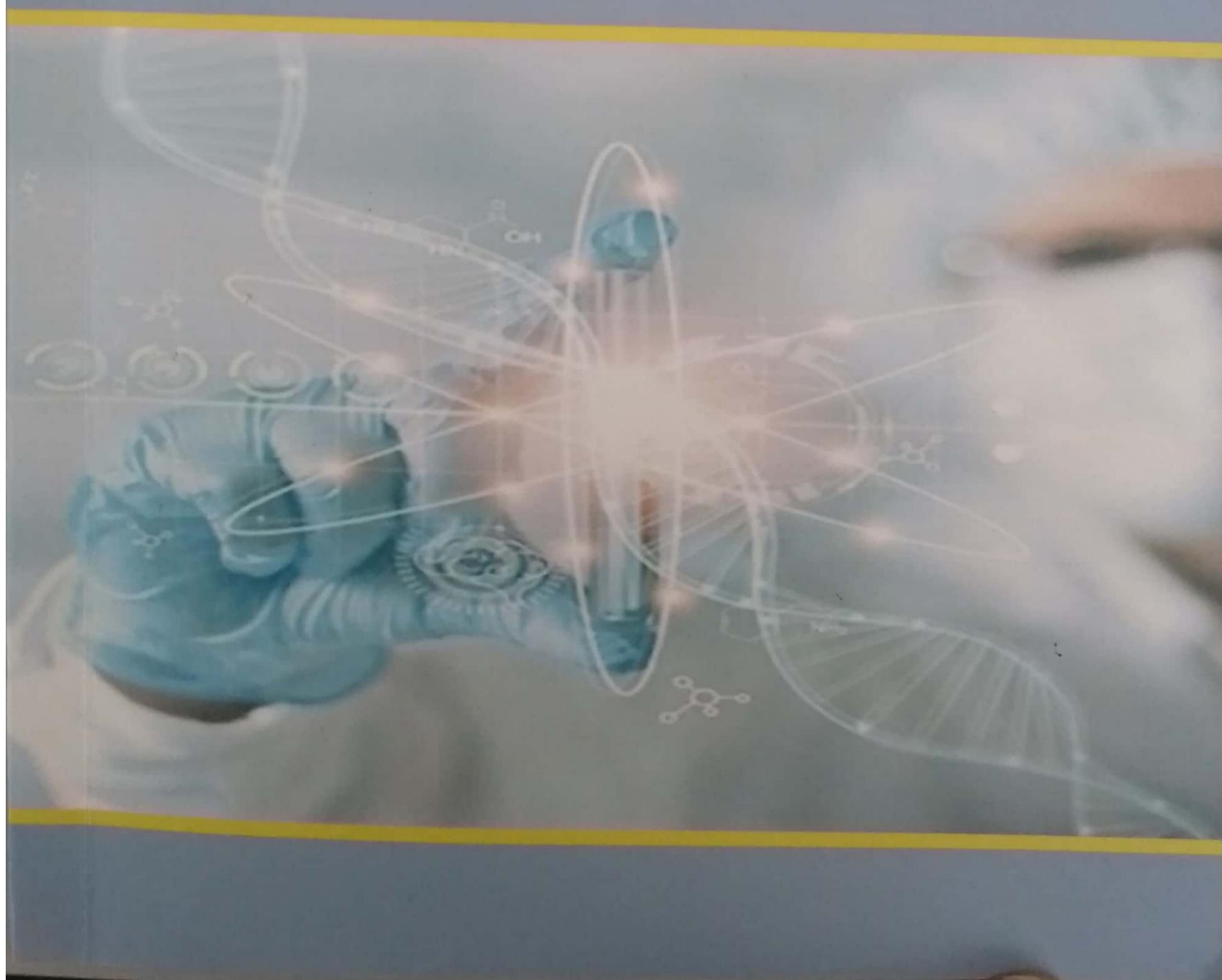


Toshtemirova M.J., Abdullayeva G.T., Jalilova S.I.

# BIOLOGIYA

Laboratoriya mashg'ulotlarini bajarish uchun  
USLUBIY QO'LLANMA



**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY TA'LIM, FAN VA  
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI**

**ISLOM KARIMOV NOMIDAGI TOSHKENT DAVLAT  
TEXNIKA UNIVERSITETI**

**NEFT VA GAZ FAKULTETI  
"BIOTEXNOLOGIYA" KAFEDRASI**



## **BIOLOGIYA**

fanidan laboratoriya mashg'ulotlarini bajarish uchun  
**USLUBIY QO'LLANMA**

Bilim sohasi:	700000 - Ishlab chiqarish texnik soha
Ta'lim sohasi:	720000 - Ishlab chiqarish texnologiyasi
Ta'lim yo'nalishi:	60710200 - Biotexnologiya

Toshkent 2025

UO'K: (574.07)

KBK: 28.0

B 60

Toshtemirova M.J., Abdullayeva G.T., Jalilova S.I.

Biologiya. Laboratoriya mashg'ulotlari. Uslubiy qo'llanma. – Toshkent: ToshDTU, 2025. – 51 b.

Laboratoriya mashg'ulotini o'zlashtirishdan maqsad biologiya fanining zamonaviy muammolari va yutuqlari, hujayra biologiyasi, hujayra va to'qima darajasidagi biologik jarayonlar va ularning zamonaviy biotexnologiyadagi ahamiyati, eukariot va prokariot organizmlar, molekulyar biologiya, molekulyar genetika va biotexnologiya sohasining zamonaviy usullari haqida tushunchaga ega bolish.


“Biologiya” fanidan laboratoriya mashg'ulotlarni bajarish uchun tayyorlangan ushbu uslubiy qo'llanma 60710200 – Biotexnologiya yo'nalishida tahsil olayotgan bakalavriat talabalari uchun mo'ljallangan.

Taqrizchilar:

Raimova G.M. – O'zMU huzuridagi biofizika va biokimyo instituti katta olimiy xodimi., PhD.

Azimov Sh.Sh. – ToshDTU, “Biotexnologiya” kafedrasida dotsenti, texnika fanlari nomzodi.

Uslubiy qo'llanma Neft va Gaz fakultetining “Biotexnologiya” kafedrasida majlisida (2025 yil “7” 05 №19 son bayonnoma) muhokama etildi va fakultetning o'quv-uslubiy kengashiga tavsiya etildi.

Kafedra mudiri  b.f.d. v.v.b., prof G.T. Abdullayeva

Uslubiy qo'llanma Neft va Gaz fakultetining o'quv-uslubiy kengashida ko'rib chiqildi (2025 yil “7” 05 №19 son bayonnoma) va universitetning Ilmiy-uslubiy kengashiga tavsiya etilishiga topshirildi.

Fakultet dekani  N. Maxmudov



## KIRISH

O‘zbekiston Respublikasining kelajagi ilmiy salohiyatli, manan yetuk yosh mutaxassislar qo‘lidadir. Mamlakatimizda olib borilayotgan islohotlar yosh avlodni tarbiyalash, ularni mustaqil fikrlaydigan, zamonaviy bilim va kasb-hunarlarini puxta egallab, xalqaro maydonda raqobatga kirisha oladigan barkamol shaxslar etib tarbiyalashga xizmat qilmoqda. Bu islohotlarning negizida iqtidorli yoshlarni shakllantirish, ularni bandligini ta’minlash, hayotda o‘z o‘rnini topishi, jamiyatga xizmat qiladigan munosib komil insonga aylanishi vazifasi yotadi.

Oliy ta’lim muassasalarida, xususan “Biotexnologiya” mutaxassisligi bo‘yicha ta’lim olayotgan talabalarga “Biologiya” fani dastlabki bosqichlarda o‘qitilishi nazarda tutilgan.

Biotexnologiya - biologiya fanining tarkibiga kiruvchi 70 ta sohalardan biri bo‘lib, tabiatda tirik organizmlarda boradigan assimiliyatsiya jarayonlarini o‘rganib, ulardan foydalangan holda texnologiyada mahsulot ishlab chiqarish hisoblanadi.

Biologiya fani tirik organizmlar tuzilishi va funktsiyalarining xilma-xilligini, ularning rivojlanishini va yashash muhiti bilan o‘zaro munosabatini o‘rganadigan fanlar majmuasidir.

Hayotiy jarayonlarning barchasida texnologiya bilan biologiyani birgalikda takomillashtirish juda katta ahamiyatga ega. Hozirgi davrda biologiya fanining ahamiyati rivojlanayotgan fan bo‘lib, unda erishilgan yutuqlar insoniyatning kelajagi uchun nihoyatda muhimdir.

“Biotexnologiya” mutaxassisligi bo‘yicha ta’lim olayotgan talabalarga “Biologiya” fanini o‘qitishdan maqsad talabalarni biologik fanlar bilan tanishtirish, biotexnologik jarayonlarda biologiya fani ma’lumotlarini qo‘llash, turli jabhalar (qishloq xo‘jaligi, meditsina, farmatsevtika, oziq-ovqat, chiqindilarni qayta ishlash) ishlab chiqarish va sanoat korxonalarida (ozuqa mahsulotlarini ishlab chiqarish, dori vositalari ishlab chiqarish, tibbiyot vositalarini ishlab chiqarish, tibbiyot diagnostikasi, oziq-oqvat ishlab chiqarish, chorvachilik, baliqchilik, asalarichilik, parandachilik korxonalarida innnavatsion texnologiyalarni qo‘llash.

## 1-Laboratoriya mashg'uloti

### **Mavzu: Biologiya va biotexnologiya laboratoriyasiga qo'yiladigan asosiy talablar va asbob-uskunalar bilan ishlash tartibini o'rganish**

**Ishdan maqsad:** Talabalarga laboratoriya ishlarini bajarishga texnika va yong'inga qarshi xavfsizlik qoidalarini tushuntirish, ularni o'qib o'zlashtirishini ta'minlash va maxsus jurnalga ro'yxatdan o'tkazish.

**Kerakli asbob-uskunalar va reaktivlar:** Mikroskop, texnik tarozi, kolba, termostat, sentrifuga, avtoklav, termometr, shtativ, suv hammomi, yassi tagli kolba, fenolftalein, metiloranj, shpatel, forfor hovoncha, farfor tigel, byuks yoki forfor kosacha, eksikator, quritish shkafi, elektro plita, gorelka, byuretka, shisha tayoqcha 96% li etil spirti.

**Ishni bajarilish tartibi:** Texnika va yong'inga qarshi havfsizlik qoidalari talablarini bajarishga talabalar shaxsan javobgardilar.

Laboratoriyada ishlaganda ular asosiy e'tiborni quyidagi talab va tavsiyalarga qaratishlari kerak:

**Nazariy qism.** Talabalar laboratoriya ishlarini bajarishga texnika va yong'inga qarshi xavfsizlik qoidalarini o'qib o'zlashtirganlari, hamda maxsus jurnalda ro'yxatga olinganlaridan so'ng qo'yiladi.

Texnika va yonqinga qarshi xavfsizlik qoidalari talablarini bajarishga talabalar shaxsan javobgardilar. Laboratoriyada ishlaganda ular asosiy etiborni quyidagi talab va tavsiyalarga qaratishlari kerak:

1. Laboratoriya ishlarini bajarishni faqat uslubiy qo'llanmalar asosida amalga oshirish kerak. Qo'llanmadan chetlashish faqat o'qituvchi ruxsati bilan bo'lishi mumkin.

2. Ishni bajarishda talabalar faqat himoyalovchi ustki kiyimlari-xalatlari bo'lsagina qo'yiladilar.

3. Kimyoviy reaktivlar bilan ishlaganda ularning qo'lga to'kilishligiga yo'l qo'ymaslik, qo'llarni ko'zlarga va yuzga tekkizmaslik kerak.

4. Kimyoviy moddalarni ta'mini ko'rishlik man etiladi; moddalarni hidini ularning buqlarini yoki gazlarini qo'l bilan elpib turib, o'ziga yo'naltirib, chuqur nafas olmay hidlash mumkin. Ishdan so'ng qo'llarni tozalab yuvish kerak. Laboratoriyada ovqatlanish man etiladi.

5. Laboratoriyada faqat etiketkali kimyoviy idishda turgan, nomi ma'lum kerakli reaktivlardan foydalanish kerak.

6. Ishqor va kislotalar, hamda boshqa o'yuvchi va zaharli suyuqliklar hajmini faqat o'lchash silindri, avtomatik pipetka yoki maxsus rezinali pipetkalarda o'lchashga ruxsat beriladi.

7. Suyuqlik quyilayotgan, qizdirilayotgan yoki qaynayotgan idishga yaqin engashib qarashlik man etiladi, chunki suyuqlikni sachragan tomchilari yuzga yoki ko'zlarga tegishi mumkin. Suyuqlikni zich yopilgan idishda qaynatish man qilinadi.

8. Engil uchuvchan moddalarning ajralib chiqishi bilan bog'liq bo'lgan, kislotali, ammiakli, eritmalarini qaynatish va bug'latish ishlari, dietil efiri va boshqa erituvchilar bilan ishlash, tahlil qilinayotgan moddalarni yondirish ishlarini faqat yoqilgan aktiv ventilyasiya shkafida (tyaga ostida) bajarishga ruxsat beriladi.

9. Engil yonuvchan moddalar (dietil efir, atseton, spirt va boshqa erituvchilar) bilan ochiq elektrisitish jixozlari yaqinida ishlash man qilinadi.

10. Tigellarni mufel shkafidan olishda (mufel shkafida temperatura 600-700 °C) maxsus qisqich, tutqichlaridan foydalanish kerak; tigellarni sovutish uchun issiqqa va olovga chidamli maxsus joyga quyish kerak. Eksikatorga tigellar faqat sovutilgandan so'ng joylanadi.

11. Issiq suyuqlik solingan kolba va stakanni olib yurganda nihoyatda extiyot bo'lish kerak.

12. Laboratoriyada asosan tik turib ishlash kerak; faqat yong'in, sachrash va portlash xavfi bo'lmaganda o'tirib ishlash mumkin. Laboratoriyada yolg'iz bir kishi ishlashi man etiladi.

13. Elektr jixozlar bilan ishlaganda, shu jixoz bilan ishlashning barcha qoidalariga qat'iy amal qilish kerak. Elektr tarmoqiga ulangan uskunani qo'zg'atish yoki ta'mirlash man etiladi.

14. Yo'qilib, ishlab turgan jixozlarni nazoratsiz qoldirish qat'iy man qilinadi.

15. O'ta xavfli ishlar bajarilganda (yonish, portlash, issiq va agressiv suyuqliklarni sachrash xavfi bo'lsa) organik shishadan yasalgan himoyalovchi to'skich, ko'zoynak yoki himoyalovchi ekran tutish zarur.

16. Gazli garelkalar bilan ishlaganda, gazning to‘liq yonishi va xonaning gazlanmasligini nazorat qilish zarur.

17. Shisha idishlar bilan ishlaganda shishali qismi bo‘lgan qurilma va jixozlarni yiqish va ajratishda quyidagi extiyotkorlik choralariga amal qilish kerak:

- shisha naychalarni po‘kak tiqinlarga yoki rezinali naychalarga o‘rnatishdan oldin ularni suvli glitseringa yoki vazelin moyiga botirib olish kerak. Bunda shisha idish sochiq bilan o‘rab ushlanishi kerak.

- shisha kolbani tiqin bilan yopayotganda kolba bo‘ynining eng yuqori qismidan, tiqinga yaqinroq ushlash zarur. Bunda kolba sochiq bilan o‘ralgan bo‘lishi kerak.

18. Erituvchilar, konsentrlangan kislotalar va ishqorlar hamda boshqa o‘yuvchi suyuqliklar qoldiqlarini kanalizatsiyaga faqat maxsus qayta ishlashdan so‘ng (neytrallash, haydash, zararlantirish) to‘kish mumkin.

19. Agar yonuvchi suyuqliklar yoki boshqa moddalar alangalansa, elektrisitish jixozlarini o‘chirib, engil yonuvchi suyuqliklar turgan idishlarni olovdan uzoqroqqa olib, yong‘inni o‘chirish choralarini ko‘rish kerak.

20. Laboratoriyada tartib va tozalikni saqlash zarur. Ish tugagach elektr jixozlar va elektr tarmoqi o‘chirilishi shart. Iflos laboratoriya idishlari yuvilib, ish joyi tozalanib, qo‘llar sovunlab yuvilib, suv krani yopilishi kerak.

### **Kimyoviy idishlar**

Shisha idishlarga qo‘yiladigan asosiy talab ularning kimyoviy va termik barqarorligidir. Kimyoviy barqarorlik - shishaning ishqor, 0 kislota va boshqa moddalarning eritmalarini parchalash ta‘siriga qarshi tura olish xossasidir. Termik barqarorlik - idishning temperaturaning tez o‘zgarishiga chidamliligidir.

Eng yaxshi shisha pireks hisoblanadi. U kimyoviy va termik barqarorlikka ega, uning kengayish koeffitsienti kichik. Pireks shishasida 80% kremniy (IV) oksidi bor. Uning erish temperaturasi +620°C. Bundan yuqori temperaturalarda tajriba olib borish uchun kvars shishasidan

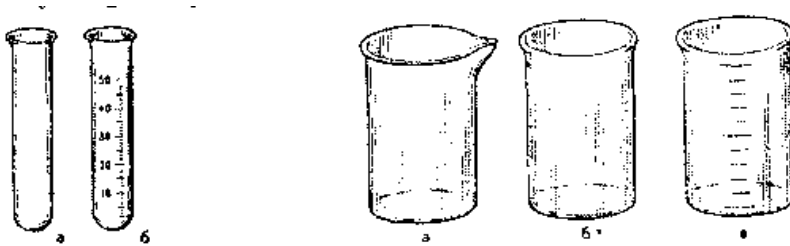
yasalgan idishlardan foydalaniladi. Kvars shisha tarkibida 99,95% kremniy (IV) oksid bo‘lib  $+1650^{\circ}\text{C}$  da eriydi.

Laboratoriya idishlari asosan TU (termik barqaror), XU-1 va XU-2 (kimyoviy barqaror) markali shishalardan tayyorlanadi.

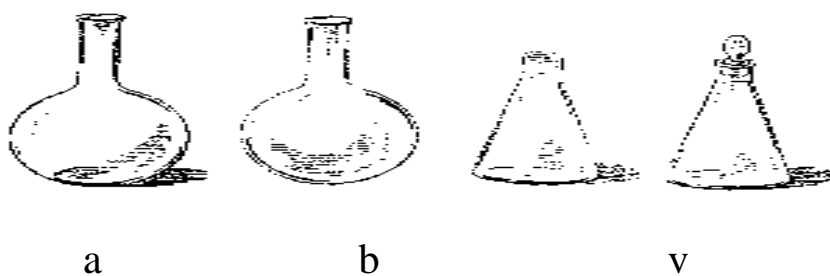
### **Rasmlarda laboratoriya amaliyotida qo‘llaniladigan shisha idishlar keltirilgan.**

Oddiy va kalibrovka qilingan probirkalar (*1-rasm*) oz miqdordagi reaktivlar bilan ishlashda qo‘llaniladi. Reaktivning egallagan hajmi probirka hajmining yarmidan ortmasligi kerak.

Laboratoriya stakanlari turli olchamlarda chiqariladi (burunli yoki burunsiz, oddiy yoki o‘lchamli belgilari bilan). Stakanlar turli laboratoriya ishlarini bajarishga mo‘ljallangan.



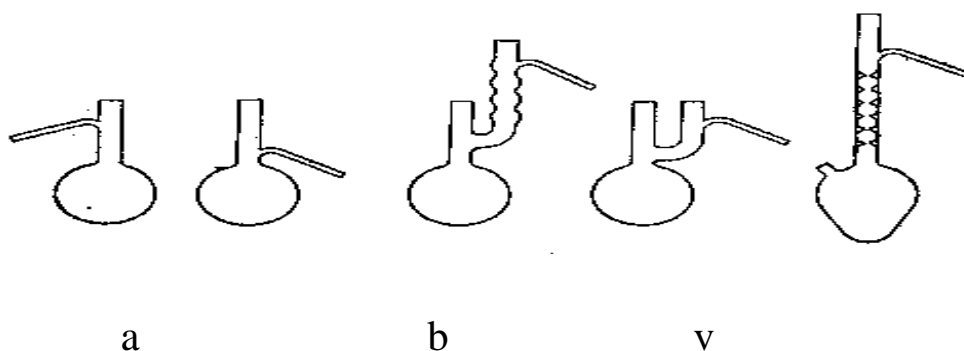
Laboratoriya amaliyotlarida turli o‘lcham va shakldagi kolbalar keng qo‘llaniladi (tubi yassi, tubi yumaloq va konussimon).



**Kolbalar: a - tagi yassi; b - tagi dumaloq; v – konussimon**

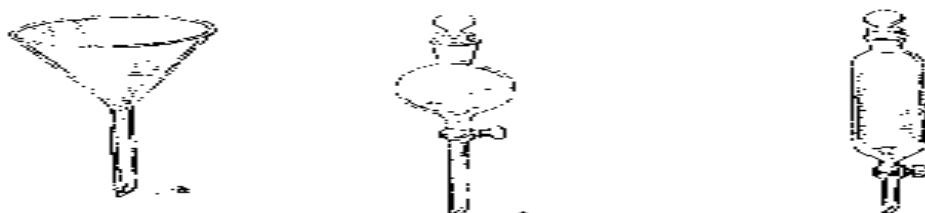
Vyurs kolbasi  $60-80^{\circ}\text{C}$  burchakda egilgan shisha trubkali tubi yumaloq kolba (*4-rasm*). Undan gaz olishda, atmosfera bosimida suyuqliklarni haydashda foydalaniladi. Yumaloq tubli kolbalar har hil: keng va tor bo‘g‘izli, uzun va kalta bo‘g‘izli, bir, ikki, uch va to‘rt bo‘g‘izli bo‘ladi. Nay chiqarilgan, deflegmator o‘rnatilgan, nasadka o‘rnatilgan, yumaloq tubli kolbalar haydashning turli hollarida ishlatiladi.





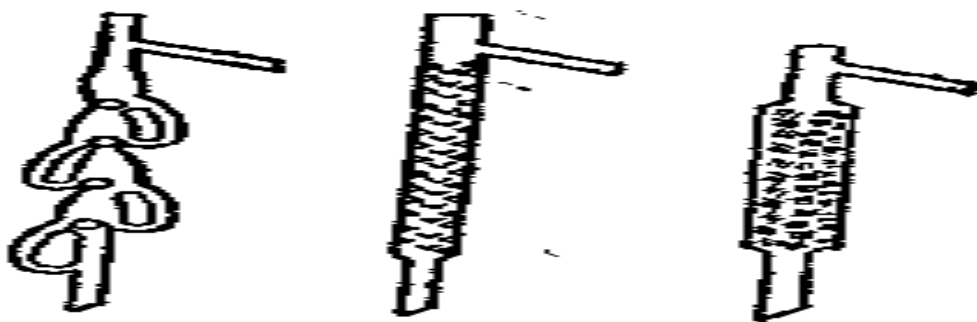
**Haydash kolbalari: a-Vurs kolbalari: b-Klyayzen kolbalari: v-Favorskiy kolbasi.**

**Voronkalar.** Kimyoviy voronkalar suyuqliklarni filtrlashda, bir idishdan ikkinchi idishga quyishda ishlatiladi. Suyuqliklarni reaksiyon aralashmaga oz-oz miqdorda qo'shish uchun uzun nayi bor har hil shakldagi tomizgich voronkalar ishlatiladi. Ajratgich voronkalar qalin shishadan tayyorlanadi. Ularning suyuqlik quyiladigan naychasi tomizgich voronkaning nayiga nisbatan qisqaroq bo'ladi. Bu voronkalar aralashmaydigan suyuqliklarni bir-biridan ajratishda, moddalarni ekstraksiya qilishda ishlatiladi.



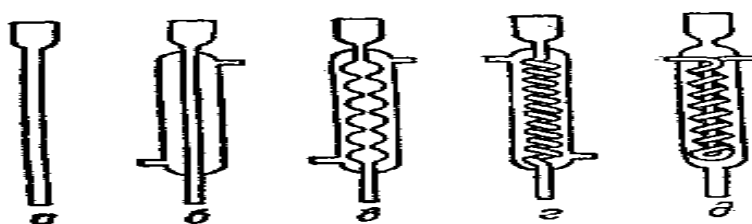
**Voronkalar: a-kimyoviy; b-tomizgich; v-ajratkich**

Deflegmatorlar (6-rasm) suyuqliklar aralashmasini haydash, yani ikki suyuqlikni bir-biridan to'la ajratish uchun ishlatiladi. Deflegmator ichidagi nay sirti har hil usullar bilan kengaytiriladi. Sirtni kengaytirish naydagi konussimon egiklar hisobiga amalga oshiriladi. Egiklar shunday joylashganki deflegmatorlar ichida huddi spiral joylashganligi o'xshaydi. Natijada modda bug'larining o'tish yo'li uzayadi. Deflegmatorlar sifatida shisha munchoq yoki shisha halqachalar to'ldirilgan shisha kolonkadan foydalanish mumkin.



**Deflegmatorlar: a-sharikli: b-archasimon: v-nasadkali.**

Organik reaksiyalarning ko‘pi qizdirilganda ko‘pincha reagentlar qaynatilganda boradi. Shuning uchun aralashmadagi komponentlar bug‘lanib chiqib ketmasligi uchun reaksiyon aralashma solingan idishga qaytarma sovutkich ulanadi. Laboratoriya praktikasida shisha sovutkich ishlatiladi. Bug‘ kondensasiyalanib, reaksiyon aralashmaga qaytib tushishi uchun sovutkich idishga qaytarma qilib ulanadi. Oddiy qaytarma sovutkich havo sovutkichi bo‘lib, u oddiy uzun shisha naydan yasaladi. Bunday sovutkich qaynash temperaturasi  $150^{\circ}\text{C}$  dan yuqori bo‘lgan moddalar bug‘ini suyuqlikka aylantirish uchun ishlatiladi (7-rasm).



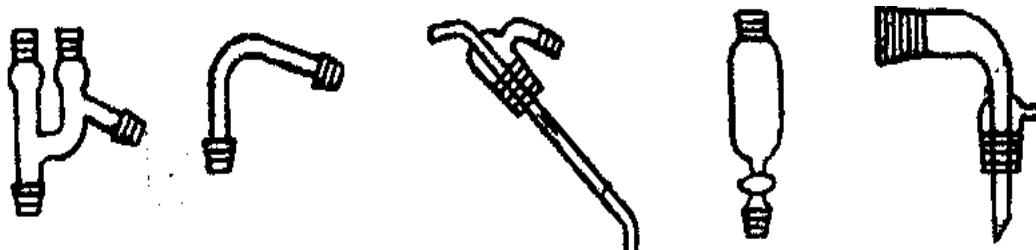
**Sovutkichlar: a-havo sovutkichi: b-Libih sovutkichi: v-sharikli sovutkichi:**

**g-ichki nayi spiral shakldagi sovutkich: d-Dimrot sovutkichi.**

Hozirgi vaqtda laboratoriyada ishlari uchun standart shlifli shisha idishlar ishlatiladi. Shlif asbobni germetik berkitib turadi. Shlifli asboblarda ishlanganda olingan moddalar probkalar bilan ishlaganda olingan moddalarga nisbatan ancha toza bo‘ladi. Chunki shliflar temperatura va har hil reagentlar tasiriga chidamli. Shliflar bir necha hil: yassi, konussimon va shar shaklda bo‘ladi. Ko‘p idishlarning shliflari konussimon shaklda tayyorlanadi.



**Shlifli kolba va sovutkichlar.**



**Shlifli nasadkalar, tomizgich voronkalar va shlifli alonj.**

### **Tushintirish:**

#### **Baxtsiz hodisalarda birinchi yordam ko‘rsatish**

Shifokorlar kelgunga qadar baxtsiz hodisadan jabrlangan kishiga xamkasblari birinchi yordam ko‘rsatishlari kerak. Ko‘p hollarda jabrlanuvchining sog‘ligi va ba‘zan hayoti unga ko‘rsatilgan birinchi yordamning tezligi va to‘g‘riligiga bo‘liq. Shuning uchun, laboratoriyada ishlayotgan har bir kishi, jabrlangan odamga, birinchi yordam ko‘rsatishning amaliy ko‘nikmalarini bilishi shart va shu bilan birga baxtsiz hodisa yuz bergan daqiqada xavfni yoki jarohat og‘irligini kamaytirish choralarini ko‘ra bilishligi kerak.

Laboratoriyada ishlaganda ko‘proq qo‘llarning termik yoki kimyoviy kuyishi, hamda qirqilib jarohatlanishi yuz beradi. Qo‘l yoki tana kuyganda quyidagi qoidalarga amal qilish kerak:

1. Kislota va ishqorlar teriga to‘kilsa, hamda bir oz kuydirsa, shu joyni darhol, 10... 30 minut davomida vodoprovod suvi ostida yuvish kerak.
2. Termik kuygan joyni suv bilan yuvgandan so‘ng, margansovka eritmasi yoki etil spirti bilan yuvib, maxsus kuyganda suriladigan maz surtish kerak.
3. Kislota bilan kimyoviy kuygan joyni suv bilan yuvgandan so‘ng, 5 %li natriy bikarbonat eritmasi (choy sodasi) bilan yuvish kerak. Terining

ishqor bilan kuygan joyini suv bilan yuvgandan so‘ng, 5 %li sirka kislota eritmasi bilan yuvib yuborish kerak.

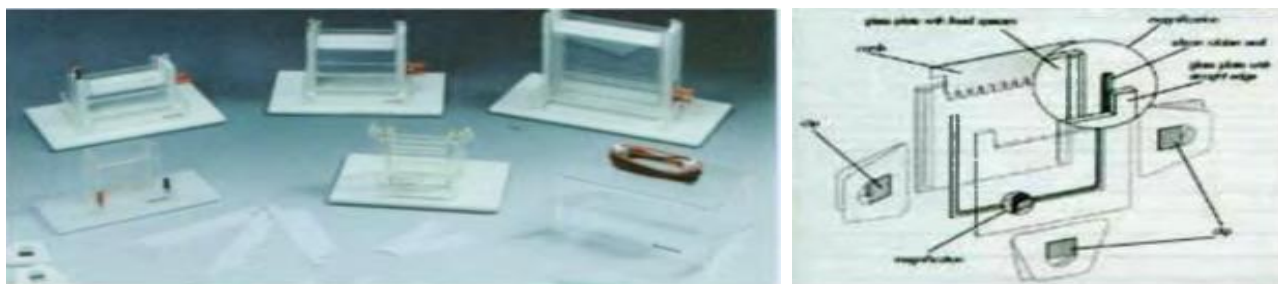
4. Kuygan joyga mazni paxtali tampondan foydalanib, jarohatni qirmasdan surtish kerak.

5. Juda katta teri yuzasi kuysa yoki kislota va ishqorlar ko‘zlarga sachrasa darhol tibbiy tez yordamga murojaat qilish kerak.

6. Qo‘l qirqilsa, jarohat yod yoki vodorod peroksid eritmalari bilan artish kerak.

### ***Biologiya laboratoriyalarida biotexnologik asbob uskunalar***

**Elektroforez uskunasi** - -rasmda turli xil o‘lchamdagi elektroforez uskunasi aks ettirilgan bo‘lib, u asosan agarozali gelda ishlashga ixtisoslashtirilgan.



### **Turli xil hajmli elektroforez uskunalari va uning tuzilish chizmasi: a-gorizontal; b-vertikal**

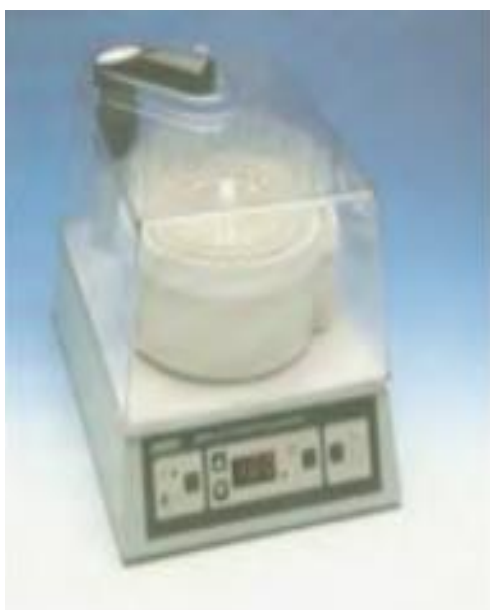
Ushbu uskunadan foydalanib, oqsillar molekulyar massasini aniqlash, ularni turli xil fraksiyalarga ajratish va alohida fraksiyalarni toza holda ajratib olish ishlarini amalga oshirish mumkin. Hozirgi vaqtda

elektroforezning gorizontal va vertikal tuzilishli shakllari kengroq ishlatiladi. Zamonaviy jihozlangan laboratoriyalarda kapilyar elektroforezlar qoʻllaniladi. Buning qulaylik tomoni oʻrganilayotgan moddalarning miqdori juda kam boʻlgan hollarda ham etarli darajadagi ishlarni amalga oshirish mumkin. Ushbu elektroforezlardan foydalanib DNK ning turli xil formalarining molekulyar ogʻirliklarini aniqlash va ularni ajratib olishni tashkillashtirish mumkin. Elektroforezda agarozali gelda (koʻpincha, SDS, tris, NaCl ishtirokida) masalan, oqsillarni molekulyar ogʻirlikka nisbatan boʻlish va ajratish parchalangan oqsillarning izoelektrik nuqtasi va molekulyar ogʻirligiga asoslaniladi.

Elektroforez uskunasi foydalanib asosan oʻsimlik, hayvon yoki mikroorganizmlarning metabolitik moddalarini toza holda ajratib olish mumkin, ammo miqdor jihatidan koʻproq boʻlgan massani olish imkoniyatlari cheklanganligi uchun undan asosan ilmiy tadqiqot ishlariga moʻljallangan moddalar ajratish uchun qoʻllaniladi.

**Sentrifuga.** Sentrifugal asosan suyuqlikdan maqsaddagi moddalarni yoki komponentlarni choʻktirib olish uchun qoʻllaniladi. Ishlash prinsipi markazdan qochuvchi kuch hisobiga asoslanadi. Sentrifugalarning turli xil tiplari aylanish tezligiga, hajmiga, ish maxsuldorligi kabi koʻrsatkichlariga bogʻliq holda farqlanadi. Hozirgi vaqtda analitik yaʼni ultrasentrifugal ham qoʻllanilmoqdaki, ularning aylanish tezligi 20, 30, 60 va hattoki 200 ming martaba tezlikni tashkil etadi.

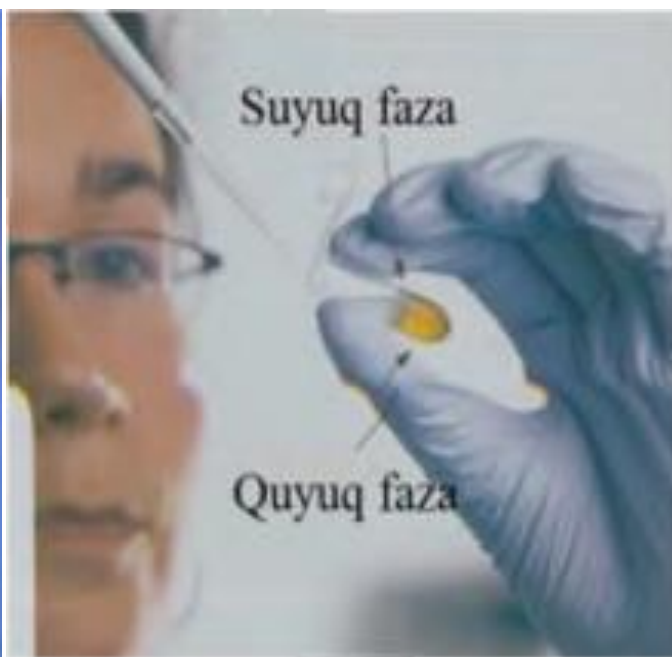
Avtomat-samplerlar (pipetkalar) - biologik tajribalarda asosiy ish qurollaridan biri boʻlib, foydalanilayotgan moddalar yoki komponentlarning juda kam oʻlchamlarini ham avtomat tarzda aniq oʻlchamlarini olish va quyish vazifasini oʻtashga ixtisoslashtirilgan boʻlib, ilmiy tadqiqot ishlarida qoʻllaniladi. Ular oʻlchamlari va shakllariga koʻra farqlanadi. Ushbu rasmda avtosampler yordamida epindorf idishida fraksiyalarga ajratilgan komponentni olishda foydalanish aks ettirilgan.



## Turli sentrifugalar



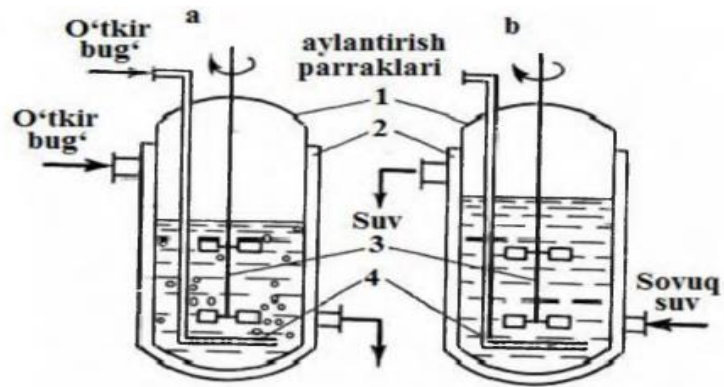
a



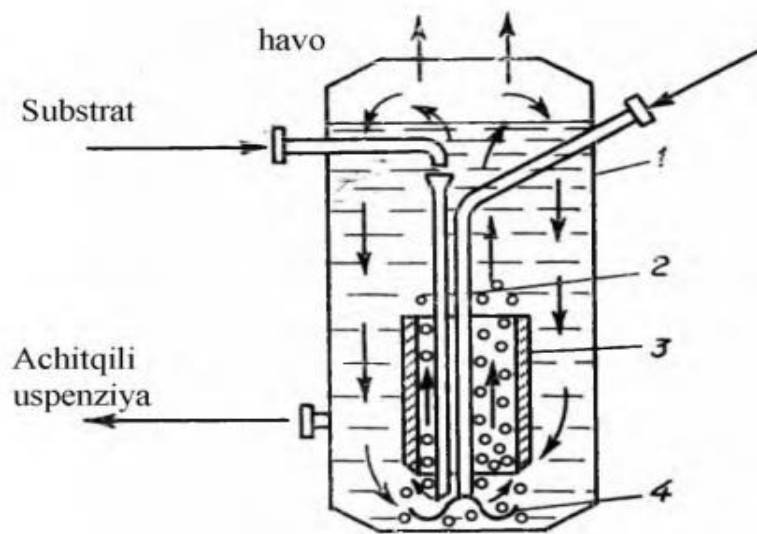
b

## Avtomat-samplerlar (pipetkalar)

**Fermentyor** - asosan biologik obyektlarni suyuqlikda o„stirishga mo„ljallangan, barcha zarur ko‘rsatkichlarni avtomat ta‘minlab beruvchi o‘lchovchi asbob-uskunalar bilan ta‘minlangan bo‘ladi. Ushbu holatning ba‘zi birlarining texnologik chizmasi rasmda aks ettirilgan.

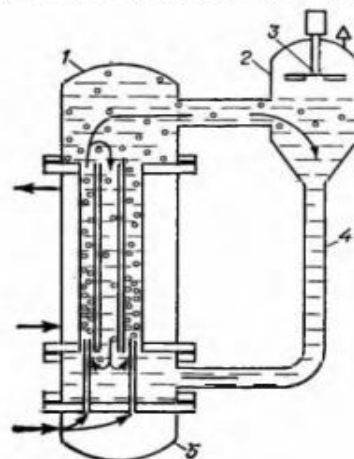


**Ozuqa muhitini sterillashda fermentyorning qizdirilish (a) va sovutilish chizmasi (b)**



**B. Lefransua tizimli fermentator**

1-uskuna korpusi; 2- havo uzatuvchi; 3- diffuzor; 4- kyuveta.



**C. Gazliftli fermentator**

1 – qoplamali quvur reaktor; 2 – separator; 3 – mexanik ko‘pik bosuvchi; 4 – sirkulyasion truba; 5 – havo kamerasi.



**a**



**b**

**Oquv – laboratoriya (a) va tajriba laboratoriya fermentyorlari (b)**

**Laminar-boks** - odatda mikrobiologik tajribalar uchun qo‘llaniladi. Bundan tashqari biotexnologik jarayonlarda ham keng ishlatilishi mumkin. Masalan, hujayra organoidlarini ajratish, ular ustidan turli xil manipulyasiyalarni amalga oshirish hamda ularni ekish jarayonlarida keng qo‘llaniladi. Mikrobiologik laminar boks o‘rniga ba‘zan maxsus izolyasiyalangan xoanalar tashkil etish mumkin, ularni boks-xonalari deb ataladi. Ammo, unda kelayotgan havodan va odamning nafas olishidan chiqayotgan mikrofloradan himoyalaniş cheklanganligi uchun to‘liq talabga javob bermasligi bilan xarakterlanadi. Mikrobiologik laminar boksning uchta sinfi tafavvut qilinadi. Bular birinchi, ikkinchi va uchunchi darajali laminar bokslar deb nomlanib, ko‘pincha ikkinchi va uchunchi darajali laminar bokslar hujayra organoidlari bilan ishlashda keng qo‘llaniladi.





Maxsus boks xonalarda mikroorganizmlar va hujayra organoidlari bilan ishlash davomida albatta gaz gorelkasi baland bosimda ishlab turishi lozim.



**Maxsus boks-xonada gaz gorelkasi yordamida ishlash**

## 2-Laboratoriya mashg'uloti

### Mavzu: Hujayra va to'qima to'plamlari bilan ishlash jarayonida sterillash usullari

**Ishdan maqsad:** Biotexnologik jarayonlarning moddiy asoslaridan bo'lgan hujayra organoidlaridan foydalanib tajribalar o'tkazish uchun zarur bo'lgan asbob-uskunalar, zarur materiallar va idishlarni sterillash usullari haqida ma'lumotga ega bo'lish.

**Ishning tashkil etilishi:** murabbiy guruh talabalarini ikki guruhga (ko'proq guruhchalarga ham bo'lish mumkin, faqatgina bunda har bir guruhchalarning vaqt me'yorini to'g'ri taqsimlash zarur) ajratadi.

**Birinchi guruh talabalari:** laminar boks, asbob - uskunalar va ozuqa muhitini sterillashni o'rganishadi;

**Ikkinchi guruh talabalari:** idishlarni va zarur materiallarni sterillashni o'rganishadi.

Oradan ma'lum vaqt o'tgach (50 minut) har ikkala guruh talabalari ishchi o'rinlarini almashtirishadi.

Jarayonlar davomida murabbiy talabalarning bergan savollariga javob berib borishi va tug'ilgan muammolarni hal etishda amaliy yordam berishi lozim.

Dars (ikkinchi juftlik) oxirida talabalar laboratoriya daftarlariga qayd etilgan ma'lumotlar asosida kollokvium topshiradi va mashg'ulotga ajratilgan reyting balini oladi. Reyting balini to'play olmagan talaba 17 keyingi mashg'ulotgacha ushbu laboratoriya ishini qayta topshirishi mumkin.

**Tushintirish:** Ajratilgan organlar, to'qimalar, hujayra va protoplastlarni o'stirishda sterillikka katta ahamiyat berish zarur. Sterillikni ahamiyati shundan iboratki, ajratilgan organlar, to'qimalar, hujayralar va protoplastlarni o'stirish uchun tayyorlangan sun'iy ozuqa muhitlarida mikroorganizmlar ham juda yaxshi o'sadi. Mikroorganizmlarning rivojlanishi o'stirilayotgan hujayra va to'qimalar uchun ikki yoqlama havf tug'diradi.

Birinchidan, mikroorganizmlarning yashash faoliyati davrida ozuqa muhitlarining tarkibi sezilarli darajada o'zgarib, belgilangan turg'un sharoitda hujayraning o'sishini to'xtatadi.

Ikkinchidan, o'simlikdan ajratilgan to'qima, hujayra va ayniqsa protoplastlarni mikroorganizmlar osongina zararlaydi.

Ayniqsa, hujayra kulturalarini fermentyorda o‘stirish jarayonini amalga oshirish uchun o‘ta darajadagi sterillik talab etiladi.

Shuning uchun ajratilgan organ, to‘qima, hujayra va protoplastlar bilan olib boriladigan tajribalar steril xonalar, bokslar yoki laminar bokslarda olib boriladi.

Bokslar, asboblari, idishlar, o‘simliklar, ozuqa muhitlari, paxta tiqinlar va boshqa ishga kerakli narsalarning hammasi sterillanadi. Umuman olganda sterillash jarayoni talabalar uchun yangilik emas, chunki biokimyo, kimyo, mikrobiologiya kabi fanlarda sterillashning ba’zi bir jabhalari bilan tanish bo‘lganliklari uchun ushbu laboratoriya ishini bajarish hech qanday qiyinchilik tug‘dirmaydi.

Shuni ham ta’kidlab o‘tish joizki, biotexnologik jarayonlarda ozuqa muhitini sterillash jarayoni mikrobiologik tajribalar uchun ozuqa muhiti tayyorlashdan kam farq qilsada, foydalaniladigan tarkibiy komponentlarning juda ham kam miqdorda ishlatilishi va ko‘pincha garmonlar, o‘stiruvchi omillar va vitaminlar kabi juda tez buziluvchi tarkibga ega bo‘lganligi uchun diqqat bilan sterillash sharoitini tanlashni talab etadi.

Shuningdek, ushbu jarayonlarda talabalar to‘liq texnika xavfsizligi va laboratoriyada ishlash qonun va qoidalariga rioya etishlari talab etiladi.

#### **Asbob-usunalar va materiallar:**

1. 500-700 ml li kimyoviy stakanlar (2 ta);
2. Distillangan suv uchun bir litrli kolba;
3. Spirt, spirtovka yoki tabiiy gaz;
4. Petri likobchalari (2ta);
5. Avtoklav;
6. Sterilizator;
7. Natriy bikarbonatning 1% li eritmasi;
8. Ozuqa muhitli probirkalar;
9. Quritish shkafi;

#### **Ishning borishi:**

**Laminar boks sterilizatsiyasi.** Laminarning ish olib boriladigan ichki yuzasi 70% li spirt bilan artiladi;

So‘ng laminarga spirtovka, gugurt, 96% spirtli stakan, sterillangan idishlar, asboblari va sterillangan suvli kolba joylanadi;

Meristemalar ajratishda laminarga binokulyar lupa ham qo‘yiladi;

Ishlashdan oldin 2 soat davomida laminar boks bakteriosid ultrabinafsha lampasi bilan nurlantiriladi;

Ishlashdan ikki soat oldin laminarning ichki yuzasi 70% li spirt bilan yana artiladi;

Ish boshlashdan avval qo‘llarni yaxshilab sovun bilan yuvib, spirt bilan artiladi va steril oq xalat kiyiladi, og‘ziga steril niqob tutiladi.

**Idishlarni sterillash.** Idishlar quritish shkaflarida quruq issiqda yoki nam bug‘da avtoklavda sterillanadi;

Sterillashdan oldin idishlarni yaxshilab yuvib, quritish kerak;

Idish yuvish uchun turli idish yuvish vositalari va xrompik (kaliy bixromatning sulfat kislotasidagi eritmasi) ishlatiladi;

Yuvilgan idishlarni distillangan suvda chayib, quritish shkafida quritiladi;

Sterillashdan avval havodan infeksiya tushishining oldini olish uchun probirkalar, kolbalar og‘zi paxta tiqinlar bilan yopiladi va qog‘ozga (iloji boricha falga qog‘ozga) o‘raladi;

So‘ngra idishlarni quritish shkaflariga joylab 2 soat 160<sup>0</sup>C da (falga qog‘ozga o‘ralgan bo‘lsa 250<sup>0</sup>C gacha) qizdiriladi. Bunday qizdirishda bakteriyalargina emas, balki ularning sporalari ham o‘ladi;

Quritish shkafidagi haroratni 175<sup>0</sup>C dan oshirish mumkin emas, chunki paxta tiqinlar sarg‘ayib ketadi idishlar o‘ralgan qog‘oz esa sinuvchan holga kelib qoladi;

Avtoklavda bosim ostida bundan ham yaxshiroq sterillashga erishish mumkin, chunki namli issiqlikda qizdirilganda mikroorganizmlar va ularning sporalari yana ham yaxshi o‘ladi;

Turli xil stakanlar, Petri likobchalar, pipetkalar, distillangan suvli kolbalar avtoklav qilinadi;

Idishlar falga yoki o‘rash qog‘ozlarga o‘ralgan holda 25-30 daqiqa 2 atmosferada avtoklavlanadi;

Pipetkalarini avtoklavlashda ularning yuqori qismiga paxta tiqib, alohida-alohida qilib o‘raladi.

**Asbob-uskunalarini sterillash.** Asbob uskunalar, skalpel, pinset, ignalar va hakazolar quritish shkafida 12 soat davomida 140<sup>0</sup>C quruq issiqlikda yoki suvda qaynatib sterillanadi;

Temirdan yasalgan asboblari avtoklavlanmaydi, chunki nam bug‘ tasirida ular zanglaydi va o‘tmaslashadi;

Ish boshlashdan avval va ish davomida asboblari chinni stakanlarga solinib, 96% li etil spirtida sterillanadi va spirtovka alangasida qizdirib olinadi;

Spirtovka alangasida lansetlar, pinsetlar va mikrobiologik ilmoqlar qizdiriladi va steril qog'ozlar orasida saqlanadi;

Sterillangan asboblari faqatgina bir martalik muolaja uchun ishlatiladi, qayta ishlatilganida ular yana spirtda sterillanadi va alangada qizdiriladi;

Igna va pakkilar spirtga solib sterillanadi.

**Materiiallarni sterillash.** Tajribada ishlatiladigan paxta, doka, paxta tiqinlar, filtr qog'ozlari, xalatlar va ro'mollar avtoklavda 2 atmosferada 25-30 daqiqa sterillanadi.

**O'simlik materiiallarini sterillash.** Urug'lar, yuqori meristemalar, o'simliklarning turli qismlaridan olingan to'qima bo'laklarini sterillash uchun turli sterillovchi eritmalaridan:

sulemaning 0, 1% li eritmasi; 1% li brom eritmasi;

13 % li pergidrol;

3-6 % li xloramin, dioksid;

1 0% li natriy giroxloridning suvdagi eritmalaridan foydalaniladi.

Ildiz mevalar, tugunaklar, o'simliklarning yo'g'on poyalari sovun va ishqalagich bilan oqar suvda yaxshilab yuviladi, po'stlog'i shilinadi, (ildizlar va ildiz mevalar), distillangan suvda chayiladi va absolyut spirtga bir necha sekundga solib olinadi;

O'simlik obyektlari sterillangandan so'ng, sterillovchi moddalardan tozalash uchun distillangan suvda ko'p marta chayilishi kerak;

Ayniqsa bromidli suv bilan ishlov berilgan o'simlik materiiallarini diqqat bilan yuvish kerak chunki bromidning eng kam miqdori ham urug'larning o'sishini to'xtatib qo'yadi. Brom bug'i zaharli bo'lganligi uchun, brom bilan sterillashda albattda mo'rili shkaflaridan foydalanish kerak;

Brom eritmasida faqatgina makkajo'xori urug'larini sterillashda foydalanish tavsiya etiladi; Loviya, beda, kungaboqar (po'chog'idan tozalangan) uchun -sulema ishlatiladi;

Brom va sulema bilan sterillash vaqti 10-15 daqiqani, pergidrol bilan sterillash esa 30 daqiqani tashkil qiladi. Meristemalar va o'simliklarning har xil qismlaridan olingan bo'laklari ikki marotaba tezroq sterillanadi; Tukli urug'lar (chigit) yuqori konsentratsiyali sulfat kislotasiga 5 daqiqaga solinsa yaxshi sterillanadi; Pergidroldan urug'lar osonroq yuviladi (steril suv 5-7 marta o'zgartirilganda). Sulemadan so'ng suv 5-6 marta o'zgartiriladi;

Bromdan so'ng suv 12 soat davomida, yuvishning boshida har 30 daqiqa, so'ngra esa har 3 soat davomida almashtirib turiladi;

Antiseptiklar bilan ishlov bermasdan, pomidor, olma, qovoq, tamaki va dukkaklilardan steril urug' olish mumkin. Yetilish davrida bu o'simlik

urugʻlari goʻshtli, yogʻochli yoki danakli qatlamlar orasiga joylashgan boʻladi. Sogʻ zararlanmagan bu mevalar sovunli suvda va spirta bir necha marta yuviladi. Soʻng aseptik sharoitda boʻlaklarga boʻlinadi, steril skalpel bilan uning ichidan urugʻlar olinadi va steril filtr qogʻozi solingan Petri likobchalariga solinadi.

**Ozuqa muhitlarini sterillash.** Ozuqa muhitlari bosim ostida (avtoklavda) bugʻ bilan sterillanadi. Ozuqa muhitlari solingan probirkalar ogʻzi paxta tiqinlar bilan yopilib, oʻrash qogʻoziga oʻraladi, va 120<sup>0</sup>C , 1 atmosfera bosimida 20 daqiqa davomida avtoklaflanadi.

**Sovuq sterillash.** Issiqlikka chidamsiz organik suyuqliklar bakteriyalardan mayda teshikli (diametri 0,15-0,45 mkl teshikli) bakterial filtrlardan oʻtkazish orqali tozalanadi.

1. Petri likobchalari (2 ta), 500-700 ml li kimyoviy stakanlar (2 ta) va buyum oynachalar pishiq qogʻozga oʻralgan holda 160<sup>0</sup>C da 2 soat davomida quritish shkaflarida sterillanadi.

2. Skalpel, ajratish ninalari, pinsetlar quritish shkafida 140<sup>0</sup>C da 1 soat davomida sterillanadi va tayyorlangan asboblar laminardagi qogʻoz varaqalari orasiga joylanadi.

3. Ogʻzi paxta tiqinlar bilan yopilgan probirkalardagi ozuqa muhitlari 1 atmosfera bosimda 20 daqiqa davomida sterillanadi. Ozuqa 21 muhitli probirkalar 10-20 tadan qogʻozga oʻralgan boʻlishi kerak. Bir vaqtning oʻzida oʻsimlik materiallari uchun doka xaltachalarni qogʻozga oʻrab avtoklavlanadi.

### **3-LABORATORIYA MASHGʻULOTI**

#### **Mavzu: Mikroorganizmlarni oʻstirish uchun ozuqa muhitlarini sterillizatsiyalash qurilmalari ishlash prinsipi**

Ozuqa muhiti va uni tayyorlash usullari. Mikroorganizmlarning toza ekmasini olish, ularning morfologik va fiziologik xususiyatlarini oʻrganish, shuningdek, mikroorganizmlarning laboratoriya sharoitida toza ekma sifatida saqlanishi uchun ozuqa muhiti zarurdir.

Ozuqali muhitlar tarkibiga qarab tabiiy, sunʼiy va sintetik boʻladilar. Tabiiy ozuqa muhiti - hayvonot va oʻsimlik dunyosiga mansub narsalardan (sut, tuxum, sabzavot, jonivorlarning toʻqimasi, oʻt va qon zardobi) olingan tabiiy mahsulotlardan iborat boʻladi. Sunʼiy ozuqa muhiti esa maxsus

retseptlar asosida hayvonot qoldiqlari yoki turli-tuman qiyomlarga noorganik tuzlar, uglevodlar va azot moddalarini qo‘shib tayyorlanadi. Sintetik muhit esa muayyan kimyoviy birikmalar mahsulidir.

Muhitlar konsistentsiyasi, ya'ni suyuqlik va zichlik darajasiga ko‘ra suyuq, atalasimon, quyuq, sochiluvchan va quruq tiplarga bo‘linadi. Mikroorganizmlarning fiziologik biokimyoviy xususiyatlarini o‘rganishda, shuningdek biomassa va almashinuv moddalarini to‘plashda suyuq ozuqa muhitidan foydalaniladi. Atalasimon muhit ekmalarni saqlashga xizmat qilsa, quyuq ozuqa muhiti mikroorganizmlarni ajratib olish, ilmiy maqsadda bakteriyalar turkumi, ya'ni koloniyalarning morfologiyasini o‘rganish, diagnostika bakteriyalar hisobini olish va antagonistik xususiyatlarini aniqlashda qo‘llaniladi.

Mikrobiologik va tabobat sanoatida ekma produtsentlarni, shuningdek, urchitiladigan bakteriyalar materiallarini saqlashda sochma muhitdan foydalaniladi. Ozuqa eritmasi shimdirilgan chaqmoqtosh qumi, pishirilgan bug‘doy sochma muhit uchun material bo‘la oladi. Hozirgi vaqtda zichlovchi modda sifatida agar, ko‘pincha yelimshak (mol suyagidan va terisidan tayyorlanadigan yelimsimon modda) va silikagel ishlatiladi. Agar dengiz o‘simliklaridan tayyorlanadigan polisaxariddir. U suvda 100°C haroratda eriydigan hamda 45°C va undan past temperaturada quyuqlashadigan mikroorganizmlar uchun ozuqa substrati foydalanilmaydigan gel hosil qilish xususiyatiga ega. Erish-quyilish jarayonining bir necha bor qaytarilishi agarining gel hosil qilish qobiliyatini susaytirmaydi, shu bois agar muhitini qayta-qayta sterillasa ham bo‘laveradi. Atalasimon muhitga 0,5%, qattiq muhitga esa 1,5-2% agar qo‘shib ishlatiladi.

Sanoat korxonalarida ishlab chiqariladigan quruq ozuqa muhiti bir qator fazilatlarga egaligi, ya'ni standartligi, saqlash va tashilishining osonligi bilan ajralib turadi. Namlik darjasi 10% bo‘lgan bu gigroskopik kukunni havo kirmaydigan qilib mahkamlangan idishda va imkoni boricha qorong‘iroq joyda saqlash lozim. Bu muhit suvga solingan xona haroratida yaxshi eriydi.

Ozuqa muhitlari qo‘llanilishi maqsadiga ko‘ra odatdagi (oddiy), maxsus, elektiv va differensial - diagnostika kabi tiplarga bo‘linadi.

Ko'pgina mikroorganizmlarni urchitishda odatdagi muhit qo'llaniladi, bunga go'sht peptonli sho'rva yoki **GPSH** (Myasopeptonniy bul'on - **MPB**) va go'sht-peptonli agar - **GPA** (Myasopeptonniy agar - **MPA**), shuningdek, quruq shira va shirali agar misol bo'la oladi. Mikroorganizmlarning muayyan guruhlari va turlarini ko'paytirish va ajratib olishda maxsus ozuqa muhitidan foydalaniladi. Masalan, glukozali **GPSH** da streptokokklar o'stirilsa, zambururlarni ko'paytirishda Chapek muhitidan foydalangan ma'qul.

Muayyan turga oid mikroorganizmlarni ularning tabiiy yashash joyidan ajratib olishda va yoki ekmalar hosilasini tayyorlashda elektiv ozuqa muhiti qo'llaniladi. Bir boshqa, yo'ldosh mikroorganizmlar bunday ozuqa muhitida odatda ko'paymaydi, va o'smaydi yoki ularning rivojlanishida keskin o'zgarish ro'y berib, darhol o'sishdan to'xtaydi.

Muayyan turga oid mikroorganizmlarni fermentativ faolligiga ko'ra boshqalaridan farqlashda (differensiallashda) va ularning biokimyoviy xususiyatlarini o'rganishda differensial-diagnostika muhiti samarali natija beradi. Bu muhit tarkibi muayyan turining o'ziga xos xususiyatlarini nisbatan aniq ko'rsata oladigan moddalardan iborat bo'lishi kerak. Masalan, ichakdagi patogen bakteriyalarni aniqlashda patogen mikroorganizmlarni ichakning doimiy mikroblari - sut qandi ajratib chiqaruvchi mikroorganizmlardan farqlash imkonini beradigan muhitdan foydalaniladi. Tarkibida laktoza (sut qandi) bo'lgan Endo muhiti ana shunday ozuqa manbai hisoblanadi. Endo muhiti tarkibida GPA, sut qandi va natriy sulfit yordamida rangsizlantirilgan asosli fuksin bor. Asosiy ozuqa muhiti och pushti rangga bo'yaladi. Sut qandidan hosil bo'lgan atsetaldegid sulfit bilan reaksiyaga kirishib, mikroorganizmlar turkumini to'q qizil rangga bo'yaydi. Shuning uchun laktoza parchalanganda ichak tayoqchalari bu muhitda o'stirilganida metalday yaltirab turuvchi qizil o'sma to'plamini hosil qiladi, salmonella va shigellalar laktozani parchalagani uchun rangsiz bo'ladi.

Muhitni sterillash. Har qanday muhitni (qo'llanilish doirasi va maqsadidan qat'iy nazar) toza idishga solib sterillanadi. Ko'pgina muhitlar tarkibiga qarab turli rejimda avtoklavlash bilan sterillanadi. Sterillashga mo'ljallangan muhitni uning avtoklavdagi idishning yarmigacha og'zini



paxta tiqin bilan bekitiladi. Qopqoq qattiq bekitilmasligi kerak, aks holda sterillash paytida idish ichiga bug‘ kiradi, keyinchalik mikroorganizmlarning o‘shish jarayonida esa ularning nafas olishi qiyinlashadi. Muhitlarni sterillash tartibi va shart-sharoitlari 1-jadvalda ko‘rsatilgan.

Muhitning sterilligini nazorat qilish uchun sterillash jarayoni tugagandan keyin muhit 37°C haroratli termostatda 5 kecha-kunduz saqlanadi. Bu davrda suyuq muhitlar shaffof holatda turishi kerak, qattiq ozuqa muhitining ustida esa mikroorganizmlarning o‘shish alomatlari sezilmasligi kerak. Sterillikni nazorat qilishdan tashqari, tayyor muhitlarning kimyoviy holati ham nazorat qilib boriladi. Buning uchun namuna sifatida olingan muhit zarrachasi tarkibida pH, umumiy va amin azoti hamda xloridlar miqdori aniqlanadi.

Muhitlarni biologik nazorat qilish usuli ham bor. Buning uchun tekshirilayotgan muhitga o‘sha ozuqa manbai uchun xos bo‘lgan mikrobnining laboratoriya ekmasi ekiladi va uning o‘shishi kuzatib boriladi. Barcha tekshirishlardan muvaffaqiyatli o‘tgan muhit foydalanish uchun yaroqli hisoblanadi.

Har bir ozuqa muhiti quyidagi talablarga javob berishi kerak: mikroorganizmlarning ko‘payishi va o‘shishi zarur bo‘lgan barcha moddalarga ega bo‘lishi; namligi etarli bo‘lishi; muhitning reaksiyasiga mos kelishi (pH); sterillangan bo‘lishi; mikroob hujayralariga izotonik bo‘lishi, ma‘lum oksidlash-qaytarilish potentsialiga ega bo‘lishi lozim. Muhitlardagi asosiy komponentlari nisbati imkoni boricha muvofiqlashgan bo‘lishi kerak: aminogruppa aminokislotalardan iborat azot yig‘indisi hamda quyi polipeptidlarning miqdori 0,8-1,2 g/ml, umumiy azot 2,5-3 g/m,l xloridlar (natriy hisobidan) - 0,5 - 0,8% bo‘lishi kerak.

Ozuqa muhiti tayyorlashda ishlatiladigan ingredient (biror murakkab birikma yoki qorishmaning tarkibiy qismi) lar, mikroorganizmlarning ozuqa muhitida (asosiy, differensial-diagnostik, sintetik) o‘shish va quruq muhitlari bilan tanishib chiqish.

### **Ayrim elektiv va differensial-diagnostik muhitlarning tarkibi**

**go'sht-peptonli sho'rva (GPSH):** 100 ml go'sht seliga 1 g pepton va 0,5 g natriy xlorid qo'shib, 10 daqiqa davomida qaynatiladi. So'ngra 0,05 ml natriy gidroksidni 7,4 pH gacha qo'shiladi va yana 30 daqiqa davomida idish ichida bug' tomchilari hosil bo'lguniga qadar qaynatiladi. Qaynatma filtrlab tozalangandan so'ng suv miqdori avvalgi holiga keltiriladi va 30 min davomida 120°C haroratda sterillanadi. Bu muhit saprofit bakteriyalarni ko'paytirish va o'stirishda ishlatiladi.

**Go'sht-peptonli agar (GPA):** Tayyor GPSH ga 2 % agar qo'shib, 30 daqiqa bo'ktirib qo'yiladi. Keyin agar butunlay eriguncha qaynatiladi va 120°C haroratda 30 daqiqa davomida sterillanadi. Bu muhit ko'pgina saprofit bakteriyalarni o'stirishda qo'llaniladi.

**Endo muhiti (bevosita ishlatishdan avval tayyorlanadi):** 100 ml GPA ga (pH 7,6) ni 70°C temperaturada sterillash mobaynida 5 ml 20% li laktoza eritmasi va 0,5 ml to'yingan asosli fuksin eritmasi bilan 1,25 ml yangi tayyorlangan 10 % li sulfat natriy aralashmasi qo'shiladi. Differensial-diagnostika muhitda ichak gruppasiga mansub bakteriyalar o'stiriladi.

**Gissning uglevodli muhiti:** Pepton – 10 g, natriy xlorid – 5 g, uglevod – 10g, Andrede reaktivi-10 ml, 1000 ml gacha distillangan suv, sterillangandan keyingi pH-7,2-7,4. Bu ham differensial-diagnostika muhiti bo'lib, unda mikroorganizmlar bilan uglevodlarning ajralib chiqishi aniqlanadi.

**Andrede reaktivi:** 0,5 g kislotali fuksinni 100 ml distillangan suvda eritib, natriy gidroksidning 1 N eritmasidan 16,4 ml qo'shiladi va 100°C temperaturada sterillanadi. Shundan keyin hosila burab mahkam qilinadigan probkali (tiqin) li flakonda qorong'i joyda saqlanadi. Tayyor reaktiv och sariq yoki sariq tusli bo'lishi kerak.

**Yig'ma muhit (Pseudomonas):** Sp. Staphylococcus sp. uchun). Achitqi ekstrakti - 5 l, kazeinli gidrolizat (kislotali) - 20 g, natriy xlorid - 5 g, pepton-10 g, glukoza - 2 g, ikki asosli kaliy fosfat - 2,5 g, 1000 ml gacha distillangan suv.

**Mannit qo'shilgan tuzli agar (QQQQ aniqlash uchun):** Pepton-10g, natriy xlorid - 75 g, mannit-10 g, fenol qizili - 0,025 g, agar - 20 g, 1000 ml gacha distillangan suv, pH ning sterillashdan keyingi holati fenol qizili

20% li etanol (1000 ml muhitga 25 ml dan) ning 0,1% li eritmasi tarzida qo‘shiladi.

**Pseudomonas aeruginosa pigmentini aniqlashda qo‘llaniladigan muhit:** Pepton - 20 g, glitserin-10g, ikki asosli kaliy fosfat - 1,5 g, magniy sulfat  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  - 1,5 g, agar - 20 g, 1000 ml gacha distillantant suv. Sterillashdan keyin pH - 7,2 bo‘lishi kerak.

**Saburo muhiti:** (Achtiqilar va mitseliyali zamburug‘larni ko‘paytirish va o‘stirish uchun). Pepton -10 g, glukoza - 40 g, agar - 20 g, distillangan suv-1000 ml gacha.

**Qonli agar:** (Gemoliz kasalligini keltirib chiqaruvchi mikroorganizmlarni aniqlash uchun). Eritib, 45°C gacha sovutilgan MPA (2% li agar) ga ot, quyon yoki qo‘yning 5-10 % tozalangan qonidan sterillash jarayonida qo‘shiladi.

**Levin muhiti:** (Ichak bakteriyalari uchun differensial-diagnostik ozuqa muhiti). 100 ml eritilgan GMPA (pH 7,2-7,4) ga 2 ml metilsn ko‘kining 0,5 % li suvli eritmasi, 1,5 ml eozin sarig‘ining 2 % li eritmasi, 2 g laktoza va 0,2 g ikki asosli kaliy fosfat qo‘shiladi. Bo‘yoq eritmalarni distillangan suvda tayyoelanadi va bug‘ oqimi bilan 1 soat davomida sterillanadi. Ikki asosli kaliy fosfatning agarga qo‘shishdan avval ozgina miqdordagi distillab tozalangai suvda eritib, probirkada qaynatiladi. Yuqorida nomi tilga olingan barcha mahsulotlar solingandan keyin qizil-binafsha rangli muhit hosil bo‘ladi.

**Boyitilgan muhit:** (Enterobacteraceae oilasiga kiruvchi bakteriyalar uchun). Pepton -10 g, ikki asosli natriyfosfat -  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  – 7,5 g, bir asosli kaliy fosfat - 2,5 g, glukoza – 10 g, laktoza – 5 g, fenol qizili - 0,08 g, yashil malahit (yashiltosh) – 0,005 g., 1000 ml go‘sh suvi (1:2 nisbatda), sterillashdan keyin pH  $7,3 \pm 0,2$ . Pepton, tuzlar va glukoza go‘sh suviga solib, asta-sekin isitish jarayonida eritiladi: laktoza qo‘shilgandan so‘ng fenol qizilining 1% li eritmasidan 8 ml va malaxit yashilining 0,5 % li eritmasidan 3 ml aralashtirib, pH ning holati aniqlanadi, keyin 1 daqiqa davomida qaynatilib, filtrda tozalanadi. Bu muhit 121°C temperaturada 5 daqiqa davomida sterillanadi

## 4-LABORATORIYA MASHG‘ULOTI

### **Mavzu: Bakteriyalardan spora va kristallarni ajratib olish va mikroskopda tekshirish**

**Ishdan maqsad:** o‘rganilayotgan bakteriyalarning biomassasini ajratib olish, biomassadagi sporalar va kristallarni alohida ajratish va ularning miqdorini mikroskopik tahlil qilishni o‘rganishdan iborat.

**Ishning tashkil etilishi:** murabbiy guruh talabalrini ikki guruhga ajratadi.

Birinchi guruh talabalari: kultural suyuqlikdan mikrob biomassasini sentrifugalash usulida ajratib olishadi va undan belgilangan tartibda kristall oqsillarni ajratishadi;

Ikkinchi guruh talabalari: qattiq ozuqa muhitida o‘stirilgan biomassani yig‘ib, undan sporalar va kristall oqsillarni belgilangan tartibda ajratishadi. Har ikkala guruh talabalar oqsillarni quyidagi chizma asosida bajarishlari va mikroskopi tahlil qilishlari lozim. Mikroskop ostida ko‘rgan spora va kristall oqsillar rasmlari daftarlarga chizib olinadi.

Dars (ikkinchi juftlik) oxirida talabalar laboratoriya daftarlariga qayd etilgan ma’lumotlar asosida kollokvium topshiradi va mashg‘ulotga ajratilgan reyting balini oladi. Reyting balini to‘play olmagan talaba keyingi mashg‘ulotgacha ushbu laboratoriya ishini qayta topshirishi mumkin.

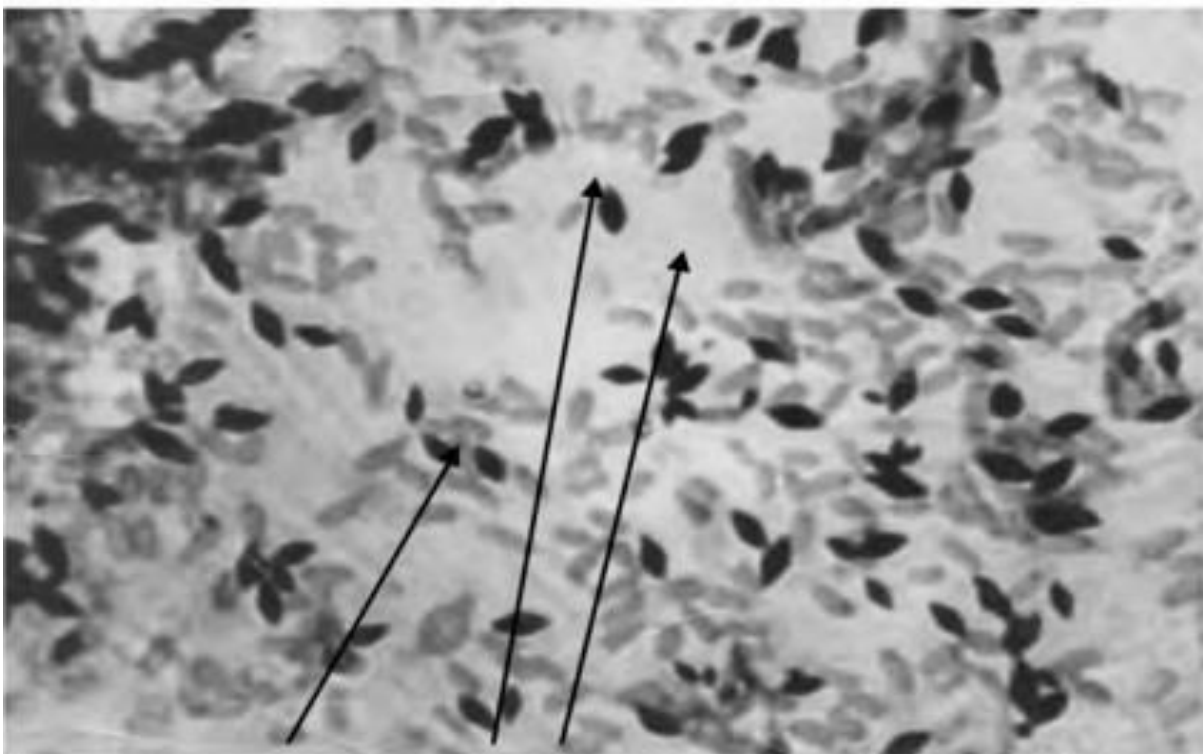
**Tushintirish:** Ma’lumki, oqsillar tirik organizmdagi morfologik va boshqa o‘zgarishlarning asosini belgilaydi va o‘zgargan genotip haqida axborot beruvchi biopolimer modda hisoblanadi. Kristall ko‘rinishdagi oqsillarning funksional va aminokislotalari tarkibini o‘rganish ularni toza holda ajratib olish muammosini tug‘diradi.

Ushbu bakteriyalarda, kristallarni spora, vegetativ hujayra va ularning fragmentlaridan ajratish uchun asosan quyidagi usullardan foydalaniladi: xloroform-suv, tetrabrom etan-suv, to‘rtxlorli uglevodorod 1% li natriy sulfat, polietilenglikol 6000-dekstransulfat natriy 500, flotasiya, CsCl zichligi gradientida qavatida sentrifugalash va x.k. Ammo ushbu usullar yordamida *Bac. thuringiensis* kulturalaridan toza kristallar ajratib olish katta qiyinchilik tug‘diradi. Shu boisdan shtammlardan kristallarni ajratib olishda biz Pendlton usulidan ma’lum bir o‘zgartirish kiritgan holda quyidagi

tartibda ish olib borish tavsiya etamiz. Pendlton usulida ikki fazali (1% li natriy sulfat-n-ksilol) tozalash usulidan foydalanilgan bo'lsa, biz birinchi bosqichdagi gomogenizatorida aralashtirish va tindirishdagi 1% li natriy sulfat o'rniga kulturani o'stirishda foydalanilgan suyuq oziqa muhitidan, oxirgi bosqichda esa suvdan foydalanamiz.

Pendlton usulini bunday modifikasiya qilish bizga *Bac. thuringiensis var. thuringiensis* bakteriyasi shtammlaridan 99% dan ko'proq toza kristall ajratib olish imkonini beradi. Shu nuqtai nazardan tabiiy va mutant shtammalarning umumiy oqsil spektrlarini qiyosiy o'rganish ular genomidagi molekulyar o'zgarishlarni farqlashga va keyingi biotexnologik jarayonlarni bajarishga yordam berishi mumkin.

Ushbu oqsillarni toza holda ajratib olish qishloh xo'jaligi, tibbiyot va fundamental tadqiqotlarda katta ahamiyatga ega. Talabalar ish davomida ushbu kulturalarning quyidagi rasmlardagidek manzaralarni ko'rishlari mumkin:



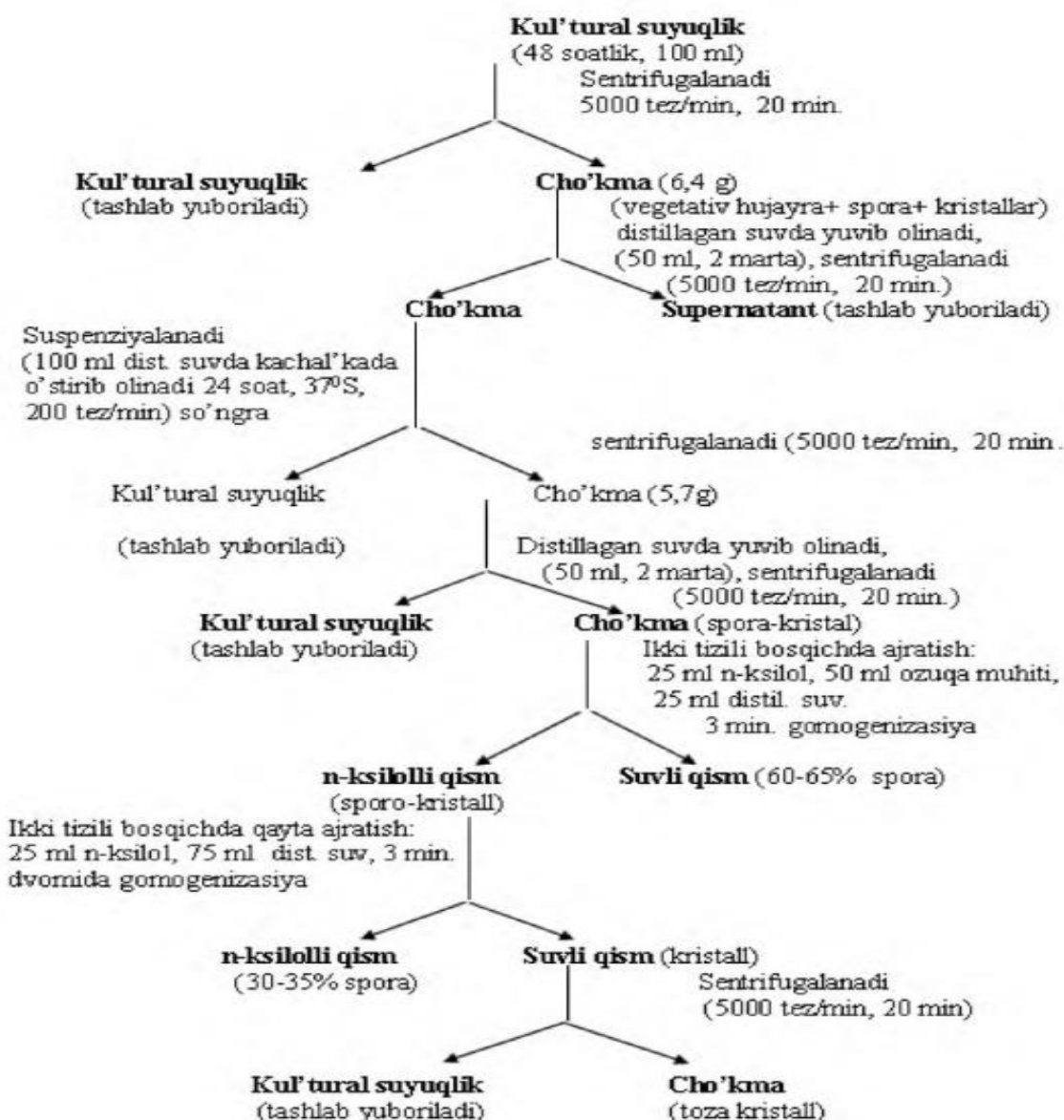
**Spora va kristall oqsillar ko'rinishi**

#### **Asbob-uskunalar va materiallar:**

- ✓ 500-700 ml-li kimyoviy stakanlar (8 ta );

- ✓ n-ksilol (200 ml); S distillangan suv va bir litrli kolbalar;
- ✓ Petri likobchalari (zarur miqdorda);
- ✓ Suyuq ozuqa muhitidan biomassani cho'ktirish uchun epindorf yoki sentrifuga stakanlari (zarur miqdorda);
- ✓ Sentrifuga; S Mikroskop va zarur bo'yoqlar;
- ✓ pH-metr.

**Ishning borishi:** talabalarga quyidagi chizma asosida ishlash tavsiya etiladi:



**Talabalar bajarishi uchun topshiriqlar:**

1. Mikroskop ostida produsentning shaklini, uning zarur metabolitik moddasi shaklini chizib ko'rsatishi;

2. Produsentdan oqsil moddasi ajratishning usulini aytib berishi va amalda bajara olish darajasini ko'rsata olishi;

3. Har bir guruh va kichik guruhchalardagi talabalar ajratgan oqsil va produsentning sporalarini laborantga topshirishi lozim bo'ladi.

Yuqorida berilgan topshiriqlarni bajargan talabalarga belgilangan tartibda reyting bahosi qo'yiladi.

## **5-Laboratoriya mashg'uloti**

### **Mavzu: Bakteriya va zambrug'larni suyuq va qattiq ozuqa muhitlarda ko'paytirish va ularni saqlash**

**Ishdan maqsad:** mikroorganizmlarni o'stirish usullari va uskunalari bilan ishlashni o'rganishdan iborat.

Mikroorganizmlarni aerob va anaerob sharoitda o'stirish. Mikroorganizmlarni ozuqa muhitida o'stirish kultivirlash deb ataladi (lotincha cultus –o'stirish degani). Ularni yuza, chuqur ekib, davriy yoki to'xtovsiz usullarda, aerob yoki anaerob sharoitda o'stirish mumkin. O'stirish usuli qo'llanadigan laboratoriya modellari va usullariga tubdan ta'sir qiladi. O'stirishdagi oxirgi natija: biomassa to'planishi yoki ma'lum metabolit (spirt, kislotalar, antibiotik, ferment, aminokislotalar va hokazolar) olinishi katta ahamiyatga ega.

Aerob mikroorganizmlarni o'stirish. Yuza kultura usuli. Aeroblar quyuk yoki sochiluvchan muhitda, shuningdek, tubi keng shisha idishdagi yupqa suyuqlik qavatida: Petri likopchalarida, kolbalarda, matrats, kyuvetalarda o'stiriladi. Mikroorganizmlar ekilgan idishlar termostatda yoki termokamerada doimiy temperaturada saqlanadi. Ular muhit yuzasida rivojlanib, bevosita havodan kislorod o'zlashtiradi. Suyuq muhitda obligat aeroblar juda qalin parda shaklida o'sadi. Fakultativ anaeroblar suspenziya, parcha-parcha, cho'kma hosil bo'lgan qilib suyuq muhit ichida ham, yupqa parda shaklida yoki yoppasiga chim hosil bo'lgan qilib o'sadi.

Sanoatda limon kislota olish uchun mikroorganizmlar suyuq muhit yuzasida, ferment preparatlari olish uchun mikroorganizmlar suyuq muhit yuzasida, ferment preparatlari olish uchun sochiluvchan muhitda o‘stiriladi.

Chuqurda o‘stirish. Bu usul davriy va to‘xtovsiz bo‘lishi mumkin. Davriy jarayonda ozuq muhitining hammasiga kultura ekiladi va zarur miqdordagi biomassa yoki mahsulot to‘planguncha optimal sharoitda ma’lum vaqt oralig‘ida o‘stiriladi. Suyuqlikning chuqur qatlamida aeroblar o‘shini ta’minlash uchun kislorod bo‘lishi zarur. Mikroblar hujayrasi faqat erigan kisloroddan foydalanadi, uning eruvchanligi esa past (4-7 mg/l). Suyuq ulturalar aeratsiyasida sterillangan oddiy havodan yoki kislorod, azot va uglerod dioksid aralashmasidan foydalaniladi. Aeratsiya bilan birga ko‘pincha mexanik aralashtirish usuli birga qo‘llanadi.

Aerob kulturalarni suspenziya holatidagi suyuq muhitni ozginadan probirkalarga yoki har xil hajmdagi kolbalarga quyib ekib, keyin termokameraga qo‘yiladi. Muhitning kislorod bilan qanchalik to‘yinganligi ma’lum xatolik bilan sulfit usulida aniqlash mumkin. Buning uchun sulfitning ozuq muhitiga teng bo‘lgan hajmdagi suvli eritmasini kolbalarga quyib, tebratma uskunaga qo‘yiladi va ma’lum vaqtdan oksidlangan sulfit miqdori aniqlanadi.

To‘xtovsiz chuqur o‘stirishishlari laboratoriya fermentlarida olib boriladi. Bular hajmi 1 dan 10 litrgacha bo‘lgan shisha apparatlardir, Ularda to‘xtovsiz ravishda ozuq muhiti berib turiladi, sterillangan havo yuboriladi, temperatura, pH tartibga solinadi, ko‘pik yo‘qotiladi va hokazo. Apparatdan to‘xtovsiz ravishda tayyor kultural suyuqlik oqib turadi. Bu jarayon xemostat yoki turbidostat tipda amalga oshadi. Bular kulturani dinamik muvozanat holatida saqlash usullari bilan farq qiladi.

Xemostat rejimida kulturaning o‘shishi limitlovchi (cheklovchi) omil konsentratsiyasi bilan tartibga solinadi. Muayyan omil sifatida uglerod, azot, fosfor, o‘stiruvchi moddalar manbaidan, kislorod, pH dan va temperaturadan foydalanish mumkin. Limitlovchi omil ta’siridagi mumkin bo‘lgan o‘zgarishlarni aniqlash ishlabchiqarish sharoitida mikroorganizmlarni to‘xtovsiz o‘stirish jarayonini boshqarishda katta ahamiyatga ega, materiallarni tejab sariflashga, produtsentlarning genetik



imkoniyatlaridan samarali foydalanishga, ega ko'p mahsulot olishga imkon beradi. Turbostat rejimida biomassaning konsentratsiyasi doimiy saqlanadi. Shu maqsadda boyitilgan ozuq muhitlaridan foydalanish mikroorganizmlar deyarli eng yuqori tezlikda ko'payishiga imkon beradi.

Biroq bunda hujayralar konsentratsiyasi uncha yuqori bo'lmaydi. Bundan tashqari, hujayralar zichligini fotometrik nazorat qilish uchun ozuq muhiti tiniq (shaffof) bo'lishi kerak. Bu ishni faqat laboratoriya sharoitida bajarish mumkin. Chuqurda o'stirish jarayoni gomogen yoki geterogen-to'xtovsiz bo'lishi mumkin. Gomogen-to'xtovsiz jarayonda jadal aralashtirayotgan fermentyorda barcha parametrlar (ozuq moddalar konsentratsiyasi, hujayra titri va boshqalar) vaqt mobaynida doimiy bo'ladi. Geterogan-to'xtovsiz protsessda esa o'zaro ketma-ket birikkan bir nechta fermentyordan foydalaniladi. Bunda ozuq muhiti birinchi fermentyorga solinadi, tayyor kultural suyuqlik oxirgi fermentyordan oqib tushadi.

Bu holda to'xtovsiz ravishda ozuq muhiti kelib turadi, lekin hujayralar doimiy o'sish sharoiti bilan ta'minlanmaydi (nechtaapparat bo'lsa, shuncha o'stirish sharoiti mavjud). Kulturani bunday sharoitda o'stirish jarayoni fiziologik jihatdan emas, balki texnologik jihatdan to'xtovsiz hisoblanadi. Bu usul spirt va achitqilar olishda keng qo'llaniladi.

Anaerob mikroorganizmlarni o'stirish usullari. Anaeroblar oddiy yoki maxsus probirkalarda, naychalarda, Petri likopchalaridagi ozuq muhitida kislorodsiz o'stiriladi. Muhitga ko'p miqdorda kultura qo'shilsa va atrof-muhit atmosferasida birmuncha uglerod dioksid bo'lsa, anaeroblar aktiv o'sadi.

Fizik, kimyoviy, biologik va aralash (kombinirlangan) usullarda anaerob sharoit yaratish mumkin.

Fizik usullar. Kulturani bevosita ekishdan oldin probirkalarni qaynatish yoki isitish yo'li bilan (qaynayotgan suv hammomida 15-20 minut qaynatib, sovuq suv oqimida tezda sovitish yo'li bilan) quyuq yoki suyuq ozuq muhitidagi kislorod yo'qitiladi. Kulturani ekib bo'lgandan keyin qalin ozuq muhiti qatlami ustiga vazelin moyi bilan parafinning sterillangan aralashmasi quyiladi. Anaeroblar Petri likopchasidagi yoki probirkalardagi ozuqli agarda o'stirilgan idishlar anaerostatlarga quyiladi. Anaerostatlar

metall yoki shishadan yasalgan vakuum eksikatorlar bo'lgan, ularda anaeroblar normal o'sadi.

Kimyoviy usullar. Anaeroblar o'stiriladigan muhit yoki idishdagi erkin kislorodning bog'lanish uchun kimyoviy moddalardan foydalaniladi. Ularning ayrimlari muhitdan tashqarida bo'ladi, boshqalari esa qaytaruvchi sifatida bevosita muhitga qo'shiladi. Pirogallolning Na CO li eritmasi, natriy gidrosulfat (ditiolit) ning ishqoriy eritmasi, metall, temir va boshqa reaktivlar kislorodni kimyoviy yutuvchilar (o'zlashtiruvchilardir). Kislorodni bog'lab oluvchi moddalarning o'zlashtirish xossasi yuqori bo'lishi kerak. Masalan, 1ml 20% li pirogallol Na CO ning to'yingan eritmasi bilan aralashgan holda 220 sm havoni kisloroddan tozalaydi.

Biologik usullar. Ba'zi anaeroblarni kislorodd mavjud sharoitda aeroblar bilan birga o'stirish mumkin. Buning uchun zich berk idishga aerob kultura ekilgan 10-15 ta va anaerob kultura ekilgan bitta probirka joylanadi. Aerob mikroorganizmlar kislorodni jadal o'zlashtirib, CO<sub>2</sub> ajratadi va shu bilan anaeroblarning o'sishi uchunsharoit yaratadi. Aeroblarni o'sayotgan hujayralari kislorodni batamom o'zlashtirib bo'lgandan keyingina anaeroblar o'sa boshlaydi.

Bakteriyalarning qattiq muhitda o'sishi. Mikroorganizmlarni tasniflash maqsadida Petri likopchasidagi quyuuq muhitga va probirkadagi qiya agarga toza kultura ekiladi. Petri likopchasida bakteriyalar yuzada, chuqurda va tubida o'sayotgani farq qiladi. Yuzada bir-biridan nari o'sayotgan koloniyalar o'rganiladi va ta'riflanadi va quyidagi belgilari aniqlanadi: koloniyasining shakli; o'lchamidiametrini chizg'ichda o'lchab, millimetrda ifodalanadi: maydalari 1-2, o'rtachalari 2-4, yiriklari 4mm, nihiyatda maydalari, nuqtasimonlari, yirik nuqtasimonlari, yirik nuqtasimonlari 1 mm dan mayda bo'ladi; yuzasi silliq, g'adir-budur, burmali, bo'rtikchali, shaffof, yarim shaffof, shaffof emas, yaltiroq, xira, unsimon, fluoressirlovchi, nam, quruq; rangi – koloniyalar ular ostidagi substratning pigmentatsiyasi - oq, kulrang - oq, sariq, limon rang, to'q sariq, qizil va hokazo; profili; strukturasi (mikroskopning kichik ob'ektivida aniqlanadi) – bir xil, mayda donador, yirik donador, tolali va hokazo; chekkasi (mikroskopning kichik ob'ektivida aniqlanadi, 27-rasm);

konsistensiyasi–zich, yumshoq, shilimshiq, cho‘ziluvchan, xamirsimon, mo‘rt; emulsiyalanishga moyilligi –suvda bir tekis yoki donador suspenziya hosil bo‘lgan qiladi, plyonkalar bo‘lakchasi shaklida qalqib yuradi.

Probirkadagi qiya agarda uzuq-uzuq chiziq (shtrix) shaklida rivojlanayotgan mikroorganizmlarning o‘shini ta’riflashda quyidagilar aniqlanadi: o‘sh tezligi–tez, o‘rtacha, kuchsiz; uzuq chiziq xossasi–chetlari tekis yaxlit, chetlari to‘lqinsimon yaxlit, aniq ko‘rinadigan, diffuz, patsimon, rizoidsimon; rangli, optik xossalari, yuzasi, konsistensiyasi.

Koloniyalarni va shtrixlar (uzuq chiziq) ni tekshirishda muhitning tarkibi va kulturaning yoshi hisobga olinadi, chunki aniqlagichlarda GPA da va go‘shpeptonli jelatinda o‘sgan kulturalar ta’riflangan bo‘ladi. Bakteriyalarning kartoshkada o‘shishi. Ko‘pgina bakteriyalar kartoshka bo‘lakchalarida o‘ziga xos g‘ubor ko‘rinishda o‘sadi. Shuning uchun kartoshkada o‘sh xossalari ham tasniflashda foydalaniladigan tashxis (diagnostik) belgilar qatoriga kiritiladi. Bakteriya kartoshkali qiya yuzaga ilmoqda surib ekiladi. Keyin ular shsgandagi yoki yo‘qligi aniqlanadi. Agar o‘sayotgan bo‘lsa uning tezligiga, pigment hosil bo‘lgan bo‘lishiga va boshqa belgilariga e’tibor beriladi; chunki mikroorganizmlarning qattiq muhitda o‘shini ta’riflashda ana shu belgilardan foydalaniladi.

Bakteriyalarning suyuq muhitda o‘shishi. Bakteriyalarning suyuq muhitda o‘shini ta’riflash uchun kultura GPB ga yoki boshqa suyuq muhitga ekiladi. Mazkur muhit tekishirilayotgan shtammlarning o‘shishi uchun normal (me’yorida) bo‘lishi kerak. Ta’riflash uchun statsionar sharoitda o‘stirilgan 4-7 kunlik kulturalardan foydalaniladi. Bunda o‘sh tezligiga (sekin, o‘rtacha, avj olib), muhitning loyqalanishiga (bir xil, palaxsa-palaxsa, ipaksimon to‘lqinli), plyonkasi bor-yo‘qligiga (halqasimon yoki yalpi, yupqa yoki qalin, zich yoki g‘ovak, silliq yoki burmali, quruq yoki shilimshiq, devori bo‘ylab sirg‘aluvchi yoki sochilib ketadigan) e’tibor beriladi.

Bakterial shtammlarni saqlashni o‘rganish. Ko‘pgina bakterial shtammlar qopqog‘i buraladigan maxsus idishlarda 1-2 yil davomida yaxshi saqlanadi. Buning uchun hajmi katta bo‘lmagan flakonlarga 2-3 ml yarim suyuq agar (0,7%) quyiladi. Plazmidli shtammlarni saqlash uchun oziqa

muhitiga antibiotiklar solinadi. Bakterial kulturalar sanchib ekilib, flakonlar qopqog‘i maxkam buraladi va 18-24 soat davomida kerakli temperaturada inkubatsiya qilinadi. So‘ngra kultura 40<sup>0</sup>C da muzlatgichda saqlanadi. Bakterial shtammlarni uzoq vaqt mobaynida (ko‘p yillar davomida) saqlash past manfiy temperaturada, -20<sup>0</sup>C da olib boriladi, -70<sup>0</sup>C bo‘lsa yana ham yaxshi. Buning uchun kultura suyuq oziqa muhitida o‘stiriladi, 1-2 ml.dan flakonlarga quyib chiqiladi, 50% glitserindan oxirgi miqdori 15% gacha solinadi, flakon qopqog‘i mahkam yopiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Shtammdan ekib olish kerak bo‘lgan hollarda mikrobiologik ilmoq yordamida suspenziya qirib olinadi (suspenziyani eritmasdan) va flakon yana muzlatgichga joylanadi.

## **6-LABORATORIYA MASHG‘ULOTI**

### **Mavzu: Ozuqa muhitlar va ularni tayyorlash**

*(Mikroorganizmlar uchun)*

**Ishdan maqsad:** O‘rganilayotgan bakteriyalarning biomassasini ko‘paytirish uchun ozuqa muhiti tayyorlash, sterillash, unga produsentlarni ekish va biomassa olishni o‘rganish.

**Ishning tashkil etilishi:** murabbiy guruh talabalarini ikki guruhga ajratadi.

Birinchi guruh talabalari: suyuq ozuqa muhiti tarkibini tuzadi, sterillizasiya qilishadi va produsentni ekib, zarur ko‘rsatkichlarni ta‘minlagan holda mikrobiologik chayqatgichga idishlarni joylashtirishadi. Guruhchadagi talabalarning har ikkitasi turli xil hajmdagi suyuqlikka ozuqa tarkibi tuzishlari lozim;

Ikkinchi guruh talabalari: qattiq ozuqa muhiti tayyorlashadi, sterillizasiya qilib, produsentlarni ekishadi (Petri likopchalariga) va termostatga joylashtirishadi. Guruhchadagi talabalarning har ikkitasi turli xil hajmdagi suyuqlikka ozuqa tarkibi tuzishlari lozim;

Jarayonlar davomida murabbiy talabalarning bergan savollariga javob berib borishi va tug‘ilgan muammolarni hal etishda amaliy yordam berishi lozim. Dars (ikkinchi juftlik) oxirida talabalar laboratoriya daftarlariga qayd

etilgan ma'lumotlar asosida topshiradi va mashg'ulotga ajratilgan reyting balini oladi. Reyting balini to'play olmagan talaba keyingi mashg'ulotgacha ushbu laboratoriya ishini qayta topshirishi mumkin.

Laboratoriya ishigacha texnik xodim yoki laborant talabalar uchun 2 sutka davomida kolbalarda va kosyaklarda o'stirilgan (Petri likopchasida o'stirish ham mumkin) produsent mikroorganizm kulturasi va steril idishlar bilan ta'minlashi lozim. Shuningdek, avtoklavni zarur vaqtda qo'shib, streillash jarayoniga tayyorlab beradi.

Bundan tashqari mikrobiologik chayqatgichda qoldiriladigan kultural suyuqlikni nazorat qilish va keyingi mashg'ulotgacha saqlashni ta'minlashi zarur.

Murabbiy tomonidan har ikkala guruhning bir vaqtda sterillash jarayonini amalga oshirilishi nazorat qilinadi. Sterilizasiya vaqtida esa zarur bo'lgan ma'lumotlarni talabalar daftarlariga qayd etib qo'yadilar.

**Tushintirish:** Ayni vaqtda jahon agrar sanoati amaliyotida mikroob insektisid biopreparatlardan qishloq xo'jaligi ekinlarini zararkunanda xasharotlardan himoya qilishda unumli foydalanib kelinmoqda.

Bu borada *Bac. thuringiensis* turiga mansub entomopatogen bakteriyalar asosida tayyorlanayotgan insektitsidlar asosiy o'rin tutadi. Shu boisdan *Bac. thuringiensis* bakteriyasi asosida biopreparat tayyorlash uchun mo'tadil va arzon oziqa muhiti tanlash katta amaliy ahamiyat kasb etadi. Adabiyotlardan ma'lumki *Bac.thuringiensis* bakteriyasi shtammlarini o'stirish uchun asosan glyukoza qo'shilgan makkajo'xori, achitqi va quruq achitqi ekstraktleri asosida tayyorlangan oziqa muhitlaridan foydalaniladi.

Ma'lumki, *Bac. thuringiensis* bakteriyalarini biotexnologiya sanoati miqyosida o'stirish uchun taklif etilgan makkajo'xori ekstrakti va glyukoza saqlovchi oziqa muhiti ehtiyojga yetarlicha javob bermaydi, shuningdek, makkajo'xori ekstraktining beqarorligi va glyukozaning tanqisligi bu oziqa muhiti o'rnini bosadigan arzon va mo'tadil oziqa muhiti manbalarini topishni taqazo etadi. Shu boisdan mazkur ishda biz *Bac. thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi shtammlari uchun quyidagi ozuqa muhitida o'stirishni tavsiya etamiz:

**standart oziqa muhiti:** Pepton 1,0 g; NaCl 0,05 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,05 g; MgSO<sub>4</sub> 0,02 g; (pH 7,0) (1 litr suyuqlik uchun).

Bunda kulturalar yuqori darajada mahsuldorlik ko'rsatadi. Ushbu oziqa muhiti asosida asosan laboratoriya ishlari bajariladi. Uning asosida ishlab chiqarishni tashkillashtirish esa iqtisodiy samaradorlikka olib kelishi mumkinligi isbotlab berilgan. Shuning uchun laboratoriya sharoitida biz maqsadimiz faqatgina ushbu bakteriyalar sintez qiladigan kristall oqsillarni o'rganish bo'lganligi uchun hohlagan oziqa muhitidan foydalanishimiz mumkin. Quyidagi rasmda o'rganilayotgan bakteriyaning spora va kristall hosil qilishi aks ettirilgan bo'lib, talabalar mikroskop ostida shu shaklni aniq ko'rishlari talab etiladi.



### **Bakteriyalarni spora va kristal hosil qilishi**

#### **Asbob-usunalar va materiallar:**

- ✓ 500-700 ml kimyoviy stakanlar (2 ta );
- ✓ distillangan suv uchun kolbalar;
- ✓ Petri likobchalari (zarur miqdorda);
- ✓ Kartoshka donalari (zarur miqdorda murabbiy tomonidan ta'minlanadi);
- ✓ *Bacillus thuringiensis* bakteriyasining tayyor kulturasi (zarur miqdorda murabbiy tomonidan ta'minlanadi);
- ✓ Avtoklav;
- ✓ Quritish shkafi;
- ✓ Suyuq oziqa muhitida o'stirish uchun (1yoki 2 litrli kolbalar);

- ✓ Termostat;
- ✓ Mikrobiologik chayqatgich;
- ✓ Sentrifuga;
- ✓ Mikroskop va zarur boʻlmoqchi yoʻqlar;
- ✓ pH-metr.
- ✓ Tarozilar.

**Ishning borishi:** Mikroorganizmlar uchun oziqa muhiti tayyorlash, uni sterilizatsiyalash va unga produsentlarni ekish usullari bilan mikrobiologiya fanining laboratoriya mashgʻulotlarida etarli darajada tanishganligi sababli talabalar ushbu laboratoriya ishini quyidagi tavsiyalar asosida bajarishadi:

**Foydalaniladigan produsent:** *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi shtammi laboratoriya muzeyidan texnik laborant tomonidan maxsus konyaklar ekilgan holda beriladi.

**Produsentni oʻstirish va saqlash.** Kultura agar-agar qoʻshilgan kartoshkali suyuq va qattiq oziqa muhitlarida 28-30°C haroratda 5 kun davomida oʻstirib (suyuq oziqa muhiti uchun mikrobiologik chayqatgichda; qattiq oziqa muhiti uchun termostatda) olinadi.

**Oziqa muhitlari.** Bakteriyalarni oʻstirish va saqlashda quyidagi oziqa muhitlaridan foydalanish mumkin: goʻsht peptonli agar (GPA), goʻsht peptonli shoʻrva (GPSH), Xottinger oziqasi, kartoshkali agar va suslo-agar (maʼqul oziqa muhiti murabbiy tomonidan tavsiya etiladi).

**Dastlabki ekuv materialini tayyorlash.** Ekish materialini oʻstirish uchun agarli kartoshka oziqa muhiti konyakida 2 kun davomida 28-30°C haroratda oʻstirilgan kulturadan foydalaniladi (texnik laborant tomonidan taʼminlanadi);

Shundan keyin, kultura sigʻimi 750 ml boʻlgan kolbalarda 100 ml oziqa muhitiga ekilib, chayqatgichda (2000 tez/min) 48 soat davomida 28-30°C haroratda oʻstiriladi (100 ml oziqa muhitiga 100 mln/hujayra). Ushbu kultura biomassasi oziqa muhitidan sentrifugalash usulida (5000 tez/min) yoki Zaysev filtrida ajratib olinadi (maʼqul usul murabbiy tomonidan tavsiya etiladi). Sterilizatsiyalash sharoiti. Oziqa muhiti 105-110°C haroratda 1 atmosfera bosimda 20 min. davomida sterillanadi. Oziqa

muhitining pH ko'rsatkichi: sterilizatsiyagacha 7,0-7,2 va sterilizatsiyadan keyin 6,8-7,0 ga teng bo'lishi lozim (zarur bo'lganda pH ko'rsatkichi mo'tadillashtirilishi kerak, kulturaning mo'tadil o'sib rivojlanishi uchun oziqa muhiti pH ko'rsatkichini 7,4 da ushlab turish maqsadga muvofiqdir).

**pH ko'rsatkichi (suyuq ozuqa muhiti uchun).** pH ko'rsatkichi fermentatsiya jarayonigacha 6,8-7,0 bo'lishi kerak; fermentatsiya jarayoni oxirida pH ko'rsatkichi ko'tarilib ketadi (8,0). Tabiiyki oziqa muhiting ishqoriy holatga o'tishi kristallarni kichik bo'laklarga bo'linib ketishiga olib keladi va bu keyingi kristall oqsillarni ajratib olishda qiyinchilik tug'diradi. Shu boisdan fermentatsiya jarayoni tugagandan so'ng biomassani ajratib olishda kul'tural suyuqlikning pH ko'rsatkichini 6,2-6,4 darajasigacha keltirib olamiz. Bunda maqsadga muvofiq bo'lgan barcha kristall oqsillarni sentrifugalash (5000 tez/min. 20 min) orqali ajratib olishga erishiladi. Buning uchun HCl ning kuchsiz eritmalaridan foydalanish mumkin.

## **7-LABORATORIYA MASHG'ULOTI**

### **Mikroorganizmlar biomassasidan ajratib olingan biologik faol moddalarni tahlil usullari (*Uglevodlar misolida*)**

#### **Ozuqa muhitidagi va kultural suyuqlikdagi glyukoza miqdorini aniqlash**

**Ishdan maqsad:** O'tkaziladigan o'quv jarayonidan mavzuni o'zlashtirishi natijasida talabalar quyidagilarni biladi: mikroorganizmlarni o'stirish jarayonida biologik ko'rsatkichlarni aniqlashning asosiy usullarini; bioreaktorlarning massa almashinish tavsifi, asosiy qonuniyatlarini va hisoblash formulalarini o'zlashtiradi.

Talabalar oldindan belgilangan xususiyatli kultural suyuqlik olish bo'yicha bir qadar xarakterli bo'lgan texnologik jarayonlarni bajarish bo'yicha ko'nimkmalarga ega bo'ladilar.

#### **Ishning tashkil etilishi:**

O'qituvchi o'stirish usullarini o'rgatish uchun talabalarni ikki guruhga ajratadi: Birinchi guruhdagi talabalar: ozuqa muhiti tayyorlash va kultural suyuqlikdagi glyukozani aniqlashni o'rganishadi. Ikkinchi guruhdagi



talabalar: achitqilarni xemostat usulida o‘stirish uskunasiga quyilishini kuzatadilar;

O‘stirish uskunasida o‘stirish jarayonlarini laboratoriya mudiri, ya’ni texnik xodim bajarib berishi lozim.

Har guruhdan 2-3 ta talaba biopreparat olishning asosiy rejimini bajarib ko‘rishi kerak.

### 1-jadval

#### Mashg‘ulotda vaqt taqsimoti

	O‘quv savollari	Ajratilgan vaqt, minut
1.	Kirish (mavzu bo‘yicha ma’ruza tarzida tushintirish beriladi)	5
2.	Asosiy nazariya	20
3.	Amaliy qism: 1. Achitqilarni xemostat usulida o‘stirish davomida $k$ – ko‘rsatkichini aniqlash; 2. $k_s$ , $k_{ps}$ , $G$ , $Y$ , $\eta$ - ko‘rsatkichlarini aniqlash;	100
4.	Eksperimental ma’lumotlarni umumlashtirish va tajriba bayonnomasini yozish;	20
5.	Laboratoriya ishini himoya qilish	10
6.	Yakunlovchi qism	5

### 2-jadval

#### Ozuqa muhiti va ekuv materialini tayyoriash uchun vaqt meyorlari

	Bajariladigan ish	Vaqt, minut	Ishning natijasi
1.	Giyukoza asosida 3 l (o‘zgarishi mumkin) ozuqa muhiti tayyorlash	10	Ozuqa muhiti tayyorlanadi
2.	Achitqidan ekuv materialini tayyorlash	10	Ekuv materialini tayyorlanadi
3.	Kultural suyuqlikdagi glukozani aniqlash.	15	Sarf bolgan glyukoza miqdori aniqlanadi

4.	Mikroskop usulida hujayralar sonini aniqlash	15	Mikroorganizmlar hujayrasi ko'payishi aniqlanadi
----	--	----	--

### Achtirilarni o'stirish rejasi

	Bajariladigan ish	Vaqt, minut	Ishning natijasi
1.	Achtirilarni xemostat rejimda turli xil F quyilish oraliqlarida o'stirish	50	Har bir F ko'rsatkichidan
2	Ushbu rejimdan namunalar tanlash va laboratoriyaga torshirish		

**Ishning borish** jarayonida o'qituvchi talabalarning savollariga javob berib boradi, talabalar esa ishchi daftarlariga qayd etib borishlari kerak. Shundan keyin (50 minutdan so'ng) talabalar ishchi o'rinlarini almashtirishadi. Ishchi o'rinni almashtirish rejasi keyingi jadvalda aks ettirilgan:

Tadqiqot natijalarini tahlil qilish va qayta ishlash ushbu vaqt taqsimotiga kiritilmagan. Buni talabalar mustaqil bajarishlari mumkin. Zarur bo'lganda 2 soat audotoriya mashg'uloti tarzida o'tish maqsadga muvofiq bo'ladi.

**Tushintirish:** Ma'lumki, har qanday biotexnologik yoki mikrobiologik ishlab chiqarish sanoatida (non va non mahsulotlari ishlab chiqarish, alkogolli yoki turli xil sharbat ichimliklari ishlab chiqari va x.k.) produsentlarni o'stirish va ulardan mahsulotlar olish jarayoni tayyorlanadigan ozuqa muhiti tarkibini to'g'ri tuzish va olingan yoki olinadigan mahsulotlar haqida to'g'ri tahliliy xulosalar chiqarish talab etiladi.

Ishlab chiqarish davomida, sarflanadigan xom-ashyo miqdori, uning mikroorganizmlar tomonidan o'zlashtirilishi va olinadigan mahsulotning miqdori kabi ko'rsatkichlar asosiy e'tibor talab etadigan omillar hisoblanadi.

Ushbu ishda ozuqa tarkibiga kiritilgan glyukoza miqdorining sarf bo'lishi va produsentning miqdori aniqlanadi. Har ikkala ko'rsatkichdan

kelib chiqib glyukoza ning sarfi va maqsaddagi mahsulotning chiqishi kabi asosiy ko'rsatkichlar haqida ma'lumot olish mumkin.

### **Zarur asbob-uskunalar va materiallar:**

1. Fermentyor (zarur hollarda mikrobiologik chayqatgichdan ham foydalanish mumkin);
2. O<sub>2</sub> aniqlagichi;
3. Kompessor (P = 1 atm. dan kam bo'lmazligi lozim);
4. Aylanma tubli kolbalar (250-350 ml), o'lchov naychalari-byuretkalar (500-300 ml);
5. Menzurkalar (5, 10, 25, 300 ml), pipetkalar (2-5 ml);
6. 0,5-1,0 n. natriy sulfid eritmasi;
7. 0,1 n. natriy tiosulfat eritmasi;
8. 0,1 n. yod eritmasi;
9. Glyukoza - 1 kg (zarur miqdori olinishi mumkin);
10. Etil spirti - 0,5 litr;
11. *S. cerevisiae* kulturasi (75% namlik holatidagi 100 g quruq preparat);
12. Glyukoza miqdorini aniqlash uchun reaktivlar to'plami.

### **Ishning borishi:**

#### **1) Ozuqa muhiti tayyorlash uchun:**

- ✓ 5 litr o'lchamli steril idishga 0,5 kg glyukoza solinadi;
- ✓ 0,1 g NaCl, MgSO<sub>4</sub>, KCl olinib, ushbu idishga solinadi;
- ✓ Ushbu idishga 360C haroratli distillangan 3 l suv quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi;
- ✓ Fotokolometrik usulda glyukoza miqdori aniqlanadi;
- ✓ Tajriba bayonnomasini to'ldiriladi.

#### **2) Ekv materialini tayyorlash uchun:**

- ✓ 50 g. *S. cerevisiae* achitqisi o'lchab olinadi;
- ✓ 500 ml hajmli idishga 300 ml distillangan 360C haroratli suv quyib olinadi;
- ✓ O'lchab olingan achitqi namunasi ushbu idishga ya'ni suvga solinib yaxshilab aralashtiriladi;
- ✓ Mikroskopik usulda ekv material miqdori nazorat qilinadi;
- ✓ Tajriba bayonnomasi to'ldiriladi.

### 3) Achitqilarni o‘stirishni boshlash uchun:

- ✓ 360C haroratli 5 l steril ozuqa muhiti o‘stirish uskunasiga quyiladi (zarur bo‘lganda termoregulyatorni qo‘shish mumkin);
- ✓ 300 tez/min. da aylanadigan aralashtirgich (meshalka) yoqiladi va unga ekuv materialiy quyiladi;
- ✓ Jarayon 15-20 minut davom ettiriladi, unga zarur bo‘lganda ko‘piksizlantiruvchi (10 ml) modda qo‘shiladi;
- ✓ Shundan keyin xemostat rejimi boshlanadi. Buning uchun o‘stirish uskunasiga alohida idishdagi ozuqa muhiti qo‘shiladi, ya’ni qancha miqdorda F quyilsa, bir vaqtning o‘zida shuncha miqdordagi kultural suyuqlik ajratib olinadi;
- ✓ Ushbu rejimda har 5 minut davomida 5 ml miqdorida probirkalarga alohida-alohida namunalari olinadi va glyukoza miqdori va mikroorganizmlar sonini tahlil qilish uchun olib qo‘yiladi;
- ✓ Namunalarning miqdorlari aniqlanadi;
- ✓ Achitqilar miqdori mikroskopik tahlil va fotokolometrik usulda aniqlanadi; Quyidagi jadvalga olingan natijalar qayd etiladi:

### Tadqiqot natijalari

Namunalar	Tajriba natijalari		Hisoblash natijalari		
	$F, l/soat$	$S_{chiqish}, g/l$	$DqF_1/V_p, soat^l$	$1/S$	$1/kg1/D, soat$
1					
2					
3					
4					

### Xulosa

Tayyorlangan pishloqlar andoza talabiga javob berishi kerak. Pishloqlarni orgonoleptik baholaganda 100 balli shkalada baholanadi: Olib borilgan tajribalar natijasi quyidagi jadvalda to‘ldiriladi.

Ta'mi va hidi - 45 ball; konsistensiyasi - 25 ball; kesilganda ichki ko'rinishi - 10 ball;	Rangi - 5 ball; tashqi ko'rinishi - 10 ball; joylashtirilgani va markirovkasi - 5 ball.
--	---

### **Nazorat savollari:**

1. Pishloq tarkibi qanday moddalardan tashkil topgan?
2. Pishloq tayyorlash asosan qaysi mamlakatlardan kelib chiqqan?
3. Pishloqlar qanday baholanadi va saqlanadi?
4. Pishloqda qanday jarayonlar kechishi natijasida bakteriyalar qiriladi?

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI.

### Asosiy adabiyotlar.

1. Албертс Б., Брей Д., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки: В 3-х т. 2-е изд., перераб. М75 и доп. Т. 1. Пер. с англ.-М.: Мир, 1994.- 517 с.
2. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки. — М.–Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2012. — С. 69-94.
3. Рыбаков, С.С. Курс лекций по основам биотехнологии. В 2 ч. Ч.
4. Применение биотехнологии / С.С. Рыбаков; Владим. гос. ун-т. — Владимир: Изд-во Владим. гос. ун-та, 2010. — 127 с. — ISBN 978-5-9984-0046-9.
5. Давранов Қ. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. Т.: “Патент - Пресс”, 2008. -506 бет, чизма-87, жадвал-60.
6. Г.И.Шайхова. / Овқатланиш гигиенаси/ Тиббиёт институти талабалари учун о‘қув дарслиги. - Тошкент-2011.
7. Панфилов В.А., Артиков А.А., Худайбердиев А.А. Ҳамдамов А.М., Курбанов Н.М. / Озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш технологик линиялари./ Ўқув қўлланма. -Тошкент 2022.
8. Жунайдилло Садиевич Файзиев Сут ва сут маҳсулотлари технологияси / Файзиев Ж.С – Тошкент. 2019. –Б. 89.
9. Б.Ў.Алмаматов, М.С.Алимива/“Ўсимликлар биотехнологияси” фанидан ўқув дастури асосида лаборатория машғулотларини ўтказиш учун тайёрланган қўлланма. Гулистон-2021. [85889.pdf](#)
10. N.A.Хо‘jamshukurov., Toshmuhamedov M.S., Nurmuhamedova V.Z.
11. “Biotexnologiya asoslari” fanidan ma’ruzalar matni /– Toshkent.: ТКТИ, 2013.–164 б.
12. Козак М. Ф. Дрозофила — модельный объект генетики: учебно-методическое пособие — страхан: Издательский дом «Астраханский университет», 2007. —87 с.
13. Қ.Давранов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. Тошкент-2008. “Патент-Пресс”, 2008.-506 бет.
14. А. Т. Гафуров. “Дарвинизм” Т. : «Ўқитувчи», 1992.

15. М. Тухтаев, А. Хамидов. “Экология асослари ва табиатнимухофаза килиш” Т.: 1994.
16. Биология. Библиографический справочник, К.: “Наукова думка” 1994.
17. И. П. Соколова. “Биология”. М.: “Высшая школа” 1987.
18. К. Вилли. “Биология”. Перевод с английского издания «Мир», М.: 1968.
19. Т. Х. Холиков, Н. Ш. Шарофиддинхожаев ва бошқ. “Биология”. Т.: “Абу Али ибн Сино” 1996.\
20. Т.Б. Гофман-Кадашников, Д.Ф. Петров. “Биология билан умумий генетика”. «Медицина» Т.: 1970.
21. Э. В. Семенов, С. Г. Мамантов, В. П. Коган. “Биология”. М.: «Просвещение» 1984.
22. А.М. Normatov va boshqalar. «Biologiya» fanidan ma’ruza matni. 2022 yil.

### **Qo‘shimcha adabiyotlar.**

1. Mirziyoev Sh.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. — O‘zbekiston NMIU, 2017. — 485 b.
2. O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi - O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha harakatlar strategiyasi to‘g‘risidagi PF-4947-sonli Farmoni. O‘zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to‘plami, 2017 y., 6-son, 70-modda.
3. Vahobov A.H. va boshqalar. Mikrobiologiya va virusologiya asoslari. –Toshkent.:Universitet, 2010 y. 214 bet.
4. Vahobov A.H. va boshqalar. Mikrobiologiyadan amaliy va laboratoriya mashg‘ulotlari uchun o‘quv qo‘llanma. – Toshkent.:Universitet, 2010 y. 76 bet.
5. Rasulova T.X., va boshqalar. Mikrobiologik tadqiqotlar uchun uslubiy qo‘llanma. –Toshkent. 2012 y. 145-bet.
6. Расулова Т.Х., Маглубова Н.А. Руководство к лабораторным работам по микробиологии. –Т.: Университет. 2015 г. 157 с.
7. Jo‘rateva O‘.M., Maglubova N.A., Mikrobiologiyadan laboratoriya mashg‘ulotlariga qo‘llanma. –Т.: Universitet, 2017 y. 124-bet.

8. Vasiev M. Non maxsulotlari texnologiyasi -T.: Yangi asr avlodi. 2009.
9. Технология пищевых продуктов: Учебник \ Под ред. Д-ра техн. Наук. Проф.А.И.Украинца–К.: Издательский дом «Аскания», 2008. – 736 с.
10. Тутельян В.А., Суханов Б.Н., Андриевских А.Н., Поздняковский В.М. Биологически активные добавки в питании человека. — Томск: Научно-техническая литература, 1999. — 229 с.

### **Elektron resurslar:**

1. [www.biotechnology.ru](http://www.biotechnology.ru)
2. [www.biotech.com](http://www.biotech.com)
3. [www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz)
4. [www.studybiotechnology.com](http://www.studybiotechnology.com)
5. [www.twirpx.com](http://www.twirpx.com)

## **MUNDARIJA**

Kirish.....	4
-------------	---



1. Biologiya va biotexnologiya laboratoriyasiga qo‘yiladigan asosiy talablar va asbob-uskunalar bilan ishlash tartibini o‘rganish.....	5
2. Hujayra va to‘qima to‘plamlari bilan ishlash jarayonida sterillash usullari.....	18
3. Mikroorganizmlarni o‘stirish uchun ozuqa muhitlarini sterillizatsiyalash qurilmalari ishlash prinsipi.....	22
4. Bakteriyalardan spora va kristallarni ajratib olish va mikroskopda tekshirish.....	28
5. Bakteriya va zambrug‘larni suyuq va qattiq ozuqa muhitlarda ko‘paytirish va ularni saqlash.....	32
6. Ozuqa muhitlar va ularni tayyorlash ( <i>Mikroorganizmlar uchun</i> )	37
7. Mikroorganizmlar biomassasidan ajratib olingan biologik faol moddalarni tahlil usullari ( <i>Uglevodlar misolida</i> ).....	41
Foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati.....	47

M.J. Toshtemirova, G.T. Abdullayeva, S.I. Jalilova  
Biologiya. Laboratoriya mashg‘ulotlari. Uslubiy qo‘llanma

*Muharrir: Z.M. Miryusupova*