

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA
MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

TOSHKENT KIMYO-TEXNOLOGIYA INSTITUTI

«OZIQ-OVQAT MAHSULOTLARI TEXNOLOGIYASI» fakulteti

«OZIQ-OVQAT MAHSULOTLARI TEXNOLOGIYASI» kafedrası

«*MIKROBIOLOGIYA*»

fanidan laboratoriya ishlari uchun

U S L U B I Y K O ' R S A T M A

**T O S H K E N T
2016**

Mikrobiologiya laboratoriyasiga qo`yiladigan havfsizlik qoidalari va talablar:

- 1. Laboratoriyaga kirishda va ishlash davomida oq xalatda bo`lish shart.*
- 2. Tozalik va tartib intizomga qa`tiy rioya qilinishi shart.*
- 3. O`qituvchi yoki laborantning ruxsatisiz elektr asbob, mikroskop va boshqa jixozlarni ishga tushirmaslik kerak.*
- 4. Har bir talaba yoki xodim o`ziga biriktirilgan joyda ishlash, faqat shu stoldagi asbob va reaktivlardan foydalanish kerak.*
- 5. Laboratoriyada ovqat eyish, chekish va keraksiz narsalarni olib kirish man etiladi.*
- 6. Stol ustida faqat ishga kerakli narsalar bo`lishi kerak.*
- 7. Spirt lampalarni bir-biridan yondirmasdan faqat gugurt orqali yondirish kerak.*
- 8. Mikroskop bilan ishlash vaqtida, mikroskop vintlarini burab tashlamaslik va mikroskop bilan ishlash texnik qoidalariga rioya qilish shart.*
- 9. Dars (ish) tugagandan so`ng ish joyini tartibga keltirish, hamda laboratoriyadan chiqib ketish oldidan qo`llarni sovunlab yuvish kerak.*

1 - LABORATORIYA ISHI (4 soat)

Mikroskopning tuzilishi va uni ishlatish tartib qoidalari. Mikroskopik preparatlarni tayyorlash

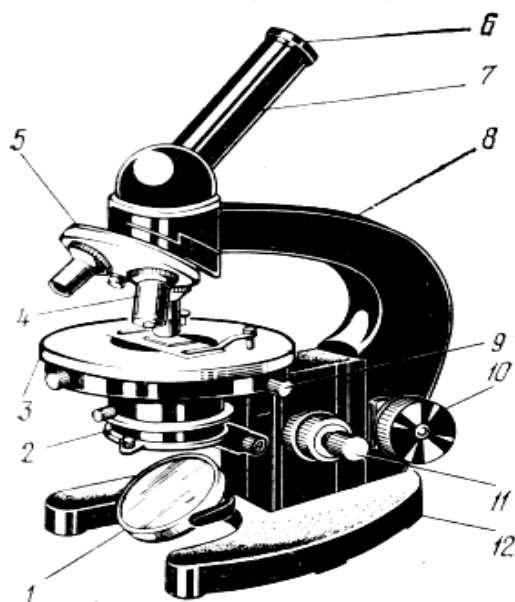
Ishdan maqsad:

Biologik mikroskopni tuzilishini o'rganish, mikroskopda ko'rish texnikasini o'zlashtirish. Buyum va qoplagich oynalarni tayyorlash; probirka, kolba, Petri likopchalarida qattiq va suyuq ozuq mihitlarda o'stirilgan mikroorganizmlarni tadqiqot uchun tanlash. "Ezilgan tomchi", "Osilgan tomchi", "Tamg'a" deb ataladigan preparatlarini tayyorlash, ularni mikroskopda ko'rish va chizish. Tirik va fiksatsiya qilingan mikroorganizm hujayralarning bo'yash, mikroskopda ko'rish va chizish.

1. Mikroskop va mikroskoplarda ko'rish

1.1. Yorug'lik mikroskopida ko'rish

Mikroskopning tuzilishi. Biologiya mikroskoplari shaffof preparatlarni ulardan o'tadigan yorug'likda 56 dan 2000 martagacha kattalashib ko'rishga mo'ljallangan. Mikroko'z (yunoncha *micros* - kichik, *skop* - ko'raman) - bu qurollanmagan ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan mayda organizmlar va organizm tuzilmalari hamda o'simlik va hayvon to'qimalari tuzilmalarining tas'virini bir necha marta kattalashtirish uchun mo'ljallangan optik asbob. Respublikamizda MBI-1, MBI-2, MBI-3, MBI-6, MBR-1 (1- rasm), MBR-2, MBR-3, MBR-4, Biolam-R-1, Biolam-70 va boshqa turdagi mikroskoplar keng qo'llaniladi. Mikroskop mexanik va optik qismlardan tashkil topadi.



**1-rasm. Biologik mikroskop
MBR-1:**

- 1 - oyna; 2 - kondensor;
- 3 - predmet stolchasi;
- 4 - ob'ektiv;
- 5 - revolver; 6 - okulyar;
- 7 - tubus; 8 - tubus-ushlagich;
- 9 - predmet stolchasini joyini o'zgartiruvchi vintlar;
- 10 - makrometrik vint;
- 11 - mikrometrik vint;
- 12 - mikroskopning tayanchi.

Mikroskopning **mexanik qismi** shtativ, buyum stolchasi, revolver, tubus, makro – va mikrometrik vintlarni o'z ichiga oladi. Shtativ odatda metall yoki plasmassadan yasalgan bo'ladi. Shtativning pastki qismi mikroskopning tirkak oyoqchasi vazifasini bajaradi, yuqori qismi esa (yon shaklida) tubusni ushlab turish uchun xizmat qiladi. Tubus ushlagichning yuqori qismiga revolver qurilmasi joylashgan bo'lib, u ikkita

plastinkadan tashkil topgan va tubus bilan tutashtirilgan. Pastki plastinka o'z o'qi atrofida aylanadi va ob'ektivlarni burab mahkamlash uchun uyachaga ega, yuqori qismi esa qo'zg'almaydigan qilib mahkamlangan. Har qanday ob'ektivni aylantirib tubus ostiga olib borish mumkin. Revolverda qiya va tik tubusni mahkamlash uchun uyacha mavjud. Qiya tubusni tik o'q atrofini aylantirib hoxlagan xolatga keltirish va vint bilan mahkamlash mumkin. Tubusning yuqori tomoniga almashtiriladigan okulyarlar qo'yiladi.

Tubus ushlagich va unga o'rnatilgan sistemalar vintlar yordamida harakatlantiradi. Makrometrik vint tubusni mikroskopning optik o'qi bo'ylab xar ikkala tomonga tez xarakatlantirish va boshlang'ich (homaki) fokusga olish uchun ishlatiladi. Uning bir marta aylanishi tubusni 20 mm siljishga to'g'ri keladi. Mikrometrik vint esa nozik fokusga olish uchun mo'ljallangan uning to'liq bir marta aylanishi tubusni 0,1 mmga siljitadi. Mikrometrik vintning barabanida 50 bo'limi tizilgan bo'lib, ularning har biri sistemani ikki mikrometrga siljishiga to'g'ri keladi. Makrometrik fokusga olish mexanizmi tishli g'ildiraklar va richakdan tashkil topgan. Uni oxirigacha burash tavsiya etilmaydi. Vintlar soat strelkasi yo'nalishida buralganda mikroskopning tubus ushlagichi pastga tushadi, aksincha esa - yuqoriga ko'tariladi.

Preparatni **yorituvchi** nurlarining o'tishi uchun buyum stolchasining o'rtasida tuynuk yasalgan. Stolchani, uning chap va o'ng tomonlarida joylashgan ikkita vint yordamida garizantal tekislik bo'ylab 8 mm ga siljitish mumkin. Bu esa preparatning har qanday nuqtasini ko'rish maydoni markaziga joylashtirish imkonini beradi. Stolchaning yuzasida preparatni mahkamlash uchun ikkita qisqich mavjud.

Mikroskopning **optik qismi** yoritish apparati, ob'ektiv va okulyarlardan tashkil topgan. Yoritish apparati buyum stolchasining ostida joylashtirilgan. U ko'rish maydonini bir tekis yoritish uchun mo'ljallangan va ko'zgu hamda iris diafragmali kondersordan tashkil topgan. Ko'zgu yassi va botiq yuzali bo'lib, yorug'lik nurlarini qaytarish uchun hizmat qiladi. Yassi yuzali ko'zgu tabiiy yorug'lik yaxshi bo'lganda va mikrofotosyomkalarda ishlatiladi. Botiq yuzali ko'zgudan esa sun'iy yorug'likda yoki tabiiy yorug'lik kuchsiz bo'lganda foydalaniladi.

Ko'zguning tepasida kondensor joylashgan. U yorug'lik manbaidan tushayotgan va ko'zgu qaytarayotgan parallel nurlarni preparat saxnida bitta nuqtaga, fokusga yig'adi. Kondensor yassi qavariq (yuqori) va ikki tomonlama qavariq (pastki) ikkita linzadan iborat. Bu linzalar iris diafragma bilan birgalikda tsilindrik gardishga o'rnatilgan. Iris diafragma pastki linza ostida joylashgan bo'lib bir necha harakatlanadigan o'roqsimon plastinkalardan tashkil topgan. Richak yordamida bu plakstinkalarni qisqartirib yoki kengaytirib preparatni yoritilishini tartibga solish mumkin. Bo'yalgan preparatlar ko'p hollarda yorug'likni tutib qoladi. Shu tufayli ular diafragmani ochib qo'ygan holda ko'riladi. Bo'yalmagan preparatlar (osilgan tomchi yoki ezilgan tomchi) yarim ochiq diafragmalar kuchsiz yorug'lik dastasida ko'riladi. Bunday ko'rish maydonida bo'yalmagan mikrob shakllarning tafovutligi ortadi. "Biolam" seriyasidagi mikroskoplarda qo'shimcha gardishli qaytarma linza bo'lib, undan ko'p kattalashtirmaydigan ob'ektivlar bilan ishlaganda foydalaniladi. Kondensor ostida yorug'lik filtri uchun qaytarma halqa joylashgan.

Ob'ektivlar - mikroskopning eng muhim va qimmatli qismi hisoblanadi. Ular metall gardishga mahkamlangan linzalar tizimidan tashkil topgan. Oldingi (frontal)

linza eng kichik bo'lib, asosiy kattalashtirish u orqali amalga oshiriladi. Qolgan boshqa linzalar (korreksion) optik tasvir kamchiliklarini tuzatadi.

Foydalanish usuliga ko'ra barcha ob'ektivlar quruq va immersion (moyga botirilgan) turlarga bo'linadi. Quruq ob'ektivlardan frontal linza va ko'rilayotgan preparat o'rtasida havo bo'ladi. Immersion ob'ektivlarda ishlanganda esa, immersion yog'lar (kedr, kanakunjud, qalamli munchiq moylari va boshqa)dan foydalaniladi. Bu yog'larning sindirish ko'rsatkichi shishaning sindirish ko'rsatkichi deyarli bir xil (1,52 va 1,515) bo'ladi. Nurlar bir muhitdan ikkinchisiga o'tayotganda sinmaydi, yorug'lik sochilib ketmaydi, ko'rilayotgan ob'ektlar tasviri o'zgarmaydi va yaxshi ko'riladi. Havo va oynaning yorug'likni sindirish ko'rsatkichlari turlicha (1,0 va 1,52), shu tufayli yorug'lik nurlari bir muhitdan ikkinchisiga o'tayotganida sinadi, Sochilib ketadi, ko'rilayotgan ob'ektlarning tasviri qisman buziladi.

Quruq sistemalar (x8, x10, x20, x40, x60)ning kattalashtirish imkoniyati uncha yuqori bo'lmaganligi sababli ko'rilayotgan ob'ektlarni tasviri juda buzilib ketishi kuzatilmaydi.

Immersion ob'ektivlar (x90, x100) qisqa fokus masofasi va ko'p marta kattalashtirish imkoniyati bilan ajralib turadi. Suning uchun frontal linza va ko'rilayotgan ob'ekt orasidagi masofa uncha katta emas. Bu esa mazkur sistemadan foydalanayotganda linza va preparatni shikastlamaslik uchun juda ehtiyotkorlik bilan ishlashni talab etadi.

Okulyarlar tubusning yuqoridagi uchida erkin o'rnatilgan. Mikroskop okulyari ikkita yassi qavariq linzadan tashkil topgan bo'lib, ularning qavariq tomoni ob'ektivga qaratilgan va metall gardishga solingan. Linzalar o'rtasida doimiy metall diafragma yonidan keladigan nurlarni tutib qoladi, optik o'qqa yaqin nurlarni o'tkazadi. Bu esa tasvirning tafovutini kuchaytiradi. Ko'z tomonga qaragan linza ko'z linzasi, ob'ektiv tomonga qaragani esa yig'uvchi linza deb ataladi. Qisqa okulyarlar kuchliroq, uzunlari esa kuchsiz kattalashtirish imkoniyatiga ega. Kattalashtirish imkoniyatiga qarab okulyarlar x5, x7, x10, x12,5, x15, x20 kabi belgilar bilan belgilanadi. Ob'ektiv va okulyarlardagi sonlar bu sistemalarning kattalashtirish imkoniyatlarini bildiradi.

Mikroskopning umumiy kattalashtirishi ob'ektiv va okulyarning kattalashtirish darajasining ko'paytmasiga teng. Masalan, ob'ektivning kattalashtirish darajasi x8 va okulyarniki x7 bo'lganda, mikroskopning kattalashtirish imkoniyati 56 ga teng, agar ob'ektivning kattalashtirish darajasi x90 va okulyarniki x20 bo'lsa, bu ko'rsatkich 1800 ga tengdir.

Binokulyar mikroskop ikkita okulyarga ega va ob'ektni ikkala ko'z bilan ko'rish imkonini beradi. Binokulyar mikroskopning umumiy kattalashtirish imkoniyatini aniqlash uchun ob'ektiv va okulyarning kattalashtirish darajalari ko'paytmasini uchinchi songa - binokulyar mikroskopning kattalashtirish darajasiga ko'paytirish lozim. Binokulyar mikroskopda okulyar o'rtasida uning kattalashtirish darajasi (x1,5; x1,6) ko'rsatiladi.

Olinadigan tasvirlar aniqligi mikroskopning ruhsat etish imkoniyati, ya'ni ushbu asbob yordamida ko'rish mumkin bo'lgan ob'ektivlar yoki ularning detallarini eng kichik o'lchamlari bilan belgilanadi. Bu mikroskoplarni, shu jumladan elektron mikroskoplarni ham baholashda eng muhim ko'rsatkichlardan biridir. Eng yuqori yo'l qo'yiladigan imkoniyat elektron mikroskoplarniki xisoblanadi. Elektron

mikroskoplarning yuqori yo'l qo'yish imkoniyati juda kichik uzunlikdagi elektron to'lqinlar yordamida erishiladi. Nurlanish manbasi, tarqatayotgan to'lqinlar uzunligi qanchalik qisqa bo'lsa, mikroskopning yo'l qo'yiladigan imkoniyati shunchalik yuqori bo'ladi. Ob'ektni to'lqin uzunligi yanada qisqaroq bo'lgan nurlanish yordamida yoritish yoki muhitning nurini sindirish ko'rsatkichini oshirish, yo'l qo'yiladigan imkoniyatini oshirish mumkin.

Hozirgi vaqtda yaqqol (bortma) tasvirli mikroskoplar ham mavjud. Ular o'rganilayotgan ob'ektni uch o'lchovda kuzatish imkonini beradi. Proektsion mikroskoplarda preparatlarning yoritilishi katta ahamiyatga ega. U qanchalik yuqori bo'lsa, preparatning ko'rinishi ham shunchalik yaxshi bo'ladi. Bunday imkoniyat kuchli yorug'lik kuchaytirgichli lazer mikroskoplarda mavjud. Shu singari boshqa manbalardan farqli o'laroq, ular biologik obektlarni emirmaydi va tasvirini ekranga tushurish imkonini beradi.

Mikroskopda ko'rish texnikasi. Mikroskop bilan ishlaganda tarqoq kunduzgi yorug'lik yoki sun'iy yoruqlikdan foydalanish mumkin. Zamonaviy mikroskoplarda yorug'lik manbasi mikroskopni asosiga o'rnatilgan. MBI-1, MBR-1, MBR-3 va boshqa mikroskoplarda bunday moslama yo'q. Shu sababli sun'iy yoritish uchun maxsus yoritkichlar ishlatiladi.

Mikroskop bilan ishlash muayyan malakaga ega bo'lishni talab etadi. Shuning uchun uni ishlatishdan oldin mikroskopdan foydalanish qoidalarini o'zlashtirish lozim. Mikroskopni g'ilofdan chiqarayotganda bir qo'l kerak. Mikroskopni qiyshaytirish mumkin emas. Chunki bunda okulyar tubusdan tushib ketishi mumkin.

Ish stolida mikroskop, stol chetidan 3-5 sm masofada turishi kerak. Ishni boshlashdan oldin yumshoq quruq latta bilan, barmoqlarni linzaga tegizmasdan, mikroskopning mexanik optik qismlaridagi chang tozalaniladi. Mikroskopning ko'rish maydonida to'g'ri yorug'lik hosil qilinadi.

Revol'ver yordamida kattalashtirish darajasi x8 bo'lgan ob'ektiv mahkamlanadi. Revol'ver prujinasi chiqillagan tovush chiqarsa va engil taqalsa, ob'ektiv optik o'q bo'ylab o'rnatilgan hisoblanadi. Makrometrik vint yordamida ob'ektiv buyum stolidan 0,5 -1 sm masofaga tushiriladi. Iris diafragma to'liq ochiladi va kondensor taqalguniga qadar ko'tariladi. Okulyar qaraladi va ko'zguni burib, yorug'lik manbasidan tushayotgan yorug'lik nurlari iris diafragmaning tuynukchasi orqali ob'ektivga yo'naltiriladi. Agar to'g'ri yoritilsa mikroskopni ko'rish maydoni yaxshi va bir tekis yoritilgan doira shaklida bo'ladi. Bo'yalgan preparatlarni mikroskopda ko'rishda kondensorning yuqoridagi linzasi buyum stolchasi satxida joylashgan bo'ladi. Bo'yalmagan preparatlarni ko'rayotganda kondensorni tushirish va iris diafragmani yopish yo'li bilan xoxlagan yoritilish darajasiga moslanadi.

Tayyorlangan preparat buyum stolchasi ustiga qo'yiladi va qisqichlar bilan mahkamlanadi. Kattalashtirish darajasi x8 bo'lgan ob'ektiv yordamida bir nechta ko'rish maydoni kuzatiladi. Buyum stolchasi yon tomonida joylashgan vintlar bilan suriladi. Preparatning tadqiqot uchun zarur qismi ko'rish maydonining markaziga joylashtiriladi. Tubus ko'tariladi va revol'verni aylantirish yo'li bilan x40 yoki x60 li ob'ektiv o'rnatiladi. Yon tomonidan kuzatgan holda tubus ob'ektiv bilan birga makrometrik vint yordamida preparatga tekkunga qadar tushuriladi. Okulyarga qaraladi va tubus tasvir konturlari ko'rulgunga qadar juda sekinlik bilan ko'tariladi. Mikrometrik vintni u yoki

bu tomonga aylantirish yo'li bilan, lekin bunda u to'liq bir oborotdan ortiq buralmasligi lozim, aniq fokusirovka olinadi. Makrovint yordamida tasvir topiladi va mikrovint bilan ishlashga o'tiladi. Mikroskopda ko'rayotganda ikkala ko'zni xam ochib ishlashga va ulardan navbati bilan almashib foydalanish lozim, shunda ko'zlar kamroq charchaydi.

Immersion ob'ektivlar bilan ishlaganda preparatga uncha katta bo'lmagan immersion yog' tomchisi tomiziladi. Revol'verni burib markaziy optik o'q bo'ylab x90 yoki x100 li immersion ob'ektiv o'rnatiladi. Kondensor taqalgunga qadar yuqoriga ko'tariladi. Iris diafragma to'liq ochiladi. Yon tomonidan kuzatgan holda, makrometrik vint yordamida tubus ob'ektiv moyga botguncha, linza preparatning buyum oynasiga tekkunga qadar, tushuriladi. Bu frontal linza qo'zg'alib ketmasligi va shikastlanmasligi uchun juda ehtiyotkorlik bilan amalga oshirilishi lozim. Shundan keyin, okulyarga qaragan holda, makrometrik vintni o'zi tomonga juda sekinlik bilan burash va tubusni ob'ekt konturi ko'runguniga qadar ko'tarish lozim. Bunday immersion ob'ektivdagi bo'sh ishchi masofa 0,1 – 0,15 mm ga teng ekanligini unitmaslik lozim. So'ngra mikrometrik vint yordamida aniq fokusirovka olinadi. Stolchani yon tomnidagi vintlar yordamida surib preparatda bir necha ko'rish maydonlari ko'riladi.

Immersion ob'ektiv bilan ishlab bo'lgandan so'ng, tubus ko'tariladi, preparat chiqarib olinadi va ob'ektivning frontal linzasi avval quruq yumshoq latta yoki salftka bilan, keyin esa toza benzinga sag'al namlangan xuddi shunday salftka bilan artiladi. Linza sirtida yog' qoldiqlarini qolishi mumkin emas. Chunki u chang o'tirishiga imkon beradi va vaqt o'tishi bilan mikroskop optikasining shikastlanishiga olib kelishi mumkin. Ish tugagandan so'ng preparatni ish stolchasidan olish, kondensorni tushurish, tubus tagiga x8 li ob'ektivni qo'yish va mikroskopni maxsus g'ilofga solish yoki shisha yopqich bilan o'rab, quyosh nuri to'g'ri tushmaydigan joyga qo'yish lozim.

1-jadval

Okulyar va ob'ektivning kattalashtirishiga bog'liq holda okulyar mikrometrda o'lchamni aniqlash

Okulyar	Ob'ektiv	Umumiy kattalashgani	Okulyar mikrometr chizig'ichi bo'laklarining o'lchami, mkm	Okulyar	Ob'ektiv	Umumiy kattalashgani	Okulyar mikrometr chizig'ichi bo'laklarining o'lchami, mkm
7	8	56x	21,3	10	40	400x	3,4
7	0	140x	8,5	10	90	90x	1,5
7	0	280x	4,2	15	8	120x	15,0
7	90	630x	1,9	15	20	300x	6,0
10	8	80x	17,2	15	40	600x	3,0
10	20	200x	6,9	15	90	350x	1,3

Tirik va fiksatsiya qilingan mikroorganizmlari preparatlarini tayyorlash.

Tirik mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash.

Buyum va qoplagich oynalarni tayyorlash. Preparatlar buyum oynasida tayyorlanadi va ustidan qoplagich oyna bilan yopiladi. Buyum oyna - bu qalinligi 1,2-1,4 mm dan oshmaydigan chetlari yaxshi silliqlangan yupqa plastinkalaridir (76x26 mm). Qalinroq oynalar tasvir aniqligiga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bu esa immersion ob'ektiv bilan ishlashni qiyinlashtiradi. Qoplagich oynalarning o'lchamlari ularning qalinligi 0,15-0,17 mm bo'lsa, 18x18, 20x20, 18x24 mm va boshqacharoq bo'lishi mumkin. Katta qalinlikdagi qoplagich oynalar ham tasvir sifatini pasaytiradi.

Buyum va qoplagich oynalar toza hamda yog'siz bo'lishi kerak. Oynaning tozaligini tekshirish uchun uning sirtiga suv tomiziladi. Agar oynaning sirti yog'siz bo'lsa, suv tomchilari sekin quriyadigan qavariq pufakchalar hosil qilgan holda bir joyga to'planmasdan bir tekis yoyilib ketadi. Ishlatilgan oynalar 1-2 soat mobaynida xromli aralashmaga (1 litr suv + 50 gr kaliy dixromat + 100 gr texnik oltingugurt kislotasi) solib qo'yiladi. SHundan keyin ular iliq suv va spirt bilan chayiladi. Kundalik ishlarda buyum oynasi sirtidagi yog'larni ketkazish uchun u avval sovun bo'lagi bilan ishqalanadi va shundan keyin toza paxta ipli salfетка bilan artiladi.

Toza buyum oynalari quruq holatda yoki 96 foizli spirt to'ldirilgan zich tiqinli bankalarda saqlanadi. Oynalarni pintset bilan olish lozim. CHunki barmoqlar ularning sirtida yog'li dog'lar qoldiradi. Oynalarni ishlatishdan oldin havoda quritish yoki filtr qog'oz, toza mato bilan artish kerak. Qoplagich oynalar ham yaxshi yuvilgan, quritilgan bo'lishi hamda maxsus qutilar va Petri likopchalarida saqlanishi lozim.

Tadqiqot uchun kulturalarni ajratib olish. Laboratoriya sharoitida mikroorganizmlar qattiq va suyuq ozuq muhitlarda probirkalar, kolbalar, Petri likobchalarida o'stiriladi. Suyuq muhitdan hujayralarni ajratib olish uchun sterillangan bakteriologik ilmoq yoki pipetkalardan foydalaniladi. Qattiq muhitda o'sgan mikroorganizmlar ilmoq yoki preparoval ninalar yordamida olinadi. Kulturalarni olishda ularning yot mikroorganizmlar bilan ifloslanishini oldini olish uchun quyidagi qoidalarga rioya qilishi lozim:

1. *Spirtovka yoki gaz garelkasi yoqiladi.*
2. *Suyuq muhitda o'stirilgan kulturalar mavjud probirka kaftlar orasida sekin aylantiriladi, keyin chap qo'lga, bosh va ko'rsatkich barmoqlar orasida qiya holatda ushlanadi. Agar to'plam qattiq muhitda o'sgan bo'lsa, mikroorganizmlar kulturasining yuzasi yuqoriga qaratilgan bo'lishi va yaxshi ko'rinib turishi kerak.*
3. *Ilmoq vertikal holda garelka alangasiga tutib turiladi va sim qizarguncha qizdiriladi, shundan keyin tutqichning unga tutash qismi ham kuydiriladi.*
4. *O'ng qo'lning jimjilog'i nomsiz barmog'i bilan paxtali tiqinnning tashqi qismi kaftga bosiladi, probirkadan sug'urib olinadi va boshqa narsalarga tegdirmasdan tutib turiladi.*
5. *Ochilgan probirkaning chetlari garelka alangasida kuydiriladi.*
6. *Sterillangan ilmoq ehtiyotkorlik bilan kultura bor probirkaga kiritiladi. Qattiq muhitdagi hujayralarnishkastlamaslik uchun ilmoq probirkaning ichki sirtiga yoki mikroorganizmlar bo'lmagan ozuq muhitiga tegizib sovutiladi. Engil silliq xarakat bilan ozgina mikrob massasi yoki hujayrali suyuqlik tomchisi olinadi. Ilmoqni*

probirkadan chiqarayotganda olingan material probirkaning devorlari yoki chetlariga tegib ketmasligiga e'tibor qilish kerak.

- 7. YAna probirkaning chetlari, keyin paxtali tiqinning ichki uchi, gorelka alangasida kuydiriladi va probirka yopiladi. Agar paxtali tiqin yona boshlasa, uni puflab o'chirishga harakat qilish yoki tashlab yuborish kerak emas. Balki uni zudlik bilan probirkaga tiqish va cho'g'langan joyini barmoq bilan bosib o'chirish lozim.*
- 8. Kultura mavjud probirka shtativga qo'yiladi, olingan material esa preparat tayyorlash uchun ishlatiladi.*
- 9. Ilmoqda qolgan mikroorganizm hujayralari gorelka alangasida kuydirib tashlanadi.*

Petri likobchasida qattiq muhitda o'sgan mikroorganizm kulturalari ham xuddi shu ketma-ketlikda ajratib olinadi: gorelka yoqiladi, ilmoq(igna) sterillanadi, shundan keyin chap qo'lining bosh va ko'rsatkich barmoqlari yordamida Petri likobchasining qopqog'i qiya ochiladi. Sterillangan ilmoq likobcha qopqog'i ostiga kiritiladi va mikroorganizm koloniyalaridan xoli muhitga tegiziladi. Qizigan ilmoq muhitning "erib" ketishiga olib keladi. Yuzadan uncha ko'p bo'lmagan miqdorda mikroob hujayralari olinadi hamda shundan keyin likopchaning qopqog'i zudlik bilan berkitiladi. Ilmoq yordamida olingan material preparat tayyorlash yoki ekish uchun ishlatiladi. Ilmoq (igna) ni qizdirish orqali unda qolgan hujayralar yo'q qilinadi. Xo'l ilmoqni qizdirish vaqtida mayda suyuqlik tomchilari va ular bilan birga mikroob hujayralari ham aerosol hosil qilgan holda atrofga sachrashli mumkin. Shuning uchun ilmoq simning halqaga tutashgan joyidan boshlab qizdiriladi. Ilmoqda qolgan hujayralar quriydi, shundan keyin igna tutqich tik holatga keltirib, ilmoq qizdiriladi.

Suyuq muxitdan mikroorganizmlarni graduslarga bo'lingan yoki Paster pipetkasi bilan ajratib olish mumkin. Qog'ozga o'ralgan sterillangan pipetkalar paxtali tampon bilan berkitilgan yuqori uchidan tutgan holda sug'urib olinadi. Suyuq kultura mavjud kolba (probirka) chap qo'lda ushlanadi. Pipetkaning yuqoridagi teshigini (tamponli) ko'rsatkich barmoq bilan berkitgan holda o'ng qo'lining bosh va o'rta barmoqlari bilan ushlanadi. Agar pipetkadagi suyuqlik etarli bo'lmasa, uning paxtali tampon tiqilgan uchidan og'iz bilan so'riladi. Suyuq kulturani rezina nok yordamida so'rish ham mumkin. Ajratib olingan namuna preparatlar tayyorlash yoki yangi ozuq muhitiga ekish uchun ishlatiladi. Iflos pipetkani shtativga o'rnatish yoki boshqa narsalarga tegdirish mumkin emas. U darhol dezinfektsiyalovchi suyuqlikka (xloraminning 0,5-3% li suvdagi aralashmasi yoki fenolning 3-5% li suvdagi aralashmasiga) solib qo'yilishi kerak.

Tirik hujayralar preparatini tayyorlash.

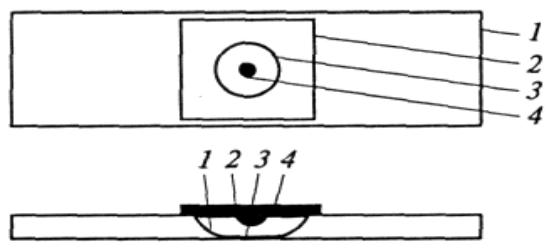
Tirik holatdagi mikroorganizmlar "ezilgan omchi", "osilgan tomchi" va "tamg'a" ko'rinishidagi preparatlar yordamida kuzatiladi.

"Ezilgan tomchi" preparati. Buyum oynasiga suv, bulon yoki fiziologik aralashma (NaCl ning 0,5% li aralashmasi) ning kichik bir tomchisi tomiziladi. Unga ilmoq yoki igna yordamida qattiq ozuq muhitidan olingan kultura yoki o'rganilayotgan boshqa material (xamir, achitqi sharbat va hokazo) qo'shiladi. Shundan keyin sal loyqalangan suspenziya hosil bo'lgunga qadar yaxshilab aralashtiriladi. Suyuq muhitlarda o'sgan mikroorganizmlarni kuzatilayotganda buyum oynasida suv tomchisini tomizish shart

emas. Qoplagich oynaning cheti mikroorganizmoar tomchisi chekkasiga qo'yiladi va oynalar orasida mikroskopda ko'rish uchun halaqit beruvchi xavo pufakchalari hosil bo'lmashiga harakat qilib, sekin-asta tushiriladi. Ilmoqning shisha uchi bilan qoplagich oyna buyum oynasiga qisiladi. Qoplagich oyna chetidan chiqib qolgan ortiqcha suyuqlik filtr qog'oz parchasi bilan artib olinadi. Tayyorlangan preparat zudlik bilan o'rganilishi lozim. Chunki suyuqlik qurib qolishi va mikroskopda ko'rish qiyinlashishi mumkin.

“Ezilgan tomchi” preparati yordamida yorug' va qora maydonlarda hujayralarning shakli va o'lchamlari, fiziologik holatlari, ko'payish turlari, sporalarning joylashishi, zahira ozuq moddalarning mavjudligi, harakatchanligi aniqlanishi mumkin. Hujayralarning harakatchanligini aniqlashda ularning haqiqiy xarakatini braun harakatidan farqlash lozim, Braun harakatida hujayralar bitta joyda qolgan holda tebranma harakatni amalga oshiradi yoki suyuqlik oqimi bo'yicha ko'chadi.

“Osilgan tomchi” preparati. Bu preparatni tayyorlash uchun dumaloq shaklda ishlangan chuqurchali buyum oynasidan foydalaniladi. Chuqurcha chetlariga vazelin surtiladi. Yog'sizlantirilgan qoplagich oyna o'rtasiga mikroorganizmlar suspenziyasining kichik bir tomchisi tomiziladi. Tomchini pastga qaratib oyna to'ng'ariladi va ehtiyotkorlik bilan vazelinli halqaga bosiladi. Tomchi chuqurchaning o'rtasiga joylashishi, uning chetlari va tubiga tegmasligi lozim (2-rasm).



2- rasm. “Osilgan tomchi” preparati

1 – buyum oynasi; 2- yopqich oyna;
3- chuqurcha; 4- suyuqlik tomchisi

Bunday preparatda tomchi qoplagich oynaning ichki sirtiga osilgan holda bo'lib, germetik berk kamera ichida qoladi. Bu esa uni bir necha kun mobaynida o'rganishga, mikroorganizmlarning o'sishi va ko'payishini, sporalarning hosil bo'lishi va o'sishini hamda hujayralarning harakatchanligini kuzatishga imkon beradi.

“Tamg'a” preparati aktinomitsetlar va mitselial zamburug'larning hujayralarini koloniyadagi tabiiy joylashishini o'rganish uchun tayyorlanadi. Mikroorganizmlar koloniyasi o'sgan qattiq muhitdan skalpel yordamida uncha katta bo'lmagan kubik yoki alohida koloniya kesib olinadi va buyum oynasi ustiga qo'yiladi. Mikroorganizmlar joylashtirilgan oyna yuzasi tepaga qaratilgan bo'lishi kerak. So'ngra uning ustiga toza qoplagich oyna qo'yiladi, ilmoq yoki igna bilan u sal bosiladi va chetga surib yubormaslikka harakat qilgan holda tezlik bilan ko'tarib olinadi. Hosil bo'lgan tamg'ani pastga qaratgan holda preparat buyum oynasiga tomizilgan suv yoki ko'k metilen (1:40) tomchisi ustiga joylashtiriladi va mikroskopda qaraladi.

Tirik hujayralarni bo'yash. Hujayralarning ba'zi xususiyatlarini va ulardagi qo'shimchalarni aniqlash uchun mikroorganizmlarni tirik holda bo'yash usulidan foydalaniladi. Bo'yoq moddalarning zaharliligini hisobga olgan holda, tirik hujayralar neytral qizil, neytral binafsha, ko'k metilen, fusin, eozin va eritrozinning juda kam miqdordagi (0,001 -0,0001%) konsentratsiyalari bilan bo'yaladi. O'rganilayotgan

mikroorganizmlar tomchisi buyum oynasida bo'yoq aralashmasi tomchisi bilan aralashtiriladi, qoplagich oyna bilan yopiladi va 2-3 minutdan so'ng mikroskopda qaraladi.

Mikroorganizmlarning tabiiy shakli, kattaligi va tuzilishi, ularning ayrim tuzilmalari (hujayradan tashqaridagi shilimshiqlik) to'g'risidagi tushunchalarni negativ preparatlar beradi. Negativ bo'yash uchun suyuq tush, qizil kongoning 3% li suvli eritmasi, nigrozinning 10 foizli eritmasi va mirob hujayralariga singmaydigan boshqa bo'yoqlar ishlatiladi. Tush yoki boshqa bo'yoq eritmasini tomchisi o'rganilayotgan kultura tomchisi bilan aralashtiriladi, ustidan qoplagich oyna bilan yopiladi. Bo'yoqlar hujayrani o'rab turgan bo'shliqni to'ldiradi. Natijada bo'yalmagan mikroorganizmlar preparatning to'q fonida yaxshi yoritilgan rangsiz kapsulalar ko'rinishida aniq ajralib turadi.

Negativ bo'yash boshqacha tarzda amalga oshirilishi ham mumkin. Buyum oynasiga qizil kongoning 3 foizli suvdagi eritmasining tomchisi tomiziladi. Bu tomchiga o'rganilayotgan material qo'shiladi va sal aralashtiriladi. Shundan keyin hosil bo'lgan aralashma ilmoq yordamida spiral ko'rinishida yoyiladi. Bunda ilmoq har gal yangi joydan olib o'tiladi. Material qon surtmasi tayyorlash jarayonidagi singari qoplagich oyna bilan ham yopilishi mumkin. Surtma havoda quritiladi, fiksirlanmaydi va immersion ob'ektiv bilan mikroskopda ko'riladi. Qizil-jigarrang fonda mikroorganizmlarning bo'yalmagan shakllari yaxshi ko'rinadi.

Fiksatsiya qilingan mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash

Yashash jarayoni to'gatilgan, lekin nozik tuzilmalari to'liq saqlangan mikroorganizm hujayralari fiksatsiya qilingan hisoblanadi. Fiksatsiya qilingan bo'yalgan hujayralar va ularning tuzilish detallari preparatda yaqqol ajralib turadi. Bu hujayralarning shakli va ichki elementlarini o'rganishni engillashtiradi. Fiksatsiya qilingan preparatlar odatda immersiya orqali ko'rinadi. Fiksatsiya qilingan, bo'yalgan preparatlarni tayyorlash quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi: surtmani tayyorlash, quritish, fiksatsiya qilish va uni bo'yash.

Surtmani tayyorlash. Surtmalar yog'sizlantirilgan toza buyum oynalarda tayyorlanadi. Buyum oynasi pintset yordamida yoki ikki chetidan barmoqlar bilan ushlagan holda olinadi va gorelka alangasiga tutib sal kuydiriladi. Shundan keyin kuydirilgan tomonini tepaga qaratib vannacha ustidagi ko'prikcha (rezina shlang parchalari bilan tutashtirilgan ikkita shisha tayoqcha)ga qo'yiladi. "Ezilgan tomchi" preparati tayyorlanadi, ilmoq yordamida yaxshilab aralashtiriladi va hosil bo'lgan suspenziya yupqa tekis qatlam ko'rinishida 1-2 sm maydonga yoyiladi.

Surtmani quritish. Surtma xona haroratida quritiladi. Agar quritish jarayoni sekin kechsa, surtma tepaga qaratilgan preparat gorelka alangasi ustida balandroq ko'tariladi va oynani qizdirmasdan iliq havoda quritiladi. Aks holda hujayralar shakli buzilishi mumkin.

Fiksatsiya qilish. Fiksatsiya qilish jarayonida mikroorganizm hujayralari o'ldiriladi va xavfsizlantiriladi. Bu esa patogen kulturalar bilan ishlashda muhim ahamiyatga ega. Fiksatsiya qilish natijasida hujayralar oynaga jips yopishib qoladi va keyingi operatsiyalarda tushib ketmaydi. O'lik hujayralar bo'yoqni o'ziga yaxshi singdiradi, ya'ni yaxshi bo'yaladi.

Fiksatsiya qilish uchun preparat pintset yordamida yoki bosh va ko'rsatgich barmoqlar bilan ushlanadi va gorelka alangasi ustidan 3-4 marta olib o'tiladi. Buyum oynasi barmoq tekizilganda sal kuydiradigan darajagacha 2-3 sekund mobaynida qizdiriladi. Bundan ortiq termik fiksatsiya mikroorganizmlarining tuzilishi va shaklini o'zgartirib yuborishi mumkin. Shuningdek kimyoviy moddalar bilan fiksatsiya qilish ham qo'llaniladi. Buning uchun surtmali buyum oynasi 96% li etanol solingan menzurkaga 15-20 min, suvsiz metanolga 3-5 min, atsetonga 5 min, Nikiforov aralashmasiga 15-20 min, 96% etanol va 40% li formalinning 95:5 nisbatdagi aralashmasiga 2 min solib qo'yiladi. Fiksatorni bevosita surtma ustiga qo'yish va ko'rsatilgan vaqtgacha tutib turish ham mumkin. Fiksatsiya tugagandan keyin surtma distillangan suv oqimi bilan yuviladi va shundan keyin bo'yaladi.

Bo'yash. Mikroorganizmlarni bo'yashning oddiy, murakkab va differentsial usullari mavjud. Oddiy bo'yash usulida bitta bo'yoq ishlatiladi va barcha hujayralar bo'yaladi. Murakkab bo'yash usulida ikki yoki bir nechta bo'yoqlardan foydalanish ko'zda tutiladi. Masalan, bakteriyalarning Gram bo'yicha bo'yashga munosabatini diagnostik aniqlash. Differentsial bo'yash usuli hujayra biologik tuzilmalarining turli bo'yoqlarga nisbatan individual munosabatiga asoslangan (sporalarni, qobiqni, xivchinlarni, yadroni, kapsulani va hokazolarni bo'yash).

Fiksatoridan yuvilgan surtma vannacha ustiga o'rnatilgan ko'priqchaga joylashtiriladi. Surtma ustiga bo'yoq eritmasi tomizg'ich bilan quyiladi. Bo'yash davomiyligi har xil bo'ladi: suvli fuksin uchun – 1-2 min, ko'k metilen uchun esa - 3-5 min. Bo'yash jarayoni tugagandan keyin preparat oynaning chetidan ushlagan holda olinadi, qiya holatda tutiladi va kuchsiz suv oqimi yordamida bo'yoq yuvib tashlanadi. Yuvish oqib tushayotgan suvda bo'yoq deyarli qolmagunga qadar davom ettiriladi. SHundan keyin preparat havoda yoki oynaga ehtiyotlik bilan filtr qog'ozini tegizib quritiladi. Bo'yalgan surtma immersion ob'ektiv orqali mikroskopda ko'riladi. Puxta tayyorlangan va to'g'ri bo'yalgan preparatda ko'rish maydoni toza bo'lib, faqat hujayralar bo'yalgan bo'ladi xolos.

Toza fon hosil qilish uchun bo'yoq eritmasini surtma ustiga qo'yilgan filtr qog'ozga qo'yish yoki oldindan tegishli bo'yoq singdirilgan filtr qog'ozdan foydalanish mumkin. Fiksatsiya qilingan surtma ustiga bir necha distillangan suv tomchisi tomiziladi, uning ustidan esa surtma o'lchamiga moslab qirqib olingan va tegishli bo'yoq bilan bo'yalgan filtr qog'oz qo'yiladi, u oyna sirtiga bosiladi va belgilangan muddatda shunday ushlab turiladi. SHundan keyin qog'oz olib tashlanadi, preparat suv bilan yuviladi, quritiladi va immersiya orqali mikroskopda ko'riladi.

Nazorat savollari

1. Biologik mikroskop nima maqsadda ishlatiladi? **2.** Mikroskop qanday qismlardan tashkil topgan? **3.** Makro- va mikrovintlarning vazifasi nima va ulardan qanday foydalaniladi? **4.** Quruq va immersion ob'ektivlar nima? **5.** Nima uchun immersion ob'ektivlarda kedr va boshqa shunga o'xshash yog'lar ishlatiladi? **6.** Buyum oynasi va yopqich oyna nima? Nima uchun ular ishlatiladi? **7.** «Ezilgan tomchi» preparati qanday tayyorlanadi? **8.** «Osilgan tomchi» preparati qanday tayyorlanadi? **9.** Fiksatsiya qilingan preparat qanday tayyorlanadi? **10.** Mikroorganizm preparatlarini bo'yash usullari qanday?

2 – LABORATORIYA ISHI (4 soat)

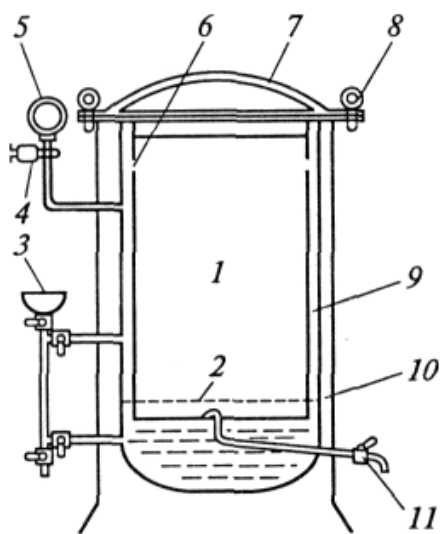
STERILIZATSIYALASH VA PASTERIZATSIYALASH USULLARI

Sterilizatsiyalash usullari

Ishdan maqsad:

Sterilizatsiyalash va pasterizatsiyalash usullarini o'rganib, tayyorlangan oziq muhitini, idishlarni va boshqa narsalarni avtoklavlarda sterilizatsiyalash; sutni pasterizatsiyalash. Avtoklav, Kox apparati, Paster javoni, Zeyts filtrini tuzilishi va printsipini bilish.

Sterilizatsiya - hamma mikroorganizmlarni va ularning sporalarini to'liq yo'qotishdir. Sterilis - naslsizlik. Sterilizatsiyalash usullari bir nechta bo'lib, ob'ektning xususiyatiga qarab va maqsadga kerakli usul tanlanadi.



1-rasm. Avtoklavning sxematik tuzilishi

To'yingan par yordamida bosim ta'sirida sterilizatsiyalash avtoklavlarda olib boriladi (1-rasm). Avtoklav qopqog'i germetik yopiladigan ikki devorli metall qozondir. Uning suv-par kamerasiga voronka orqali yuqori belgisigacha (3) suv quyib, kran yopiladi. Sterilizatsiya qilinadigan ozuqa muhitlari, idishlar va boshqa materiallar avtoklav ichiga - kamerasiga (1) maxsus g'ovakli barkash (2) ustiga qo'yiladi va qopqog'i (7) mahkam yopiladi. Avtoklavga ikkita manometr o'rnatilgan (5), biri kameradagi bosimni ko'rsatadi, ikkinchisi devorlar orasidagisini. Avtoklav gaz yoki elektr bilan qizdiriladi. Suv qaynaganda hosil bo'lgan par ichki devorning yuqori qismida joylashgan teshikdan (6) qozon ichiga kiradi va havoni suv tushiradigan klapanidan (11) chiqara boshlaydi.

Havo to'la siqilib sterilizatsiyalash kamerasidan chiqib ketgandan so'ng kuchli par oqimi chiqqa boshlaydi. Shunda suv tushiriladigan kran (11) yopiladi, avtoklavda sekin-asta bosim ko'tarila boshlaydi. Manometrlar 1 atm. bosimni ko'rsatganda parning haroratsi 120-121 °C ga ko'tariladi. Shu daqiqadan boshlab sterilizatsiyalash vaqti belgilanadi.

Ko'pincha sterilizatsiyalash vaqti 20 min. Agar ozuqa muhitlarning hajmi 1 litrdan ortiq bo'lsa yoki tarkibida tuproq, qum bo'lsa sterilizatsiyalash vaqti 40 minutga boradi. Manometr strelkasi kerakli bosimdan o'tib ketsa, ortiqcha hosil bo'lgan par, saqllovchi klapandan (4) chiqib turadi.

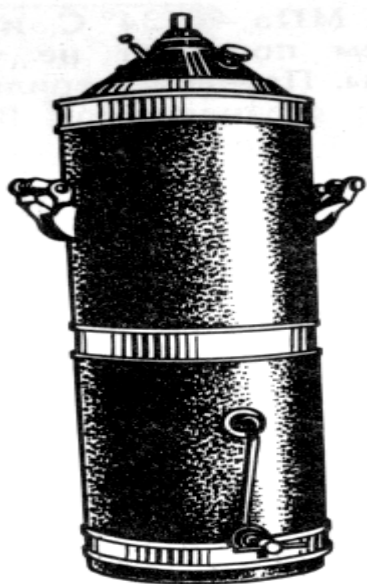
Agar saqllovchi klapandan par xushtak bilan chiqqa boshlasa, avtoklavni darhol o'chirish lozim. Sterilizatsiyalash vaqti tugagach, qizdirish to'xtatiladi va manometrni strelkasi nolga tushgandagina suv tushiriladigan kran (11) ochiladi. Agar kran oldinroq ochib yuborilsa, idishlardagi ozuqa muhitlari qattiq qaynab, ko'tarilib tiqinlarni ho'l qiladi yoki tiqinlar otilib chiqib ketib, idishlardagi suyuqlik to'kilishi mumkin.

Manometrning ko'rsatishi MPa	To'yingan parning haroratsi °C	Manometrning ko'rsatishi MPa	To'yingan parning haroratsi °C
0,00	100	0,15	128
0,05	112	0,20	134
0,10	121	0,30	144

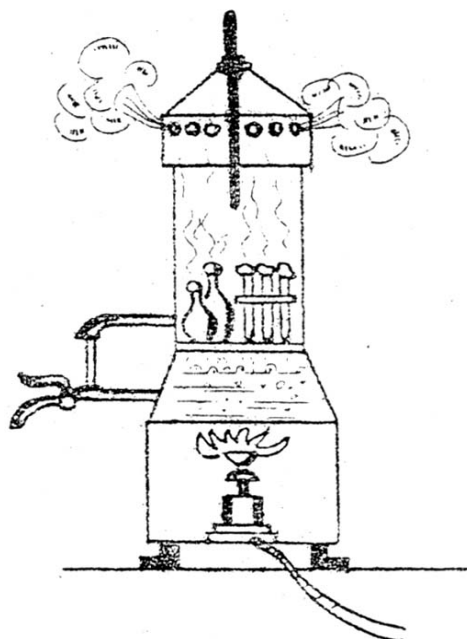
Vaqtdan oldin qopg'og'ni ochishga ruhsat etilmaydi, chunki chiqqan par oqimi terini kuydirishi mumkin.

Oquvchan par yordamida Kox apparatida sterilizatsiyalash. Kox apparati metallardan yasalgan silindirdir. Uning tashqi tarafi issiqlikni izolyatsiya qiladigan material (asbest, linoleum) bilan qoplangan (2- va 3-rasm).

Silindrning tagligigacha suv quyiladi. Sterilizatsiya qilinadigan materiallarni hamma devorlari teshikchali g'ovaklardan tuzilgan, Kox apparatining tagligi ustiga qo'yiladi. Silindrning qopqog'i konus shaklida bo'lib, unda par chiqib turishi uchun teshikchalar qilingan. Energiya manbaasi - gaz yoki elektr bo'lishi mumkin. Kox apparatidagi harorat 100 °C dan oshmaydi.



2-rasm. Kox apparati
(oquvchan parli)



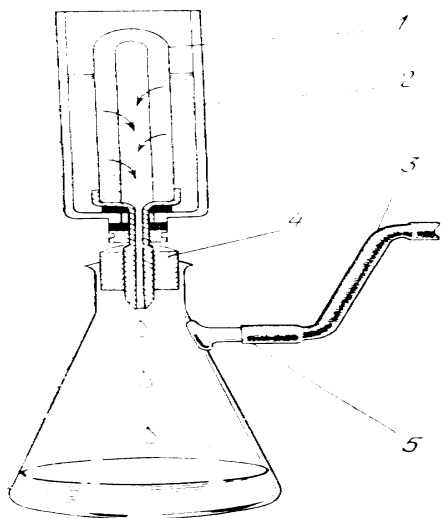
3- rasm. Gaz bilan isitiladigan Kox apparati

Oquvchan par bilan harorat 100 °C dan oshganda tarkibi o'zgaradigan ozuqa muhitlarini (masalan qantli muhitlarni) sterilizatsiya qilinadi. Bu usulda sterilizatsiyalash 3 kun davomida ketma-ket 30 minutdan 100 °C da qizdiriladi. Birinchi kun 30 min qaynatganda mikroblarning hamma vegetativ hujayralari o'lib, sporalari esa saqlanib qoladi. Ertasiga ko'pchilik sporalari o'sib vegetativ hujayralarga aylanadi, yana 30 min sterilizatsiya qilinganda ular o'ladi. Tirik qolgan sporalari yana o'sib vegetativ hujayraga aylanadi. Uchinchi kuni qaynatganda ular ham o'ladi. Suyuqlik hajmiga qarab qizdirish vaqtini 45-60 minutgacha ko'paytirish mumkin.

Quruq issiqlik bilan Paster pechkasida sterilizatsiyalash. Paster pechi ikki devorli shkaf bo'lib, tashqi devori asbest yoki boshqa issiqqa chidamli, issiqlikni izolyatsiya qiladigan boshqa material bilan qoplangan (4-rasm). Elektroenergiya yordamida shkaf qizdiriladi. Sterilizatsiyalash 140°C dan yuqori haroratda olib boriladi. Bu usulda $160-170^{\circ}\text{C}$ da 1,5 - 2 soat davomida shisha idishlar, paxta, qog'oz, qum va boshqa materiallar sterilizatsiyalanadi. Sterilizatsiya qilinadigan idishlarni tozalab yuvib, qurutib, qog'ozga o'raladi. Probirka, kolba, pipetkalar paxta tiqinlar bilan berkitiladi.

Filtrlab sterilizatsiyalash (sovuq sterilizatsiyalash).

Ozgina qizdirishga ham bardosh bermaydigan suyuq ozuqa muhitlarini maxsus mayda g'ovakli (porali) bakterial filtrlar yordamida sterilizatsiya qilinadi. Bakterial filtrlar yuzasida mexanik aralashmalar bilan birga mikroorganizmlar ham ushlanib qoladi.



4-rasm. Keramika shamlari orqali filtrlash:

1 - sham; 2 – shisha idish; 3 – qalin trubkadan yasalgan rezinka; 4 – rezinka tiqin; 5 – paxta tiqin.

Faqat viruslar va faglar undan o'tib ketadi. Filtrlash yo'li bilan tarkibida oqsillar, antibiotiklar, vitaminlar va uchuvchan moddalari bor ozuqa muhitlarni sterilizatsiya qilinadi. Bunda muhit tarkibi va xususiyatlari o'zgarmay saqlanadi. G'ovak filtrlardan Shamberlan, Berkefeld shamlari (4-rasm), Zeytsning asbest filtrlari va nitrosellyulozadan yasalgan membrana filtrlari qo'llanadi. Filtrlashni yuqori bosimda yoki filtr tagidagi bo'shliqqa vakuum yaratib olib boriladi.

Filtrlar ishlatilish oldidan sterilizatsiya qilingan bo'ladi. Filtrlangan suyuqlikni sterillik qoidalariga rioya qilib, oddiy sterillangan kolbaga quyib, tiqinini berkitib, qog'oz bilan o'rab qo'yiladi.

Qaynatib sterilizatsiyalashni maxsus ichiga distillangan suv va 1 foizlii natriy gidrokarbonati qo'shilgan sterilizatorlarda olib boriladi. Distillangan suv buqlansa, qaynatilgan suv quyish mumkin. Sterilizator tagiga tekislab paxta yoki marlini yoyib, ustiga shprits, nina, pintset, qaychi, skalpel va boshqa narsalar solinadi va 10 minutdan 40 minutgacha qaynatiladi (ifloslangan darajasiga qarab).

Bu sterilizatsiyalashni turmush sharoitida sanatoriya, dam olish uylarida, kasalxonalarda, turli transport vositalarida ham qo'llaniladi.

Olovda cho'g' qilib qizdirib sterilizatsiyalash yoki flambirovanie qilish. Bu usul mikrobiologik nina ushlovchini, Paster pipetkalarini, pintsetlarni va boshqa olovda buzilmaydigan predmetlarni sterilizatsiyalash uchun qo'llaniladi.

Shisha idishlarni sterilizatsiyalash. Idishlarni sterilizatsiyalashdan oldin tozalab yuvib quritiladi. Probirka va kolbalar paxta tiqinlar bilan yopiladi. Probirkalarni 10, 20, 30, 40 donadan qog'ozga o'raladi. Kolbalarining tiqinlari ustidan yana qog'oz bilan o'rab, ip bilan bog'lab qo'yish kerak. Pipetkalarining og'izga soladigan tomoniga paxta tamponlar tiqiladi. Pipetkalarini uzun eni 4-5 sm li qog'ozlarga o'raladi va qopqoqli

karton yoki metall dan yasalgan penallarga solinadi. Agar penallar bo'lmasa, qalin qog'ozdan penallar yasash mumkin. Sterilizatsiya qilingan pipetkalarni faqat tamponli tomonidan ushlab turish mumkin. Petri likobchalarini har birini alohida yoki 2-3 donadan qog'ozga o'rash kerak.

Tayyorlangan idishlarni quritish shkafining reshetkalariga yoki avto-klavga solganda juda zich joylashtirish kerak, chunki quruq havo va quruq to'yingan par bir tekisda idishlarni qizdirishi kerak. Quritish shkafi zich, mahkam yopilishi kerak. Agar quritish shkafida haroratni birdek saqlay-digan moslamasi bo'lmasa, sterillashda doim haroratga qarab turish kerak. Haroratni 175°C dan oshirmaslik lozim, chunki qog'oz va tiqinlar buziladi. Idishlar yorilib ketmasligi uchun sterilizatsiya tugagandan keyin shkaf $100-70^{\circ}\text{C}$ gacha sovushi kerak, shundagina idishlarni chiqarib olish mumkin. Steril idishlarni o'ragan qog'ozlarni bevosita ishlash oldidan ochish kerak, aksida sterillik buzilishi mumkin.

Asbob va uskunalarni sterilizatsiyalash. Mayda metall asboblarni (ilmoq, igna, pintset, qaychilarni) sterilizatsiyalash uchun ishlatishdan oldin olovda qizdirib olinadi. Olovda qisqa muddatda kolba va probirkalarning og'zini hamda kulturalarni ekishda, ozuqa moddali muhitlarni quyishda paxta tiqinlar ham qizdiriladi.

Mikroorganizmlar o`stiriladigan uskunalarni, ularning qismlarini, rezina tiqinlarni, ulaydigan shlangalarni dastlab qalin qog`ozga o`rab, avtoklavda sterilizatsiya qilinadi.

Issiqqa bardoshli bo'lmagan plastmassadan yasalgan toza tsentrifuga probirkalarini ultrabinafsha nurlar yordamida sterilizatsiya qilinadi.

Pasterizatsiyalash usullari

Pasterizatsiyalashni yoki chala sterilizatsiyalashni Lui Paster taklif etgan. Bu usul oziq-ovqat sanoatida keng qo'llanadi. Pasterizatsiyalashda asosan kasal keltiruvchi - patogen mikroorganizmlar va vegetativ hujayralar haloq bo'lib, ozuq muhitlarni, oziq-ovqatlarni va boshqa mahsulotlarni sifati saqlanib qoladi. Pasterizatsiyalashning 2 turi mavjud: uzoq muddatli va qisqa muddatli.

Uzoq muddatli pasterizatsiyalashda mahsulot 60-70 °C haroratda 15-20 min davomida qizdiriladi.

Qisqa muddatli yoki darhol - bir onda pasterizatsiyalash oziq-ovqatlar ishlab chiqarishda keng joriy etilgan (masalan: sut, turli sharbatlar ishlab chiqarishda). Mahsulot 90-100 °C da bir necha sekunddan boshlab 1-3 minutgacha qizdiriladi. Pasterizatsiyalashda issiqqa chidamli mikroorganizmlarning vegetativ formalari va sporalar tirik qoladi. Shu sababli pasterizatsiyalangan mahsulotlarni uzoq vaqt saqlab bo'lmaydi.

Ultrasterilizatsiyalashni sutni zararsizlantirish uchun qo`llaniladi. Mahsulot 150 °C da 1 sekund qizdiriladi. Bunda vitamin S-ni parchalaydigan oksidlovchi jarayonlar to`xtaydi va sutning sifati uzoq vaqt saqlanadi.

Nazorat savollari

1. Sterilizatsiya nima? 2. Sterilizatsiya qilishning qanday usullari mavjud? 3. Laboratoriya idishlari qanday sharoitda sterilizatsiya qilinadi? 4. Pasterizatsiya nima? Pasterizatsiyaning qanday usullari bor?

3 – LABORATORIYA ISHI (4 soat)

BAKTERIYALARNING ASOSIY XOSSALARI VA BELGILARI

Ishdan maqsad:

Agarli muhitda o'sgan bakteriyalar koloniyasini kattaligini, cheti va yon tomondan ko'rinishini o'rganish va ularga ta'rif berish; bakteriya preparatini tayyorlash, hujayra shaklini, harakatchanligini, sporasi borligini aniqlash.

Reaktiv va asboblari:

1. Biologik mikroskop; 2. Spirt lampasi; 3. Buyum oynasi; 4. Bakterial ilmoq; 5. Bo'yoqlar; 6. Suvli idish; 7. Bakteriya koloniyasi bor Petri likopchasi.

Mikroorganizmlarni sistematikasida qo'llanadigan belgilar

Har qanday mikroorganizm faqat sof kulturasida o'rganiladi. Sof kulturalarning morfologik-tsitologik, kultural va fiziologik-biokimyoviy xossalari o'rganiladi. Ana shu xossalariga asoslanib, mikroorganizmlarni tasniflash va taksonomik joylashuvini (taksonomik holatini) aniqlash mumkin.

Mikroorganizmlarni shakli va o'lchami, ularning bir-biriga nisbatan joylashuvi, Gram usulida bo'yalishi, spora va kapsulalar hosil qilishi, harakatchanligi, xivchinlarining joylashishi, hujayralarida ayrim qo'shilmalar hosil bo'lishi ularning morfologik-tsitologik belgilaridir. Kultural belgilar – mikroorganizmlarning qattiq va suyuq ozuq muhitida o'sish xossalari. Fiziologik-biokimyoviy belgilarini o'rganishda ularning uglerod va azotning turli manbalariga munosabati, kislorodga talabi, o'sish temperatura chegaralari, sho'rga chidamliligi, safroga chidamliligi, antibiotiklarga sezgiriligi, fermentativ testi aniqlanadi. Shuningdek, qo'shimcha belgilaridan serologik, fagochidamlilikni, hujayralar devorining kimyoviy tarkibini, DNKdagi alohida nukleotidlarning miqdorini ham hisobga olish tavsiya etiladi.

Binobarin, mikroorganizmlarning sistematik holatini aniqlash uzoq vaqt kuzatiladigan, juda ko'p o'ziga hos tadqiqot ishlari olib boriladigan va biokimyoviy analizlar o'tkaziladigan murakkab vazifadir.

Mazkur qo'llanmada mikroorganizmlarni tasniflashda ko'p foydalaniladigan belgilar bayon etilgan. Ularni o'quv laboratoriyalarida va sanoatdagi mikrobiologik laboratoriyalarida va sanoatdagi mikrobiologik laboratoriyalarida bimalol bajarish mumkin.

Bakteriyalarning morfologik belgilar

Ko'pchilik bir xujayrali mikroorganizmlar bakteriyalar guruhiga kiradi. Ularning shakli, yirik-maydaligi va ulardagi moddalar almashinuvi turlichadir. Bakteriyalar - prokariotlardir, ularning ajralib turadigan yadrosi bo'lmaydi. Yadro moddasida va hujayradagi boshqa organellalarda tsitoplazmadan ajratib turadigan maxsus membranalar yo'q. Tashqi ko'rinishiga qarab bakteriyalar uchta asosiy guruhga bo'linadi: sharsimon, tayoqchasimon yoki tsilindrsimon va buralgan. O'z navbatida ular ham shakli bo'yicha xar xil turlarga bo'linadi. Yana bakteriyalarning bir xujayrali va ko'p xujayrali ipsimon, shoxlangan hamda yon o'simtali turlari ham mavjud. So'nggi

yillarda turli substratlardan yana halqasimon, yulduzsimon, chuvalchangsimon va boshqa shakllari ham ajratib olingan.

Bakteriyalar o'lchami. Kokk shaklli bakteriyalarning o'rtacha diametri 1-25 mkm ga teng, tayoqchasimon bakteriyalarning eni o'rtacha 0,5-1 mkm, uzunligi 1-5 mkm, ba'zan 8-12 mkm dir. Ammo juda maydalari – pigmeylar (0,12-0,25 mkm) va juda yirik bakteriyalar (500 mkm) ham bor. Vibrionlarning o'lchami 1,5-3 x 0,5; spirillalarniki - 2-60 x 0,2-1,7; spiroxetalarniki -5-500 x 0,2-0,75 mkm ni tashkil qiladi.

Bakteriyalar sporasi va ularni bo'yash usullari

Ba'zi tayoqchasimon bakteriyalarda - batsillalarda spora hosil bo'ladi. Spora tinch xolatidagi hujayradir. Uning qobig'i vegetativ hujayraning qobig'iga nisbatan ancha qalin va pishiq bo'ladi, tarkibida suv kam bo'lib, kaltsiy va dipikolin kislotasi mavjudligi sababli tashqi muhit ta'siriga ancha chidamliroqdir. Bakteriyalar hujayrasida faqat bitta spora hosil bo'ladi. Spora hosil qilish bakteriyalarning tashqi muhitga moslashish uchun kurash qobiliyatidir.

Sporalar bir qator morfologik, tsitologik va fiziologik xossalari bilan vegetativ hujayralardan farq qiladi.

“Ezilgan” yoki “osilgan tomchi” preparatlaridagi tirik hujayralardagi sporalar yorug'likni sindirish ko'rsatkichi eng yuqori ekanligi bilan farq qiladi, shuning uchun ular mikroskopda (hujayralar ichida) yumaloq yoki oval shakldagi qoramtir yoki yaltiroq hosila shaklida ko'rinadi. Eski kulturalarda sporalar hujayradan tashqarida yumaloq yoki bir oz cho'ziq mayda yaltiroq tanachalarni eslatadi.

Bakteriyalarni tasniflash uchun ularning spora hosil qilish turini (batsilla, klostridiy yoki plektridiy), hujayrada sporasining joylashuvini (markazda, terminal yoki qutiblarda, subterminal yoki ekstsentral), erkin sporalar shaklini (yumaloq,aval, tsilindrsimon) va o'lchamni aniqlash zarur. Bular ikki yoki uch kunlik kulturalar hujayrasidan aniqlanadi.

Sporalar maxsus murakkab usullarda bo'yaladi, chunki asosiy bo'yoqlar ularning ko'p qavatli qobig'idan qiyin o'tadi. Sporalar qobig'ini yumshatish uchun surtmalar kuchli bo'yoqlarda va isitib turib bo'yaladi, keyin tsitoplazmasi rangsizlantiriladi va qo'shimcha ravishda kontrast rangga bo'yaladi.

Peshkov usulida bo'yash. Bakteriyalarning 2-3 kunlik kulturasidan tayyorlangan yupqa surtma gorelka alangasida yoki 5 qism 40 foizli formalin bilan 95 qism 96 foizli etanolning aralashmasida 15 minut davomida fiksatsiyalanadi. Keyin ustiga Lyoffler bo'yicha metilen ko'ki quyib, buyum oynasini gorelka alangasi ustida tutib turiladi. Bo'yash 10-20 sekund davom etadi. Bo'yovchi suyuqlik bug'langan sari yangisi ozozdan qo'shib turiladi. Keyin preparatni yaxshilab yuvib, 30 sekund davomida neytral qizilning 0,5% li suvli eritmasida qo'shimcha bo'yaladi. Preparatni yana suv bilan yaxshilab yuvib, quritiladi va immersion ob'ektivda kuzatiladi. Bunda sporalar havorang yoki ko'k rangda, yosh sporalar to'q-qoramtir, vegetativ hujayralar tsitoplazmasi pushti yoki qizil rangda bo'lib ko'rinadi.

Zlatogorov usulida bo'yash. Bunda spora hosil qiluvchi bakteriyalardan tayyorlangan surtma ochiq havoda quritiladi. Sporalarini fiksatsiyalash va qobig'ini

yumshatish uchun surtma 10 marta goretka alangasidan o'tkaziladi. So'ng preparat ustiga filtr qog'oz lentachasini yopib, ustiga TSilning karbolli fuksini quyiladi, keyin bug' hosil bo'lguncha (lekin qaynamasligi kerak) 8-10 minut davomida isitiladi. Bunda bo'yovchi modda bug'lanib ketishi, lekin qog'oz qurib qolmasligi muhim ahamiyatga ega. SHuning uchun davriy ravishda bo'yovchi moddadan qo'shib turish kerak. So'ngra qog'ozni olib tashlab, preparat 6-10 sekund davomida sulfat kislotaning 5 foizli eritmasi bilan rangsizlantiriladi va suv bilan yuviladi. Natijada vegetativ hujayralar rangsizlanadi, keyin ular Lyofflarning metilen ko'ki bilan 2 minut davomida qo'shimcha bo'yaladi. Surtmani yana qaytadan yuvib, filtr qog'oz bilan quritiladi va mikroskopning immersion ob'ektivida kuzatiladi. Preparat tayyorlashda bo'yash ishlari to'g'ri bajarilsa, sporalar och qizil rangga kiradi va tsitoplazmaning havorang fonida aniq ko'rinib turadi.

Kapsulalarni bo'yash

Uglevodlarga boy bo'lgan va azot kam bo'lgan muhitda ayrim bakteriyalar o'sayotganda shilimshiq kapsula hosil qiladi. Bunday bakteriyalarda kapsula mavjudligi ularning tur belgisi bo'lib, tashxis ahamiyatga ega. Har xil turdagi bakteriyalarning kapsulasi o'lchami (yirik-maydaligi) va kimyoviy tarkibiga ko'ra bir-biridan farq qiladi, sust (kuchsiz) bo'yaladi va bo'yashda shakli oson o'zgaradi. Kapsulalarni aniqlash uchun negativ kontrastlash usuli, Olt va Mixin usullari qo'llanadi.

Olt usuli. Bunda surtma safranining 2-3 foizli eritmasi bilan bo'yaladi. Bo'yovchi eritma bevosita ishlatishdan oldin tayyorlanadi. Buning uchun bo'yoq moddani issiq suvda eritib, keyin filtrlanadi. Surtma bir oz isitib turib, 1-3 minut davomida bo'yaladi va tezda suv bilan yuviladi. Preparat quritilmaydi, unda suv bo'lishi kerak. Keyin ustiga qoplag'ich oyna yopib, mikroskopning immersion ob'ektivida ko'riladi. Bunda yorug'lik nuri suv qatlamidan o'tib, kapsula va mikroob hujayrasining tanasida nur sinishining farqini ko'paytiradi. Mikroskopda qaralganda, mikroob hujayralari tanasi qizil rangga, kapsulalar sariq rangga bo'yalgani yaqqol ko'rinadi.

Mixin usuli. Fiksatsiyalangan surtma isitib turib, 2-3 minut davomida Lyofflarning metilen ko'ki (yaxshisi eski eritma) bilan bo'yaladi. Keyin tezda suv bilan yuvib quritiladi. Mikroskopda qaralganda mikroob hujayralarining tanasi qoramtir, kapsulalar och-pushti rangda ko'rinadi.

Bakteriyalarning harakatchanligi o'rganish va xivchinlarini bo'yash

Bakteriyalar orasida harakatlanadigan va harakatlanmaydigan turlari mavjud, Ko'pincha, bakteriyalar xivchinlari yordamida harakatlanadi. Faqat spiroxetalar tanasini bukib harakatlanadi. Xivchinlar tsitoplazmadan ip shaklida o'sib chiqqan o'simta bo'lib, yo'g'onligi 0,02-0,05 mkm ga teng, ammo hujayraga nisbatan ancha uzun, ba'zan 10 va undan ham ko'proq marta uzun bo'ladi. Xivchinlarning joylashuvi va soni turli bakteriyalarda har xildir (2-rasm).

Bakteriyalarning harakatlanishini "muallaq" yoki "osilgan tomchi" preparatida kuzatish qulay. Buning uchun bulon yoki agarda 6-12-18 soat davomida o'stirilgan yosh kulturalardan foydalaniladi. Mikroskopda qaraganda hujayralar har xil yo'nalishda va turlicha tezlikda harakatlanayotgani yaxshi ko'rinadi. Hujayralarning mustaqil

harakatidan farq qilib, muallaq zarrachalar va harakatlanmaydigan hujayralarning broun harakati mavjud bo'lib, u bir joyda tartibsiz tebranishdan iborat.

Peshkov modifikatsiyasi bo'yicha Lyoffler usulida bo'yash. Bunda bakteriyalar kulturasini 2-3 kun davomida har kuni tarkibida 1,5 foizgacha agar bo'lgan qattiq yoki suyuq muhitga ekiladi. Hujayralar ehtiyotlik bilan ilmoqda olib, ichiga sterillangan suv quyilgan, harorati kultura o'stirilgan muhitniki bilan bir hil bo'lgan probirkaga solinadi. Hosil bo'lgan suspenziya tomchisi mikroskopda qaralganda, hujayralarning serharakatligiga va suspenziyaning zichligi ko'rish maydonida 5-10 ta hujayrani tashkil etishga ishonch hosil qilinadi. Surtma tayyorlashdan oldin buyum oyna 3-4 marta gorelka alangasi ustidan o'tkaziladi, keyin sovutilib ustiga bakteriya hujayralari suspenziyasidan paster pipetkasida yoki ilmoqda 3-4 tomchi tomiziladi. Tomchilar buyum shishasi ustida yoyilib ketib, tezda qurishi kerak. Agar uzoq vaqtda qurisa, ko'pincha bakteriyalarning xivchinlari tushib ketadi. Quritilgan surtma ustiga yumshatkich (protrava) quyiladi, isitmasdan 15 minut davomida saqlanadi, keyin distillangan suv bilan yuviladi. So'ng preparat 5 minut davomida **Tsilning** suvga aralashtirilgan (1:1) fuksini bilan bo'yaladi. Bunda surtma bo'yoqqa botirib qo'yiladi. Keyin suv bilan yaxshilab yuvib, quritiladi va mikroskopning immersion ob'ektivida qaraladi. Bunda bakteriyalar xivchinining joylashuviga, ularning soniga va uzunligiga e'tibor beriladi.

Hujayradagi kiritmalarni bo'yash

Glikogeni bo'yash. Mikroblar hujayrasi tsitoplazmasida ko'pincha hayvon kraxmali - glikogen uchraydi. U polisaxarid hisoblanadi. Bir tomchi kulturaga bir tomchi Lyugol eritmasi tomizib, uning borligini bilish mumkin. Bunda glikogen Lyugol eritmasi bilan birikib, qizil-qo'ng'ir rangga kiradi. Agar muhitda etarli miqdorda uglevodlar bo'lsa, glikogen to'planadi.

Granulyozani bo'yash. Granulyoza – kraxmalga o'xshagan polisaxarid. Hujayralar spora hosil qilishi oldidan granulyoza miqdori ko'p bo'ladi. Glikogen singari, granulyoza ham Lyugol eritmasidan ta'sirchan bo'ladi. Uning ta'sirida qoramtir rangga kiradi. Yog'larni bijg'ituvchi bakteriyalar tarkibida granulyoza ko'p miqdorda bo'ladi. Kartoshkali muhitda o'stirilgan yog'larni bijg'ituvchi batsillalar kulturasidan bir tomchi olib, tarkibidagi granulyozani aniqlash uchun ustiga bir tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi va qoplovchi oyna bilan yopiladi. Mikroskopning immersion sistemasida ko'rilgan, ko'k rangga bo'yalgan urchuqsimon hujayralari ko'rinadi. Bunday hujayralarning bir uchida bo'yalmagan sporalar joylashgan bo'ladi.

BAKTERIYALAR MORFOLOGIYASINI O'RGANISH

Laboratoriya ishini bajarish usuli: 1. Quyuq ozuqa muhitli Petri likobchasida o'stirilgan bakteriyalar koloniyasini o'rganish va ta'rif berish; natijalarni 1-jadvalga yozib qo'yish.

Bakteriyalarning qattiq muhitda o'sishi. Mikroorganizmlarni tasniflash maqsadida Petri likopchasidagi quyuq muhitga va probirkadagi qiya agarga toza kultura ekiladi. Petri likopchasida bakteriyalar yuzada, chuqurda va tubida o'sayotgani farq qilinadi.

Bakteriyalar koloniyasining kultural belgilari

Aniqlanadigan koloniya belgilari	Koloniylar tartib raqami				
	1	2	3	4	5
Kattaligi					
Rangi					
Tuzilishi					
Qirg'oqlari					
Yuzasi					
Tiniqligi					
Strukturasi					
Yonidan ko'rinishi					
Konsistentsiyasi					

Yuzada bir-biridan nari o'sayotgan koloniyalar o'rganiladi, ta'riflanadi va quyidagi belgilari aniqlanadi:

kattaligi (diametr) – millimetrlı lineykalarda o'lchanadi: maydalari – 1...2 mm; o'rtanchasi - 2...4mm; yiriklari – 4mm va undan katta; juda maydalari, nuqtalari, katta nuqtalari – 1 mm dan kichik;

koloniya va koloniya osti substratining rangi (oqdan qoragacha) - oq, sariq, limon rang, to'q sariq, qizil;

shakli – dumaloq, oval va h.zo. bo'ladi (1-rasm);

koloniyalar qirg'og'i – kerak bo'lsa lupa yordamida ko'riladi (2-rasm);

yuzasi – silliq, donador, bujmaygan, do'ngli, xira, yaltiroq, nam, quruq va b.q.bo'ladi;

tiniqligi – shaffof, yarim shaffof, shaffof emas bo'ladi;

koloniya strukturasi – bir tekis, mayda donador, tolali bo'ladi;

yonidan ko'rinishi – bukilgan, tomchisimon, tekis, do'ngli, botiq bo'ladi (3-rasm);

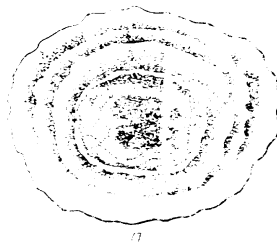
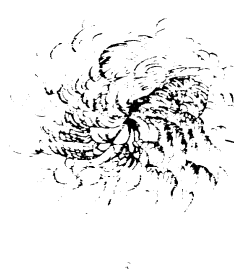
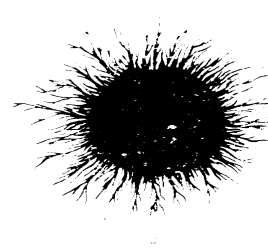
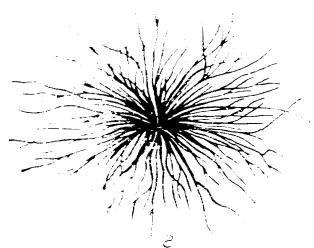
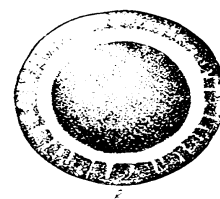
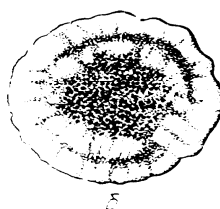
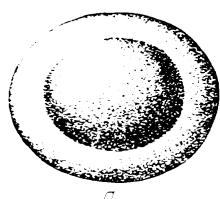
konsistentsiyasi (uni bakterial ilmoq yordamida aniqlanadi) – quyuq, yumshoq, shilmshiq, cho'ziluvchan, xamirsimon va b.q. bo'ladi.

Tashqi ko'rinishidan bitta belgisi bilan ham ajralib turadigan koloniyalarni har xil deb qarash kerak. Har bir turdagi bakteriya o'ziga xos belgilarga ega koloniyalardan iborat bo'ladi, shuning uchun Petri likopchasidagi koloniyalar soniga qarab tekshirilayotgan oziq-ovqat mahsulotini qandayligiga baho berish mumkin.

2. Bakteriyalar shaklini va spora hosil qilishini aniqlash. Buning uchun bakteriya preparati tayyorlanadi, oddiy bo'yaladi va uni mikroskop ostida ko'riladi. Natijalarni 2-jadvalga yozib qo'yiladi va sxematik rasmi chiziladi.

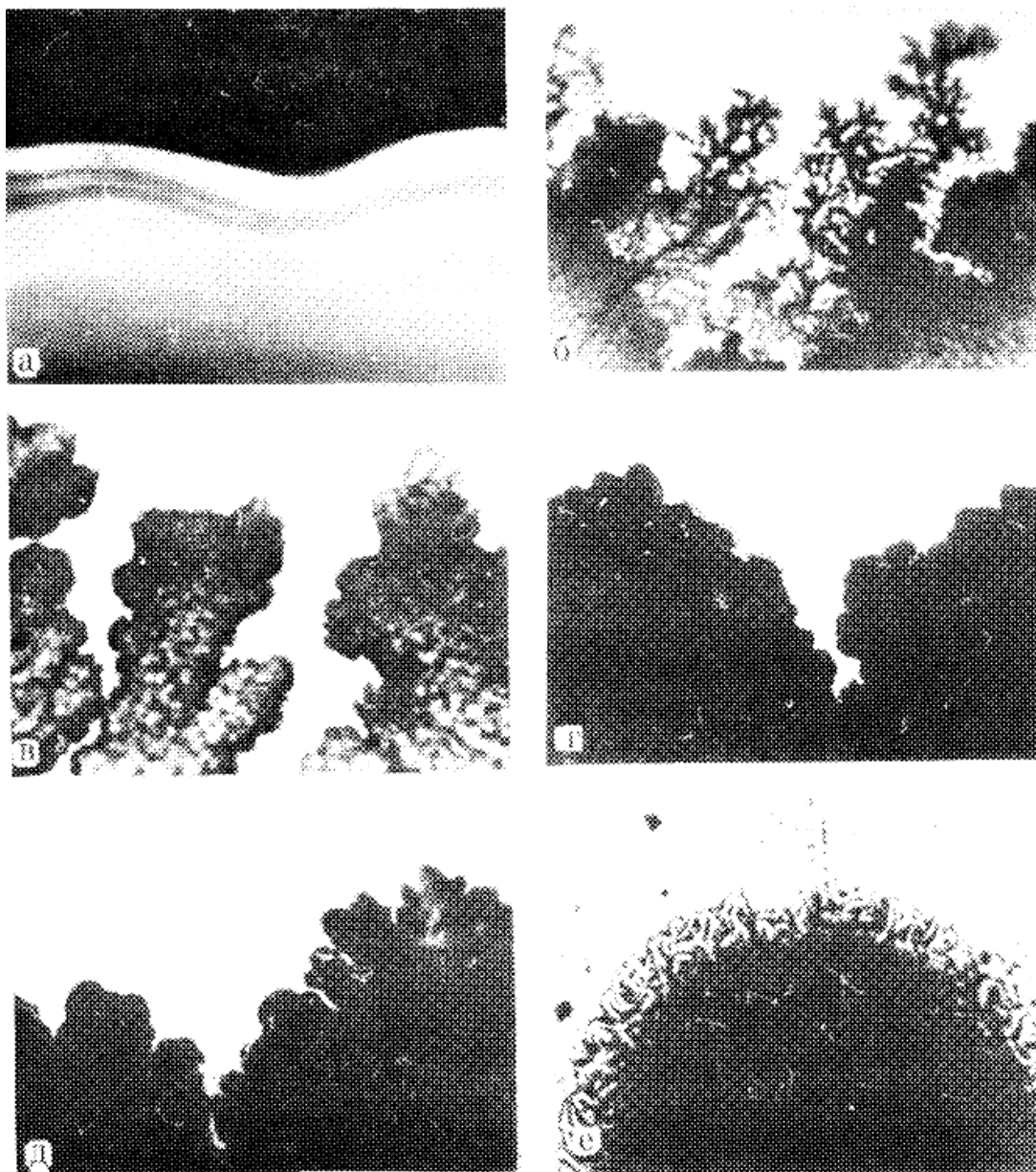
Bakteriya hujayrasining shakli va spora hosil bo'lishi

Koloniya tartib raqami	Hujayraning shakli	Hujayraning o'zaro joylashishi	Spora hosil bo'lishi

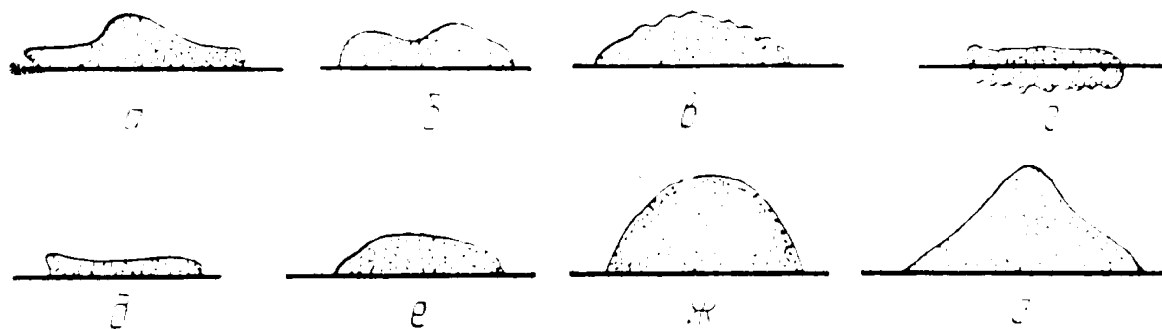


1-rasm. Bakteriya koloniyalarining shakli:

a - yumaloq; *b* - yumaloq, qirg'oqlari festonli; *v* - yumaloq, qirg'oqlari dolg'achali; *g* va *d* - rizoidli; *e* - yumaloq, qirg'oqlari rizoidli; *j* - amyobasimon; *z* - ipsimon; *i* - burmali; *k* - noto'g'ri; *l* - kontsentrik; *m* - murakkab



2-rasm Mikroblar koloniyalarining qirg'og'i



3-rasm Koloniyalarning yon tomonidan ko`rinishi:

a - bukiq, qayrilgan; *b* - kratersimon; *v* - g`adir-budir; *g* - agarga o`sib kirgan; *d* - tekis; *e* - bo`rtma; *j* - tomchisimon; *z* -konussimon

Nazorat savollari

1. Bakteriyalar hujayrasining shakli qanday bo'ladi? **2.** Bakteriyalar o'lchami qanday? **3.** Qanday bakteriyalar spora hosil qiladi? **4.** Bakteriyaning spora hosil qilishi va ularni bo'yash usullari qanday? **5.** Bakteriyada spora nima uchun hosil bo'ladi? **6.** Bakteriyalar qanday harakatlanadi? **7.** Bakteriyalarning harakatchanligini qanday usulda o'rganiladi? **8.** Har xil sondagi xivchinli bakteriyalar qanday nomlandi? **9.** Kapsulalar qanday bo'yaladi?

4-LABORATORIYA ISHI (8 soat)

MOG`OR ZAMBURUG`LARINING ASOSIY XOSSALARI VA BELGILARI

Ishdan maqsad:

Agarli muhitda o`sgan mog`or zamburug`larini ko`rinishini o`rganish va kultural belgilariga ta`rif berish; mog`or zamburug`i preparatini tayyorlash. Ularning qaysi turkumga taaluqligini aniqlash.

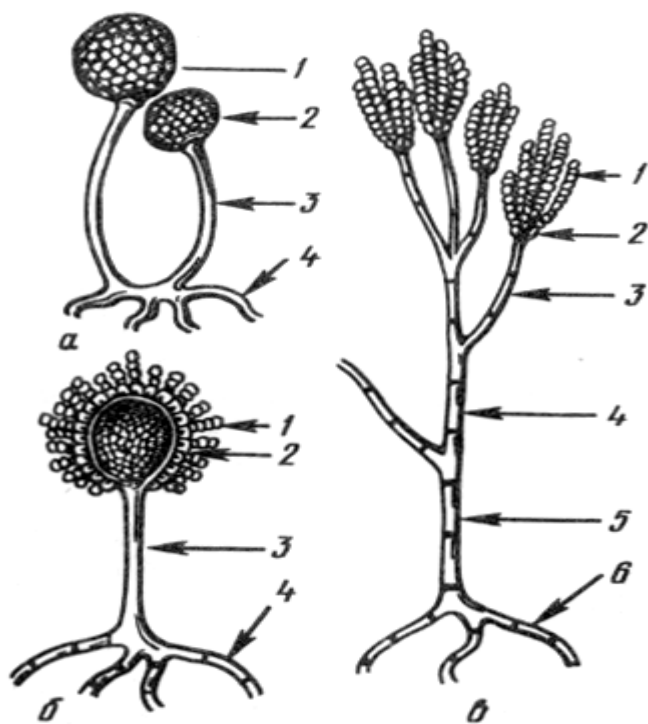
Reaktiv va asboblari:

1. Biologik mikroskop; 2. Spirt lampasi yoki gaz gorelkasi; 3. Buyum oynasi; 4. Yopqich oyna; 5. Ignalar; 6. Bo`yoqlar; 7. Suvli idish; 8. Mog`or zamburug`i bor Petri likopchasi; 9. Lupa.

Zamburug`lar (mikromitsetlar) eukariot organizmlarning katta gruppasini o`z ichiga oladi. Eng sodda zamburug`larning vegetativ tanasi qobiqsiz bitta hujayradan iborat bo`ladi. Mitseliyli turlarining ko`pchiligida bu hujayra shoxlanuvchi ingichka ipchalar - **gifalar** chigalidan iborat bo`lib, **mitseliy** hosil qiladi.

Mog`or zamburug`lari xlorofilsiz mikroorganizmlardir. Shuning uchun ular faqat organik birikmalar uglerodidan foydalanib oziqlanadi, ya`ni ular geterotroflardir. Aerob zamburug`lar turli substratlar yuzasida, faqat kislorod mavjudligida yashaydi. Hujayralarida differentsiyalangan yadrosi bor. Mog`or zamburug`lari oziqa muhitiga talabchan emas, ya`ni muhit tanlamaydi, past temperaturaga yaxshi chidaydi, muzlatkich kameralarda ham yashab, ko`paya oladi. Ular orasida saprofitlar ham, parazitlar ham uchraydi. Zamburug`lar olti sinfga bo`linadi: xitridiylar (*Chytridiomycetes*), oomitsetlar (*Oomycetes*), zigomitsetlar (*Zygomycetes*) - bular tuban zamburug`lardir; askomitsetlar (*Ascomycetes*), bazidiomitsetlar (*Bazidiomycetes*) va deyteromitsetlar - takomillashmagan zamburug`lar (*Deuteromycetes*, *Fungi imperfecti*)dir; bular - yuksak zamburug`lardir.

Morfologik belgilari. Mitseliy gifalarning haddan tashqari shoxlangan yopiq sistemasi bo`lib, ichida ko`p yadroli tsitoplazmasi bor. Mog`or hujayrasi septalar (to`siqlar) bilan bo`lishi mumkin va hujayra septalanmagan bo`lishi mumkin. Biroq septalar gifalarni alohida hujayralarga bo`lib yubormaydi, chunki markaziy teshigi bo`lib, tsitoplazma bilan yadro shu teshik orqali erkin o`tib turadi. Shuning uchun zamburug`larning barchasi tsenotsit (bir hujayrali) organizmlar hisoblanadi. Mitseliysida septalar bo`lmagan zamburug`lar tuban, septalar borlari yuksak zamburug`larga kiradi (1-rasm).



1-rasm. Tuzilish sxemasi:

a - mucor (zigomitsetlar sinfi):

- 1 - endosporalar;
- 2 - sporangiy (mevali tana);
- 3 - sporangiy tashuvchi;
- 4 - mitseliy;

b - aspergill (deyteromitsetlar sinfi):

- 1 - konidiyalar (ekzosporalar);
- 2 - sterigmalar; 3 - konidiya tashuvchi; 4 - mitseliy;

v - penitsill (deyteromitsetlar sinfi):

- 1 - konidiyalar;
- 2 - fialidlar; 3 - metula;
- 4 - shox; 5 - konidiya tashuvchi;
- 6 - mitseliy.

Vegetativ mitseliy hosil qiluvchi gifalarining diametri 5 dan 50 mkm gacha va undan katta bo'ladi. Gifalari juda uzun bo'lib, ko'pincha ko'zga ko'ri-nadi. Mitseliysi ozuq mu-hitida o'sganda yuzada (ochiq) va substratga botib o'sgan holda, uning ichida o'sadigan bo'ladi. Ba'zan mitseliy ildizga o'xshash o'simtalar-rizoidlar hosil qiladi. U ana shu o'simtalar yordamida substratga yopishib olib, undan oziq moddalarni so'rib oladi. Mitseliy gifalari uchi hisobiga o'sadi. Ular uzunlashgan sari eski (qarigan) qismlarida vakuolalar hosil bo'ladi, aktiv ravishda ozuq moddalar shimmaydi va asta-sekin o'z-o'zidan erib ketadi.

Mog'or zamburug'larining morfologiyasini o'rganish

Ishning borishi:

Petri likopchasidagi quyuq oziqa muxitiga zamburug' mitseliysi yoki sporasi (konidiyasi) shtrix usulda yoki sanchib ekiladi. 15-25 kun davomida har 2-3 kunda ko'z bilan chamalab kuzatib boriladi. chamalab kuzatib boriladi. Har gal kuzatilganda: koloniyaning o'lchami (yirik-maydaligi), shakli, zich yoki siyrakligi, tashqi chetining tuzilishi, o'rtasining tuzilishi, yuzasi, koloniyalarning, mitseliyning va ko'paytish organlarining rangi, substratning va koloniya tubining rangi, tomchi suyuqlik ajralishi aniqlanadi. Mitseliy hosil qiluvchi zamburug'lar quyuq muhitda yumaloq yoki yuzada keng tarqalgan, substrat ichiga o'sib kirmaydigan, pahmoq, ipsimon, o'rgimchak to'risimon, paxtaga o'xshagan yoki unli koloniyalar hosil qiladi. Ko'pchilik turlarining vegetativ mitseliysi bo'yalmagan. Faqat meva hosil qiluvchi mitse-liysi pigmentli bo'ladi. Shuning uchun yosh koloniyalari oq yoki och kulrang bo'ladi. Meva hosil qiluvchi organlari rivojlana borgan sari koloniyalar sariq, pushti, qizil, yashil, qora va hokazo rangga kiradi.

Shundan keyin mog'orning mitseliysi va ko'paytish organlari mikroskopda o'rganiladi. Bunda stereoskopik yoki oddiy mikroskopda o'rganish va koloniyalarni

bevosita Petri likopchasining o'zidan ko'rish mumkin. Mikroskopda 80-200 marta kattalashtirib qarab, ochiq mitseliylar borligi, ularning xarakteri, xlamidosporalar va sklerotsiylar hosil bo'lishi, sporangiyaband va konidiyabandlarning, boshchalari sporolari va konidiyalarning joylashuvi aniqlanadi. Koloniyaning cheti, pigmentlangan va bo'yalmagan qismlari chegarasi va o'rtasi kuzatiladi.

Mikroskopda ko'riladigan preparatlar qizdirib, so'ngra sovutilgan ikkita preparat oval ignada tayyorlanadi. Ignalarda mitseliyni meva hosil qiluvchi gifalari va yupqa oziqa muhiti bilan birga kichik bo'lakcha shaklida olib, yaxshilab yog'sizlantirilgan buyum oynasidagi 1:1 nisbatda olingan bir tomchi glitserin va etanol aralashmasiga qo'yiladi. Ehtiyotlik bilan, mitseliyning strukturasini buzib yubormasdan, gifalarni ninada to'g'rilab (tekislab), ustiga qoplagich oyna yopiladi va sekin bosiladi. Preparat dastlab 8x yoki 10x, keyin 40x ob'ektivda qaraladi. Meva hosil qiluvchi gifalarning tuzilishi, sporalar (konidiyalar)ning o'lchami, shakli va tuzilishi 600-800 marta kattalashtirib o'rganiladi. Zamburug'lar tirikligida har xil buyoqlar bilan bo'yaladi, biroq ularning kontsentratsiyasi 0,5-1 foizdan oshmasligi kerak. Zamburug'lar hujayrasini kimyoviy o'rganish, hujayralari strukturasini, turli qo'shilmalarni aniqlash, yosh xususiyatlarini aniqlash, yadrolarni topishda achitqilarni o'rganishdagi usullar qo'llanadi.

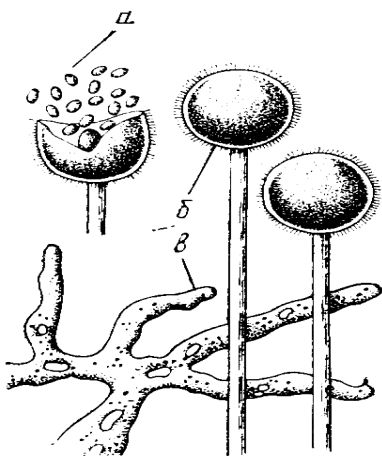
Tuban zamburug'lar. *Mucor* avlodi (2-rasm)ning sporangiyalari yirik, sharsimon bo'lib, yakka, oddiy yoki shoxlanuvchi sporangiyabandlarda joylashadi. Sporangiyabandlarining uchi qubba shaklida shishib, sporangiy hosil qiladi, u to'siq bilan ajralib turadi. Sporangiyalar tashqi tomondan kaltsiy oksalat kristallaridan iborat mayda tikanchalar bilan qoplangan (o'ralgan) bo'ladi. Sporangiyalarda jinssiz yo'l bilan juda ko'p sporalar: yumaloq yoki ellipssimon, silliq, rangsiz, ba'zan och kulrang sporalar hosil bo'ladi. Mog'or zamburug'lari mitseliysining ranggi dastlab oq, keyin och kul-rang, ko'rinishi paxmoqsimon bo'ladi. Alohida gifalarda juda ko'p silliq, rangsiz, yumaloq yoki ellipssimon xlamidosporalar hosil bo'ladi. Mog'or zamburug'lari namdon yuzasida, ildizmevalarda, zax binolar devorida va hokazo joylarda o'sadi. Ba'zi turlari spirtli bijg'ishga moyil; organik kislotalar, ferment preparatlari, karotinoidlar, steroidlar ishlab chiqarishda ana shu turlaridan foydalaniladi.

Rizopus turkumi (3-rasm) shoxchalari - stolonlari yoysimon egilganligi bilan farq qiladi. Stolonlari substratga gifalarining ingichka o'simtasi rizoidlari bilan birikkan (yopishgan) bo'lib, ular ustida sporangiya-bandlar tutami joylashgan. Sporangiyalari yumaloq yoki yassi, dastlab rangsiz, etilganda qorayadi. Sporolari burchakli yoki ellipssimon, silliq, ba'zan tikanli yoki egatchali. Bu zamburug'lar rezavor mevalarni, ildizmevalarni, tugunaklarni zararlaydi, chiritadi. Ba'zi turlaridan ferment preparatlari tayyorlashda foydalaniladi.

Yuksak zamburug'lar. *Aspergillus* turkumi (4-rasm)ning mitseliysi juda ko'p septali, yaxshi rivojlangan shoxlanuvchi bo'ladi. Konidiyabandlari bo'linmagan, yuqorigi uchi noksimon yoki yumaloq (sharsimon) kengaygan bo'lib, boshchaga o'xshaydi. Boshchasida bir-biriga parallel joylashgan o'siqlar - erkin uchida konidiyalar zanjiri ajralib chiqadigan kegelsimon sterigmalar joylashadi. Sterigmalar bir yoki ikki yarus (qavat) bo'lib joylashadi. Konidiylari yumaloq yoki ellipssimon, silliq, so'galli yoki tikanli bo'ladi. Konidiya-bandlar boshchasi va konidiylarning radial tarqaladigan zanjirlari xuddi leykadan quyilayotgan suv oqimiga o'xshaydi. Shuning uchun «leyka

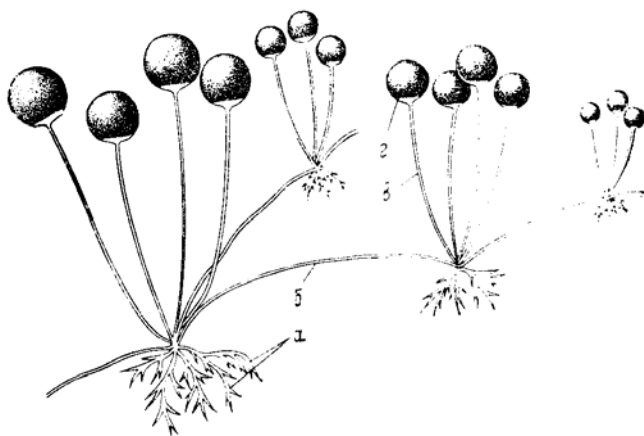
zamburug`» degan nom kelib chiqqan (*aspergere* - lotincha - sug`orish, purkash demakdir). Aspergillar konidiysi etilganda har xil: to`q sariq, to`q jigarrang, sarg`ish-yashil, yashil, to`q kulrang, qora rangga kiradi, bular boshqa belgilari bilan bir qatorda ularning turini aniqlashda muhim rol o`ynaydi. Konidiyalari juda ko`pligidan zamburug`ning butun koloniyasi tegishli rangga bo`yalgandek tuyuladi. Qora (*Aspergillus niger*, *Asp. usamii*, *Asp. batatae*, *Asp. awamori*, *Asp. foetidus*), jigarrang (*Asp. terreus*, *Asp. terricola*, *Asp. itaconicus*, *Asp. nidulans*) va sariq-yashil zamburug`lar (*Asp. oryzae*, *Asp. flavus*, *Asp. fumigatus*) orasida amilolitik, proteolitik, pektolitik ferment preparatlari, organik kislotalar, antibiotiklar hosil qiluvchi aktiv produtsentlar borligi aniqlangan. Ularning ko`pchiligi oziq-ovqat mahsulotlarini buzuvchi zamburug`lardir.

Penicillium turkumi (5-rasm) mitseliysi bo`lingan va shoxlangan zamburug`lardir. Konidiylari ko`tarilgan konidiyabandlar uchida hosil bo`ladi, konidiyabandlari ko`ndalang to`siqlar bilan bo`lingan. Konidiyabandlarning yuqori qismi shoxlanib, o`ziga xos kichkina cho`tka hosil qiladi; bu cho`tka qo`l panjalariga yoki rassomning mo`yqalamiga o`xshaydi (*penicillium* lotincha - panja, barmoq degani). Ular uchidagi ingichka uchli urchuqsimondir.



2-rasm Mucor:

a - sporalar; *b* - sporangiy; *v* - mitseliy



3-rasm Rhizopus:

a - rizoidlar; *b* - stolon; *v* - sporangiy tashuvchi; *g* - sporangiy

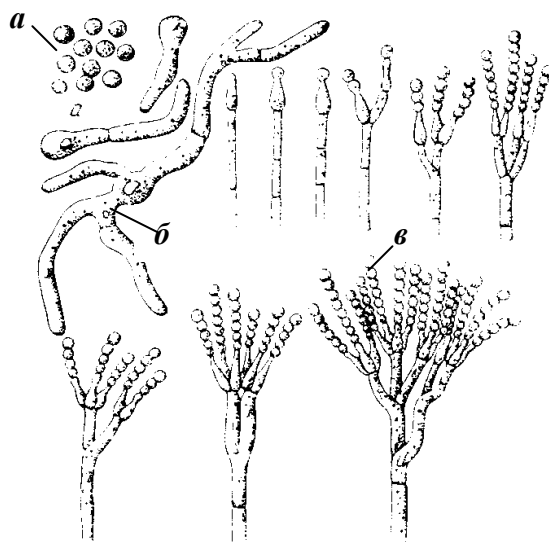
Penicillium turkumi mitseliysi bo`lingan va shoxlangan zamburug`lardir. Konidiylari ko`tarilgan konidiyabandlar uchida hosil bo`ladi, konidiyabandlari ko`ndalang to`siqlar bilan bo`lingan. Konidiyabandlarning yuqori qismi shoxlanib, o`ziga hos kichkina cho`tka hosil qiladi; bu cho`tka qo`l panjalariga yoki rassomning mo`yqalamiga o`xshaydi (*penicillium* lotincha – panja, barmoq degani). Ular uchidagi ingichka uchli urchuqsimon yoki tsilindrsimon hujayralarda – sterigmalarda konidiylar zanjiri hosil bo`ladi. Konidiylari ko`pincha ellippsimon yoki yumaloq, silliq, tikanli yoki bir oz burishgan bo`ladi. Ayrim konidiylari rangsiz, massada yashil, och kulrang-yashil, ko`k-yashil rangda. *Penicillium* avlodiga penitsillin (*P. chrysogenum*), ferment preparatlar (*P. vitale*) olishda foydalaniladigan juda ko`p turlar kiradi; ayrimlari

pishloqning etilishida ishtirok etadi, meva rezavor mevalarni va ko'pgina oziq-ovqat mahsulotlarini buzadi.



4-rasm. *Aspergillus*:

a - konidiyalar; *b* - mitseliy; *v* – konidiya tashuvchini konidiyalari bilan shakllanishi



5-rasm. *Penicillium*:

a - konidiyalar; *b* - mitseliy; *v* – konidiya tashuvchini konidiyalari bilan shakllanishi

Fusarium turkumining gifalari shoxlangan, to'siqli bo'ladi. Oziqa muhitida yuzada yoki muhitga botib kirgan oq yoki pushti, sariq qizil-binafsha, jigarrang koloniyalar hosil qiladi. Pigmenti ko'pincha substratga o'tib, uni har xil – pushtidan to jigarranggacha bo'yaydi. Ikki xil konidiy hosil qiladi. Makrokonidiylari o'ziga xos duksimon-o'roqsimon shaklda, bitta yoki bir nechta ko'ndalang to'siqli bo'ladi. Mikrokonidiylari mayda, oval shaklda, rangsiz, bir hujayrali, ba'zan bir yoki ikkita to'siqli bo'ladi. Konidiyabandlari ipsimon, oddiy yoki shoxlangan, mitseliy bo'ylab tarqalgan. Fuzariylarning 800 dan ortiq turi ma'lum. Ular tabiatda keng tarqalgan. Ular orasida tsallani, ildizmeva va tugunakmevalarni kasallantiruvchi parazit formalar ko'p. Ba'zi turlari zaharli moddalar ajratadi. *F. moniliforme* dan gibberillin sintezlashda foydalaniladi.

Botrytis turkumi ning vakillari substratga botib yoyilib o'sadigan, kulrang-ko'kish sariq ko'p hujayrali mitseliy ko'rinishida rivojlanadi. Konidiyabandlari to'siqlar bilan bo'lingan, rangsiz qo'ntsir, daraxtga o'xshash shoxlangan, kamdan-kam holda oddiy, uchi bir oz shishgan bo'ladi. Konidiyabandlarda kalta, tishsimon bandsiz sterigmalar hosil bo'ladi, ularda konidiylar shingili va boshchasi bor. Konidiylarni tuxumsimon, ellipssimon, ba'zan yumaloq yoki cho'ziq, rangsiz yoki ko'kish-sariq rangda. *Botrytis cinerea* (*botrytis* – grekcha shingil, *cinerea* kulrang degan ma'noni bildiradi) qand lavlagi, uzumni meva va rezavor mevalarni, boshqa madaniy o'simliklarni chiritadi, tsellyulolitik, pektolitik va boshqa fermentlar ajratadi.

Trichoderma turkumi g'ovak koloniya shaklida, yuzasi taram-taram, po'panaksimon bo'ladi. Mitseliysi o'rmalab o'sadi, tez o'sadi, rangsiz, eskirgan sari to'q yashil rangga kiradi. Mikroskopda qaralganda, mitseliydan yuqori ko'tarilib turadigan shoxlanuvchi konidiyabandi ko'rinadi. Ularning uchida butilkasimon shakldagi sterigmalar rivojlanadi; bir-biriga shilimshiq bilan yopishgan bir hujayrali rangsiz, to'p-to'p holda och yashil yumaloq boshchalar yoki yumaloq, tuxumsimon konidiylar xosil bo'ladi. *Trichoderma koningi*, *Trichoderma viride* tsellyulolitik fermentlar ishlab chiqaradi.

Cladosporium turkumining mitseliysi va konidiylari to'q yashil rangda, zamburug' substratga botgan yoki uning yuzasiga yoyilgan bo'ladi. Konidiyabandlari tik o'sgan, sust rivojlangan bo'lib, ularda har xil shakldagi: yumaloq, oval, tsilindrsimon, bitta yoki bir nechta to'siqli yoki to'siqsiz, dastlab rangsiz, keyin to'q yashil yoki och qo'ng'ir rangga kiradigan, silliq yoki tikanli va har xil o'lchamdagi (yirik-mayda) tez tokilib ketadigan konidiyalar zanjiri hosil bo'ladi. Muhitga qoramtir pigment ajratadi. Oziq-ovqat mahsulotlarida to'q yashil rangli (deyarli qora) baxmalsimon dog'lar hosil qiladi.

Endomyces turkumi sershox, septalangan, oq, unsimon mitseliy hosil qiladi. Grifalari osongina to'striburchakli yoki oval oidiyalarga ajraladi; ular achitqilarga o'xshaydi. *Endomyces lactis* caqlanayotgan sut mahsulotlari, sariyog', pishloq, tuzlangan sabzavotlar, presslangan achitqilar yuzachida, jihozlar, zax binolar devorlarida baxmalsimon oq g'ubor (dog') shaklida rivojlanadi.

Trichothecium turkumining mitseliysi substratga yoyilib o'sadi, konidiyabandlar va konidiylardan iborat unsimon g'ubor hosil qiladi. Konidiyabandlari to'g'ri (tik), oddiy tayoqchasimon, siyrak to'siqli, ba'zan uchi bir oz shishgan (bo'rtgan) bo'ladi. Konidiylari cho'zinchoq yoki noksimon, pastki tomoni ingichka ko'ndalang to'siqli bo'ladi, konidiyabandlar uchida bittadan hosil bo'ladi yoki tez sochilib (yoyilib) ketadigan boshchani tashkil qiladi. *Trichothecium roseum* trixotetsin antibiotigi, tsellyulolitik fermentlar hosil qiladi.

Alternaria turkumi ko'ndalang va bo'ylama to'siqli, to'q rangli noksimon yoki uchli cho'zinchoq o'ziga xos ko'p hujayrali konidiyalari bilan xarakterlanadi; bu konidiyalari yakka-yakka yoki zanjir shaklida kuchsiz rivojlangan konidiyabandlarga birikkan bo'ladi. Koloniyalari dastlab och, tukli, so'ngra och yashil-kulrang yoki yashil-qora, baxmalsimon, vorsli. Ajratgan fermenti muhitga o'tganidan muhit qora rangga kiradi. *Alternarianing* har xil turlari tuproqda keng tarqalgan, qishloq xo'jalik ekinlarida alternarioz (qora chirish) kasalligini qo'zg'atadi.

Phoma turkumi ko'kish kulrang mitseliy shaklida o'sadi. Piknidalari tarqoq, substratga botgan, yumaloq, kichkina yumaloq teshikka o'xshagan ustitsasi bor.

Piknidalar qobitsi to`q jigarrangda, deyarli qora. Konidiyabandlari oddiy, shoxlanmagan va kam seziladigan. Konidiylari bir xujayrali, oval yoki tuxumsimon. *Phoma betae* qand lavlagida chirish kasalligini qo`ztsatadi.

Satenularia turkumining mitseliysi bo`lingan, ochiq gifalarida jigarrang konidiyalardan iborat uzun zanjir hosil bo`ladi. *Satenularia fuliginea* shakarli quyultirilgan sutni buzadi.

O`rganilayotgan zamburug`ning avlodini va turini aniqlash uchun N.M.Pidoplichkoning “Грибы-паразиты культурных растений” (I va II tomi, Киев: Наукова думка, 1977) aniqlagichidan, “Определитель грибов Украины” (1-5 т., Киев: Наукова думка, 1972), “Определитель низших растений” Л.И.Курсанов taxriri ostida (M., Hayka, 1954, 1956)dan foydalaniladi.

Nazorat savollari

- 1.** Zamburug`larning tana tuzilishi qanday?
- 2.** Zamburug`larning qaysi belgilari kultural belgi deyiladi?
- 3.** Mog`or zamburug`i preparati qanday tayyorlanadi?
- 4.** Zamburug`larda qanday turdagi sporalar bo`ladi?

5 -LABORATORIYA ISHLARI (8 soat)

HAVONING MIKROORGANIZMLARINI ANIQLASH

Ishdan maqsad: Havoni va suv tarkibidagi mikroorganizmlar sonini turli xil usullar bilan aniqlashni o'rganish.

1-ish: Havoni tekshirish:

Reaktiv va asboblari:

1. Agarli oziqa muhiti; 2. Petri likopchalari; 3. Spirt lampa; 4. 20 litrli 2 ta shisha idish; 5. Mikel naychasi; 6. Sterillangan paxta; 7. natriy sulfat yoki shakar kukuni; 8. Suv hammomi; 9. Spirt lampa.

Havoni tekshirishning bir nechta mikrobiologik usullari bor, eng oddiyi mikroblarni cho'ktirish yoki Kox usulidir.

Ishning borishi:

Kox usuli (sedimentatsion usul). Buning uchun agarli oziqa muhiti quyilgan Petri likopchasi tekshirilayotgan bino ichida 5 daqiqa ochib qo'yiladi. Bundan keyin Petri likopchasi yopilib, yozib belgilanadi va 30-35°C li termostatga 2-3 sutka qo'yiladi. Termostatda turishning uzoq muddati 5 sutka. Chunki har xil mikroblar turli xil vaqtda unib chiqadi. Petri likopchasidagi oziqa muhiti yuzasiga tushgan har bir mikrobdan bittadan koloniya hosil bo'ladi. Taxminiy hisobga ko'ra 5 daqiqa davomida Petri likopchasi yuzasiga o'tirgan 10 litr (0,01 m³) havoda qancha mikroblar bo'lsa, 100 sm² maydonga shuncha mikroblar cho'kadi. Petri likopchasi yuzasini hisoblab, 1 m³ havodagi mikroblar soni aniqlanadi. Bunda **V.A.Omelyanskiy** taklif etgan formuladan foydalanish mumkin.

$$X = \frac{A \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100}{v \cdot t}$$

X – 1 m³ havodagi mikroorganizmlar soni;

A – Petri likopchasida o'stirilgan mikroorganizmlar koloniyasining soni;

5·100 – 1 m³ da mikroorganizmlarni hisoblash koefitsienti;

100 – 100 sm² Petri likopchasi yuzasini hisoblash koefitsienti;

v – Petri likopchasi yuzasi; $v = \pi r^2$

t – ekspozitsiya vaqti.

A.F. Voytkovich ma'lumotlariga ko'ra 1 m³ havoda Arktikada 1 ta dan 10 ta gacha, dengiz havosida 1-2 dona, shahar parki havosida 200 ta gacha, shahar ko'chasida 5000 ta gacha, aholi yashash binolarida 20 000 ta gacha va molxonalarda 1-2 mln. ta gacha mikroblar uchraydi.

Ishlab chiqarish binolari havosining 1 m³ da ko'pi bilan 500 ta mikroorganizm bo'lsa, havosi toza hisoblanadi.

1 m³ havodagi mikroorganizmlar sonini hisoblash (Omeliyanskiy usuli bilan)

Likopcha diametri, sm	Likopcha yuzasi, sm ³	1 m ³ havodagi mikroorganizmlar sonini hisoblash ko'paytmasi.
8	50	100
9	63	80
10	78	60
11	95	50
12	113	45

Yopiq shamollatimaydigan turar joy binolarining 1 m³ havodasidagi mikroorganizmlar soni

Havoning holati Yil fasli	Toza	Ifloslangan
Лето	<1500	>2500
Зима	<4500	>7000

Tekshirilayotgan namunalar 1 m³ havodasidagi mikroorganizmlar soni

№	Tekshirilayotgan havo	Bakteriyalar koloniyasining soni	Mog'or zamburug'lari koloniyasining soni	Umumiy mikroorganizmlar koloniyasining soni	1 m ³ havodagi mikroorganizmlar sonini
1.					
2.					
3.					
4.					

Nazorat savollari

1. Havodagi mikroorganizmlarni aniqlash usullari qanday? 2. Havoni tekshirishning Kox usuli (sedimentatsion usul) qanday olib boriladi? 3. Havoni tekshirishning Mikel naychasi orqali hisoblash usuli. qanday olib boriladi? 4. Havoni tekshirishning Aspiratsion usuli qanday olib boriladi?

6-LABORATORIYA ISHLARI (4 soat)

SUVNING SANITARIYA HOLATINI TEKSHIRISH

Reaktiv va asboblari:

1. Endo muhiti; 2. Petri likopchalari; 3. Spirt lampa; 4. Zeytts asbobi; 5. Membranali filtr; 6. Suv hammomi; 7. Distillangan suv; 8. Elektr plitka; 9. Filtr qog'oz. 10. Elektr nasos; 11. Pintset; 12. Lupa; 13. Voronka.

Oziq-ovqat mahsulotlari va ichimlik suvi tarkibidagi turli xil patogen mikroorganizmlarni tezda aniqlash ancha qiyinchilik tug'diradi. Shuning uchun mahsulotlarni mikroblar bilan ifloslanganligi ichak tayoqchasi bakteriyasi bor-yo'qligiga qarab aniqlanadi. Ichak tayoqchasi asosiy patogen mikroorganizmlar hisoblanadi. Ular boshqa patogen mikroorganizmlarga qaraganda tashqi muhit ta'siriga ancha chidamlidir. SHu sababli mahsulotda ichak tayoqchalari bo'lmasa, boshqa patogen mikroblar ham yo'q deb hisoblanadi. Boshqa mikroorganizmlarga ko'ra, ichak tayoqchasi 43-46°C da ham rivojlanib ko'payaveradi. Bu mikroblar uglevodlarni parchalab gaz va kislota hosil qiladi. Shu xossalar ichak tayoqchasini aniqlashda hisobga olinadi.

Ichak tayoqchasi doimo odam va hayvonlar ichagida yashaydi. Bu mikroblar organizmga ovqat bilan kiradi. Ichak tayoqchasi axlat bilan doimo tashqi muhitga chiqib turadi. Shunga ko'ra, suv va tuproq hamisha ichak tayoqchasi bilan ifloslangan bo'ladi. Suv va oziq-ovqatdagi ichak tayoqchasi miqdori shu ob'ektlarning sanitariya holatini bildiruvchi muhim ko'rsatkich hisoblanadi. Unga to'g'ri baho berish uchun suvning coli-titr va coli-indeksini aniqlash zarur.

Coli-titr – suvning ichak tayoqchasi uchraydigan eng kichik hajmi. Masalan, coli-titr 200 deb qaralsa, 200 ml suv tarkibida bir dona ichak tayoqchasi borligini bildiradi.

Coli-indeks – bir litr suvdagi ichak tayoqchasining soni. Masalan, coli-indeks 5 deb qaralsa, 1 litr suv tarkibida besh dona ichak tayoqchasi borligini bildiradi.

Suvni sanitariya tomonidan baholashda ikki tomoniga e'tibor qaratish zarur.

1. Suvdagi umumiy mikroblar soniga. Buning uchun tekshirilayotgan suv bir necha bor suyultirilib, Petri likopchasidagi peptonli oziqa muhitiga ekiladi (24 soat 35-37°C da termostatda saqlanadi) va unib chiqqan koloniyalar sanalib, 1 ml suvdagi mikroblarning umumiy soni hisoblanadi. Shundan so'ng quyidagilarga e'tibor qaratilgan holda suvga baho beriladi.

1 ml tekshirilayotgan suvda unib chiqqan mikroblar soni 100 dan oshmasa **toza suv**, 100 dan 500 ta gacha bo'lsa **shubhali suv**, 500 dan ortiq bo'lsa **iflos suv** deb hisoblanadi. 1 ml suvdagi mikroblarning umumiy soni 100 dan oshmasi bu suv ichishga yaroqli hisoblanadi.

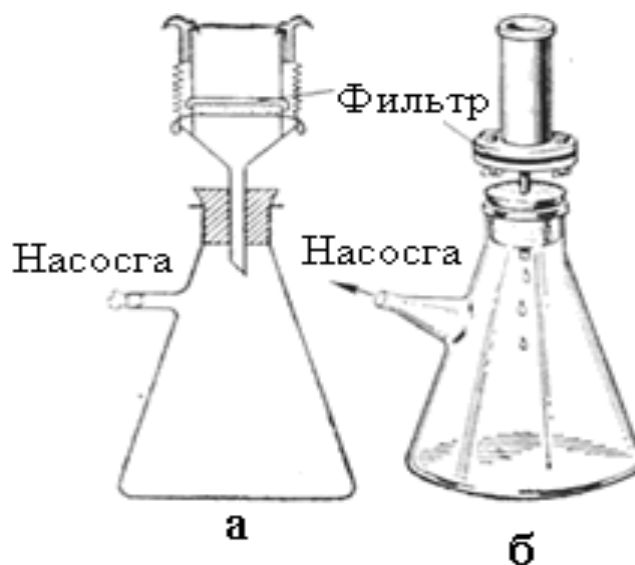
2. Suvda ichak tayoqchasining soniga. Amaldagi GOST talablariga ko'ra, tozalangan ichimlik suvi uchun coli-titr 300 dan past bo'lmasligi, coli-indeks esa ko'pi bilan 3 bo'lishi kerak. Aholisi 1-2 mln. dan ortiq bo'lgan shaharlarda ichimlik suviga talab katta bo'lganligi uchun coli-titr – 500, coli-indeks esa 2 bo'lishi kerak. Ochiq suv omborlaridagi yaxshi suvlarning coli-titri 100 va coli-indeksi 10 hisoblanadi. Coli-titr yuqori bo'lsa suv toza, aksincha past bo'lsa iflos suv hisoblanadi.

Ishning borishi:

Membranali filtrlash usuli. Ushbu usul oziq-ovqat korxonalari laboratoriyalarida keng tarqalgan. Boshqa usullarga qaraganda bir qancha afzalliklarga ega, chunki, analiz muddatini 24 soatgacha kamaytiradi va h.k.

Membrana filtrlar teshik-teshik tsellyuloza plyonkadan iborat bo'lib, teshiklari diametri 0,35; 0,5; 0,7; 0,9; va 1,2 mkm bo'lgan (№1, №2, №3, №4, №5) turlari mavjud. Ichak tayoqchasini hisobga olishda №3 filtrdan foydalaniladi. Suv avval diametri 3-5 mkm bo'lgan filtrlardan o'tkazilib dag'al zarrachalardan tozalanadi.

Filtrlash uchun Zeyts asbobidan foydalaniladi. U avtoklavda yoki spirtida sterillanadi. Membrana filtrlarni ishlatishdan oldin distillangan suvli stakanga tushiriladi va 20-30 minut saqlanadi. Stakandagi distillangan suv 50-60°C gacha issiq bo'lishi kerak. Keyin suvni to'kib tashlab, yangisi quyiladi va 2-3 marta takrorlanadi. So'ngra filtrlar 1 minut davomida qaynatiladi. Tayyor bo'lgan filtrni sterillangan chetlari tekis pintsetda olib, Zeyts asbobining metall to'ridagi asbest plastinkaga xira tomonini yuqoriga qaratib qo'yiladi. Filtr ehtiyotlik bilan voronkaga o'rnatilib, uni metall qisqich bilan yaxshilab mahkamlanadi. Voronkaga tekshiriladigan suvni solib, asbob suv oqimli elektr nasosga ulanadi.



Zeyts filtrlari:

a - shisha tutqichli; *b* - metall tutqichli

Filtrlash tugagandan keyin voronka olinadi va qizdirilgan pintsetda filtrni olib, xira tomonini yuqoriga qaratib, Petri likopchasidagi Endo muhiti yuzasiga qo'yiladi; bunda agar bilan filtr orasida havo pufakchalari hosil bo'lmasligi kerak. Filtrning pastki (orqa) tomonidagi suv tomchilari oldin sterillangan filtr qog'ozga shimdirib olinadi. Tegishli yozuvlar yozilib likopchalar termostatda 37°C issiqda 18-24 soat o'stiriladi. Shundan keyin lupada qaralib, ichak tayoqchasiga xos koloniyalar sanab chiqiladi va 2-3 ta koloniyadan mazok tayyorlab, Gramm usulida bo'yaladi. Masalan, filtrda 5 ta koloniya o'sgan bo'lsa, filtrlangan suv miqdori 500 ml bo'lsa, 100 ml suvda bitta ichak tayoqchasi bo'lgan, ya'ni coli-titri 100 ga, coli-indeksi esa 10 ga teng bo'ladi.

Sharbatlar va alkogolsiz meva ichimliklari coli-titrini aniqlashda 100 ml dan 2 hajm va 10 ml dan 10 hajm olinadi. 10 ml pivoga 50 ml muhit, 1 ml pivoga 10 ml va 0,1 ml pivoga 5 ml dan muhit qo'shiladi.

Pivo va muhit solingan idishlar 43°C issiq termostatda 18-24 soat saqlanadi. Kolba va probirkalarni ko`rib chiqib, gaz hosil bo`lishi va loyqalanishiga qarab xulosa qilinadi.

Birinchi marta tekshiriladigan suvdan 1000, 500, 100, 10, 5 va 1 ml dan olish kerak. Juda ifloslangan suvni filtrlashdan oldin sterillangan suv qo`shiladi. Agar 1 ml va undan kam suyuqlik filtrlanadigan bo`lsa, asbobning voronkasiga 10 ml sterillangan suv quyib, keyin tekshiriladigan namunadan qo`shiladi. Agar vodoprovod suvi tekshirilganda mikroorganizmlar o`smagan bo`lsa, analiz tugatiladi va coli-titr 300 dan yuqori deb hisoblanadi.

Nazorat savollari

1. Suvni sanitariya tomonidan baholashda qaysi tomoniga e`tibor qaratish zarur? 2. Coli-titr nima, Coli-indeks nima? 3. Suvning mikroorganizmlarini qanday aniqlanadi?

7-LABORATORIYA ISHI (4 soat)

SUT VA SUT MAHSULOTLARINING MIKROBLAR BILAN IFLOSLANGANLIGINI ANIQLASH

Ishdan maqsad: Sut mikrobiologiyasi bilan tanishish va sutning mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlashni o`rganish.

1-ish: Sut mikrobiologiyasi bilan tanishish.

Sut mikroorganizmlar uchun qulay oziqa muhiti hisoblanadi. Yangi sog`ilgan sutning 1 ml da mingdan to millionlargacha mikroblarni uchratish mumkin. Sut tarkibida asosan sut kislota va yog` kislota hosil qiluvchi tayoqchalar, ichak tayoqchasi gruppasi, chirituvchi bakteriyalar, achitqilar va zamburug`larni uchratish mumkin.

Yangi sog`ilgan sut tarkibida *laktenin* degan modda borligi uchun mikroorganizmlar rivojlanmaydi, chunki bu modda mikroorganizmlarning rivojlanishiga to`sqinlik qiladi. Sutda bu moddaning faol turish muddati **bakteriotsid faza** deb ataladi. Sutni har xil haroratda turli muddatgacha (bakteriotsid faza) saqlash mumkin. Masalan, 25°C da 3 soat, 10°C da 6 soat, 5°C da 24 soat va 0°C da 36-48 soat. Sutning bakteriotsid fazasi qancha uzoq bo`lsa, sutni shuncha vaqt saqlash mumkin. Shuning uchun yangi sog`ilgan sutni tezda sovutish zarur. Birinchi bakteriotsid faza tugashi bilan sutda turli xil mikroblarning rivojlanishi boshlanadi. Dastlab sut tarkibida sut kislota hosil qiluvchi streptokokklar rivojlanadi va sut kislota hosil qiladi. Sut kislota miqdorining ortishi bilan streptokokklar nobud bo`lib, o`rnini asta sekin tayyoqchasimon sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalar egallaydi. Sutda kislota miqdori ortishi bilan pH ham pasayadi va sut kislotali tayyoqchasimon bakteriyalar ham nobud bo`lib, o`rnini achitqilar va mog`or zamburug`lar egallaydi. Sut kislotalarining kamayishi bilan sutda yana chiritivchi bakteriyalar rivojlanadi.

Sut kislota hosil qiladigan mikroorganizmlar ikki guruhga bo`linadi.

1. **Tipik (gomofermentativ) sut kislota hosil qiluvchi streptokokklar.** Asosiy vakili *Streptococcus lactis*. Asosan shakarni bijg`itib 85-95% gacha sut kislota va oz miqdorda uchuvchan kislotalar hosil qiladi.

2. **Atipik (geterofermentativ) sut kislota hosil qiluvchi streptokokklar.** Asosiy vakili *Streptococcus citrovorus*, *Streptococcus paracitrovorus*. Sut kislotalardan tashqari, uchuvchan kislotalar, xushbo`y moddalar va SO₂ gazi hosil qiladi.

Tayyoqchasimon sut kislotali bakteriyalar ham ikkiga bo`linadi.

1. **Gomofermentativ sut kislotali bakteriyalar** (termofill va mezofillar) . Asosan shakarni bijg`itib, 3-3,5% gacha sut kislota hosil qiladi. Sutni 6-12 soatda ivitadi.

2. **Geterofermentativ sut kislotali bakteriyalar.** Shakarni bijg`itib, ko`p miqdorda spirt va SO₂ gazi hosil qiladi.

**Yog` kislotali mikroblar.** Asosan tuproq va o`simliklarda bo`lib, sutga tushganda anaerob sharoitda sut shakarini parchalab, yog` kislotalar va gaz hosil qiladi. Bunda sut badbo`y hidli va achchiq ta`mli bo`lib qoladi.

Achitqi va mog`or zamburug`lar. Sutning sirtida rivojlanadi va sut kislotalarning bir qismini istemol qiladi. Shuningdek, sut yog`larini parchalab, achchiq ta`m va dag`al xashak hidini paydo qiladi.

Ichak tayyoqchasi (*E.coli*). Sutga atrof-muhitdan tushadi va laktozani parchalab, kislota va gaz hosil qiladi. Sut tezda iviydi va suyuqlashib ketadi. Ichak tayyoqchasi bilan zararlangan sutdan pishloq va boshqa sut mahsulotlari tayyorlab bo`lmaydi.

Sut tarkibidagi mikroorganizmlar gruppasini aniqlash uchun quyidagi oziq muhitlardan foydalaniladi:

1. Go`sht-pepton agar-chirituvchi mikroorganizmlar gruppasini.
2. Suslo agar-mog`or zamburug`lar va achitqilarni.
3. Probirkadagi steril sut-sut kislota hosil qiluvchi mikroorganizmlar gruppasini.
4. Bo`r bilan suslo agar-sut kislota hosil qiluvchi streptokokklarni.

2-ish: Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlash.

Reaktiv va asboblari:

1. Yangi sog`ilgan sut va eskirgan sut namunalari; 2. Metilen ko`kining ishchi eritmasi; 3. Suv hammomi; 4. Probirkalar.

Sutda turli xil fermentlar mavjud bo`ladi. Shu jumladan reduktaza fermenti ham. Mikroorganizmlar faoliyati natijasida sutda reduktaza fermenti to`planadi. Reduktaza ferment metilin ko`kini rangsizlantirish xususiyatiga. Yangi sog`ilgan sutda mikroblar va reduktaza fermenti kam bo`ladi va metilen ko`ki sekin rangsizlanadi. Agar sut eskirgan bo`lsa mikroblar va reduktaza fermenti ko`p bo`ladi va metilen ko`ki tezda rangsizlanadi. Reduktaza namunasini qo`yish bilan sutning mikroblar bilan ifloslanganligini taxmini aniqlash mumkin.

**Metilen ko`kining ishchi eritmasini tayyorlash.** Avval spirtli to`yingan metilen ko`kini olib, unga 100 ml 96° li etil spirti aralashtiriladi va 1 sutkaga termostatda 37°S da qoldiriladi. So`ngra bu aralashma filtirlanadi va to`yingan metilen ko`ki eritmasidan ishchi eritma tayyorlanadi. Ishchi eritmani tayyorlash uchun 5 ml to`yingan metilen ko`ki eritmasiga 195 ml distillangan suv qo`shib aralashtiriladi.

Ishning borishi:

Reduktaza namunasini qo`yish va metilen ko`ki bilan sinash. Buning uchun katta probirkalarga 1 ml metilen ko`kining ishchi eritmasi (*ishchi eritma murabbiy yoki laborant tomonidan ta`minlanadi*) va 20 ml sut solinadi. Probirkaning og`zini rezina probirka bilan berkitiladi. Sut va metilen ko`kini sekin (*silkitmasdan*) aralashtiradi va 38-40°C suv hammomida 20 minut qoldiriladi. 2 soat va 5,5 soatdan so`ng rangi o`zgarganligi aniqlanadi va rangining o`zgarishiga ko`ra 4 ta sinfga bo`linadi.

**Sutni metilen ko`ki orqali tekshirishning tezlashtirilgan usuli.** Buning uchun metilen ko`kining ishchi eritmasini tayyorlashda to`yingan eritma 10 marta suyultiriladi va tekshirilayotgan sut 2 marta kam olinadi. Toza probirkalarga 1 ml suyultirilgan metilen ko`ki eritmasi va 10 ml sut solib, probirkaning og`zi rezina probirka bilan berkitiladi. Probirka silkitmasdan aralashtiriladi va 38-40°C li suv hammomiga qo`yiladi. Metilen ko`kining rangsizlanishi 5-10-15 minutlar davomida tekshirib turiladi.

Shu vaqt davomida metilen ko'kining rangsizlanishi tekshirilayotgan sutning 1 ml da gaz hosil qiladigan mikroorganizmlarning soni milliondan ko'proq ekanligini ko'rsatadi.

1-jadval.

Sinf	Sutning sifat bahosi	Sut rangining o'zgarishi	Sutning rangi	1 ml sutdagi mikroorganizmlar soni
I	Yaxshi	1 soatdan so'ng	Ko'k-kul rang	500 mingdan ortiq
II	Qoniqarli	1 soatdan so'ng	Och binafsha yoki ko'k binafsha rang	500 mingdan 4 mln. gacha
III	Yomon	1 soatdan so'ng	Pushti yoki oq rang	4 mln. dan 20 mln. gacha
IV	Juda yomon	20 minutgacha	Oq rang	20 mln. dan ortiq

Sutdagi umumiy mikroblar sonini aniqlash. Sut tarkibidagi umumiy mikroblar sonini “Mikroorganizmlar sonini hisoblash” mavzusidagi (2-laboratoriya ishi) 1-ish asosida aniqlanadi.

Nazorat savollari

1. Sut mikrobiologiyasi nimalardan iborat? 2. Sutni mikroblar bilan ifloslanganligini qanday aniqlanadi? 3. Sut kislotasi hosil qiladigan mikroorganizmlar guruhlari qaysilar? 4. Sutdagi umumiy mikroblar soni qanday aniqlanadi?

8-LABORATORIYA ISHI (4 soat)

GO'SHT MIKROORGANIZMLARINI ANIQLASH

Ishdan maqsad: Go'shtning mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlashni o'rganish.

1-ish: Go'sht mikrobiologiyasi bilan tanishish va yangiligini bakterioskopik usulda aniqlash.

Reaktiv va asboblari:

1. Mikroskop;
2. Bo'yoqlar;
3. Buyum oynasi;
4. Go'sht namunalari;
5. Qaychi;
6. Skalpel;
7. Shpatel;
8. Pintset;
9. Spirt lampa.

Go'sht mikroorganizmlar uchun yaxshi oziqa hisoblanadi. Chunki go'sht tarkibida mikroorganizmlar uchun kerakli moddalar, oqsillar, uglevodlar, azot, vitaminlar, va mineral tuzlar ko'p. Shuning uchun go'sht mikroblar ta'sirida tez buziladi. Yangi go'shtning yuza qismida 1 sm² da bir necha ming saprofit mikroorganizmlar bo'ladi. Shu jumladan, kokksimonlar, tayyoqchasimonlar, achitqi va zamburug' sporalari mavjud bo'ladi. Bundan tashqari go'sht zaharli moddalar hosil qiladigan mikroblar (*Bac. perfringens* va *salmonella*) bilan ham ifloslanishi mumkin.

Go'shtning sifatini aniqlashda mikroblarning tarqalishi va ularning turlarini bilish katta ahamiyatga ega.

Go'shtning chirishi. Go'sht yuza qatlamlaridan ichki qatlamlariga tomon chiriy boshlaydi. Chirishning boshlang'ich stadiyalarida kokksimon aeroblar, keyingi stadiyalarida esa tayyoqchasimon aeroblar ishtirok etadi. Go'shtning chirishida asosan anaeroblardan *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericum*; fakultativ anaeroblardan *Bac. bulgarys*; anaeroblardan *Clostridium sporagenum*, *Clostridium putrificum* va boshqa mikroblar aktiv ishtirok etadi.

Go'shtning mog'orlanishi. Bu buzilish go'shtning sirtiga tushgan mog'or zamburug'lari, *Cladosporium* va *Penicillium* zamburug'larining qulay sharoitda rivojlanishi bilan ifodalanadi.

Go'shtning kislotali bijg'ishi. Bunda go'shtdan achchiq hid keladi, yumshab qoladi va kul rang tusga kiradi. Bu jarayonda anaerob *Clostridium putrifatsiens* va ba'zan sut kislotali achitqilar ishtirok etadi.

Pigment hosil bo'lishi. Bu jarayonda pigment hosil qiluvchi aeroblar *Serratia marcescens* ishtirokida qizil dog', achitqilar ishtirokida esa oq rangli dog'lar hosil bo'ladi.

Go'shtning yuqimli kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlar va saprofit mikroorganizmlar bilan ifloslanganligi laboratoriyada tekshiriladi. Go'shtni dastlab organoleptik usul bilan tekshiriladi, so'ngra go'shtdan surtma-tamg'a tayyorlanib mikroskopda kuzatiladi. Ular go'sht pepton agarga va go'sht pepton bulonga ekilib mikroblarning soni va sifati aniqlanadi.

Ishning borishi. Go'shtdan 1- va 2- namunalar olish va surtma-tamg'a tayyorlash. Go'shtdan birinchi namuna yuza qatlamlardan, ikkinchi namuna esa chuqur

qatlamdan olinadi. Yuza qatlamdan namuna olish va surtma-tamg'a tayyorlash uchun yuqoridagi qatlamni pintset bilan ushlab turib, steril qaychi bilan bir parcha qirqib olib, buyum oynaga bosib, tamg'a qilib surtma tayyorlanadi.

Ichki qismlardan namuna olish uchun tekshirilayotgan go'shtning sirtini qizdirilgan shpatel bilan kuydiriladi. So'ng go'sht steril skalpel orqali kesilib, ochilgan ichki qavatdan pintsetda ushlab, steril qaychi bilan bir parcha kesib olinadi va surtma-tamg'a tayyorlanadi. Tayyor surtma havoda quritiladi. Alangada fiksatsiya qilinadi va Gram usulida bo'yalib, mikroskopda kuzatiladi. Mikroskopning kamida 5 ta ko'rish maydonchasidagi mikroblar soni hisoblab chiqiladi. Bunda kokksimon va tayyoqchasimon bakteriyalarni alohida hisoblash kerak.

Agar go'sht yangi so'yilgan yoki to'g'ri sovutilgan bo'lsa surtma-tamg'a tayyorlab bo'lmaydi. Chunki oynada dog' qolmaydi va ko'zga tashlanmaydi.

Agar go'sht buzila boshlagan bo'lsa surtma-tamg'a yaxshi tayyorlanadi va yaxshi bo'yaladi. Chunki buzila boshlagan go'sht hujayralarining suvi chiqadi va oynaga go'sht bo'lakchalari yaxshi yopishadi. Agar go'sht buzilmagan bo'lsa yuza qatlamdan tayyorlangan surtmada bir necha kokksimon va tayyoqchasimon bakteriyalarni uchratish mumkin. Ichki qatlamlardan tayyorlanagn surtmada esa mikroblar umuman bo'lmaydi.

Agar go'sht nihoyatda buzilgan bo'lsa, kokksimon mikroblar yo'qolib, o'rnini asosan tayyoqchasimon mikroblar egallagan bo'ladi.

2-ish: *Go'shtning pH ni va umumiy mikroblar sonini aniqlash.*

Go'shtdagi umumiy mikroblar sonini aniqlash. Tekshirilayotgan go'shtdan steril qaychi bilan go'sht namunasi olinadi. Olingan go'sht (1-2 g) tarozida tortilgandan so'ng sterillangan qum bilan steril chinni havonchaga solinib, yaxshilab ezib aralashtiriladi. Namuna tekis aralashib bo'lgandan so'ng havonchaga 10 ml distillangan suv qo'shib aralashtiriladi. So'ngra Petri likopchasiga havonchadagi aralashmadan 1 ml solib, ustiga agarli oziqa muhitdan quyiladi. Aralashma likopchaga tekis yoyilishi uchun likopcha doira shaklida aylantiriladi. Agarli oziqa muhiti qotishi bilan Petri likopchasi teskari qilib qo'yiladi. So'ng termostatga 30-37°C da bir sutkaga qoldiriladi. Unib chiqqan mikroblar koloniyasini hisobga olib, suyultirishga ko'paytirilib 1 g go'shtdagi mikroblar soni aniqlanadi.

Go'shtning pH ni aniqlash. *Go'shtli suv so'rimini tayyorlash.* Yuqoridagi qatlamdan bir parcha go'sht olinib yog' va go'sht pardalaridan tozalanadi. Tozalangan go'shtdan olib maydalanadi va 100 ml distillangan suvdan qo'shib yaxshilab aralashtirib, 15 minut tinch qoldiriladi va filtrlanadi. Shundan so'ng muhitning pH i indikator yoki pH o'lchovchi asbob yordamida aniqlanadi va quyidagicha xulosa qilinadi.

Yangi buzilmagan (sifatli) go'shtning pH i 5,8-6,2;

Shubhali go'shtning pH i 6,6;

Yaroqsiz go'shtning pH i 6,7 va undan yuqori.

Nazorat savollari

1. Go'shtning mikrobiologiyasi nimalardan iborat?
2. Go'shtning *yangiligini bakterioskopik usulda aniqlash*.
3. Go'shtdagi umumiy mikroblar soni qanday aniqlanadi?
4. Go'shtning pH qanday aniqlanadi?

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Жарикова Г.Г., Леонова И.Б. Основы микробиологии / Практикум. – М.: Издательский центр «Академия», 2008 – С. 4 – 34.
2. Хакимова Ш.И. Озиқ-овқат микробиологияси. Т. 2005. – 222б.
3. Хакимова Ш.И. Шаробчилик микробиологияси. Т. 2001. – 189б.
4. Мудрецова-Висс К.А., Кудряшова А.А., Дедюхина В.П. Микробиология, санитария и гигиена: Учебник для вузов. – М.: Деловая литература, 2001. – 388с.
6. Рабинович Г.Ю., Сульман Э.М. Санитарно-микробиологический контроль объектов окружающей среды и пищевых продуктов с основами микробиологии. Учебное пособие, Тверь. 2005. – 220с.
7. Еремина И.А., Лузина Н.И., Кригер О.В. Микробиология продуктов растительного происхождения. Учебное пособие, Кемерово. 2003. –94с.
8. Слюсаренко Т.П. Лабораторный практикум по микробиологии пищевых производств. Учебное пособие. – М.: «Легкая и пищевая промышленность» 1984. – 207с.

M U N D A R I J A

MIKROBIOLOGIYA LABORATORIYASIGA QO`YILADIGAN HAVFSIZLIK QOIDALARI VA TALABLAR	3
1 – laboratoriya ishi Mikroskopning tuzilishi va uni ishlatish tartib qoidalari	4
	Mikroskopik preparatlarni tayyorlash
2 – laboratoriya ishi	Sterilizatsiyalash va pasterizatsiyalash usullari
3 – laboratoriya ishi	Bakteriyalarning asosiy xossalari va belgilari
4 – laboratoriya ishi	Mog`or zamburug`larining asosiy xossalari va belgilari
5 – laboratoriya ishi	Havoning mikroorganizmlarini tekshirish
6 – laboratoriya ishi	Suvning Coli titri va Coli indeksini aniqlash
7 – laboratoriya ishi	Sutning mikroblar bilan ifloslanganligini aniqlash
8 – laboratoriya ishi	Go`shtning yangiligini bakterioskopik usulda aniqlash
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR	44

