{-10}$  martagacha amalga oshirildi.

5. Odatda 2 tadan kam bo‘lmagan suyulish darajalari olinadi, bunda Petri likobchalarida 30 tadan kam, 300 tadan ko‘p bo‘lmagan holdagi kolloniyalarning hosil bo‘lishi hisobga olinishi shart.

6. Suyultirilgan suv namunalaridan 1ml olib steril Petri likobchalariga solinadi, ustiga eritilgan va  $45^{\circ}\text{C}$  gacha sovitilgan GPA solinadi va likopchani aylantirish bilan aralashtiriladi.

7. Agar qotgandan so‘ng Petri likobchalari  $37^{\circ}\text{C}$  li termostatga joylanadi. 1 kundan so‘ng 5 marta kattalashtiruvchi lupa yordamida koloniyalar soni hisoblanadi.

8. Suvdagi bakteriyalar umumiy sonini u necha marta suyulganligini inobatga olgan holda hisoblanadi. Masalan, Petri likobchasida 1:100 marta suyultirilgan namuna 1ml-da 120 ta koloniya aniqlandi, demak 1 mldagi koloniyalar umumiy soni 12000 ni tashkil qiladi. GOST18963-73 talablariga ko‘ra vodoprovod suvi 100-tadan kam, suv quduqlari va ochiq suv havzalarida 1000 dan oshmaydigan miqdordagi bakteriyalar bo‘lishi kerak.

### **Koli-indeks va koli-titrni aniqlashning 2 ta usuli mavjud:**

1) suvni 10 daqiqa qaynatilgandan keyin sterillangan Zeytts voronkasiga joylanadigan membranali nitrosellyulozali filtradan o‘tkazish;

2) klassik yoki bijg‘itishli. 1-chisi oddiyroq, tezroq, 2 chisi – nisbatan ko‘proq mehnat talab qiladi – *E. coli* toza kulturasini ajratishni, uning biokimyoviy identifikatsiyasini talab qiladi, biroq juda aniq natija beradi. Koli-indeks va koli-titrni aniqlash uchun shahar vodoprovod tarmog‘idan 333 ml yoki 500 ml suv namunasi olinadi.

### **Membranali filtrlash usuli:**

1. Tekshiriladigan suvni ozgina vakuum hosil qilib 3-nomerli membranali filtrdan o‘tkaziladi. U ichak tayoqchalarini tutib qoladi.

2. Keyin steril pintset bilan membranali filtrlar Endo muhiti Petri likobchalariga olinadi va  $37^{\circ}\text{C}$  li termostatga joylanadi.

3. 1 kunlik inkubatsiyadan keyin membranali filtrlar yuzasida *E. coli* ga xos bo'lgan metallga o'xshash yaltiraydigan to'q-qizil, Gr (-), sporasiz koloniyalar o'sib chiqadi.

4. Filtrlar oksidazali indikatorlarga joylanadi.

5. Rangi o'zgarmagan qizil koloniyalar 0,5% glyukozali yarim suyuq muhitga ekiladi.

6. O'sishning 1-2 kuni gaz pufakchalarining (uglevodning bijg'ishi) kuzatilishi suvda ichak tayoqchalari mavjudligini anglatadi. Natijalar koli-indeksda ifodalanadi. Masalan, filtirda *E. coli* ning 2 ta koloniyasi hosil bo'ldi. 500 ml suv filtirlangani uchun 1 litrda 4 ta bakteriya bor. Koli-indeks 4 ga teng bo'lsa, koli-titr 250 ni (1000:4) tashkil qiladi.

### **Bijg'itish usuli:**

1-bosqich: 1) vodopovod suvini glyukoza-peptonli Eykman muhitiga ekish (odatdagi muhit 1 litrida 10 gr pepton, 5 grdan glyukoza va natriy xlorid tutadi, kontsentirlangani esa 10 marta ko'p miqdorda); bunda 10 va 100 ml suv kontsentirlangan muhitga, undan kam miqdorda esa odatdagi muhitga ekiladi;

2) ekmalar ichak tayoqchalari rivojlanishini bostirish uchun 43°C li termostatga joylanadi.

2-bosqich: 1) 7-12 soatdan keyin ekmalar termostatdan olinadi; hamma probirka va flakonlardan ularda o'sish belgilari bor-yo'qligidan qat'iy nazar glyukoza-laktoza-saxarozali Olkenetskiy qiyshiq muhitiga ekiladi;

2) avvalgi va keyingi ekmalar yana termostatga qo'yiladi. Suvda *E. coli* mavjud bo'lganda Eykman muhitida bijg'ish kuzatiladi, Olkenetskiy muhiti esa gaz hosil bo'lishi bilan stolbikdagi ranglarga bo'yaladi.

Eykman muhitidan Endo muhitiga kul'turalarni qayta ekish orqali yanada aniqroq natijalar olinadi. Shuningdek Giss rangli qatoriga ekib ham chuqurroq o'rganib aniqlash mumkin, biroq buning uchun bir necha kun talab qilinadi. Yuqoridagilarni amalga oshirib: 1) inson esherixalarini, ularning morfologo-kultural va biokimyoviy xususiyatlari bilan o'xshash bo'lgan oksidazali faollikka ega psevdomonadalarni, ayniqsa *Citrobacter* va *Aerobacter* lardan ajratib olishga erishiladi yoki 2) suvni yangi ifloslanganligini (*E. coli* ning aniqlanishi) ancha eskisidan farqlash chegarasini (*E. coli*, *Citrobacterin termedius* va *Aerobacter aerogenes* assotsiatsiyalari) belgilab beradi. Bijg'itish usulida koli-indeksni aniqlash GOST 18963-73 bo'yicha amalga oshiriladi.

Suvning (boshqa obektlarning) fekal ifloslanganligining indikatorlari bo‘lib ichak tayoqchasidan tashqari enterokokklar, proteylar, klostridiylar, enteroviruslar va inson organizmidan tashqarida uzoq muddat saqlanib turuvchi ichak mikroflorasi vakillari xizmat qiladi. Epidemiologik ko‘rsatkichlarga ko‘ra, suvdan ichak infeksiyalarini yuzaga keltiruvchi, shuningdek ularga mos keluvchi faglar ham ajratiladi.



### **Nazorat savollari:**

1. Suv mikroflorasini qanday usul yordamida o‘rganish mumkin?
2. Koli-titr nima va uni o‘rganish usulini izohlab bering?
3. Koli-indeks va uni qanday usul yordamida o‘rganish mumkin?
4. Suv tozaligini aniqlashda qanday mikroorganizmlar indikator bo‘lib xizmat qiladi?
5. Membranali filtrlash usulini qo‘llash bosqichlarini aytib bering.
6. Bijg‘itish usulini qo‘llash bosqichlarini aytib bering.
7. Bakteriya umumiy sonini aniqlash qanday amalga oshiriladi?
8. Suvning ifloslanishini aniqlash indikatorlarni nima ekanligini aytib bering?

## **11-laboratoriya mashg‘uloti**

### **Mavzu: Havo mikroflorasini o‘rganish**

**Ishning maqsadi:** Turli xonalar havosidagi mikroorganizmlarni aniqlash.

**Kerakli asbob-uskunalar:** Petri likopchalari, GPA ozuqa muhiti, termostat, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, mikroskop, toluol, filtr qog‘ozga shimdirilgan genetsian violet bo‘yog‘i, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug‘lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma‘lumot.** Havo tarkibidagi mikroorganizmlarni bakteriologik nuqtai nazaridan o‘rganish yoki tekshirish davolash muassasalari binolarining sanitar-gigiyenik holatini va dezinfeksiya sifatini nazorat qilish uchun amalga oshiriladi.

Havoni tekshirishda 1 m<sup>3</sup> havodagi mikroorganizmlar, xususan patogen bakteriyalar va viruslar umumiy soni hisoblanadi. Shuni ta’kidlash kerakki, binolar havosidagi mikroblar sonining keskin chegaralangan normasi mavjud emas. Havo namunalari sedimentatsion yoki aspiratsion usullar yordamida olinadi.

**Sedimentatsion usul.** GPA li yoki boshqa maxsus muhitli Petri likobchalari ochiq holda tekshirilayotgan bino polidan turli balandlikda joylanadi. O'rtacha olganda, bino har bir 20 m<sup>2</sup> dan 1 ta namuna olish tavsiya etiladi. Ekspozitsiya muddati havoning taxminiy mikroblar soni mavjudligidan kelib chiqadi. Shundan kelib chiqqan holda Petri likobchalari 5-10 yoki 20-40 daqiqa ochiq qoldiriladi, so'ngra qopqog'i yopilib +37 °C da 24 soat davomida o'stiriladi. Qo'shimcha 48 soat davomida xona haroratida, yorug'lik tushmaydigan joyda o'stiriladi. Shundan keyin mikroflora xarakteri o'rganiladi va maxsus jadval yordamida 1 m<sup>2</sup> havodagi kloniyalar soni hisoblanadi. Petri likobchalarida o'sib chiqqan koloniyalar soni ko'paytiruvchilardan biriga ko'paytiriladi. Agar o'lchami 78,5 sm<sup>2</sup> li likobchalarda 10 minutli ekspozitsiyada 40 ta koloniya o'sib chiqqan bo'lsa, unda 1 m<sup>3</sup> havodagi mikroblar soni 2400 (40x60) ga teng bo'ladi. Undan ko'proq ekspozitsiyalarda ma'lum o'zgartirishlar kiritiladi, ya'ni ko'paytiruluvchi ekspozitsiya oshirilganligini martaliliga mos ravishda kamaytiriladi.

**Aspiratsion usul.** Havoni bu usulda o'rganish uchun turli konstruksiyali bakteriyalarni ushlab oluvchilar, ko'pincha Krotov aspiratsion qurilmasidan foydalaniladi. Unga qopqog'i ochiq, ichida ozuqa muhiti bor Petri likopchasi joylanadi va qurilmaning qopqog'i yopiladi, so'ngra motori yoqiladi. Petri likopchasiga havo hanjarsimon teshikcha orqali kiradi va kuch bilan ozuqa muhiti yuzasiga uriladi. Petri likopchasida mikroorganizmlar bir tekis joylashishini ta'minlash uchun qurilmaning aylanib turilishi ta'minlanadi. Odatda daqiqasiga 25 l tezlikda 50-100 l havo o'tkaziladi. 2-4 daqiqa o'tgandan so'ng Petri likopchasi qurilmadan olinadi, qopqog'i yopilib termostatga joylanadi.

Masalan, inkubatsiyadan so'ng Petri likopchasida 250 ta koloniya o'sib chiqadi, havoni esa 2 daqiqa davomida minutiga 25 l tezlik bilan o'tkazildi, ya'ni 50 l havo o'tkazildi. Unda 1 m<sup>3</sup> havodagi mikroorganizmlar soni 5000 ga ((250:1000) · 50) bo'ladi.

Havo mikroflorasining xarakteri oddiy usul bilan o'rganiladi: koloniyalarga tavsif beriladi, ulardan surtmalar tayyorlanadi, toza kulturalar ajratiladi va ular identifikatsiya qilinadi.

Havo turli-tuman mikroorganizmlarga boy tabiiy muhitdir. Ulardagi mikroorganizmlarni aniqlash uchun har xil, oddiy va murakkab usullardan foydalaniladi. Oddiy usullarga Koxning "cho'kish" usuli kiradi. Bu usul bo'yicha qattiq oziqa muhitli Petri likopchasi 5 minut davomida ma'lum xonada - o'quv auditoriyasida, koridorda, oshxonada, ochiq havoda, daraxtlarning tagida va boshqa joylarda ochiladi. Bu muddat ichida

mikroorganizm hujayralari oziqa muhit ustiga tushadi. So'ngra Petri likopchasining qopqog'i yopiladi va qopqoq ustiga kim, qachon, qaerda tajriba o'tkazganligi yozib qo'yiladi. Keyin Petri likobchasi termostatga +28-30°C ga qo'yib, 7 kun mobaynida o'stirishga qo'yiladi.

Qulay sharoitda oziqa 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. Havoni mikroorganizmlarini tahlil qilish vaqtida, avvalo, koloniyalarning umumiy soni hisoblanadi va uning asosida havoning tarkibiy mikrob soni Omelyanskiy tenglamasi bo'yicha aniqlanadi:

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

bunda:  $x$  - 1 m<sup>3</sup> havodagi mikroblar soni;  $a$  - likopchadagi koloniyalar soni;  $S$  - likopcha yuzi, sm<sup>2</sup> (78,5);  $t$  - vaqt, likopcha qancha muddat ochiq turgan vaqti, min.; 5 - Omelyanskiy hisobi bo'yicha belgilangan vaqt; 10 - 5 min davomida likobchaga o'tirib qolgan havo hajmi, l hisobida; 100 - cho'kish yuz bergan yuza, sm<sup>2</sup> hisobida; 1000 - tekshiriladigan havo hajmi, l hisobida.

Olingan natijalar jadval bilan solishtirib havoning tozaligi belgilanadi (3-jadval). Yil davomidagi mikroorganizmlar ko'rsatkichi ham quyida jadvalda keltirilgan (4-jadval).

So'ng differensial hisob o'tkaziladi va o'sib chiqqan mikroorganizmlar: zamburug', bakteriyalar tavsiflanadi, eng xarakterli bakteriya koloniyalaridan (pushti, sariq, rangsiz) "ezilgan tomchi" usulida preparatlar tayyorlab mikroskopda ko'riladi. Mazkur mikroorganizmlar koloniyalari Gram usulida bo'yash uchun ham yaxshi material hisoblanadi. Kuzatishlar ko'rsatadiki, ko'pincha havoda turli sharsimon: pigmentli mikrokokklar, sartsinalar va boshqalar uchraydi.

**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	-“-“-
Kasalxonalarining havosi	
Yozda	3500 dan kam
Qishda	5000 dan kam
Turar joylar havosi:	
Yozda	1500 gacha
Qishda	4500 gacha

**Yil davomida havo tozaligining bakteriologik ko'rsatkichi**

Havo tozaligi	1 m <sup>3</sup> havodagi mikrob soni			
	Umumiy	Gemolitik streptokokk	Umumiy	Gemolitik streptokokk
	Yoz faslida		Qish faslida	
Toza	1500 dan kam	16 dan kam	4500 dan kam	36 dan kam
O'rtacha ifloslangan	1500 – 2500	16-35	4500-7000	36-125
Ifloslangan	2500 dan ko'p	35 dan ko'p	7000 dan ko'p	125 dan ko'p

**Ishning borish tartibi:**

1. GPA quyib tayyorlangan Petri chashkasi olinadi va guruhdan 3 ta talabaga beriladi;

2. Ozuqa muhitli chashkalar oshxona, yo'lak yoki boshqa-boshqa auditoriyaga 10 daqiqa davomida ochiq qoldiriladi;



3. Petri likopchasi yopilib, qog'ozga o'raladi va ustiga moyli qalam yordamida yozilib termostatga qo'yiladi;

4. Keyingi mashg'ulotda ochilib undagi mikroorganizmlar sanaladi va Omilyanskiy formulasi yordamida hisoblanadi hamda 1 m<sup>3</sup> havodagi mikroorganizmlar aniqlanadi;

5. Petri likopchasida hosil bo'lgan koloniyalardan bittasidan fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlanib, mikroskop yordamida kuzatiladi va rasmi ish daftariga chiziladi.



### **Nazorat savollari:**

1. Havo mikroflorasini o'rganishning qanday usullarini bilasiz?
2. Havoda mikroorganizmlarning qanday turlari mavjud?
3. Havo mikroflorasini o'rganishning ahamiyati qanday?
4. Omilyanskiy formulasida keltirilgan kattaliklarni izohlab bering.
5. Havo mikroflorasini o'rganish qanday amalga oshiriladi?
6. Simentasion usul va uning ahamiyati qanday?
7. Krotov aspiratsion qurilmasidan qanday qo'llaniladi?
8. Havo mikroflorasini aniqlashda ishlatiladigan ozuqa muhitlarni aytib bering.

## **12-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yash orqali identifikatsiya qilish**

**Ishning maqsadi:** Turli mikroorganizmlarni Gram usulida bo'yash orqali identifikatsiya qilishni o'rganish.

**Kerakli asbob-uskunalar:** Petri likopchalari, GPA ozuqa muhiti, termostat, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, mikroskop, toluol, filtr qog'ozga shimdirilgan genetsian violet, ishqoriy fuksin bo'yog'i, 96%-li etil spirti, lyugol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

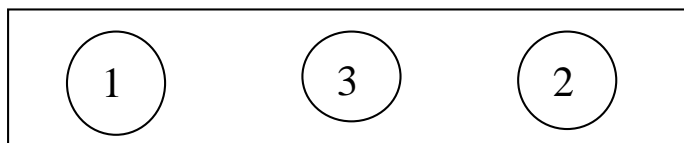
**Nazariy ma'lumot.** Mikrobiologiya amaliyotida bakteriya hujayralarini **Gram** bo'yicha differensial bo'yash usuli keng tarqalgandir.

Bu usulda bo'yash 1884 yili daniyalik olim X. Gram tomonidan kiritilgan va o'sha davrdan boshlab diagnostika belgisi sifatida ishlatiladi. Bakteriyalar **grammusbat (Gram<sup>+</sup>)** **grammanfiy (Gram<sup>-</sup>)** deb farqlanadi. Grammusbat bakteriyalarni gensianviolet bo'yog'i bilan bo'yab, ba'zi moddalar bilan ishlov berib (protravlivanie), so'ngra 96° 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<sup>+</sup> va Gram<sup>-</sup> bakteriyalar faqatgina bo'yashda farqlanmasdan, balki ba'zi antibiotiklarni (penitsillinga) 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* (Achitqilar) - (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.

### **Ishning borish tartibi:**

Gram usulida bo'yash quyidagicha olib boriladi:

1. Moysizlantirilgan buyum oynasida 3 ta surtma tayyorlanadi - markazda tekshiriladigan kultura, chapda va o'ngda - nazorat kulturalar. Bunda bitta kultura **Gram<sup>+</sup>** va boshqasi **Gram<sup>-</sup>** bo'lishi kerak;

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

3. Surtmalarni juda ham yupqa qilib tayyorlash kerakki, ular oyna yuzasida bir tekis tarqalgan bo'lsinlar;

4. Preparat issiqlik yordamida havoda quritiladi, alangada fiksirlanadi va sovutiladi.

5. So'ngra ikki minut davomida **gensianviolet** bilan bo'yaladi. Buning uchun surtmaga gensian violet bo'yog'i shimdirilgan qog'oz yopiladi;

6. 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;

7. Lugol eritmasi tashlanib, surtma suv bilan yuviladi va filtr qog'ozi bilan quritiladi;

8. So'ngra esa mas'uliyatli ish qilinadi: preparat qisqa muddat **96 foyizli etanol** bilan 30 sekunddan to 1 minutgacha rangsizlantiriladi;

9. 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 va ish daftariga rasmiylashtiriliadi.

Agar preparat to'g'ri bo'yalgan bo'lsa **grammusbat mikroorganizmlar (Gram<sup>+</sup>) binafsha, grammanfiylar (Gram<sup>-</sup>) qizil** rangda bo'yaladi.



#### **Nazorat savollari:**

1. Gram usuli kim tomonidan va nima uchun kiritilgan?
2. Bu usul mikroorganizmlarning qanday xususiyatiga asoslangan?
3. Gram usulida bo'yashda qanday mikroorganizmlardan foydalaniladi?
4. Nima sababdan G<sup>+</sup> mikroorganizmlarda rang o'zgarishi kuzatilmaydi?
5. Gram usulining bosqichlarini izohlab bering.
6. Gramm usulida spirtni ishlatishning ahamiyati qanday?
7. Gramm usulida G<sup>+</sup> mikroorganizm sifatida qaysi mikroorganizmlar ishlatiladi?
8. Ikkinchi bo'yashda nima uchun fuksin bo'yog'i ishlatilishini izohlang.

## 13-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Tuproq mikroorganizmlarini o'rganish

**Ishning maqsadi:** Tuproq mikroorganizmlarini mikroskopiya usuli yordamida o'rganish.

**Kerakli asbob va uskunalar:** tuproq namunalari, shpatel, xovoncha, kolba, probirkalar, Petri likopchasi, steril suv, termostat, mikroskop, kedr moyi, buyum oynasi, qoplagich oyna, bakterial ilmoq, fuksin, filtr qog'oz, spirt lampa, toluol, filtr qog'ozga shimdirilgan genetsian violet bo'yog'i, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** 2017-2021 yillarda O'zbekiston Respublikasini rivojlantirishning Harakatlar strategiyasining 3.3-bandi "Qishloq xo'jaligini modernizatsiya qilish va jadal rivojlantirish"ga qaratilgan vazifalar Respublikamizda aholini sifatli oziq-ovqat mahsulotlari bilan ta'minlash, oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlashga qaratilgan asosiy vazifalardan biri hisoblanadi. Bu albatta tuproq holatini aniqlash, uning unumdorligini oshirish kabi muhim masalalar bilan uzviy bog'liqdir. Bu o'z navbatida tuprodagi muhim mikrobiologik jarayonlarni ta'minlaydigan mikroorganizmlarni o'rganishni talab etadi. Ko'pgina hollarda tuproq mikroorganizmlarini o'rganish va sonini aniqlash Petri chashkasida amalga oshiriladi. Buning uchun bitta usul bir qator tuproq mikroorganizmlari: bakteriyalar, aktinomitsetlar, zamburug'lar va achitqilarni aniqlashda qo'llaniladi. Ozuqa muhiti tagiga yoki qatlamiga ekish kam hollarda ishlatiladi. Bir qator muammolar zamburug'larni aniqlashda ozuqa muhit orasiga ekishni tavsiya qiladi. Bunday holatda 1 ml tuproq suspenziyasi chashkaga solingan va qotmagan agarga solib aylantiriladi va uning bir tekisda qotishi uchun tekis yuzaga qo'yiladi. Bunday usul shpatel yordamida tuproq suspenziyasini ozuqa muhit yuzasiga surtish vaqtida mitselliyning maydalanib, chashka yuzasiga tarqalishini oldini oladi. Ayrim hollarda bu usul bakteriyalarni aniqlashda ham qo'llaniladi.

Sterillangan Petri chashkasiga suv hammomida eritilgan agarli ozuqa muhitidan 20-30 ml dan quyiladi. Ozuqa muhitlar odatda katta kolbadan bir qancha chashkaga quyiladi. Shuni esda saqlash kerakki, chashkalar bir xil formada va bir xil diametrda, tekis tagli bo'lishi zarur. Ozuqa muhitini chashkaga quyishda ularning barchasiga bir xil miqdorda solinishiga e'tibor berish kerak. Bir qator hollarda aniq o'lchangan ozuqa muhitlar probirkalarga solinadi, probirkalarda sterillanadi va Petri chashkasiga solinadi, bu usul qo'llanilganda chashkadagi ozuqa muhit miqdori

standartga mos holda solingan bo‘ladi. Ozuqa muhit solingan chashkalar tekis, qat’iy gorizontal yuzaga qo‘yilishi lozim, chunki undagi ozuqa muhit bir xil qalinlikda qotishi lozim.

Agar ozuqa muhiti chashkaga quyilayotganida qotib qolmasligi lozim, yaxshisi uning harorati 50°C bo‘lganda quyish maqsadga muvofiq bo‘lar edi, bunday holatda chashka qopqog‘iga kamroq suv kondensatlanadi. Agar qotgandan so‘ng chashkalar quritish shkafiga quyiladi va 70-80 °C gacha qizdiriladi, qopqoqdan suv yo‘qolguncha hamda agar yuzasida silliq parda hosil bo‘lguncha quritiladi. Bu agar yuzasidan suv plyonkasining ketganligidan darak beradi. Chashkani quritishning boisi, ekilgan namunadan o‘sib chiqqan mikroorganizmlar xo‘jayinlari agar yuzasida suzib aralashib ketmasligi uchun zarur bo‘ladi. Zamburug‘larni ajratish va sonini aniqlashda chashka har doim ham quritilmaydi.

Chashka quritilgandan so‘ng ekish amalga oshirilishi lozim. Ozuqa muhit solingan chashkani uzoq muddat ekilmasdan saqlab bo‘lmaydi, chunki havodan mikroorganizmlar tushib, ko‘z bilan ko‘rib bo‘lmaydigan mikrokoloniyalar hosil qilishi mumkin. Ekish vaqtida ular shpatel orqali butun ozuqa muhit yuzasida tuproq mikroflorasiga tegishli bo‘lmagan koloniyalarni hosil qilishi mumkin.

Ekish uchun tayyorlangan tuproq suspenziyasini 5 daqiqa chayqatilgandan so‘ng 30 sekund davomida yirik tuproq zarralari cho‘kishi uchun tindiriladi. So‘ngra sterillangan pipetka yordamida undan 1 ml olinib 9 ml sterillangan suv solingan probirkaga solinadi. Suspenziyani yangi pipetka yordamida yaxshilab aralastiriladi va undan 1 ml olinib keying probirkaga solinadi va xuddi yuqoridagidek aralastiriladi. Keyingi suyultirishlar ham xuddi shunday amalga oshiriladi. Zarur suyultirishlardan chashkaga ekish amalga oshiriladi. Buning uchun 1 tomchi suspenziya agarli ozuqa muhit yuzasiga surtib chiqiladi. Ekish amalga oshirilgan chashka to‘nkarilgan holatda termostatga joylashtiriladi.

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

Chashkadagi koloniyalar soni odatda chashkani qora fonga to'ngarilgan holatda qo'yib sanaladi. Ikki marta sanalmasligi uchun sanalgan koloniyalar o'rniga moy qalam yordamida nuqta qo'yiladi. Sanash qulay bo'lishi uchun chashkaning osti qalam bilan qismlarga bo'linadi. Tiniq bo'lmagan muhitlarda esa sanash chashka yuzasidan amalga oshiriladi.

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

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

Azotobakterni aniqlashda tuproq bo'lakchalari mikroorganizmlar yaxshi o'sadigan Eshbi yoki boshqa ozuqa muhiti yuzasiga ekiladi. Buning uchun 100 mg tuproq pastasimon holatga kelguncha suyuqlantiriladi, bakteriyalogik ilmoq yordamida ikkita petri chashkasi yuzasiga qo'yib chiqiladi va har bir chashkada 50 tadan bo'lakka to'g'ri kelgani maqsadga muvofiq hisoblanadi. Tuproqdan lipomitsetlar miqdori ham xuddi shunday saxaroza solingan Eshbi muhitiga ekish orqali aniqlanadi. Ekishdan so'ng chashkalar 26-28 °C ga nam kameraga joylashtiriladi. Azotobakterni hisoblash 6-10 kunda, lipomitsetlar 15-20 sutkada amalga oshiriladi.

Har bir tuproq namunasini ekish uchun quyidagilarni tayyorlash talab etiladi:

1. 100 ml sterillangan vodoprovod suvi solingan 250 ml li yumaloq tagli yoki Erlenmeyer kolba;
2. Agar tuproqni ezib suspenziya tayyorlash zarur bo'lganda, xuddi yuqoridagidek suvsiz, sterillangan kolba;

3. Tuproqni ezish (maydalash) uchun hovoncha;
4. 9 ml dan sterillangan vodoprovod suvi solingan probirkalar. Probirkalar soni qaysi suyultirish darajasidan ekish amalga oshirilishiga bog'liq holda olinadi. Odatda 2 yoki 3 ta probirka olinadi.
5. Sterillangan pipetkalar 1 ml li pipetkalar soni ham suyultirish darajasiga bog'liq holda tanlab olinadi. Har bir suyultirish darajasi uchun yangi pipetka talab etiladi. Shu bilan birga namunani Petri chashkasiga solish uchun ham yangi pipetka talab etiladi. Shuni aniqlash kerakki, 1 ml li pipetkada necha tomchi bo'lishini va shuning uchun bir xil tomchiga ega bo'lgan pipetkalar olinishi zarur.
6. Sterillangan shpatellar, har bir suyultirish darajasi va har bir ozuqa muhit uchun alohida bir xil suyultirish darajasidan ekilayotgan va bir xil ozuqa muhit qo'yilgan parallel chashkalar uchun bitta shpatel ishlatiladi.
7. Sterillangan Petri chashkasi. Har bir namunadan tayyorlangan suyultirish darajasi va alohida ozuqa muhitlar uchun 3-5 tadan chashka. Ayrim hollarda 2 tadan parallel chashkalarga ekish amalga oshiriladi, bunday vaqtda hisoblash ishlari va natijalar aniq chiqmaydi.
8. Steril ozuqa muhitlari va kolbalar.

### **Ishning borish tartibi:**

1. Tuproq namunasini sterillangan shpatel yoki spirt surtib yoqib sterillangan pichoq yordamida tuproqning yuzasidan 2 sm ni olib tashlab, undan sterillangan konvertga yoki bankaga olinadi;
2. Tuproq namunasidan 1 g tarozida o'lchab olingandan so'ng uning ichidagi ortiqcha o'simlik qoldiqlaridan tozalanadi;
3. Tozalangan tuproq namunasi chinni xovonchaga solinadi va uning ustiga 1-2 ml sterillangan suv solinib tuproqni rezina qo'lqop kiyilgan barmoq yordamida yaxshilab eziladi va bu namunani 100 ml sterillangan suv solingan Erlenmeyer kolbasiga solinadi;
4. Tuproq namunasi solingan kolba 5 daqiqa chayqatilgandan so'ng 30 sekund yirik tuproq zarralari cho'kishi uchun qoldiriladi va undan 1 ml suyultirilgan tuproq suspenziyasi steril pipetka yordamida olinib 9 ml sterillangan vodoprovod suvi solingan probirkaga solinadi. Bu probirkadan yana 1 ml suspenziya olinib, keyingi probirkaga solinadi va xuddi shunday tartibda suyultirish amalga oshiriladi;
5. So'ngra  $10^{-3}$  ,  $10^{-4}$  darajada suyultirish amalga oshirilgan probirkalarning har biridan 0,1 ml olinib ozuqa muhiti quyib qotirilgan petri

chashkasiga solinadi va Dragiliskiy shpateli yordamida ozuqa muhitiga ekiladi;

6. Mikroorganizm ekilgan chashkalar termostatga joylashtiriladi va mikroorganizm hujayrasining o'sishi kuztib boriladi;

7. Keyingi mashg'ulotda chashklar olinib, unda o'sib chiqqan mikroorganizm koloniyalardan fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlab mikroskop ostida immersion obyektivda kuzatiladi;

8. Ish daftariga mikroskop yordamida o'rganilgan mikroorganizm shakli chiziladi va uni qaysi mikroorganizm ekanligini o'qituvchi hamda aniqlagich yordamida aniqlashtiring.

Tuproq bo'lakchalari usuli yordamida mikroorganizmlarni aniqlash quyidagicha amalga oshiriladi:

1. 5-10 gr tuproq olinib, uni chinni hovonchaga solib pastasimon holatga kelguncha eziladi;

2. Petri likopchasi ostiga trafaret qo'yilib, ozuqa muhit yuzasiga 50 tagacha tuproq bo'lakchasi qo'yiladi va 26-28°C da hafta davomida termostatda saqlanadi;

3. Azotobakterni ajratish uchun Petri likopchasiga quyilgan Eshbi ozuqa muhitidan foydalaniladi.

4. Ma'lum inkubatsiyadan so'ng tuproq bo'lakchalari atrofida rangsiz shilimshiq holdagi mikroorganizm kul'turasini kuzatish mumkin;

5. Ushbu kul'turadan bakteriologik ilmoq yordamida olinib fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlab, mikroskopda kuzatiladi va kuzatilgan mikroorganizm rasmini ish daftariga chziladi.



### **Nazorat savollari:**

1. Tuproq mikroorganizmlarini o'rganishning qanday usullari mavjud?

2. Tuproq namunasini olish va uni ekishga tayyorlash qanday amalga oshiriladi?

3. Tuproq bo'lakchalari usuli qanday mikroorganizmlarni o'rganishda ishlatiladi?

4. Tuproqni suyultirish qanday ahamiyatga egaligini izohlab bering.

5. Tuproqning qaysi qismi mikroorganizmlarga boy hisoblanadi?

6. Tuproqdan azotfiksatsiyalovchi mikroorganizmlarni qanday ajratish mumkin?

7. Tuproqning qanday qismlarida mikroorganizmlar keng tarqalgan va uning sababini izohlang?



8. Tuproq mikroorganizmlarning toza kulturasini qanday olish mumkin?

## **14-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Mikroorganizmlarni o'stirish uchun ozuqa muhitini tayyorlash**

**Ishning maqsadi:** Turli jarayonlarni amalga oshiruvchi mikroorganizmlarga elektiv ozuqa muhitini tayyorlash.

**Asbob-uskunalar:** turli o'lchamli kolbalar, probirkalar, Petri likopchalari, menzurkalar, har bir ozuqa muhiti uchun o'ziga xos reaktivlar, distillangan suv, elektron torozi, avtoklav, termostat, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Mikrobiologiyada ozuqa muhiti deb - bakteriyalarning yoki boshqa mikroorganizmlarning laboratoriya yoki ishlab chiqarish sanoatida ko'paytirish uchun qo'llaniladigan oddiy va murakkab tarkibli turli birikmalar tutuvchi muhitga aytiladi.

Har qanday ozuqa muhiti quyidagi talablarga javob berishi zarur: ma'lum mikroorganizmlarning ko'payishi uchun zarur bo'lgan, oson o'zlashtiriladigan hamma moddalar tutishi, optimal namlikka, yopishqoqlikka, pH ga ega bo'lishi, izotonik va iloji boricha tiniq bo'lishi kerak. Har bir ozuqa muhiti uning tarkibiga bog'liq holda ma'lum usul yordamida sterillanishi shart.

Bir qator ozuqa muhitlar laboratoriyalarning o'zida hayvon va o'simlik tabiatli mahsulotlardan (mol go'shti, sut, qon zardobi, sabzavotlar, achitqilar, kazein va h.) tayyorlanadi. Yoki bo'lmasam shu mahsulotlardan sun'iy yo'l bilan olingan moddalardan (pepton, aminopeptid, achitqi va makkajo'xori ekstrakti) tayyorlanadi.

Ozuqa muhitlarida metabolitik jarayonlarni katalizlovchi o'sish faktorlarining, xususan B guruhi vitaminlarining, nikotin kislotasi va h.k. mavjudligi muhim ahamiyatga ega.

Maqsadga ko'ra ozuqa muhitlari asosiy, elektiv va differensial-diagnostiklarga bo'linadi. Asosiy ozuqa muhitiga ko'pchilik bakteriyalarni o'stirishga mos keluvchi ozuqa muhiti hisoblanadi. Bu baliq mahsulotlari gidrolizatlari yoki kazein bo'lib, ulardan suyuq muhitlar – ozuqaviy sho'rva va qattiq - ozuqaviy agar tayyorlanadi.

Bunday muhitlar yanada murakkab tarkibga ega masalan, ancha talabchan bo'lgan patogen bakteriyalarning ozuqaviy ehtiyojini qondiruvchi

shakarli, qonli, zardobli va boshqa kombinirlangan ozuqa muhitlarni tayyorlashda asos bo'lib xizmat qiladi. Ba'zida asosiylar sifatida ma'lum mineral tuzlardan iborat sintetik ozuqa muhitlaridan foydalaniladi, ularga esa aminokislotalar, vitaminlar va glyukoza qo'shiladi. Ularga shuningdek pepton, makkajo'xori yoki achitqi ekstrakti va boshqa ozuqaviy moddalar ham qo'shish mumkin. Sintetik muhitlar ko'pincha ilmiy-tadqiqot amaliyotida, yuqorida keltirilgan ekstraktli sintetik muhitlar esa mikrobiologiya sanoatida antibiotiklar, vaktsinalar va boshqa preparatlarni olishda qo'llaniladi.

Elektiv ozuqa muhitlar turli mikroflora tutuvchi materiallardan ma'lum bir turga kiruvchi mikroblarni tanlangan holda ajratish va ko'paytirish uchun mo'ljallangan. Ma'lum guruh mikroorganizmlariga mo'ljallangan elektiv muhitlarni yaratishda shu mikrobnig ko'pgina boshqalaridan farqlovchi biologik o'ziga xosligidan kelib chiqiladi. Masalan, stafilokokk bakteriyasining yaxshi o'sishi natriy xloridning yuqori konsentratsiyasida kuzatiladi, xolera vibrioni esa ishqoriy muhitda yaxshi o'sadi va h.

Differensial-diagnostik ozuqa muhitlari mikroorganizmlar alohida turlarini (yoki guruhlarini) bir-biridan chegaralash, farqlash uchun qo'llaniladi. Differensial-diagnostik ozuqa muhitlarini yaratish prinsipi bakteriyalarning har xil turlari bir-biridan biokimyoviy faolligi bilan farqlanadi va ozuqa muhiti tarkibiga kiruvchi substratlarni parchalovchi fermentlarning bir xil bo'lmagan yig'malariga (naborlariga) ega. Differensial-diagnostik ozuqa muhitlari tarkibiga quyidagi asosiy komponentlar kiradi: a) bakteriyalarning ko'payishini ta'minlovchi asosiy ozuqa muhiti; b) ma'lum bir kimyoviy substrat (masalan, laktoza), unga nisbatan turli munosabat berilgan mikrobgga nisbatan diagnostik belgi hisoblanadi; v) rangli indikator (masalan, Andrede indikator), uning rangining o'zgarishi biokimyoviy reaksiyadan dalolat beradi va o'rganilayotgan mikroorganizmda berilgan fermentativ sistemaning mavjudligini bildiradi. Differensial-diagnostik ozuqa muhitlari laboratoriyalardagi mikrobiologik diagnostik izlanishlarda bakteriyalarning differensiatsiyasi va identifikatsiyasida qo'llaniladi.

Mikroorganizmlarning boyitilgan kulturasini olish uchun tuproq yoki substrat quyidagi oziqa muhitlariga ekiladi:

1) pepton bulyoni - organik azotni (oqsilni) ammiakgacha parchalaydigan mikroorganizmlar (ammonifikatorlar) uchun. Muhit tarkibi: 1 l vodoprovod suvi, pepton - 10g, NaCl - 5g, Na<sub>2</sub>HCO<sub>3</sub> - 0,1g.

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

$\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ . Ular avtotrof, shuning uchun organik uglerod manbai oziqa muhitga kiritilmaydi. U mineral tuzlardan tayyorlanadi: (1 l distillangan suvda, g:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - 2$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1$ ;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 0,5$ ;  $\text{NaCl} - 2$ ;  $\text{FeSO}_4 - 0,4$ ;  $\text{CaCO}_3 - 10$ ).

3) Gil'tay muhiti – denitrifikatorlar uchun, ular azot kislotasini molekulyar azotgacha qaytaradi:  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$

Muhit tarkibi quyidagicha: 1 l. distillangan suvda, g : natriy sitrati - 2,5;  $\text{KNO}_3 - 2$ ; pepton - 1;  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 2$ ;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 2$ ;  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,2$ ;  $\text{FeCl}_3$  – izi. Muhitga 1-2 ml 1% li spirtli ko'k rangli bromtimol indikatorini yashil rang bo'lguncha qo'shiladi.

4) Eshbi muhiti - erkin yashovchi azotfiksatorlar uchun - atmosferadagi erkin molekulyar azotni o'zlashtiradi (1 l distillangan suvda, g: mannit - 20;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,2$ ;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 0,2$ ;  $\text{NaCl} - 0,2$ ;  $\text{K}_2\text{SO}_4 - 0,1$ ;  $\text{CaCO}_3 - 5,0$ ). Bu muhit "azotsiz" deb ham aytiladi, chunki unga azotli moddalar qo'shilmaydi.

5) Rushman muhiti - moy kislotali bakteriyalar uchun, ular qandlarni moy kislotagacha parchalaydi:  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ .

Kartoshka mayda to'rt burchak shaklida to'g'ralib probirkalarga solinadi, unga 0,05 g bo'r solinib, vodoprovod suvi bilan to'ldiriladi.

6) Kletchatkani aerob parchalovchilar uchun Getchinson va Kleyton muhiti tayyorlanadi : 1 l distillangan suvda, g:  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 1$ ;  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,1$ ;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 0,3$ ;  $\text{NaCl} - 0,1$ ;  $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,01$ ;  $\text{NaNO}_3 - 2,5$ . Quruq probirkalarga oldindan filtr qog'oz bo'lakchasi solinadi (1x7sm), ular olingan mikroorganizmlar guruhlari uchun uglerod (kletchatka) manbai bo'lib hisoblanadi va mineral eritmadan probirkalarga filtr qog'ozining yarmigacha quyiladi.

### **Ishning borish tartibi:**

1. Har xil elektiv oziqa muhitli probirkalarga shpatel yordamida 0,5 - 0,7 g dan tuproq solinadi;

2. Tuproq namunasi ekilgan probirkalar bir idishga joylanadi va ularga etiketka yoziladi, unda ekish kuni va ekuvchining familiyasi yoziladi;

3. Inkubatsiya termostatda  $t = +25-28^\circ\text{C}$  da 7-21 sutka davomida olib boriladi;

4. Boyitilgan kultura keyingi darslarda tahlil qilinadi;

5. Suyuq ozuqa muhitlarda o'sish tahlili;  
6. Mikroorganizmlarning bunday ozuqa muhitlarida o'sishi bir xildir.  
7. Unda muhitning loyqalanishi, parda yoki cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi.

8. Suyuq muhitdagi mikroorganizmlar o'sishini tavsiflab, loyqalanish darajasi belgilanadi - kuchsiz, o'rtacha yoki kuchli, pardaning o'ziga xosligi - yupqa, zich yoki siyrak, silliq yoki burmali, cho'kma hosil bo'lishi esa – kam, ko'p, shilimshiqsimon, bo'lak-bo'lak deb tariflanadi.

9. Ko'pincha mikroorganizmlarning o'sishi ma'lum bir hidning paydo bo'lishi, muhit pigmentatsiyasi va gaz ajralishi bilan kechadi.

10. Gaz ajralganini ko'pik, pufakchalar hosil bo'lganidan, shuningdek, "poplavoklar" - bir uchi yopiq kichkina trubkachalar yordamida aniqlanadi.

11. Poplavokni muhitni sterillashdan avval yopiq uchini tepaga qaratib joylanadi va u to'liq suvga to'lishi kerak. Gaz ajralgan holatda u poplavokda pufakcha ko'rinishida to'planadi.

Suyuq muhitlarda mikroorganizmlarning o'sish xarakterini tahlil qilish uchun ularni yaxshi rivojlanishini ta'minlovchi GPA yoki boshqa muhitlarda o'stiriladi.



### **Nazorat savollari:**

1. Oziqa muhiti nima?
2. Oziqa muhitlarining qanday turlarini bilasiz?
3. Elektiv va universal ozuqa muhitlar deganda nima tushuniladi?
4. Pepton ozuqa muhiti va uning tarkibi qandayligini izohlab bering.
5. Eshbi ozuqa muhiti va bu qaysi mikroorganizmlarni ajratishda qo'llaniladi?
6. Rushman ozuqa muhiti va uning tarkibi nimalardan iborat?
7. Getchenson va Kleyton ozuqa muhiti qanday mikroorganizmlarni ajratishda qo'llaniladi?
8. Boyitilgan kultura deganda qanday kultura tushuniladi?

## 15-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Mikroorganizmlarni o'stirish uchun qattiq ozuqa muhitini tayyorlash

**Ishning maqsadi:** mikroorganizmlarni o'stirish uchun elektiv qattiq ozuqa muhitini tayyorlash

**Asbob-uskunalar:** go'sht-pepton sho'rvasi, jelatin, tuxum oqi, agar-agar, turli o'lchamli kolbalar, probirkalar, Petri likopchalari, voronka, elektron torozi, termostat, avtoklav, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Konsistensiyasiga ko'ra ozuqa muhitlari quyuuq, suyuq yoki yarim suyuq bo'lishi mumkin. Quyuuq ozuqa muhitlarni suyuq muhitga 1,5-2% agar, yarim suyuqlarni 0,3-0,7 % agar qo'shish bilan tayyorlanadi. Agar maxsus suv o'tlari turining qayta ishlanishi natijasida olinadigan mahsulot bo'lib, u muhitning qattiqlashishiga sabab bo'ladi, u +80-86°C da eriydi va +40°C atrofida qotadi. Ba'zi holatlarda ozuqa muhit qattiq bo'lishi uchun jelatinadan (10-15%) ham foydalaniladi. Ivigan qon zardobi va tuxum oqi kabi tabiiy muhitlar o'z-o'zidan qattiq muhit hisoblanadi.

Bakteriyalarning turlarini aniqlashda va ularni bir-biridan ajratishda suyuq ozuqa muhiti unchalik qulay bo'lmaganligi sababli undan kam foydalaniladi. Uning o'rniga jelatin yoki agar-agar qo'shilgan qattiq oziq muhitidan foydalaniladi. Qattiq ozuq muhitida har qaysi bakteriya o'ziga xos koloniya hosil qiladi. Bu koloniyalar rangi va shakliga qarab bir-biridan farq qiladi.

Qattiq ozuqa muhiti tayyorlash uchun jelatin yoki agar-agar ishlatiladi. Bulardan tashqari tayyorlangan gelni oziq moddalar bilan boyitib, bakteriyalarni parvarish qilishda ishlatish mumkin.

#### **Ishning borish tartibi:**

Go'sht peptonli jelatin (GPJ) tayyorlash quyidagicha amalga oshiriladi:

1. GPJ tayyorlash uchun 1 l peptonli go'sht sho'rvasiga 100-120 g maydalangan jelatin qo'shiladi.

2. Sho'rvaga qo'shilgan jelatinni eritish uchun kolba Kox qaynatgichida yoki avtoklavda qizdiriladi. Avtoklavning harorati 100°C dan ortib ketmasligi uchun uning jo'mragi ochiq bo'lishi kerak, chunki jelatin yuqori haroratda o'z xususiyatini yo'qotadi.

3. GPJ aralashmasi Kox qaynatkichidan yoki avtoklavdan olingandan keyin filtrlanadi. Buning uchun burmali filtr qo'yilgan shisha voronka tunikadan yasalgan ikki qavatli maxsus voronkaga joylashtiriladi va shu voronka ichiga qo'yilgan suv isitib turiladi. Bu filtrdan o'tadigan go'sht-pepton-jelatinning qotib qolishiga yo'l qo'ymaydi.

4. Filtrat probirkaga yoki kolbalarga taqsimlanadi.

5. Probirka va kolbalarning og'zi paxtadan yasalgan tiqin bilan berkitilib, Kox qaynatgichi yoki avtoklavga joylanadi.

6. GPJ eritmasidagi mikroorganizmlarning nobud qilishi uchun 100°C da 15-20 daqiqa sterillanadi.

GPJ asosan sovuq sharoitda ishlatiladi, chunki harorat 24°C gacha isishi bilan jelatin suyulib qoladi. Shuning uchun mikrobiologiya amaliyotida ko'pincha agar-agardan tayyorlangan ozuqa muhitidan foydalaniladi.

Go'shtli pepton agari ozuqa muhiti (GPA) tayyorlash quyidagicha amalga oshiriladi:

1. GPA tayyorlash uchun kolbadagi 1 l peptonli go'sht sho'rvasiga 15-20 g maydalangan agar-agar aralashtiriladi.

2. Aralashmadagi agar-agarni eritish uchun kolba avtoklavga joylanib, 120°C haroratda 20 daqiqa qizdiriladi.

3. Agar-agar erigandan so'ng bir dona tuxum oqi suvda suyultirilib, avtoklav ichidagi eritmaga qo'shiladi.

4. Avtoklavning qopqog'i mahkam berkitilib, kolba ichidagi eritma 120°C haroratda yana 15-20 daqiqa qizdiriladi.

5. Eritma ichidagi oqsil va boshqa moddlar tuxum oqi ta'sirida cho'kadi, tiniq eritma esa cho'kma ustiga yig'iladi.

6. Shu tarzda tindirilgan GPA avtoklavdan olinib, issiq voronka orqali filtrlanadi va probirkalarga yoki kolbalarga taqsimlanadi.

7. GPA quyilgan idishlarning og'zi paxta tiqin bilan berkitilib, yana avtoklavga joylanadi va 120°C haroratda yana 20-30 daqiqa sterillanadi.



### **Nazorat savollari:**

1. Konsetratsiyasiga ko'ra ozuqa muhitlarning qanday turlarg bo'linadi?

2. Qattiq ozuqa muhiti qanday tayyorlanishini izohlab bering?

3. Bakteriyalarning turlarini aniqlashda va ularni bir-biridan ajratishda qanday ozuqa muhiti ishlatiladi?

4. Go'sht peptonli jelatina qanday tayyorlanadi?
5. Go'shtli pepton agari ozuqa muhiti qanday tayyorlanadi?
6. Qattiq ozuqa muhitini qaysi olim ilk bora mikrobiologiya amaliyotiga qo'llagan?
7. Qattiq ozuqa muhiti yuzasida mikroorganizmlar nima hosil qiladi?
8. GPA probirkalarga quyilgandan so'ng nima uchun qayta sterillanishini izohlab bering?

## **16-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Spirtli bijg'ish jarayoni va unda ishtirok etuvchi mikroorganizmlarni o'rganish**

**Ishning maqsadi:** Spirtli bijg'ish jarayoni va unda ishtirok etuvchi mikroorganizmlarni o'rganish.

**Asbob-uskunalar:** kolbalar, egri shisha nay o'rnatilgan kauchikli tiqin, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi, aichtqi, pivo achitqisi, shakarining 10% li eritmasi, ishqorning 10% li eritmasi, yod eritmasi, suv hammomi, hovoncha, termometr, mikroskop, immersiya moyi, toluol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Bijg'ish – oksidlanish va qaytarilish jarayoni bo'lib, ATF hosil bo'lishiga olib keladi. Bijg'ishda vodorodni donori va akseptori rolini (yoki ularga to'g'ri keladigan elektronlarni) odatda bijg'ish jarayonida hosil bo'ladigan organik birikmalar o'ynaydi. Demak, bijg'ish ichki oksidlanish-qaytarilish jarayonidir. Bijg'ishda substrat oxirgi mahsulotgacha parchalanadi, ularni bijg'ishda hosil bo'ladigan moddalarni summasi xuddi bijg'iydigan moddalarni oksidlanish darajasidagidek bo'ladi. Hosil bo'lgan mahsulotlar o'ta oksidlanmagan va juda ham qaytarilmagan bo'lishi kerak. Ko'pincha bijg'ish jarayonida mikroorganizmlar uglevodlarni va boshqa moddalarni (organik kislotalar, aminokislotalar, purinlar va pirimidinlarni) ishlatadi. Bijg'ishda ATF hosil bo'lishi substratni fosforirlanishi yo'li bilan boradi. Bijg'ish jarayoni obligat anaerob yoki faqat anaerob sharoitda boradi. Pasterning tasdiqlashicha, bijg'ish – kislorodsiz hayotdir. Hozirgi dunyo qarash bo'yicha tirik organizmlar Yer atmosferasida hali kislorod paydo bo'lmasdan avval hosil bo'lgan, shuning uchun ham bijg'ishni eng sodda biologik oksidlanish deb qarab, kerakli energiyani ozuqa moddalardan anaerob sharoitda olgan.

Hozirgi kunda bijg'ishni juda ko'p tiplari mavjud bo'lib, bu jarayonni oraliq mahsulot sifatida hosil bo'lgan organik modda nomi bilan nomlanadi, jumladan, spirtli bijg'ish, sut kislotali bijg'ish kabilar. Har bir bijg'ish tipi ayrim guruh mikroorganizmlar tomonidan amalga oshirilib spesifik mahsulotlar hosil bo'ladi. Bijg'ishni ko'p turlari xalq xo'jaligida katta ahamiyatga egadir.

### **Ishning borish tartibi:**

1. Bu mashg'ulotni o'tkazish uchun avval 3-5 g quruq achitqiga shakarning 10% li eritmasidan 10 ml qo'shib, hovonchada eziladi (eritiladi) va 40-60 daqiqa tindiriladi.

2. So'ngra 100 ml hajmli kolbaga 50 ml quyib unga oldin tayyorlab qo'yilgan achitqi-shakar aralashmasidan qo'shiladi.

3. Kolbaning og'zi egri shisha nay o'rnatilgan kauchik tiqin bilan mahkam berkitiladi. Bijg'ish jarayoni faol o'tishi uchun kolba 30-35°C li issiqlikdagi suv hammomiga joylashtiriladi.

4. Nayning ikkinchi uchiga suv to'ldirilgan probirka to'nkarib kiygizilib, suvli idishga botirib qo'yiladi.

5. Oradan 20-30 daqiqa o'tgach, bijg'ish jarayonida ajralib chiqayotgan karbonat angidrid ( $\text{CO}_2$ ) probirkaga to'planadi.

6. Keyin probirkaning og'zi barmoq bilan berkitilib, pastga qaratilgan holda barmoq olinadi va darhol 10% li ishqor quyilgan stakanga botirib qo'yiladi.

7. Probirkadagi  $\text{CO}_2$  gazi ishqor bilan reaksiyaga kirishadi va undagi gaz o'rnini ishqor oladi, ya'ni probirkani to'ldiradi.

8. Ayni vaqtda kolbadan ajralib chiqayotgan gaz ikkinchi probirkaga yig'ib olinadi va u yonishga yordam bermasligi aniqlanadi.

Achitqi zamburug'larini mikroskopda ko'rish uchun pivo achitqisidan foydalanish mumkin. Agar pivo achitqisi bo'lmasa, quruq achitqi (xamirturush) suvda eritiladi. Shu tartibda tayyorlangan eritmadan buyum oynasiga bir tomchi tomizilib, usti qoplagich oyna bilan yopiladi.

Preparatda kurtaklanish yo'li bilan ko'payayotgan achitqi zamburug'i (*Saccharomyces cerevisiae*) borligi ko'zga tashlanadi. U oval shaklda bo'ladi. Shu preparatning o'zida boshqa shakldagi zamburug'larni ham ko'rish mumkin.

Zamburug'lar tarkibida hayvon kraxmali – glikogen to'planadi. Uni aniqlash uchun preparatga yod eritmasidan tomiziladi. Yod ta'sirida glikogen qizg'ish-qo'ng'ir rangga kiradi.





### Nazorat savollari:

1. Bijg'ish deb nimaga aytiladi va uning qanday turlari mavjud?
2. Spirtli bijg'ishni qanday mikroorganizmlar amalga oshiradi?
3. Sut kislotali bijg'ishni qanday mikroorganizmlar amalga oshiradi?
4. Bijg'ish jarayonini natijasida nima hosil bo'ladi?
5. Bijg'ish jarayonini sanoat miqyosida qanday jarayonlarda ishlatildi?
6. Xalq xo'jaligida bijg'ish jarayoni nimalarda qo'llaniladi?
7. Bijg'ish turlari nimaga asosan nomlanishini izohlab bering.
8. Achitqi zamburug'ini aniqlash uchun qanday obyektlardan foydalaniladi?

### 17-laboratoriya mashg'uloti

#### Mavzu: Sut kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'atuvchi tirik organizmlarni aniqlash

**Ishning maqsadi:** Turli sut mahsulotlaridagi mikroflorani kuzatish

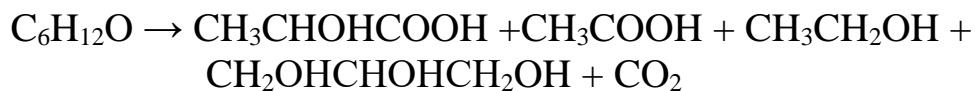
**Asbob-uskunalar:** turli sut mahsulotlari namunalari, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi, mikroskop, immersiya moyi, toluol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** 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 parchalanishga qarab, erkin kislorodsiz o'tadigan bijg'ish va aerob sharoitida o'tadigan oksidlanish jarayonlari farqlanadi.

Bijg'ish jarayonida doimo oxirgi mahsulot sifatida to'la oksidlanmagan moddalar - etanol, sut, moy kislota va boshqalar hosil bo'ladi. Sut kislotali bijg'ishni sut kislotali bijg'ish bakteriyalari 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‘shishi mumkin: katalaza faolligi 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.

### **Ishning borish tartibi:**

Sut kislotali bakteriyalar bilan tanishish uchun har xil sut-qatiq mahsulotlaridan (qatiq, prostokvasha, smetana, tvorogdan) va tuzlamalar suvidan (pomidor, bodring, karam tuzlamalari) preparat tayyorlanadi. U quyidagicha tayyorlanadi:

1. Buning uchun buyum oynasidagi bir tomchi suvda bakterial ilmoq bilan ozgina mahsulotdan olib aralashtirib, olov ustida bir tekis yoyilib alanga yaqinidagi havoda quritiladi va surtma tayyorlab olinadi;
2. Surtmani olovga qaratgan holda uch marta olov ustidan o‘tkazilib, fiksirlanadi;
3. Surtmaning ustiga genetsent violet bo‘yog‘i shimdirilgan bo‘yoqli qog‘oz yoki metilen ko‘ki bilan ikki daqiqa davomida bo‘yaladi;

4. Ilmoq yordamida bo‘yoqli qog‘ozlar olib tashlanib quritilgandan so‘ng, unga immersion moy tomizilib, immersion obyektivda kuzatiladi.

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

Sut-qatiq mahsulotlaridan tayyorlangan preparatlarda sharsimon sut kislotali bakteriyalar ko‘riladi, ular *Streptococcus* avlodiga 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 mahsulotlarida, odam va hayvonlar ichagida uchraydi.

Tuzlama suvidan tayyorlangan preparatda yakka va kalta zanjir holatda joylashgan *Lactobacillus plantarum* tayoqchasimon bakteriyalar ko‘rinadi. Ular sabzavotlarni tuzlash va siloslashda o‘tadigan sut kislotali bijg‘ish jarayonida muhim rol o‘ynaydi.



### **Nazorat savollari:**

1. Bijg‘ish nima?
2. Bijg‘ishning ahamiyati qanday ekanligini aytib bering?
3. Gomofermentativ bijg‘ish jarayoni va unda ishtirok etadigan mikroorganizmlarni izohlab bering?
4. Getrofermentativ bijg‘ish va uning gomofermentativ turidan farqlari nimadan iborat?
5. Tuzlamada bijg‘ituvchi bakteriyalarning qanday turlari uchraydi?
6. Sut kislotali bijg‘ishni qanday mikroorganizmlar amalga oshiradi?
7. Sut-qatiq mahsulotlarida qanday mikroorganizmlar ta‘sirida bijg‘ish jarayoni amalga oshishini izohlang.
8. Tuzlov suvidan preparat qanday tayyorlanadi?

## 18-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Moy kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'atuvchi mikroorganizmlarni aniqlash

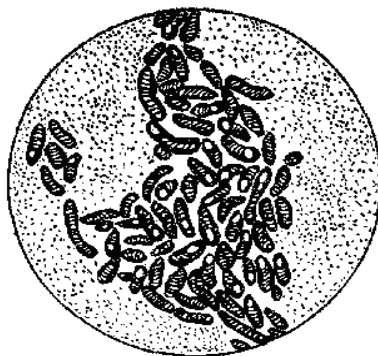
**Ishning maqsadi:** Moy kislotali bijg'ish jarayonini amalga oshiruvchi mikroorganizmlarni aniqlash.

**Asbob-uskunalar:** rushman ozuqa muhiti, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi mikroskop, immersiya moyi, toluol, tuproq namunasi, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Moy kislotali bijg'ish jaryoni tabiatda keng tarqalgan. Bu biologik jarayon ekanligini 1861 yilda Lui Paster isbotlab bergan. Jarayonni moy kislotali bijg'ituvchi bakteriyalar olib boradi. Ular tipik anaeroblar, spora hosil qiladi, vegegativ hujayralari dugsimon, baraban tayoqchasiga o'xshash, 1-5 nm uzunlikda bo'ladi. Bular tabiatda keng tarqalgan bo'lib, sutni, pishloqni, konservalarni buzadi, sabzavotlarni chiritadi va xalq xo'jaligiga katta zarar etkazadi. Lekin ba'zi vakillari (*Clost. pasterianum*, 20-rasm) molekulyar azotni o'zlashtirib, tuproqni azotga boyitadi. Bijg'ish natijasida quyidagi asosiy mahsulotlar hosil bo'ladi:



Bijg'ishning 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 - hujayralarda zapas oziqa modda-granulyoza to'plashdir.



20-rasm. *Clost. pasterianum*

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.

Tuproqda uchraydigan bakteriyalarning 90% moy kislotali bijg'ish jarayonida ishtirok etuvchilardir (21-rasm).



**21-rasm. A) *Clostridium acetobutylicum*; B) *Clostridium butylicum***

Ular turli uglevodlar, spirtlar, kislotalar, kraxmal, glikogen, dekstrinlarni ham bijg'ita oladi. Hosil bo'lgan moy kislota boshqa organizmlar uchun oziq manbai hisoblanadi. Moy kislota moylar parchalanganda va oqsillar parchalanganda ham hosil bo'lishi mumkin, hatto oz miqdorda moy kislota hosil bo'lsa ham oziq mahsulotlarining sifati buziladi.

Moy kislotali bijg'ituvchi bakteriyalarning elektiv kul'turasi uchun quyidagi sharoit zarur: anaerob muhit, shakarining bo'lishi, oziqa muhitini +100 °C gacha isitish va unga ozgina tuproq qo'shish kerak. Oziqa muhiti isitilganda undan kislorod chiqib ketadi va anaerob sharoit vujudga keladi, bu oziqdan ko'p miqdorda idishga solinadi va +30 °C li termostatda yoki issiq xonada o'stiriladi.

### **Ishning borish tartibi:**

Moy kislotali bijg'ishni amalga oshiruvchi mikroorganizmlarni o'rganish uchun quyidagi tartibda ish olib boriladi:

1. Rushman ozuqa muhitiga shpatel yordamida tuproq ekiladi va uni og'zidagi paxta tiqini yopiladi;

2. Tuproq ekilgan ozuqa Rushman ozuqa muhiti termostatga 28-30°C da 1 hafta davomida inkubatsiya qilinadi;

3. Inkubatsiyadan olingan ozuqa muhitidan bakteriologik ilmoq yordamida kartoshka bo'lakchalari ustidan qirib namuna olindi va buyum oynasidagi Lyugol reaktivi tomchisiga suyuqlik bilan birga solinib, ustidan qoplag'ich oyna yopiladi;

4. Ustidan immersion moy tomizilib, mikroskopda immersion obyektivda, ya'ni 90 obyektivda kuzatiladi;

5. Preparatda binafsha rangga bo'yalgan granulyozali yirik hujayralar ko'rinadi. Granulyozaning joylashishiga ko'ra hujayralar to'liq, qisman to'liq yoki dona-dona bo'ladi.



### **Nazorat savollari:**

1. Moy kislotali bijg'ish jarayonini qaysi olim va nechanchi yilda aniqlagan?

2. Moy kislotali bijg'ishni qanday mikroorganizmlar amalga oshiradi?

3. Moy kislotali bijg'ishni amalga oshiruvchi mikroorganizmlarni qanday ozuqa muhiti yordamida aniqlash mumkin?

4. Moy kislotali bijg'ish jarayonning salbiy va ijobiy ahamiyati nimadan iborat?

5. Moy kislotali bijg'ishni amalga oshiruvchi mikroorganizmlardan foydalanib qanday mahsulotlar olish mumkin?

6. Moy kislotali bijg'ituvchi bakteriyalarning elektiv kulturasi uchun qanday sharoit talab etiladi?

7. Moy kislotali bijg'ishni amalga oshiruvchi mikroorganizmlar uchun asosiy ozuqa manbasi bo'lib qaysi modda xizmat qiladi?

8. Tabiiy sharoitda moy kislotali bakteriyalar anaerob sharoitda nimani parchalaydi?

## **19-laboratoriya mashg'uloti**

**Mavzu: Sellyulozali bijg'ish jarayonini qo'zg'atuvchi tirik**

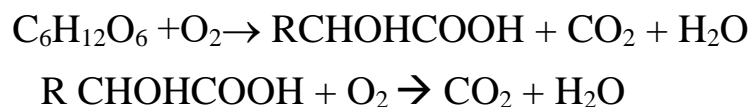
**organizmlarni aniqlash**

**Ishning maqsadi:** Sellyulozani parchalovchi mikroorganizmlarning morfologik tuzilishi bilan tanishish.

**Asbob-uskunalar:** boyitilgan Getchinson va Kleyton ozuqa muhiti, kolbalar, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, metil ko'ki, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi, mikroskop, immersiya moyi, toluol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Kletchatka (selluloza) o'simlikning quruq vaznining 45-80% ni tashkil etadi. U polisaxarid bo'lib, kuchli kimyoviy reaktivlar ta'sirida ham qiyin parchalanadi. Tabiiy sharoitda sellulozaning juda katta miqdori tuproqqa tushadi va u erda tuproq mikroorganizmlari yordamida biologik o'zgarishlarga uchraydi. Bu mikroorganizmlar, kletchatkani **glukozaga** gidrolizlovchi va so'ngra aerob sharoitlarda **CO<sub>2</sub>** va **H<sub>2</sub>O** gacha oksidlovchi **selluloza va sellobiaza fermentlari** hosil qiladi.

Oraliq mahsulotlar sifatida organik kislotalar hosil bo'ladi.



Sellyulozaning aerob parchalanishi asosan bakteriyalar, hamda aktinomitsetlar va zamburug'lar ishtirokida amalga oshadi. Bu jarayonda asosiy rol **miksobakteriyalarga** tegishli. **Miksobakteriyalar** - grammanfiy bir hujayrali tayoqchalar bo'lib, eni 0,4 - 0,7 mkm ni tashkil etadi. Bu organizmlar ko'pchiligining yoysimon hujayralari uzunasiga cho'zilgan, uchlari o'tkirlashgan 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 o'lchami 1 mm 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, yetilgandan so'ng ulardan yana vegetativ hujayralar chiqadi.

Miksobakteriyalar bir necha turga birlashtiriladi: *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Sorangium*, *Archangium*, *Polyangium* va boshqalar. Bu organizmlar tuproqda yashaydilar, ular ko'p miqdorda go'ngda va go'ng bilan o'g'itlangan tuproqlarda hamda chuchuk suv havzalarida va dengiz loyqalarida uchraydi. Sellulozaning aerob parchalanishini Getchinson va Kleyton muhitida kuzatish mumkin (1 litr distillangan suv, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 1 gr.,

$\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  - 0,1 gr.,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,3 gr.,  $\text{NaCl}$  - 0,1 gr.,  $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$  - 0,01 gr.,  $\text{NaNO}_3$  - 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.

### **Ishning borish tartibi:**

Aerob selluloza parchalovchi bakteriyalar bilan tanishish maqsadida "ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi. Buning uchun quyidagi ishlar bajarish talab etiladi:

1. Getchinson va Kleyton ozuqa muhitiga shpatel yordamida tuproq namunasi ekiladi va paxta tiqini yopilib, 28-30°C da bir hafta davomida termostatga inkubatsiya qilinadi;

2. Buyum oynasiga bir tomchi metilen ko'kning suvli eritmasidan tomiziladi, hamda ozuqa muhitiga solingan filtr qog'ozining suyuqlik va havo orasidagi qo'ng'irlashgan filtr qog'oz kesmasidan shilimshiqlashgan qismidan bakteriologik ilmoq yordamida qirib namuna olinib, metilen ko'kiga aralashtiriladi;

3. Ustiga qoplag'ich oyna yopilib, immersion moy tomiziladi va mikroskopning  $\times 90$  obyektivda, immersion sistemada kuzatiladi;

4. Bunda chirigan qog'ozning tolalarini, alohida-alohida bakterial hujayralarni va yumaloq sistalarni ko'rish mumkin.



### **Nazorat savollari:**

1. Kletchatkaning parchalanishida qanday mikroorganizmlar ishtirok etadi?

2. Sellulozani parchalovchi mikroorganizmlar qanday fermentlar ajratadi?

3. Sellulozaning aerob parchalanishi asosan qanday mikroorganizmlar ishtirok etadi?

4. Miksobakteriyalar qanday xususiyatlariga qarab sistematik guruhlarga birlashtiriladi?

5. Miksobakteriyalar necha turga birlashtiriladi?



6. Getchinson va Kleyton ozuqa muhitining tarkibini izohlab bering.
7. Aerob selluloza parchalovchi bakteriyalar bilan tanishish maqsadida qanday preparat tayyorlanadi?
8. Selluloza parchalovchi mikroorganizmlar asosan qanday muhitlarda tarqalgan?

## **20-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Sirka kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'atuvchi tirik organizmlarni aniqlash**

**Ishning maqsadi:** Sirka kislotali bijg'ituvchi mikroorganizmlarning morfologik tuzilishi bilan tanishish.

**Asbob va uskunalar:** konussimon kolbalar, pivo, shakar, yod eritmasi,  $\text{FeCl}_3$  tuzi eritmasi, eritmani neytrallash uchun kristal soda, filtr qog'ozi, immersiya moyi, toluol, fuktsin, spirt lampasi, mikroskop, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Sirka kislotali bijg'ishda ishtirok etadigan bakteriyalar yaxshi rivojlanishi uchun kislotalilik darajasi bilan harorat o'rtasida muayyan nisbat saqlanishi zarur. Chunonchi, harorat o'rtasida muayyan nisbat saqlanishi zarur. Harorat 40, 35, 30, 25, 20 va 150°C bo'lganda eritmadagi kislota miqdori shunga muvofiq 0,5, 10, 15, 20, 25 % bo'lishi kerak.

#### **Ishning borish tartibi:**

1. Bu mashg'ulotni o'tkazish uchun 4 ta konussimon kolba olinib, ularning har qaysisiga 50 ml dan pivo quyiladi va ichida 2 g shakar eritiladi.
2. Birinchi va ikkinchi kolbalarga tegilmaydi.
3. Uchinchi kolbadagi eritmaniki 20 % yetguncha sirka kislota qo'shiladi. Birinchi va uchinchi kolbalar + 30°C termostatda, ikkinchi va to'rtinchi kolbalar esa xona haroratida saqlanadi.
4. Kolbalardagi eritmalarning kislotalilik darajasi va harorati bir xilda bo'lmasligi sababli sirka kislotali bijg'ish turi rivojlanadi.

Bu bakteriyalar ular tomonidan hosil qilingan pardalarning o'sish xiliga qarab, bir-biridan farq qiladi:

1. Atsetobakter atseti (*Acetobakter aceti*) nomli bakteriyalar shilimshiqqa o'xshash silliq parda hosil qiladi. Ularning pardasi kolba devoriga ko'tariladi va yod ta'sirida sarg'ayadi.

2. Atsetobakter ransens (*Acetobakter rancens*) nomli bakteriyalar sernam parda hosil qiladi. Ularning pardasi ham kolba devoriga ko'tariladi va yod ta'sirida sarg'ayadi.

3. Atsetobakter pasterianum (*Acetobakter pasteurianum*) nomli bakteriyalarning pardasi quruq va g'adur-budir bo'lib, yod ta'sirida ko'karadi.

4. Atsetobakter kutzingianum (*Acetobakter kutzingianum*) nomli bakteriyalarning pardasi shilimshiqsimon silliq bo'ladi, kolba devoriga yopishib ko'tariladi va yod ta'sirida ko'karadi.

Bakteriyalar pardasining o'sish shakli va yod ta'sirida bo'yalishi tekshiriladi:

1. Eritmada sirka kislota bor-yo'qligi aniqlanadi.
2. Buning uchun kolbadan olingan suyuqlik soda kristallari bilan neytrallanadi va ustiga  $\text{FeCl}_3$  tuzi eritmasi quyiladi, natijada eritma qizg'ish-qo'ng'ir rangga kiradi.
3. Eritmaning rangi bunday o'zgarishi tarkibida sirka kislota borligidan dalolat beradi. Bakteriyalarning kolba devoriga yopishgan pardasidan kichik bo'lakcha olib surtma tayyorlanadi.
4. U spirt lampasida fiksatsiya qilingandan keyin fuksin bilan bo'yolib, so'ngra mikroskopda kuzatiladi.



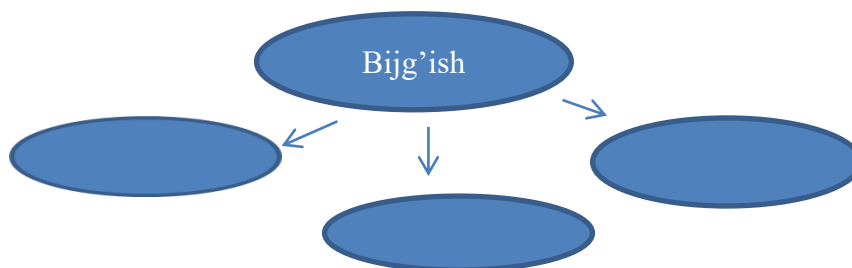
### Nazorat savollari:

1. Sirka kislotali bijg'ish qanday mikroorganizmlar tomonidan amalga oshiriladi?
2. Sirka kislotali bijg'ishni amalga oshiruvchi qanday bakteriyalarni bilasiz?
3. Bakteriyalar pardasining o'sish shakli va yod ta'sirida bo'yalishi qanday tekshiriladi?
4. *Acetobakter aceti* o'sib nima hosil qiladi?
5. *Acetobakter kutzingianum* qanday o'ziga xos xususiyati mavjud?
6. *Acetobakter rancens* nima hosil qiladi?
7. Sirka kislotali bijg'ishda ishtirok etadigan bakteriyalar yaxshi rivojlanishi uchun qanday sharoit zarur?
8. Sirka kislotali bijg'ishni amalga oshiruvchi mikroorganizmlardan qanday maqsadlarda foydalanish mumkin?

**Talaba bilimini mustahkamlash uchun qoʻllanilgan  
texnologiyalar:  
«KLASTER» metodi**

**Texnologiyaning maqsadi:** Mazkur texnologiya ishtirokchilardagi taqqoslash, qiyoslash orqali axborotni oʻzlashtirish, xulosalash, shuningdek, mustaqil ijodiy fikrlash koʻnikmalarini shakllantirishga xizmat qiladi. Mazkur texnologiyadan amaliy mashgʻulot natijalarini tahlil etishda foydalanish tavsiya etiladi.

**«KLASTER» metodi**



**Topshiriqlar:**

1. Bijg'ish turlari bo'yicha klaster tuzing va javoblaringizni izohlab bering.
2. Bijg'ishning ahamiyati bo'yicha klaster tuzing va har bir javobingizni izohlab bering.

**21-laboratoriya mashgʻuloti**

**Mavzu: Molekulyar azotni oʻzlashtiruvchi anaerob mikroorganizmlarning elektiv kul'turasini tayyorlash**

**Ishning maqsadi:** Bakteriyalarning elektiv kul'turasini tayyorlashni oʻrganish.

**Asbob va uskunalar:** Petri likopchalari, tuproq, kurakcha, shakar va glyukoza, karbol kislotada eritilgan eritrozini bo'yog'i, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, metil ko'ki, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi, mikroskop, immertsiya moyi, toluol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Havo tarkibining 75-80% ini azot, 21-23,2% ini kislorod, qolgan 1,3% ini boshqa inert gazlar tashkil qiladi, bir gektar yer

ustidagi havo tarikbida 80 ming tonnagacha azot elementi bo'lishiga qaramasdan o'simliklar molekulyar azotni o'zlashtira olmaydi. Shu sababli ekinlarni azot bilan ta'minlash uchun yerga tarkibida azot bo'lgan sun'iy o'g'it solinadi. Biroq tabiatdagi molekulyar azotni ba'zi ko'k-yashil suvo'tlari (jumladan, *Nostok muscorum*) va ba'zi bakteriyalar o'zlashtirishi ham aniqlangan. Molekulyar azotni o'zlashtiradigan bakteriyalar borligini birinchi marta 1893 yilda rus olimi S.N.Vinogradskiy aniqlagan va uni *Clostridium pasteurianum* deb nomlagan. U spora hosil qiluvchi tayoqchasimon batsilla bo'lib, spora hosil qilish bosqichida uning vegetativ hujayrasi dukka o'xshab qoladi. U anaerob sharoitda moy kislotali bijg'ish jarayonini qo'zg'atadi.

### **Ishning borish tartibi:**

Klostridium bakteriyasining elektiv kulturasi quyidagicha tayyorlanadi:

- 1) 1 g glyukoza eritilgan 40-60 ml suvga 100 g tuproq qo'shib, loy holiga kelguncha aralashtiriladi.
- 2) Bu aralashma kurakcha yordamida Petri likopchasiga solinib, ustini silliqlab qopqoq bilan berkitiladi, so'ngra +30 °C da termostatda bir necha kun saqlanadi.
- 3) Keyin Petri idishining qopqog'ini ochib, aralashma hidlab ko'riladi, agar undan qo'lansa hid kelsa, bu aralashmada moy kislota hosil bo'lganligini bildiradi.
- 4) Moy kislotali bijg'ish jarayonida gazlar ajralganligi sababli loy ham ko'piklanib turadi. Bu jarayonlarning hammasi klostridiumning hayot faoliyati natijasida ro'y beradi.
- 5) Ko'pirib turgan loydan ozgina olib, suvda suyultiriladi va undan surtma tayyorlanadi.
- 6) U qurigandan so'ng 5 daqiqa davomida spirt bilan fiksatsiyalanadi.
- 7) Surtma spirti uchib ketgandan keyin ustiga karbol kislota (fenol) da eritilgan eritrozin bo'yog'i tomizilib, bakteriyalar bo'yaladi.
- 8) Bir necha daqiqadan so'ng bo'yoqni yuvib, surtma quritiladi va mikroskopning immersion obektivi orqali kuzatiladi. Bu preparatda uzun tayoqcha shaklidagi va duksimon bakteriyalar ko'rinadi.
- 9) Kuzatilgan mikroorganizm hujayralarini ish daftariga chizib olinadi va ishni xulosa qilinadi.



### Nazorat savollari:

1. Havo tarkibidagi gazlar miqdorini qanday?
2. Azotofiksatsiya deb nimaga aytiladi?
3. Qanday tirik organizmlar atmosferadan molekulyar azorni o'zlashtirish xususiyatiga ega?
4. Molekulyar azotni o'zlashtiradigan bakteriyalar borligini birinchi marta qaysi olim aniqlagan va nima deb nomlagan?
5. Molekulyar azotni atmosferadan o'zlashtira oladigan mikroorganizmlar mavjudligi haqidagi fikrlarni qaysi olim tomonidan aniqlangan?
6. Bakteriyalardan tashqari yana qanday mikroorganizmlar azot o'zlashtirish xususiyatiga ega?
7. Klostridium bakteriyalarning elektiv kulturasini qanday qilib olinishini izohlab bering.
8. Azotofiksatsiyaning tabiat va inson uchun ahamiyatini izohlab bering.

## 22-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Aerob azotofiksator mikroorganizmlarning elektiv kulturasini tayyorlash

**Ishning maqsadi:** Azotabakterning elektiv kulturasini tayyorlashni o'rganish.

**Asbob va reaktivlar:** Petri likopchasi, tuproq, kurakcha, mannit yoki glitserin, karbol kislotada eritilgan eritrozin bo'yog'i, buyum oynalari, kedr moyi, spirt lampa, bakterial ilmoq, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskop va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Havo tarkibidagi molekulyar azotni yashil o'simliklar va hayvonlar o'zlashtira olmaydi. Azot moddalarning biologik o'zgarishida ikki yo'l bilan ishtirok etadi.

Birinchi yo'lda elektr zaryadsizlanish vaqtida (kuchli chaqmoq bo'lganda) fotokimyoviy oksidlanish ro'y beradi, bunda  $N_2 \rightarrow NO_2$  ga aylanadi. Hosil bo'lgan  $NO_2$  suvda va tuproqda yana oksidlanib,  $NO_3$  ga aylanadi. Bir yilda yana shu yo'l bilan  $1m^2$  maydonda 30 mg  $NO_3$  to'planadi.

Ikkinchi yo'lda molekulyar azotni azot to'plovchi mikroorganizmlar o'zlashtiradi. Bular ikki gruppaga bo'linadi:

1. Tuganak bakteriyalar dukkakli o'simliklar bilan simbioz holda hayot kechirib, molekulyar holdagi azotni o'zlashtiradi.

2. Erkin holda yashovchi azotfiksatorlar azotni o'zlashtiradi.

Tuganak bakteriyalar. M.S.Voronin (1886) dukkakdosh o'simliklar ildizida mikroorganizmlar borligini aniqlagan. Nemis olimlari G.Gelrigel va T.Vilfort (1886) qizdirilgan (ya'ni barcha bakteriyalari nobud qilingan) qumga dukkakdosh o'simlik ekib, uning ildizida tuganaklar hosil bo'lmaganligini kuzatganlar. Keyinchalik bu bakteriyalarni gollandiyalik olim M.Beyerink sof holda ajratib oladi va *Bact. radicola* deb nomlaydi. Hozir bu bakteriyalar *Rhizobium* avlodiga kiritilgan. Bundan tashqari *Azotobakter* kabi bir qator erkin azotofiksator mikroorganizmlar mavjud bo'lib bu mikroorganizmlar tabiatda azotning davriy aylanishi va qishloq xo'jaligi uchun tuproqning azot bilan boyishida muhim sanaladi. Bunday mikroorganizmlarni o'rganishda o'ziga xos yondashuvni talab etadi.

### **Ishning borish tartibi:**

*Azotobakter*ni ajratish quyidagicha amalga oshiriladi:

1. 100 g tuproqqa 2 g mannit yoki glitserin aralashtiriladi. Bu aralashma ustiga bir oz suv quyib, xamirsimon loy tayyorlanadi.

2. Uni Petri likopchasi solib, usti shpatel bilan silliqilanadi. So'ngra Petri likopchasining og'zini yopib, 30°C da termostatda bir necha hafta saqlanadi.

3. Shundan so'ng Petri likopchasidagi loy yuzasida oq rangli yaltiroq koloniyalar hosil bo'lganligini ko'rish mumkin, keyinchalik bu koloniyalar qo'ng'ir tusga kiradi.

4. Bakteriyalar bilan tanishish maqsadida koloniyalarning bir bo'lakchasini olib, 1-2 tomchi suvda suyultiriladi va shu suyuqlikdan surtma tayyorlanadi. Surtmani quritib, 5 daqiqa davomida spirt bilan fiksatsiyalanadi. Fiksatsiyalangan surtma ustiga karbol kislotada eritilgan eritrozin bo'yog'i tomizib bo'yaladi.

5. Surtmani yuvib, quritiladi va bir tomchi kedr moyi tomizilib immersion muhitda kuzatiladi. Bunda eritrozin ta'sirida tuproq zarrachalari bo'yalmasdan faqatgina azotobakterlar bo'yalganini ko'rish mumkin.

6. Bu preparatda *Azotobakter chroococcum* hamda ularni o'rab turgan kapsulalar ko'rinadi. *Azotobakter 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.



### **Nazorat savollari:**

1. Atmosfera azotining biologik o‘zlashtirilishi qanday yo‘llar bilan amalga oshadi?
2. Aerob holda yashaydigan qaysi mikroorganizmlar erkin azotni o‘zlashtirishi mumkin?
3. Tuganak bakteriyalar qaysi olimlar tomonidan o‘rganilgan?
4. Azotobakter bakteriyasini o‘rganish yo‘lini izohlab bering.
5. *Azotobakter*ni qanday usulda ajratib olinadi?
6. *Azotobakter chroococcum* bakteriyasi qanday tuzilishda ekanligini izohlab bering.
7. Dukkakdosh o‘simliklar ildizida mikroorganizmlar borligini qaysi olim aniqlagan?
8. Nemis olimlari G.Gelrigel va T.Vilfortlar qanday mikroorganizmlarni aniqlagan.

### **23-laboratoriya mashg‘uloti**

**Mavzu: Azotofiksatsiyalovchi mikroorganizmlarni tuproq**

**bo‘lakchalari usuli yordamida o‘rganish**

**Ishning maqsadi:** Elektiv kulturadagi mikroorganizmlarni aniqlash.

**Asbob va uskunalar:** Petri likopchalari, tuproq, kurakcha, shakar va glyukoza, karbol kislotada eritilgan eritrozina bo‘yog‘i, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, metil ko‘ki, genetsian violet bo‘yog‘i shimdirilgan filtr qog‘ozi, tush, mikroskop, immersiya moyi, toluol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug‘lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma‘lumot.** 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 hayvonlar foydalana olmaydi.

Bu xususiyatga faqat prokariotlar ega. Ularning ko‘pchilik vakillari havodagi azotni bog‘lagan holatga o‘tkazadi. Molekulyar azotni mikroorganizmlar tomonidan o‘zlashtirish jarayoni azotofiksatsiya va bu jarayonni olib boruvchi mikroorganizmlar azotfiksatorlar deyiladi. Hamma

e'tirof qilgan azotofiksatorlarga azotobakter, tuganak bakteriyalar va anaerob klostridiylar kiradi. Boshqa guruh mikroorganizmlar ichida *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum* va hokazo avlodlarga kiruvchi azotofiksatorlar topilgan. Azotofiksirlovchi mikroorganizmlar tuproqda erkin holda yoki yuqori o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi. Shuning uchun erkin yashovchi va simbioz holatda yashovchi azotofiksatorlar farqlanadi.

Erkin yashovchi azotofiksatorlar 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 havzalrida anaerob azotofiksator *Clostridium* avlodi uchraydi. Bu guruhning tipik vakili *C. pasteurianum* turidir. Yosh kultura hujayralari peritrix joylashgan xivchinlarga ega bo'lgan va donador kraxmalsimon moddaning katta zahirasiga 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. Bu quyida keltirilgan ketma-ketlikda amalga oshiriladi:

### **Ishning borish tartibi:**

1. Sterillangan Petri kosachasiga azotsiz Eshbi agarli muhit quyiladi. Qotgandan so'ng agar ustiga sterillangan ilmoq yoki shpatel yordamida 1 g tuproqni diametri 2 mm cha bo'lgan 50-100 bo'lakchalari joylashtiriladi.

2. Tuproq oldindan bir oz namlanib, pasta shakliga kelguncha aralashtiriladi.

3. Bo'lakchalarning to'g'ri joylashishi uchun andozadan foydalaniladi.

4. Tuproq ekilgan likopchalarni 28-30°C da 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.

5. Azotobakter bilan qoplangan tuproq bo'lakchalarni miqdori ekilgan bo'lakchalar umumiy sonidan foiz hisobida sanaladi.



6. Bo'lakchalar atrofidagi 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 28-30 °C da o'stiriladi va bir haftadan so'ng tahlil qilinadi:

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

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

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

Buning uchun buyum oynasiga 1:10 nisbatda suv bilan suyultirilgan tushdan 1-2 tomchi tomiziladi, bakterial ilmoq bilan Eshbi muhitida o'stirilgan *Azotobacter chroococcum* ning toza kul'turasidan ozgina olib suv bilan aralastiriladi. Tayyorlangan loyqa ustiga qoplagich oyna yopiladi va mikroskopning immersiyon muhitida kuzatiladi.

*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.



### **Nazorat savollari:**

1. Tuproq bo'lakchlari usuli qanday usulligini izohlab bering.
2. Azotofiksatsiya jarayonini qanday mikroorganizmlar amalga oshiradi?
3. Erkin yashovchi aerob azotofiksatsiyalovchi mikroorganizmlarga qaysilar kiradi?
4. *Azotobacter chroococcum* bakteriyasining boyitilgan kulturasini qanday olinishini izohlab bering.
5. *Azotobacter chroococcum* bakteriyasini mikroskopda ko'rish uchun qanday preparat tayyorlanadi?

6. Azotofiksatsiya jarayoni va uning ahamiyati qanday ekanligini aytib bering.
7. Azotobakterning boyitilgan kulturasi qanday olinadi?
8. Tuproq bo'lakchalari usulini nima maqsadda ishlatish mumkin?

## **24-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Simbioz holda hayot kechiruvchi azotofiksator mikroorganizmlarni o'rganish**

**Ishning maqsadi:** Simbioz holda hayot kechiruvchi azotofiksator mikroorganizmlar haqida talabalarda tushuncha shakllantirish.

**Asbob va uskunalar:** Petri likopchalari, kurakcha, mosh, loviya va bedaning tuganakli ildizlari, bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, metil ko'ki, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi, tush, mikroskop, immersiya moyi, toluol, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** 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'ichqa), *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.

### **Ishning borish tartibi:**

1. Simbiotik azotofiksirlovchi mikroorganizmlar bilan tanishish uchun mosh, no'xat, vika, soya, lyupin kabi dukkakli o'simliklarning ildizini tuganaklari bilan umumiy ko'rinishda chizib olinadi.

2. 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.

3. Tuganaklardagi bakteroidlar bilan tanishish uchun buyum oynasi yuzasiga bir tomchi suv tomiziladi va uning ustiga tuganak qo'yilib ustidan ikkinchi buyum oynasi bilan qattiq bosiladi.

4. So'ngra tuganak suvga aralastirilib olib tashlanadi va suyuqlikdagi mikroorganizmlardan fiksirlangan-bo'yalgan preparat tayyorlanadi hamda mikroskopda kuzatiladi.

5. Preparatda bakteroidlar - harakatsiz, yo'g'onlashgan, rogatkasimon, hamda kolbasimon shishgan, noksimon yoki sferik hujayralar ko'rinishi kerak.

6. Kuzatish natijalarini ish daftaringizga chizib oling.



### **Nazorat savollari:**

1. Simbioz azotofiksatorlarga qanday mikroorganizmlar kiradi?  
2. Bakteroidlar nima va u qanday hosil bo'lishini izohlab bering?  
3. Tuganak bakteriyalar qanday nomlanadi?  
4. Infeksiyon nima va uning ahamiyati nima?  
5. Simbioz azotofiksator mikroorganizmlarni qanday o'rganish mumkin?

6. Nima uchun tuganak bakteriyalar *Rhizobium* avlodiga birlashtirilgan?  
7. Tuganak bakteriyalarning o'simliklar uchun ahamiyatini izohlab bering.

8. Simbiotik azotofiksirlovchi mikroorganizmlar bilan tanishish uchun qaysi o'simliklardan foydalanish maqsadga muvofiqdir?

## 25-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Nitrifikatsiya jarayonini qo'zg'atuvchi bakteriyalarni aniqlash

**Ishning maqsadi:** Nitrifikatsiya jarayonida ishtirok etuvchni bakteriyalarni o'rganish.

**Asbob va uskunalari:** bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, metil ko'ki, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'ozi, mikroskop, immersiya moyi, toluol, chinni likopcha, Vinogradskiy oziqa muhiti, Griss reaktivi, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

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

Yuqorida aytilganidek, 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 angidridan foydalanish xususiyatiga ega. Buning uchun zarur bo'lgan kimyoviy energiya esa ammiak va nitritlar oksidlanishidan olinadi. Zamonaviy atamashunoslikda ular **xemolitoavtotroflar** deyiladi.

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

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



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



## Ishning borish tartibi:

Nitrifikatsiya jarayonini o'rganish quyidagicha amalga oshiriladi:

1. Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kul'turasini olish uchun tuproqni (yoki boshqa substratni) Vinogradskiy oziqa muhitiga ekiladi. Bu muhit mineral tuzlar eritmasidan iborat, jumladan,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  tuzi eritmasidan iborat. ("Oziqa muhitlar" bo'limiga qaralsin).

2. Aniq bir inkubatsion davr (21 kun) dan so'ng nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasi tahlil qilinadi.

3. Boyitilgan kultura mikroskopda fiksirlangan va genetsian-violet bilan bo'yalgan preparatni tayyorlab ko'riladi.

4. Nitritlar hosil bo'lganligini Griss reaktivi yordamida sifat reaksiya qilish orqali aniqlanadi.

5. Buning 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.

6. Nitratlarga sifat reaksiyasi - nitratlar to'planganligini konsentrlangan **sulfat kislotali difenilamin** reaktivi yordamida aniqlanadi.

7. Buning uchun 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.



## Nazorat savollari:

1. Nitrifikatsiya deb nimaga aytiladi va uning ahamiyati qanday?
2. Nitrifikator mikroorganizmlarga qaysilar kirishini izohlang?
3. Nitrifikator mikroorganizmlarning boyitilgan kulturasi olish uchun qanday qaysi oziqa muhitidan foydalaniladi?
4. Nitrifikator mikroorganizmlar qanday uzulda oziqlanadi?
5. Nitritlar hosil bo'lganligini qanday reaksiya yordamida aniqlash mumkin?
6. Nitratlar hosil bo'lganligini qanday reaksiya yordamida aniqlash mumkin?
7. Vinogradskiy oziqa muhitining tarkibini izohlab bering.
8. Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasi tahlil qilish uchun necha kun inkubatsion davrni o'tashi kerak?

## 26-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Denitrifikator mikroorganizmlarni ajratish uchun ozuqa muhiti tayyorlash

**Ishning maqsadi:** Denitrifikatorlar uchun Giltay ozuqa muhitini tayyorlash va bu xususiyatga ega bo'lgan mikroorganizmlarni o'rganish.

**Asbob va uskinalar:** natriy sitrati,  $\text{KNO}_3$ ; pepton;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{FeCl}_3$ -izi, 1% li spirtli ko'k rangli bromtimol indikator, kolbalar, probirkalar, vodoprovod suvi, termostat, avtoklav, tarozi, varonka, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Denitrifikatsiya jarayoni nitrifikatsiya jarayonining aksi bo'lib, bunda bog'langan azot yana atmosferaga erkin holda qaytadi. Bu protsess bevosita va bilvosita bo'ladi, chunki nihoyatda xilma-xil protsesslar (jarayonlar) natijasida nitratlardan molekulyar azot hosil bo'lishi mumkin.

Bevosita denitrifikatsiyada nitratlar denitrifikatsiyalovchi alohida bakteriyalar gruppasining hayot faoliyati tufayli qaytarilsa, bilvosita denitrifikatsiyada faqat aminokislotalar bilan nitrit kislota o'zaro ta'sir etadi. Buning natijasida ham molekulyar azot hosil bo'ladi. Bevosita denitrifikatsiya tabiatda tuproqda, go'ngda va suv havzalarida keng tarqalgan denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning hayot faoliyati tufayli sodir bo'ladi.

#### Ishning borish tartibi:

Denitrifikator mikroorganizmlarni o'rganish uchun zarur bo'lgan Giltay ozuqa muhiti quyidagicha tayyorlanadi:

1. 1 litr distillangan suvga (g/l) natriy sitrati - 2,5;  $\text{KNO}_3$  -2; pepton-1;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  -2;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  -2;  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  - 0,2;  $\text{FeCl}_3$  tuzi tortib olinib 1 l li kolbaga solinadi, keyin muhitga 1 - 2 ml 1% li spirtli ko'k rangli bromtimol indikator yashil rang bo'lguncha qo'shiladi.

2. Tayyor bo'lgan oziqa muhiti probirkalarga quyiladi (5-10 ml dan), probirkalar og'zi paxta tiqin bilan yopiladi va avtoklavda 0,5 atm da sterillanadi.

3. Elektiv oziqa muhitli probirkalarga shpatel yordamida 0,5 - 0,7 g dan tuproq solinadi.

4. Probirkalarni qog'oz yordamida birlashtirib, bu qog'ozda ekish kuni va ekuvchining familiyasi yoziladi. Inkubatsiya termostatda t 25-28°C da 7-21 sutka olib boriladi.

5. O'rganiladigan mikroorganizmlar avval 5-ml muhitli probirkalarga ekiladi (1-passaj). Ekish ukol usulida amalga oshiriladi.

6. 24 soatdan so'ng 1-passajdan bakterial ilmoqda kulturani olib qizdirib so'ng 40-45°C gacha sovitilgan 10 ml muhitli probirkalarga o'tkaziladi. Mikroorganizmlar ekilgandan keyin muhit aralashtiriladi, sovitiladi va anaerob sharoit yaratish uchun steril 1% li suvli agardan 2-3 ml qo'shiladi.

7. Denitrifikatsiyalash xususiyatiga ega bakteriyalarning rivojlanishi muhitning loyqalanishi va gaz ajralishi bilan boradi.

8. Kuzatish natijalarini ish daftaringizga chizib oling.



### **Nazorat savollari:**

1. Denitrifikatsiya deb nimaga aytiladi va uning ahamiyati qanday?
2. Denitrifikatsiya jarayoni qanday amalga oshadi?
3. Denitrifikator mikroorganizmlarni qaysi ozuqa muhiti yordamida ajratib olish mumkin?
4. Giltay ozuqa muhitining tarkibiga nimalar kirishini aytib bering.
5. Denitrifikatsiyalovchi mikroorganizmlarga qaysilar kirishini izohlab bering?
6. Ozuqa muhit nimasiga qarab tahlil qilinadi?
7. Denitrifikatsiya jarayonlari tabiatda qayerlarda amalga oshadi?
8. Denitrifikatsiya jarayonini to'xtashi uchun nima ishlarni amalga oshirish zarur?

## **27-laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Denitrifikator mikroorganizmlarni mikroskopiya usuli yordamida o'rganish**

**Ishning maqsadi:** Denitrifikatsiya jarayonida ishtirok etuvchi bakteriyalarni o'rganish

**Asbob va uskunalari:** bakterial ilmoq, vannacha, narvoncha, buyum va qoplagich oynalar, spirt lampasi, kolbada vodoprovod suvi, shisha tayoqchalar, metil ko'ki, genetsian violet bo'yog'i shimdirilgan filtr qog'oz, mikroskop, immersiya moyi, toluol, chinni likopcha, Giltay oziqa muhiti, Griss reaktivi, elektron doska, raqamli fotokameraga ega yorug'lik mikroskopi va boshqalar.

**Nazariy ma'lumot.** Azot tuzlarini molekulyar azotgacha qaytarilishi chin **denitrifikatsiya** deyiladi. Bu jarayonni denitrifikatsiyalovchi mikroorganizmlar olib boradi, ular organik moddalarni oksidlash jarayonida nitratlar vodorod aktseptor sifatida ishlatiladi.

Tuproqdagi ko'pgina geterotrof mikroorganizmlar denitrifikatsiyalash xususiyatiga egadir. Eng faol denitrifikatorlar sifatida *Pseudomonas* avlodidagi sporasiz bakteriyalarni ko'rsatish mumkin. Bu jarayonda ba'zi bir *Bacillus* avlodiga kiruvchi mezofil va termofil turlar qatnashishi mumkin. O'ziga hos avtotrof denitrifikatorlar qatoriga oltingugurt oksidlanishida nitratlarni qaytaruvchi tion bakteriyalar *Thiobacillus denitrificans* kiradi. Tuproqda o'tuvchi denitrifikatsiya o'rinsiz jarayon bo'lib, o'simlik o'zlashtiradigan azotning yo'qolishiga olib keladi.

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

### **Ishning borish tartibi:**

Giltay oziqa muhitidagi denitrifikatorlarning boyitilgan kulturasining tahlili.

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

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

3. Denitrifikator mikroorganizmlarning toza kulturalaridan fiksirlangan-bo'yalgan preparat tayyorlanadi va mikroskopda immersion muhit yordamida kuzatiladi. Ular quyida keltrilgan.

### **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 flyuorestsirlovchi pigment ajratadi. Bular ingichka 0,6x 1-2 mkml to'g'ri, harakatchan (monotrixlar), sporasiz, xemoorganotrof tayoqchalar.



### Nazorat savollari:

1. Denitrifikatorlarning xarakterli o'sishini qanday kuzatish mumkin?
2. Eng faol denitrifikator mikroorganizmlarga qaysilar kiradi?
3. Nima uchun tuproqdagi denitrifikatsiya jarayoni o'rinsiz hisoblanadi?
4. Giltay ozuqa muhitini tahlil qilishda nimalarga ahamiyat berish talab etiladi?
5. *Pseudomonas stutzeri* bakteriyasi qanday xususiyatga ega?
6. *Pseudomonas fluorescens* bakteriyasida qanday xususiyat mavjud?
7. Denitrifikatsiyalovchi mikroorganizmlarning toza kulturasini qanday olinadi?
8. Denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning boyitilgan kulturasini mikroskop ostida ko'rish uchun qanday preparatlar tayyorlanadi?

## 28-laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Odam va hayvonlarda kasallik qo'zg'atuvchi viruslarni jadvallar va rasmlar asosida o'rganish

**Ishning maqsadi:** Odam va hayvon virus kasallik alomatlarini simptomlar haqida ma'lumot olish.

**Ishda foydalaniladigan asboblari va jihozlari:** Odam va hayvon virus kasallik alomatlarini simptomlar haqida ma'lumot beruvchi plakatlar, jadvallar, broshuralar, hujjatli filmlar va hok.

**Nazariy ma'lumot.** Mamlakatimizda so'nggi yillarda sanitariya-epidemiologik osoyishtalikni saqlash, yashash muhiti xavfsizligini va inson sog'lig'ini muhofaza qilishni ta'minlash, sanitariya-epidemiologiya nazorati xizmati tizimini takomillashtirish, ushbu sohada malakali kadrlarni tayyorlashga yo'naltirilgan qator chora-tadbirlar amalga oshirish bo'yicha qonun hujjatlar qabul qilingan bo'lib, jumladan 2019 yilda "O'zbekiston Respublikasida sanitariya-epidemiologiya xizmati tizimini tubdan takomillashtirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi O'zbekiston Respublikasi Prezidentining farmoni asosiy dastur bo'lib xizmat qiladi.

**Gripp virusi, uning xususiyatlari hamda tarqalishi:** aksirganda, yo‘talganda va gapirganda havoda tarqaladigan suyuqlik tomchilari orqali sodir bo‘ladi (22-rasm). Gripp virusi – bronxit, plevrit kabi “ikkilamchi kasalliklarga” yo‘l ochib beradi.

**Morfologik va kultural xususiyatlari.** Gripp virusi sharsimon shaklli, tovuq embrionida va to‘qimalar kulturasida o‘sadi.

**Antigenlik xususiyatlari va tipi.** Antigenlik xususiyatiga ko‘ra gripp virusi **4 tipga (A, B, C, D)** bo‘linadi. Gripp virusining antigeni eruvchan xususiyatga ega. Bu antigen uzoq saqlanadi, u 100°C da parchalanib ketadi (Y. Ahmadjonov, 1964). Bu antigen ribonukleoproteiddan iborat bo‘lib, virusning tipiga xosdir, lekin virusning antigenlik xususiyati o‘zgarib turadi. Agar gripp virusini kuchsizlantirib, u bilan immunizatsiya qilinsa, organizmda immun modda - antitelolar hosil bo‘ladi. Immun modda kasallik natijasida virusning eriydigan qismi - antigeniga qarshi hosil bo‘ladi.

**Toksigenligi.** Gripp virusining zaharli moddasi borligi hayvonlarda sinab aniqlangan. Virusni quyon yoki dengiz cho‘chqasining ko‘ziga kiritilsa, toksin ta‘sirida ko‘zda **keratit** paydo bo‘ladi. Agar gripp virusini tuxum embrionida o‘stirib, allantois suyuqligidan sichqonga qon tomiridan va miyasiga kiritilsa, sichqon 24 soatda zaharlanib o‘ladi.

Gripp virusining zaharli moddasi gripp kasalligining boshlang‘ich davrida odam qonida ham topiladi. Bu zaharli modda virus zarrasining xususiyatiga bog‘liqdir. Virusning tiplariga ko‘ra, uning zaharli moddasi ham har xil bo‘ladi, ular o‘ziga mos keladigan immunmoddali (gomologik) qon zardobi bilan neytrallanadi.

Gripp virusining toksini gripp kasalligidan tuzalganlarning qon zardobi bilan neytrallanadi.

**Chidamliligi.** Gripp virusi chidamsiz bo‘lib, uy temperaturasida bir necha soatda o‘ladi. Muzlatilgan holda bu virus virulentligini bir necha oylab saqlaydi. Liofil usulda vakuumda quritilib, past temperaturada saqlansa, bu virus bir necha yilgacha tirik qoladi. 65 °C da gripp virusi 5-10 minutdan so‘ng halok bo‘ladi. Ishqoriy va nordon muhitga, efir ta‘siriga hamda dezinfeksiya qiluvchi moddalarga chidamsizdir. Ultra binafsha nur, ultratovush ta‘siriga sezgirdir, glitserinda bir qancha oy saqlanishi mumkin.

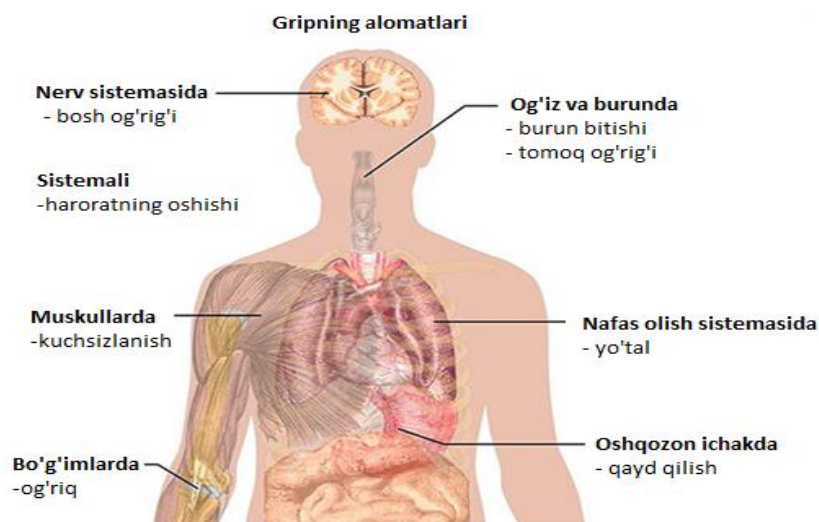
**Patogenligi va patogenezi.** Gripp virusi oq sichqon, oq kalamush va oq sassiq qo‘zanga patogendir. Bu hayvonlarning nafas yo‘llarini

shikastlaydi. Bu virus yumronqoziq va boshqa hayvonlarga osonlik bilan o'tadi.

Grippni **qo'zg'atuvchi pnevmotrop virus** odamga havo bilan yuqori nafas yo'llaridan kirib, shilliq pardada ko'payadi va u erdagi silindrik epiteliy hujayralarini nekrozlantirib nobud qiladi, ayni vaqtda virus butun organizmni ham zaharlaydi. Keyin virus nafas yo'lining boshqa qismlariga yoyilib, bronx va alveolalarga etib borishi mumkin.

**Klinik belgilari.** Gripdda inkubatsion davr ko'pincha 2-10 soat (ba'zan 48 soat va undan ko'p ham bo'lishi mumkin) davom etadi.

Kasallik simptomlari og'ir zaharlanish va nafas yo'llarini yallig'lanishi, odatdagi tipik holatlarda kasallik 10 kunda va undan ortiqroq kunda o'tadi va to'la tuzalib oyoqqa turishi bir oyga cho'ziladi. Bolalarda, yoshi katta va surunkali kasallar bilan og'rigan odamlarda gripp o'pka, bosh miya va yurak musullarida asorat berishi mumkin. Grippling og'ir o'ta yuqori toksik holatlarida (gipertoksik) qon ketishlar, miya, yurak va ichki organlarning ishlari buziladi va letal holatga olib kelishi mumkin. Kasallikning asosiy klinik belgilari rasmda keltirilgan (22-rasm).



**22-rasm. Grippling asosiy kasallik alomatlari**

Yuqorida aytilganidek, virus, odatda, kasal odam yo'talganda, aksirganda, havoga sachragan tupuk zarrachalari vositasida yuqadi. Shu bilan birga bemor qattiq isitmalaydi, boshi og'riydi. Ayniqsa, ko'z kosachasi atrofida og'riq bo'ladi, tana qaqshaydi, kasal darmonsizlanadi, yo'taladi. Tumov belgilari paydo bo'ladi va ba'zan kasalning ovozi birqadar bo'g'iladi, ishtahasi pasayib, og'iz mazani ajrata olmaydi. Qonda leykopeniya bo'lishi grippling doimiy belgisidir. Kasalning muhofaza

kuchlari pasaygani uchun organizmdagi normal va shartli patogen mikroflora faollashib, bir qator qo‘shimcha infeksiyalar aralashadi. Ko‘pincha bronxit, sinusit, pnevmoniya va boshqa infeksiyalar ro‘y berishi mumkin.

Gripp o‘tmishda ham, hozirda ham katta epidemiya tusida tarqalgan, ba‘zan esa pandemiyaga aylanuvchi kasallikdir. Bundan tashqari 2019 yilda ro‘yxatga olingan koronavirus ham butun dunyoda 176 mindan ortiq odamni kasallanishiga sabab bo‘lgan pandemiyani kelib chiqishiga va 6 mingdan ortiq odamning o‘limiga sabab bo‘ldi. Shuning uchun bunday patogen viruslarni doimiy o‘rganib borish davlat miqiyosidagi ishlardan biri hisoblanadi.

### **Ishning borish tartibi:**

1. Odam va hayvonlarda kasallik qo‘zgatuvchi oddiy va murakkab viruslardan bittadan virusning tuzilishi rasmlari hamda jadvallar asosida o‘rganiladi.
2. Keltirib chiqaradigan kasalliklari va ularning alomatlari haqida aniq ma‘lumotlar beriladi.
3. Tarqalish yo‘llari adabiyotlar hamda manbalar asosida o‘rganiladi.
4. Virion tuzilishi ish daftariga chizib olinadi.



### **Nazorat savollari:**

1. Viruslar haqidagi tushunchangizni aytib bering?
2. Viruslar odam va hayvonlarda qanday xavfli kasalliklarni keltirib chiqaradi?
3. Grippning bugungi kungacha qanday xillari aniqlangan va ular bir-biridan qanday farqlanadi?
4. Grippdan tashqari odam uchun xavfli bo‘lgan qanaqa viruslarni bilasiz?
5. Viruslarni qanday xususiyatiga qarab klassifikatsiyalash mumkin?
6. Viruslarni tabiiy sirkulyatsiyasi bo‘yicha qanday fikrlaringiz mavjud?
7. Viruslar mutatsiyasi va uning ahamiyati qanday?
8. Viruslarni foydali maqsadlarda foydalanish haqida qanday ma‘lumotga egasiz?

## **Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati**

1. Vahobov A.X, T.X.Rasulova, Ya.F.Nizametdinova, M.I.Mansurova, I.A.Muzaffarova. Mikrobiologiyadan amaliy va laboratoriya mashg'ulotlari uchun o'quv qo'llanma (lotincha).T.: "Universitet" nashriyoti, 2009. -76 b.
2. Jo'raeva U.M., Magbulova N.A. Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg'ulotlariga qo'llanma.Toshkent, 2017. 45 b.
3. John W. Foster, Joan L. Slonczewski Microbiology: An Evolving Science USA, 2012, WW Norton & Co, English, 2011. P. 345.
4. Борисов Л.Б. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии. М. Медицина, 1984. -234 с.
5. Воробьева А.А., Кривошеина Ю.С. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии. - М.: Мастерство, 2001. -148 с.
6. Гусев М.В., Л.А. Минеева. Микробиология: учебник для вузов. – Москва, 2004. – 345 с.
7. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. М.:АСАДЕМА. 2008
8. Громов Б. Строение бактерий. Учеб. пособие. – Л.: Из-во универ, 1985. -192 с.
9. Дикий И.Л., Сидорчук И.И., Холупяк И.Ю. и др. Микробиология: Руководство к лабораторным занятиям: Учеб. пособие для студентов высш.учеб.заведений. Х.: Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2002. – 165 с.
- 10.Емцев В.Т., Мишустин Е.Н. Микробиология. М.:ДРОФА. 2006. – 324 с.
- 11.Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенов Г.М. Биология почв: Учебник. -3-е изд., испр. и доп. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 445 с.
12. Иноғомова М., Ваҳобов А.Ҳ. Микробиология ва вирусология асослари. Т.:“Университет” нашриёти, 2010. 224 б.
- 13.Калганова, Т. Н. Практикум по микробиологии и биотехнологии: лабораторные работы. – Южно-Сахалинск: СахГУ, 2011. – 56 с.
- 14.Нетрусова А.И. Практикум по микробиологии. – М.: Академия, - 2005. – 167 с.
- 15.Расулова Т.Х., Магбулова Н.А. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии.Ташкент, 2014. – 56 с.

16. Расулова Т.Х., Давронов К.Д., Жураева У.М., Магбулова Н.А. Микробиологик тадқиқотлар учун услубий қўлланма. Тошкент, 2012. 45 б.

17. Теппер Е.З. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа, 2004. – 234 с.

18. Хоулт Дж. Краткий определитель бактерий Берги. М.: “Мир” 1980. – 187 с.

### **Интернет сайтлари:**

<http://www.cspi.uz>

[http:// www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)

[www.nature.uz](http://www.nature.uz)

[www.pedagog.uz](http://www.pedagog.uz)

## ILOVALAR

### MIKROORGANIZMLAR O‘STIRISH UCHUN OZUQA-MUHITLAR

Xemoorganogeterotrof bakteriyalar o‘stirish uchun ozuqa muhitlar

Go’sht pepton bul’on (g): 1 l go’sht bul’oni; pepton – 5-10; NaCl – 5; pH 6,8-7,0.

Oziqa muhit (g): pepton — 10,0; drojali ekstrakt — 1,0; glyukoza — 1,0—4,0; distillirlangan suv — 1000 ml; pH — 6,8—7,0.

Kraxmal-ammiakli muhit (g): eriydigan kraxmal— 10,0; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-2,0; K<sub>2</sub>PHO<sub>4</sub>— 1,0; MgSO<sub>4</sub>-7H<sub>2</sub>O — 1,0; NaCl — 1,0; CaCO<sub>3</sub> — 3,0; agar — 15; suv — 1000 ml.

Chapeka muhiti (g): saxaroza — 30,0 yoki glyukoza — 20,0; NaNO<sub>3</sub>— 2,0; K<sub>2</sub>PHO<sub>4</sub> — 1,0; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,5; KS1 — 0,5; FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,1; distillirlangan suv — 1000 ml.

BSA muhiti (bul’on—suslo—agar). GPB va 6 °B susloni teng hajmlari bilan aralashtiriladi va 2 g/l agar qo’shiladi.

Vitaminlar va u yoki bu termolabil omillarga qarab 1,0 yoki 0,5 atm sterilizatsiya qilinadi.

Saxarolitik klostridiyalalar uchun oziqa muhitlar

Bo’r bilan kartoshkali muhit (g): glyukoza — 10,0; pepton — 10,0; K<sub>2</sub>PHO<sub>4</sub> — 1,0; SaSO<sub>3</sub> — 3,0—5,0; suv — 1000 ml.

Sut achituvchi bakteriyalar uchun oziqa muhitlar.

MRS muhiti (g): kazein gidrolizati — 10,0; go’sht ekstrakti — 10,0; drojali ekstrakt — 5,0; glyukoza — 20,0; natriy atsetati — 5,0; ammoniy sitrati (двузамещённый) — 2,0; tvin-80 — 1,0; K<sub>2</sub>PHO<sub>4</sub> — 2,0; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,2; MnSO<sub>4</sub> x 4H<sub>2</sub>O — 0,05; distillirlangan suv — 1000 ml.

Saprofit mikobakteriya va nokardiyalar uchun oziqa muhiti

Sulili agar (ISP — 3) (g): suli uni (yoki xlop’ya) — 20,0; agar — 3,0 g.

Aktinomitsetlar uchun oziqa muhitlar

Sulili agar (ISP — 3) (g): suli uni (yoki xlop’ya) — 20,0; agar — 20,0—25,0; distillirlangan suv — 1000 ml; tuzlar — FeSO<sub>4</sub> — 0,1; MnSl<sub>3</sub> — 0,1; ZnSO<sub>4</sub> — 0,1. Distirlangan suv va tuzlar o’rniga vodoprovod suv ishlatish mumkin.

Sintetik va yarimsintetik aktinomitsetlar uchun oziqa muhiti.

Gauze № 2 muhiti (g): tripton — 2,5 yoki Xottinger bul'oni — 30 ml; pepton — 5,0; NaCl — 5,0; glyukoza — 10,0; suv — 1000 ml; pH — 7,0—7,4.

Sellyuloza parchalovchi bakteriyalar uchun oziqa muhiti

Aerob bakteriyalar uchun Xetchinson va Kleyton muhiti (g), selluloza — filtr qog'ozi bo'lakchalari; NaNO<sub>3</sub> — 2,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 1,0; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,3; NaCl — 0,1; CaCl<sub>2</sub> x 4H<sub>2</sub>O — 0,1; FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O — 0,01; distillirlangan suv — 1000 ml.

Anaerob bakteriyalar uchun Imshenetskiy muhiti (g): filtr qog'ozi — 15,0; NaNH<sub>4</sub>HPO<sub>4</sub> — 1,5; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 0,5; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 0,5; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,4; NaCl — 0,1; pepton — 5,0; MnSO<sub>4</sub> x 4H<sub>2</sub>O — 0,1; FeSO<sub>4</sub> — 0,1; CaSO<sub>3</sub> — 2,0; distillirlangan suv — 1000 ml; pH 7,0—7,4.

Azotofiksatorlar uchun oziqa muhiti

Eshbi muhiti (g): saxaroza yoki mannit — 20,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 0,2; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,2; NaCl — 0,2; FeSO<sub>4</sub> — 0,1; CaSO<sub>3</sub> — 5,0; distillirlangan suv — 1000 ml. Anaerob azotfiksator Clostridium avlodiga mansub bakteriyalar uchun Vinogradskiy muhiti (g): glyukoza — 20,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 1,0; MgSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O — 0,5; CaSO<sub>3</sub> — 20,0; NaCl, MnSO<sub>4</sub>, FeSO<sub>4</sub> — 0,1; distillirlangan suv — 1000 ml.

Azotofiksatorlar ajratish uchun Fedorov muhiti Kalininskayani modifikatsiyasi (g): glyukoza — 10,0—15,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 1,74; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 0,91; MgSO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O — 0,3; CaCl<sub>2</sub> x 6H<sub>2</sub>O — 0,1; NaCl — 0,5; FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O — 0,01; drojali ekstrakt — 0,015; Fedorov mikroelementlar — 1 ml; distillirlangan suv — 1000 ml.

Tuganak bakteriyalar uchun Loviyali agar (g): loviyali bul'on — 1000 ml; saxaroza — 2,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,0; MgSO<sub>4</sub> x H<sub>2</sub>O — 0,3; agar — 15; pH 7,0-7,2.

To'ganak bakteriyalar uchun Mannit-drojali muhit (g): mannit — 10,0; drojali ekstrakt — 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 0,5; MgSO<sub>4</sub>-7H<sub>2</sub>O — 0,2; NaCl — 0,1—0,2; FeCb-6H<sub>2</sub>O — 0,002; agar — 15,0; distillirlangan suv — 1000 ml; pH 6,8-7,0.

Achitqilar uchun oziqa muhiti

Saburo muhiti (g): glyukoza — 40; pepton — 10; agar — 20; suv — 1000 ml.



Glyukoza-ammoniy muhiti (g): glyukoza — 20,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  — 5,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,85;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 0,15;  $\text{MgSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$  — 0,5;  $\text{NaCl}$  — 0,1;  $\text{CaCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,1; distillirlangan suv — 1000 ml.

Alohida sterillanadi va muhitga ekish oldidan qo'shiladi.

Oxirgi 2 ta muhitga ularni o'sish faktorlari bilan boyitish uchun ba'zida achitqi yoki go'shtli ekstrakt qo'shiladi, 1 litr muxitga 2-5 gr miqdorda.

## **BO'YOQLAR, INDIKATORLAR VA ERITMALAR**

### **RETSEPTLARI**

Fuksin asosiy, to'yingan spirtli eritma

Fuksin asosiy—10 g; etanol — 96 % li—100 ml.

Fuksin asosiy karbolli (Sil fuksini)

Yangi tayyorlagan fenolning 5 % li suvli eritmasi — 100 ml; asosiy fuksinning to'yingan, spirtli eritmasi —10 ml. Tayyorlangan aralashma 48 soatdan so'ng filtrlanadi. Bo'yoq turg'unligi bilan farqlanadi.

Asosiy fuksin, suvli eritma

Tsil'ning karbolli fuksini— 1 ml; distillangan suv — 9 ml. Fuksinning suvli eritmasini bevosita ish boshlash vaqtida tayyorlanadi, chunki u turg'un emas.

Metil ko'ki, to'yingan eritma

Metil ko'ki— 3 g.; 90 % li etanol — 100 ml. Eritma 2—3 kundavomida saqlanadi, bir necha marta aralastirib turiladi, keyin filtdan o'tkaziladi. Eritma turg'un.

Metil ko'ki 1:40

Metil ko'kining spirtli to'yingan eritmasi — 1 ml; distil. suv — 40 ml.

Metil ko'ki ( Leffler bo'yicha)

Metil ko'kining spirtli to'yingan eritmasi— 30 ml; distil.suv — 100 ml; KON, 1 % li suvli eritmasi — 1 ml.

Binafsha rangli karbolli genetsian

1-eritma. Binafsha rangli genetsian — 1 g; etanol 96 % li—10 ml. 2-eritma. Yangi haydalgan fenolning 5 % suvli eritmasi — 100 ml. Binafsha

rangli genetsianli eritma to'liq erib bo'lgandan so'ng eritmalar aralashiriladi.

Kristallsimon binafsha rangli, suvli eritma

Kristallsimon binafsha rangli — 20 mg; distill.suv — 100 ml.

Karbolli eritrozin

Eritrozin — 3 g; distillangan suv — 100 ml; yangi haydalgan fenol — 5 g. Eritrozin va fenol to'liq erigandan so'ng aralashmalar tindiriladi.

Safranin, suvli eritma

96 % li etanoldagi 2,5% li safranin eritmasi-1.0ml; distill.suv-100 ml.

Hivchinlarni bo'yash uchun reaktivlar

Protrava. 12 g tannin isitib turilib 48 ml distillirlangan suvda eritiladi, eritmaga 30 ml temir kuporosining (FeSCu) to'yinmagan suvli eritmasi va 6 ml fuksinning to'yingan spirtli eritmasi qo'shiladi. Eritma filtrlanadi va zich yopiladigan qopqoqli bankada saqlanadi. Protrava tayyorlangandan keyingi bir necha kunda tayyor bo'ladi va bir necha oy davomida saqlanishi mumkin.

Bo'yoq 1:1 nisbatdagi silning karbolli fuksini va distill.suv .

Protrava va Sil'ning karbolli fuksini avaldan tayyorlanadi. Suyultirilgan fuksini esa ishlatish oldidan tayyorlanadi. Ish boshlashdan avval protrava va suyultirilgan fuksinni burmali qog'oz filtrdan o'tkazib olish zarur, chunki bo'yoqlar saqlanayotgan idish devorida ozgina miqdordagi oqsil to'planganida hosil bo'lgan bo'yoqlarning cho'kmalari ob'ektni ko'rayotganda uning bo'yalishiga halaqit berishi mumkin.

Fontan usuli yordamida hivchinlarni bo'yash uchun qo'llaniladigan reaktivlar

Protrava: tannin — 5 g; kristallik fenol — 1 g; distill.suv — 100 ml.

Kumushlashtirish uchun reaktivlar: nordon azotli kumush — 5 g; distill.suv — 100 ml.

Kumush eritmasini filtrlamasdan tayyorlash va qoramtir ishlashda saqlash lozim. Nordon azotli kumushning 5 % li eritmasining 3—4 ml ga eritma loyqalashishi va cho'kma hosil bo'lgunicha, keyin esa ehtiyotlik bilan cho'kma erigunicha ammiakning eritmasi tomchilatib solinadi. Shundan so'ng yana kumush eritmasidan yengil opalestsentsiya hosil bo'lgunicha qo'shiladi. Hosil bo'lgan ammiakli kumush eritmasi distill. suv bilan 10marta suyultiriladi.

Qora anilin.

Qora anilin— 1,5 g; etanol 96 % li — 50 ml; 80 % li uksus kislotasi— 10 ml; distill.suv — 40 ml. Moddalar eriganidan so'ng bo'yoq fil'trlanadi va 3kundan so'ng uni ishlatish mumkin bo'ladi.

Lipidlarni aniqlash uchun bo'yoqlar:

Sudan III — 0,5 g; konsentrlangan sut kislotasi — 100 ml.

Qora Sudan V — 0,3 g; 70 % li issiq etil spirti— 100 ml. Eritma bir necha saot davomida +60 °C tiqinli idishda saqlanadi, keyin sovutiladi va filtrlanadi.

Yashil malaxit, suvli eritmasi

Yashil malaxit — 7,5 g; distill.suv — 100 ml.

Gram modifikatsiyasi bo'yicha Lyugol' eritmasi

Kristallik yod — 1 g; yodli kaliy — 2 g; distill.suv — 300 ml.

30—50 ml sig'imli xovonchaga yod va kaliy i yod solinadi, aralashma pestik bilan aralastiriladi, 1 ml distillangan suv qo'shiladi va yana kristallar yaxshilab aralastiriladi, yana 5 ml distillangan suv qo'shiladi. Yod kaliy yodda eriydi. Eritma shisha idishga solinadi va 300 mlga etguncha suv qo'shiladi. Eritma qora idishda 30 kun davomida saqlanishi mumkin.

Glikogen va granulezani aniqlash uchun eritma

Kristallik yod— 1 g; kaliy yod — 3 g; distillangan suv — 300 ml. Eritma avvalgidagidek tayyorlnadi.

Negativ kontrastlash uchun tushni tayyorlash

Qora tush — 10 ml; distillangan suv — 30 ml.

Suyultirilgan tush sentrifugalanadi, cho'kma usti suyuqligi probirkalarga solinadi va 0,5 atm-da sterilizatsiyalanadi. Tushga 1:2 nisbatda timersol eritmasidan qo'shib (1:1 000) va tvin-80 (1:100) — 100 ml 1tomchi solib saqlash mumkin.

Fiksirlovchi suyuqliklar

96 % li etil spirti; fiksatsiya vaqti — 10—15 min.

Metil spirti, suvsiz; fiksatsiya vaqti— 3—5 min.

Nikiforov aralashmasi; teng miqdordagi etil spirti va oltingugurt efiri, fiksatsiya vaqti — 5—10 min.

Spirtoformol — 40 % li formalin — 5 ml; 96 % li etil spirti — 95 ml; fiksatsiya vaqti — 5—15 min.

Osmiy kislotasining 1—2 % li suvli eritmasi; parda 3—5 min fiksatsiyalanadi. Osmiy kislotasining eritmasi zich probkali qoramtir idishda saqlanadi. Ishlash davomida ehtiyotkor bo'lish kerak, chunki osmiyning poralari ko'zni shikastlashi mumkin.

40 % li formalin, parada bir necha sekund fiksatsiyalanadi.

Karnua fiksatori: 96 % li spirt — 60 ml, xloroform — 30 ml, konts. (ledyanaya) uksus kislotasi — 10 ml; fiksatsiya vaqti— 15 min.

Ruge suyuqligi: 40 % li formalin — 20 ml, konts. uksus kislota — 1 ml, distill. suv — 1000 ml; fiksatsiya vaqti — 5 min. Noaniq tarkibli suyuq muhitda o'stirilgan hujayralarni fiksatsiya qilishda qo'llash tavsiya qilinadi.

9. Fosfornolibden kislota, 5%-li suvli eritma; fiksatsiya vaqti — 5 min.

Fiziologik eritma

NaCl ning 0,85 % li eritmasi distillangan suvda tayyorlanadi. Zarur bo'lganda 1 atm 30 min sterillanadi.

Preparatlar tayyorlash uchun buyum va qoplagich oynalarni tayyorlash.

Buyuma va qoplagich oynalarni yuzasidan suv tomchilari butun yuza bo'ylab o'tgan holatlarda toza hisoblanadi. Yangi oynachalar, odatda sodaning 1%-eritmasida qaynatiladi, keyin distillangan suvda yuviladi, keyin solyanoy kislotaning kuchsiz eritmasi bilan va yana distil.suv bilan yuviladi. Ishlatilgan oynachalar sovunli eritmada qaynatiladi, keyin 1kun davomida xrom aralashmasiga solib qo'yiladi. Bixromatni yuvib tashlash uchun bir necha qayta-qayta vodoprovod suvida, keyin distil.suvda yuviladi. Toza yuvilgan oynachalar qopqog'i zich yopiladigan idishlarda 96°-li etanolda saqlanadi.

Buyum oynalariga Sitnov bo'yicha ishlov berish.

Oynachalar 10 daqiqa davomida quyidagi eritmada qaynatiladi: kaliy bixromati — 20 g; distillangan suv — 200 ml; kontsentrlangan sulfat kislota — 20 ml.

5 daqiqa davomida ishqoriy natriy kuchsiz eritmasi bilan yuviladi. Suv bilan yaxshilab yuviladi, keyin spirtida yuviladi.

Oldindan tayyorlanib qo'yilgan yog'sizlantirilgan oynachalar qolmaganida, oynachalarni quruqligicha ho'jalik sovinida artib, keyin toza paxta qog'ozli mato bilan artib tayyorlanadi.

Idishlarni yuvish uchun vosita

Xrom aralashmasi. 1. Kentsentrlangan sernuyu kislotaga 5 % atrofida poroshok holiga keltirilgan kristallsimon nordon kaliy bixromat ( $K_2Cr_2O_7$ ) qo'shiladi va uni ehtiyotlik bilan farforli idishda suv hammomida erigunicha istiladi.

2. Kaliy bixromat suvda eritiladi, keyin eritmaga ehtiyotlik bilan sulfat kislota qo'shiladi. Aralashmani quyidagidan kelib chiqib tayyorlanadi: suv — 100 ml; ikkixromnordon kaliy — 6 g; sernaya kislota — 100 ml.

Ko'p marotaba ishlatilgandan keyin xromli aralashmaning to'q sarg'ish rangi to'q yashilrangga aylanadi. Bunday aralashma yuvish xususiyatiga ega bo'lmaydi.. Xromli aralashma bilan parafin, kerosin, mineral yog'lar va neftni qayta ishlash boshqa mahsulotlari bilan ifloslangan idishlarni yuvish yaramaydi.

Xromli aralashma hayvon va o'simlik tabiatli to'qimalarni parchalaydi, Shu sababli bunday holatlarda o'ta ehtiyotkor bo'lish kerak. Xromli aralashma qo'lga yoki kiyimlarga tegib ketganida, Shu joyni darhol ko'p miqdordagi suvda yaxshilab yuvib tashlab, keyin ammiakning suyultirilgan eritmasi, soda yoki yana suv bilan yaxshilab yuvib tashlash kerak.

KON Spirtli eritmasi— bu ham yaxshi yuvish vositasi. Uni 40—50 g KON ni 500 ml suvda eritib tayyorlanadi. Eritma sovigandan so'ng unga umumiy sig'im 1litrni tashkil etgunicha bo'lgan miqdorda spirt-sirets qo'shib tayyorlanadi.

### **Materiallar va asboblari:**

Avtoklav.

60 °C li termostat.

Quruq havoli quritish shkafi.

Svetopol mikroskop, yoritish uchun lampalar.

Fazovo-kontrastli mikroskop.

Kameralli mikroskop

Laminar boks.

Muzlatkich.

Muhitlarni qaynatish va quyish apparati.

Mikropipetkalar (turli o'lchamli).

Harorati nazorat qilinadigan tebratgich, suv hammomi, texnokimyoviy torozi va toshlari.

Muhitlarni eritish uchun mikroto'lqinli pech.

Distillyator, bidistillyator.

Buyum oynalari, maxsus botiqlikli buyum oynalari, qoplagich oynalar, shisha tayoqchalar.

Spirtovkalar, preparal ignalar, steril pipetki, Petri likopchalari, kimyoviy stakanlar, steklograflar, shisha shtativli kristallizatorlar, steril probirkalar, 50, 100, 200, 400, 500, 1000 ml li kolbalar.

Benzin, distillangan suv, filtr qog'ozlari, doka,

No'xat, pichan tayoqchasi, go'ng, achitqilar eritmalari.

Bo'yoqlar: asosiy fuksin, metil ko'ki, lyugol eritmasi, gensianviolet, qora tush, sudan-3, yodning kontsentrangan eritmasi, formalinning 40 % va 1 % eritmalari, 1 n r-r NSI, 5 % r-r xrom kislotasi, 1% r-r  $N_2SO_4$ , karbolli fuksin.

19. Muhitlar: yarimsintetik GPA, PA, ENDO, MPB, PB, Eshbi agar, Eshbi, Getchenson, Vinogradskiy, Rushman, Gil'tay.

## Glossary

<b>Agar-agar</b>	Qattiq ozuqaviy muhitni tayyorlash uchun ishlatiladigan dengiz suvo'tlaridan olinadigan (polisaxarid) mahsulot.
<b>Adyuvant</b>	Immunitet reaksiyasini kuchaytiradigan yordamchi modda.
<b>Agglyutinatsiya</b>	Elektrolitlar mavjudligida hujayralarni (mikroorganizmlar, qizil qon tanachalari, oq qon hujayralari va boshqalar) o'ziga xos antitanalar bilan bog'lash.
<b>Adaptasiya</b>	Mikroorganizmlarning belgilari yoki xususiyatlarining o'zgarishi bilan namoyon bo'ladigan atrof-muhitdagi o'zgarishlarga moslashuvchan reaksiya.
<b>Allergenlar</b>	Yuqori sezuvchanlik reaksiyasini (allergiya) keltirib chiqaradigan antigen tabiatli moddalar (to'liq antigenlar yoki gaptenlar).
<b>Allergiya</b>	Allergenlar bilan qayta aloqa natijasida paydo bo'ladigan immunoglobulinlar yoki T-limfotsitlarning to'planishi natijasida kelib chiqadigan immun javob shakli.
<b>Ammonifikatsiya</b>	Azot o'z tutuvchi tirik organizm qoldiq moddalarini (oqsillarni) parchalanishi natijasida ammiak va uning tuzlari mikroorganizmlar fermenti ta'sirida chiqarilishi bilan ketadigan tabiatda azot aylanishining bosqichlaridan biri.
<b>Anatoksinlar</b>	Formalin bilan neytrallangan (3-4 hafta davomida 37-40°C haroratda) mikroorganizmlar toksinlari, ammo antigenlik va immunogenlikni saqlab qolgan mikrobial toksinlar, faol immunoprofilaktika uchun ishlatiladi.
<b>Anafilaksiya</b>	Maxsus antitanalar - reaginlar (E sinfidagi immunoglobulinlar) tufayli kelib chiqadigan tezkor turdagi allergiya.
<b>Anaeroblar</b>	Havoda erkin molekulyar kislorod mavjud sharoitda, ozuqa moddalarining parchalanishi natijasida energiya oladigan mikroorganizmlar.
<b>Anaerostat</b>	Anaerob mikroorganizmlarni o'stirish uchun qurilma.
<b>Anergiya</b>	Antigenga immun javobning mavjud kuzatilmasligi.

<b>Antibiotiklar</b>	Tabiiy, yarim sintetik yoki sintetik kelib chiqadigan kimyoviy terapevtik moddalar, ular mikroorganizmlarning o'sishi va ko'payishini oldini oladi yoki ularning o'limiga olib keladi.
<b>Antigenlar</b>	Organizmga tushgandan so'ng immun javobning rivojlanishiga hamda antitanalar ishlab chiqarilish olib keluvchi begona genetik moddalar hisoblanadi.
<b>Antiseptika</b>	Turli xil usullar bilan infeksiyaga qarshi kurash.
<b>Antitana</b>	Antigenning ta'siriga javoban tananing immunitet tizimining hujayralari tomonidan ishlab chiqarilgan globulin zardob oqsillari hisoblanadi.
<b>Antitoksinlar</b>	Mikrobial toksinlariga qarshi ishlab chiqarilgan antitanalar.
<b>Apaptoz</b>	Hujayralar o'limining dasturlashtirilgan biologik mexanizmi.
<b>Aseptika</b>	Tibbiy manipulyatsiyalar paytida bemorning organlari va to'qimalariga mikroblarning kirib borishini oldini olishga qaratilgan profilaktika choralari tizimi.
<b>Attenuasiya</b>	Patogen mikroorganizmlarning shtammlarining virulentligini turli yo'llar bilan kamaytirish vaktsinalarni ishlab chiqarishda qo'llaniladi.
<b>Auksotrof</b>	Har qanday fermentni sintez qilish qobiliyatini yo'qotgan va ba'zi moddalarni ozuqaviy muhitga kiritishni talab qiladigan bakteriya, u o'zi sintez qila olmaydi.
<b>Autovaksina</b>	Bemorning tanasidan ajratilgan mikroorganizmlarning shtammlaridan tayyorlangan, davolash uchun ishlatiladigan antigen preparat.
<b>Autoinfeksiya</b>	Kasallik keltirib chiqaruvchi bemor mikroflorasiga xos bo'lgan infeksiya.
<b>Autotrof</b>	Tabiiy organik bo'lmagan moddalardan (atmosfera-dagi karbonat angidrid, molekulyar azot, ammoniy tuzlari, nitratlar, nitritlar va boshqalar) o'z hujayrasining organik birikmalarini qurish uchun uglerod va azot manbai sifatida ishlatadigan bakteriya.
<b>Affinlik</b>	Antigen va antitana o'rtasidagi aloqaning mustahkamligi.
<b>Aeroblar</b>	Havoda erkin molekulyar kislorod yordamida energiya oladigan mikroorganizmlar.
<b>Bakteriemiya</b>	Qonda mikroorganizmlarning mavjudligi.



<b>Bakteriya tashuvchi</b>	Infeksiyaning klinik ko'rinishlari va organlar va to'qimalarda patologik o'zgarishlar yo'qligi fonida patogen mikroblar topilgan organizm.
<b>Bakteriyafag</b>	Bakteriya virusi.
<b>Bakteriasid ta'sir</b>	Mikroorganizmlarning o'limiga olib keladigan turli xil omillarning ta'sir xili
<b>Vaksinatsiya</b>	Sun'iy faol immunitetni hosil qilish uchun vaksinani yuborish jarayoni.
<b>Tur</b>	Mikroorganizmlar sistematikasidagi taksonomik kategoriya
<b>Viroid</b>	Oqsil qobig'isiz va RNK molekulasidan iborat yuqumli agentlar.
<b>Virulentlik</b>	Daraja, bakteriyalar patogenligini o'lchovi. Virulentlikning miqdoriy ifodasi: o'md - minimal o'lim dozasi, ld50 - letal 50%.
<b>Gaptan</b>	Antitana ishlab chiqarilishiga olib kelmaydigan, ammo tayyor antitanalar bilan reaksiyaga kirishadigan to'liq bo'lmagan antigen.
<b>Gemaagglutinasiya</b>	Qizil qon hujayralarini yopishtirish. Qizil qon hujayralari va ba'zi mikroorganizmlarning (shu jumladan viruslarning) o'zaro ta'sirida to'g'ridan-to'g'ri (serologik bo'lmagan) reaksiyalar, shuningdek qizil qon hujayralarining o'zaro ta'sirida bilvosita (passiv) serologik reaksiya mavjud bo'lib, ularning yuzasida antitanalar yoki antigenlar adsorbsiyalangan, mos ravishda antigelar yoki antitanalar molekulari mavjud.
<b>Gemokultura</b>	Qondan ajratilgan mikroorganizmlar kulturasi.
<b>Gemoliz</b>	Qizil qon hujayralarini yo'q qilish (liziz).
<b>Gen</b>	belgilarning nasldan naslga o'tishini ta'minlaydigan DNKning eng kichik qismi (irsiyat birligi).
<b>Genom</b>	hujayra barcha genlarining yig'indisi.
<b>Genetik rekombinasiya</b>	(Transformatsiya, transduksiya, konyugatsiya) – ikkita organizm genetik materiallarining qo'shilishidan yangi genomning paydo bo'lish jarayoni hisoblanadi.
<b>Geterotroflar</b>	Uglerod yoki azot manbai sifatida organik birikmalarni ishlatadigan bakteriya turlari.
<b>Gipersezgirlik</b>	Antigenlarga (allergenlarga) yuqori sezuvchanlik.

<b>Dizinfeksiya</b>	Atrof-muhit ob'ektlaridagi patogen mikroorganizmlarni turli usullar bilan yo'q qilish.
<b>Disbakterioz</b>	Normal mikrofloraga kiruvchi bir mikroorganizm biotopining miqdor va sifatining o'zgarishi tufayli kelib chiqadigan holat.
<b>Immunitet</b>	Ko'p hujayrali organizmning genetik yot bo'lgan agentlardan himoyalalanish mexanizmi.
<b>Immun kompleks</b>	Antigen-antitana kompleksi.
<b>Invazivlik</b>	Patogen mikroorganizmlarning organizmga kirib borishini va tarqalishini ta'minlaydigan patogenlik omili.
<b>Interleykin</b>	Sitokinlar guruhi.
<b>Interferonlar</b>	Organizmning hujayra ichidagi himoyasini ta'minlovchi sitokinlar. Eng muhim antiviral mudofa tizimi.
<b>Infeksiya o'chog'i</b>	Kasallikning qo'zg'atuvchi manbai (yuqtirgan odam, hayvon yoki o'simlik).
<b>Klon</b>	Bitta hujayradan hosil bo'lgan nasl.
<b>kommensalizm</b>	Mikroorganizmlarning birgalikda hayot kechirish shakli bo'lib, unda bir tur ikkinchi turga zarar yetkazmagan holda foydalanadi.
<b>Komplement</b>	Makroorganizmni spetsifik bo'lmagan himoya qilish reaksiyalarida ishtirok etadigan zardob oqsillar guruhi
<b>Lizogeneya</b>	Bakteriofag nuklein kislotasining bakterial genomga qo'shilishi.
<b>Lizosoma</b>	Hujayra ichidagi ovqat hazm qilish funksiyalarini bajaradigan eukariotik hujayralar organellari. Fagositoz jarayonida faol ishtirok etadi.
<b>Lizosim</b>	Hujayra devoridagi petidoglikanning parchalashiga olib keluvchi ferment.
<b>Lipopolisaxaridlar</b>	Grammusbat bakteriyalarning tashqi membranasini tashkil etuvchi moddalar. Ular yuqori toksiklikka ega (lipid a tufayli) va antigenik xususiyatlarga ega (o-antigeni).
<b>L-formali bakteriyalar</b>	Ma'lum omillar (antibiotiklar, antikorlar, tuzlar va boshqalar) ta'sir qilish natijasida qisman yoki to'liq hujayra devoridan mahrum bo'lgan bakteriyalar.
<b>Mezasoma</b>	Sitoplazmatik membranani sitoplazmaga invaginatsiyasi natijasida hosil bo'lgan prokaryotlarning energiya saqlovchi organoidi

	tuzilishi. Hujayralardagi metabolik jarayonlarda ishtirok eting.
<b>Mezofil mikroorganizmlar</b>	Optimal o'sish darajasi 35-37°C bo'lgan mikroorganizmlar.
<b>Metobioz</b>	Bir tur boshqa turning (aeroblar - anaeroblar) hayoti uchun qulay sharoit yaratadigan mikroorganizmlar o'rtasidagi o'zaro bog'liqlik munosabat turi.
<b>Mikroorganizmlar metabolizmi</b>	Mikrobial metabolizm.
<b>Mikoz</b>	Patogen zamburug'lar keltirib chiqaradigan kasalliklar.
<b>Mikoplazma</b>	Qattiq hujayrali devorga ega bo'lmagan gram-manfiy mikroorganizmlar.
<b>Mikroaerofillar</b>	Oz miqdordagi molekulyar kislorodga muhtoj mikroorganizmlar.
<b>Normal mikroflora</b>	Organizmning organlari va to'qimalarida yashaydigan mikrobial jamoalar (biotoplar).
<b>Mitseley</b>	Zamburug'lar hujayra iplari.
<b>Mutagen agentlar</b>	Mikroorganizmlarda mutatsiyalarni keltirib chiqaradigan fizik, kimyoviy yoki biologik tabiat omillari.
<b>Mutant</b>	Mutatsiyalar natijasida xususiyatlari ota-onadan farq qiladigan mikroorganizm.
<b>Mutualizm</b>	O'zaro foydali simbioz munosabat.
<b>H-antigen</b>	Bakteriyalarning oqsil tabiatli xivchinsimon antigeni.
<b>Nitrifikatsiya</b>	Aerob sharoitida ammiakning nitrit va nitratlarga oksidlanish jarayoni.
<b>O-antigen</b>	Hujayra devorida, sitoplazma va membranalarda lokalizatsiya qilgan bakterianing somatik antigeni.
<b>Opportunist mikroblar</b>	Shartli-patogen mikroorganizmlar.
<b>Parazitizm</b>	Bir mikroorganizm (parazit) boshqasi hisobiga yashab, unga zarar etkazadigan o'ziga xos munosabatlar shakli.
<b>Pasterizatsiya</b>	Sterilizatsiya usullaridan biri.
<b>Patogenlik</b>	Mikroorganizmning yuqumlilik jarayonni keltirib chiqarishi mumkin bo'lgan qobiliyati.

<b>Pili</b>	Mikroorganizm hujayrasining boshqa hujayra yoki substratga yopishish hamda jinsiy material almashinuvda foydalaniladigan pilin oqsilidan iborat bo'lgan tashqi organoidi.
<b>Plazmida</b>	Mikroorganizm dnksining avtonom holatda ko'paya oladigan bir bo'lagi.
<b>Prionlar</b>	Oqsil tabiatidagi yuqumli moddalar, ba'zi sekin infeksiyalarning qo'zg'atuvchisi.
<b>Prototroflar</b>	Mustaqil ravishda zarur bo'lgan barcha organik birikmalarni sintez qilishga qodir mikroorganizmlar.
<b>Profag</b>	Bakterial hujayraning xromosomasi bilan bog'liq bo'lgan o'lgan fag nuklein kislotasi.
<b>Psixrofil mikroorganizmlar</b>	Optimal o'sish harorati 10-150 C bo'lgan mikroorganizmlar.
<b>Reaktigenlik</b>	Emlash reaksiyalari va emlashdan keyingi asoratlarni keltirib chiqaradigan vaksina shtammlarining xususiyati.
<b>Revaksinasiya</b>	Vaktsinani takroriy yuborish.
<b>Remissiya</b>	Infeksion kasallikning organizmdagi yashirin bosqichi.
<b>Resisiv</b>	Remissiyadan keyin kasallik alomatlarini qaytarish.
<b>Saprofitlar</b>	O'lik organik moddalar bilan oziqlanadigan mikroorganizmlar.
<b>Sattelitizm</b>	Turli xil turlari bir-biriga zarar bermasdan birga yashaydigan mikroorganizmlar o'rtasidagi o'zaro bog'liqlik turi. Bunday holda, mikrob-yo'ldoshlar egasiga yaqin bo'lib, ularning o'sishini yaxshilaydi.
<b>Simbioz</b>	Jamoa a'zolari o'zaro foyda keltiradigan o'ziga xos munosabatlar.
<b>Sinergizm</b>	Mikroblar birlashmasida mavjud bo'lgan har xil turdagi mikroorganizmlarning fiziologik funksiyalarini kuchaytirish.
<b>Sterelizasiya</b>	Mikroorganizmlarning vegetativ va spora shakllarini to'liq yo'q qilish jarayoni.
<b>Superinfeksiya</b>	Bemorning patogenning bir xil turi bilan tuzalmagan infeksiya fonida takroriy kasallanishi.
<b>Immun zardoblar</b>	Turli antigenlarga ega hayvonlarni turli xil antigenlar bilan giperimmunizatsiya qilish natijasida hosil qilingan hamda qon zardobidan olingan preparatlar.

<b>Sivorotka kasalligi</b>	Allergik reaksiyaning bir shakli.
<b>Taksis</b>	Ma'lum moddalar ta'sirida bakteriyalarning yo'naltirilgan harakati.
<b>Termostat</b>	Ma'lum bir doimiy haroratni ushlab turadigan mikroorganizmlarni o'stirish uchun ishlatiladigan apparatlar.
<b>Termofil mikroorganizmlar</b>	Optimal o'sish harorati 45° C va undan yuqori bo'lgan bakteriyalar.
<b>Tindalizatsiya</b>	Oqsillarni o'z ichiga olgan muhitni yumshoq sterilizatsiya qilish usuli.
<b>Toksemiya toksigenlik</b>	Qonda mikrobia toksinlarning mavjudligi. Mikroorganizmlarning ekzotoksin ishlab chiqarish qobiliyati.
<b>Immunologik tollerantlik</b>	Ma'lum antigenlarga nisbatan areaktivlik holati (immun tizimining reaksiyasi yo'qligi).
<b>Tropizm</b>	Patogen mikroorganizmlarning ma'lum organizmlarni, organlarni yoki to'qimalarni kolonizatsiya qilish va yuqtirish uchun tanlab olinadigan xususiyati.
<b>Fag konversiyasi</b>	Profilaktika yordamida hujayraning lizogenlashishi natijasida mikroorganizmlar xususiyatlarining o'zgarishi.
<b>Fagositoz</b>	Eukaryotik hujayra tomonidan begona agentlarni adsorbsiya qilish, ushlab, yutish va yo'q qilish jarayoni.
<b>Fitopatogen mikroblar</b>	O'simliklarda yuqumli kasalliklarini keltirib chiqaradigan mikroorganizm turlari.
<b>xronik infeksiya</b>	Uzoq davom etadigan yuqumli kasallik.
<b>Sitokinlar</b>	Immun reaksiyalarda hujayralararo aloqalarni tartibga solishda ishtirok etadigan oqsil molekulalari.
<b>Toza kultura</b>	Bir turdagi mikroblardan hosil bo'lgan kultura.
<b>Shtamm</b>	Ma'lum bir manbadan ajratilgan mikroorganizmning sof kulturasi.
<b>Ekzotoksinlar</b>	Mikroorganizmlar tomonidan ishlab chiqarilgan va atrof-muhitga chiqariladigan oqsil moddasi.
<b>Endotoksinlar</b>	Hujayra nobud bo'lganidan va yo'q qilinganidan keyin chiqarilgan grammanfiy mikroorganizmlarning lipopolisaxaridli toksik moddasi (LPS).

<b>Epitop</b>	Antigenning bog'langan faol markazi yoki T-hujayrali retseptorlari bilan o'zaro aloqada bo'lgan antigen sayti.
<b>Epifitlar</b>	O'simlikning yer ustki qismlarida doimiy yashaydigan mikroorganizmlar.
<b>Eubioz</b>	Sog'lom odam tanasining biotoplarida yashaydigan mikroorganizmlarning (mikrobiosenozlarning) yig'indisi.

## MUNDARIJA:

Kirish.....	3-4
<b>1-qism. Mikroorganizmlarning umumiy tavsifi.....</b>	<b>5-8</b>
1.1. Prokariotlar.....	5-6
1.2. Eukariotlar.....	6
1.3. Mikroorganizmlarning tashqi muhitda tarqalishi va ularga muhit omillarining ta'siri.....	7
<b>2-qism. Mikrobiologiya laboratoriyasi va unda ishlash qoidalari.....</b>	<b>8-100</b>
1-lab. mashg': Mikroorganizmlar bilan ishlashda rioya qilinadigan qoidalar .....	8-13
2-lab.mashg': Mikrobiologik tadqiqotlar uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalar .....	13-18
3-lab.mashg': Ozuqa muhirlari va idishlarni sterillash usullari bilan tanishish.....	18-24
4-lab.mashg': MBR-1 mikroskopining tuzilishini o'rganish..	24-34
5-lab.mashg': Mikroorganizmlarning tirik preparatini tayyorlash va mikroskopda kuzatish.....	34-37
6-lab.mashg': Fiksirlangan bo'yalgan preparat tayyorlash....	37-40
7-lab.mashg': Pichan batsillasining elektiv kul'turasini tayyorlash va mikroskopda kuzatish.....	40-43
8-lab. mashg': Tayoqchasimon bakteriyalarning morfologik tuzilishini o'rganish.....	44-46
9-lab. mashg': Sharsimon bakteriyalarning morfologik tuzilishini o'rganish.....	46-49
10-lab.mashg': Suv mikroflorasini o'rganish.....	50-53
11-lab.mashg': Havo mikroflorasini o'rganish.....	53-57
12-lab.mashg': Mikroorganizmlarini Gram usulida bo'yash orqali identifikatsiya qilish.....	57-59
13-lab.mashg': Tuproq mikroorganizmlarini o'rganish.....	59-64
14-lab.mashg': Mikroorganizmlarni o'stirish uchun ozuqa muhitini tayyorlash.....	64-68
15-lab.mashg': Mikroorganizmlarni o'stirish uchun qattiq ozuqa muhitini tayyorlash.....	68-70
16-lab.mashg': Spirtli bijg'ish jarayoni va unda ishtirok etuvchi mikroorganizmlarni o'rganish.....	70-72

17-lab.mashg’:	Sut kislotali bijg’ish jarayonini qo‘zg’atuvchi tirik organizmlarni aniqlash.....	73-75
18-lab.mashg’:	Moy kislotali bijg’ish jarayonini qo‘zg’atuvchi mikroorganizmlarni aniqlash.....	75-78
19-lab.mashg’:	Sellyulozali bijg’ish jarayonini qo‘zg’atuvchi tirik organizmlarni aniqlash.....	78-80
20-lab.mashg’:	Sirka kislotali bijg’ish jarayonini qo‘zg’atuvchi tirik organizmlarni aniqlash.....	80-82
21-lab.mashg’:	Molekulyar azotni o‘zlashtiruvchi anaerob mikroorganizmlarning elektiv kul’turasini tayyorlash .....	82-84
22-lab.mashg’:	Aerob azotofiksator mikroorganizmlarning elektiv kul’turasini tayyorlash.....	85-86
23-lab.mashg’:	Aerob azotofiksatsiyalaovchi mikroorganizmlarni tuproq bo‘lakchalari usuli yordamida o‘rganish	87-89
24-lab.mashg’:	Simbioz holda hayot kechiruvchi azotofiksator mikroorganizmlarni o‘rganish.....	89-91
25-lab.mashg’:	Nitrifikasiya jarayonini qo‘zg’atuvchi bakteriyalarni aniqlash.....	91-93
26-lab.mashg’:	Denitrifikator mikroorganizmlarni ajratish uchun ozuqa muhiti tayyorlash.....	93-94
27-lab.mashg’:	Denitrifikator mikroorganizmlar elektiv kulturasini mikroskopiya usuli yordamida o‘rganish.....	95-96
28-lab.mashg’:	Odam va hayvonlarda kasallik qo‘zg’atuvchi viruslarni jadvallar va rasmlar asosida o‘rganish.....	96-100
<b>Foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati .....</b>		<b>101-102</b>
<b>Ilovalar.....</b>		<b>103-110</b>
	Mikroorganizmlarni o‘stirish uchun ozuqa muhitlari.....	103-105
	Bo‘yoqlar, indikatorlar va eritmalar.....	105-109
	Materiallar va asboblari.....	109-110
	Glossary.....	111-118



## СОДЕРЖАНИЕ:

Введение.....	3-4
	<b>5-8</b>
<b>1-часть. Общая характеристика микроорганизмов .....</b>	
1.1. Прокариоты.....	5-6
1.2. Эукариоты.....	6
1.3. Распространение микроорганизмов в окружающей среде и влияние на них факторов окружающей среды.....	7
<b>2-часть. Микробиологическая лаборатория и правила работы в ней.....</b>	<b>8-100</b>
1-лаб.занятие: Правила работы с микроорганизмами .....	8-13
2-лаб.занятие: Оборудование для микробиологических исследований.....	13-18
3-лаб.занятие: Ознакомление с питательными средами и методами стерилизации посуды.....	18-24
4-лаб.занятие: Изучение строения микроскопа МБР-1 .....	24-34
5- лаб.занятие: Приготовление живого препарата микроорганизмов и наблюдение под микроскопом.....	34-37
6- лаб.занятие: Приготовление фиксированных и окрашенных препаратов .....	37-40
7- лаб.занятие: Приготовление элективной культуры сенной бациллы и наблюдение под микроскопом .....	40-43
8- лаб.занятие: Изучение морфологического строения палочкообразных бактерий .....	44-46
9- лаб.занятие: Изучение морфологического строения шарообразных бактерий .....	46-49
10-лаб.занятие: Изучение микрофлоры воды .....	50-53
11-лаб.занятие: Изучение микрофлоры воздуха .....	53-57
12-лаб.занятие: Идентификация микроорганизмов окрашиванием по методу Грамма .....	57-59
13-лаб.занятие: Изучение микроорганизмов почвы.....	59-64
14- лаб.занятие: Приготовление питательных сред для роста микроорганизмов.....	64-68

15- лаб.занятие:	Приготовление твердых питательных сред для роста микроорганизмов .....	68-70
16- лаб.занятие:	Изучение процесса спиртового брожения и участвующих в нем микроорганизмов.....	70-72
17- лаб.занятие:	Определение живых организмов возбудителей процесса молочного брожения.....	73-75
18- лаб.занятие:	Определение микроорганизмов возбудителей процесса масляного брожения .....	75-78
19- лаб.занятие:	Определение живых организмов вызывающих процесс брожения целлюлозы.....	78-80
20- лаб.занятие:	Определение живых организмов вызывающих процесс брожения уксусной кислоты.....	80-82
21- лаб.занятие:	Приготовление элективной культуры анаэробных микроорганизмов ассимилирующих молекулярный азот .....	82-84
22- лаб.занятие:	Приготовление элективной культуры микроорганизмов аэробных азотфиксаторов.....	85-86
23- лаб.занятие:	Изучение аэробных азотфиксирующих микроорганизмов методом почвенных частиц.....	87-89
24- лаб.занятие:	Изучение азотфиксирующих микроорганизмов, живущих в симбиозе.....	89-91
25- лаб.занятие:	Определение бактерий вызывающих процесс нитрификации.....	91-93
26- лаб.занятие:	Приготовление питательной среды для отделения микроорганизмов денитрификаторов.....	93-94
27- лаб.занятие:	Изучение методом микроскопии элективной культуры денитрификаторов ....	95-96
28- лаб.занятие:	Изучение вирусов, возбудителей болезней у человека и животных с помощью таблиц и рисунков.....	96-100
	<b>Список использованной литературы .....</b>	<b>101-102</b>
	<b>Приложение.....</b>	<b>103-110</b>

Питательные среды для роста микроорганизмов.....	103-105
Красители, индикаторы, растворители .....	105-109
Материаллы и приборы.....	109-110
Глоссарий.....	111-118

## CONTENTS:

Introduction.....	3-4
Part 1. General description of microorganisms.....	5-8
1.1. Prokaryotes .....	5-6
1.2. Eukaryotes .....	6
1.3. Distribution of microorganisms in the environment and the influence of environmental factors..	7
Part 2. Laboratory of Microbiology and the rules of work in it...	8-100
1-lab. Rules to be followed when working with exercise: microorganisms .....	8-13
2- lab. Equipment for microbiological research .....	13-18
3-lab. Get acquainted with nutrient media and exercise: methods of sterilization of containers .....	18-24
4-lab. Study of the structure of the microscope exercise: MBR-1.....	24-34
5-lab. Preparation of live preparations of exercise: microorganisms and observation under a microscope .....	34-37
6-lab. Preparation of fixed, dyed preparation.....	37-40
7-lab. Preparation of elective culture of Hay bacillus exercise: and microscopic observation .....	40-43
8-lab. To study the morphological structure of rod- exercise: shaped bacteria .....	44-46
9-lab. To study the morphological structure of exercise: spherical bacteria .....	46-49
10-lab. Study of aquatic microflora .....	50-53
11-lab. Study of air microflora .....	53-57
12-lab. Identification of microorganisms by Gram exercise: staining.....	57-59
13-lab. Study of soil microorganisms .....	59-64
14-lab. Preparing the culture medium for the growth exercise: of microorganisms .....	64-68
15-lab. Preparation of solid nutrient medium for the exercise: growth of microorganisms .....	68-70

16-lab.	Study of the process of alcohol fermentation	
exercise:	and the microorganisms involved by it .....	70-72
17-lab.	identification of organisms that stimulants of	
exercise:	fermentation of lactic acid .....	73-75
18-lab.	Identification of microorganisms that cause	
exercise:	fatty acid fermentation .....	75-78
19-lab.	Identification of living organisms that cause	
exercise:	cellulose fermentation .....	78-80
20-lab.	Identification of living organisms that cause	
exercise:	acetic acid fermentation .....	80-82
21-lab.	Preparation of elective cultures of anaerobic	
exercise:	microorganisms that assimilate molecular	
	nitrogen.....	82-84
22-lab.	Preparation of elective culture of aerobic	
exercise:	nitrogen-fixing microorganisms .....	85-86
23-lab.	Study of aerobic nitrogen-fixing	
exercise:	microorganisms using the method of soil	
	particles .....	87-89
24-lab.	Study of nitrogen-fixing microorganisms that	
exercise:	live in symbiosis .....	89-91
25-lab.	Identification of bacteria that cause	
exercise:	nitrification .....	91-93
26-lab.	Preparation of nutrient medium for the	
exercise:	isolation of denitrifying microorganisms.....	93-94
27-lab.	Microscopic study of elective cultures of	
exercise:	denitrifying microorganisms .....	95-96
28-lab.	Study of viruses in humans and animals on the	
exercise:	basis of tables and pictures .....	96-100
References	.....	101-102
Applications	.....	103-110
	Nutrient media for the growth of microorganisms .....	103-105
	Stains, indicators and solutions .....	105-109
	Materials and equipment .....	109-110
	Glossary.....	111-118

**Fayziyev Voxid Baxramovich  
Jo'rayeva Umida Mirkamilovna  
Eshboyev Farhod Bakir o'gli  
Vahabov Abdurasul Hakimovich**

## **UMUMIY MIKROBIOLOGIYA**

O'quv qo'llanma

Muharrir M.A.Xakimov

Bosishga ruxsat etildi 02.10.2020y. Bichimi 60X84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Bosma tabog'i 18,25. Shartli bosma tabog'i 18,25. Adadi 100 nusxa.  
Bahosi kelishilgan narxda.

«Universitet» nashriyoti. Toshkent, Talabalar shaharchasi,  
O'zMU ma'muriy binosi.

O'zbekiston Milliy universiteti bosmaxonasida bosildi.  
Toshkent, Talabalar shaharchasi, O'zMU.