

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

**NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI  
BIOLOGIYA KAFEDRASI**

**MIKROBIOLOGIYA VA  
VIRUSOLOGIYA FANIDAN  
AMALIY MASHG'ULOTLAR**

**(Uslubiy ko'rsatma)**

**Namangan- 2009 y.**

Ushbu uslubiy ko'rsatmada Mikrobiologiya va virusologiya fanini laboratoriya va amaliy mashg'ulot darslarida mashg'ulotlarni o'rganish tartibi, kerakli asbob va reaktivlar, maxsus bo'yoqlar ko'rsatilgan. Shuningdek bo'limlarda keng tarqalgan, bu fanning asosiy obyekti bo'lgan bakteriyalar, zamburug'lar va viruslar haqida fikrlar yuritilib, ularning morfologik tuzilishi, geografik tarqalishi, ekologiyasi, hayotiy shakllari haqidagi ma'lumotlar keltirilgan.

Uslubiy ko'rsatma universitetlarning 5420100-Biologiya ta'lim yo'nalishi talabalari uchun mo'ljallangan.

Mazkur uslubiy ko'rsatma Biologiya kafedrasining yig'ilishida (2009 yil 27 yanvar 4-sonli bayonnoma) Kimyo-biologiya fakultetining ilmiy kengashida (2009 yil 29 yanvar 5-sonli bayonnoma) va NamDU o'quv-ulubiy kengashida ko'rib chiqilib, ma'qullangan va chop etishga tavsiya etilgan. (2009 yil fevral «    » sonli bayonnoma).

Tuzuvchilar: Namangan Davlat universiteti Kimyo-biologiya fakul'teti Biologiya kafedrasida b.f.n. dots. V.G'. Azizov, o'qituvchi H.E. Ergasheva.

Taqrizchilar: Namangan Davlat universiteti Kimyo-biologiya fakul'teti Biologiya kafedrasida b.f.n. dots. E. Ikromov.  
Namangan muxandislik pedagogika instituti dotsenti, b.f.n. L. Mamajonov.

Mas'ul muharrir: Namangan Davlat universiteti Kimyo-biologiya fakul'teti Biologiya kafedrasida katta o'qituvchisi. SH. A. Rahimova.

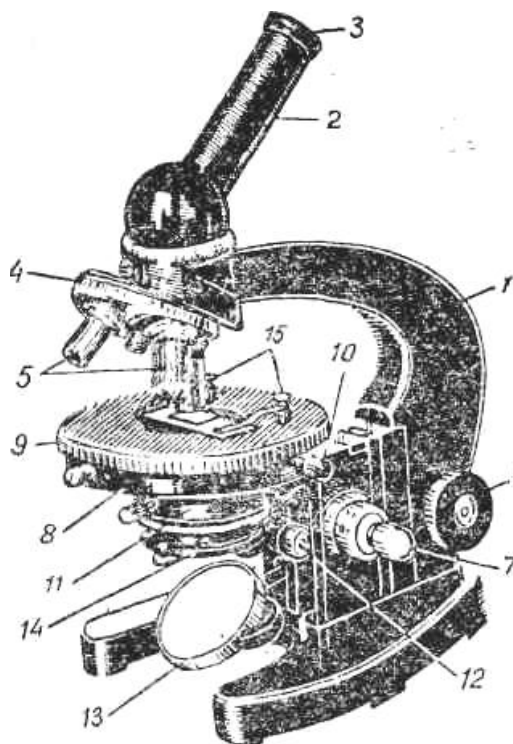
## 1-mashg'ulot **Biologik mikroskopning tuzilishi**

Ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan juda mayda organizmlarning shakli va hajmini, hayot faoliyatini, oddiy (ko'ndalangiga yoki uzunasiga) bo'linish yo'li bilan ko'payadigan bir hujayrali organizmlar aktinomitsetlar, achitqi va mog'or zamburug'lari, ba'zi suvo'tlari va eng sodda tuzilgan hayvonlarni mikrobiologiya fani o'rganadi.

Mikroorganizmlarni o'rganish uchun har xil tuzilgan mikroskoplar ishlatiladi. Hozir oddiy biologik mikroskopdan tashqari, elektron mikroskop ham ko'p ishlatiladi. U bakteriyalar hujayrasini 100—200000 marta kattalashtirib ko'rsatadi. Deyarli barcha o'rta maktablar laboratoriyasida biologik mikroskopdan foydalaniladi.

Shtativ (7) mikroskopning ayrim qismlarini o'rnatish uchun ishlatiladi. Tubus (2) ga tekshiriladigan ob'ektni turli kattalikda ko'rsatadigan okulyar (3) o'rnatilgan. Okulyarning ko'rsatish darajasi uning halqasidagi 7x, 10x va 15x belgilar bilan ifodalanadi. Tubusning pastki uchiga revolver (4) vositasida ob'ektiv (5) o'rnatilgan. Ob'ektivlar ustiga 8x, 40x, 90x va 120x ishoralar yozilgan bo'lib, ular ob'ektivlarning kuchini, ya'ni tekshirilayotgan ob'ektni necha marta katta qilib ko'rsatishini ifodalaydi. Mikroskop necha marta kattalashtirib ko'rsatayotganini aniqlash uchun ob'ektivdagi raqam okulyardagi raqamga ko'paytiriladi. Masalan, ob'ektiv 8x, okulyar 15xga teng bo'lsa, ob'ektning kattaligi shu sonlarni bir-biriga ko'paytirish natijasi ( $8x \cdot 15 = 120$ ) ga teng bo'ladi. Demak, kuzatilayotgan ob'ekt 120 marta katta bo'lib ko'rinadi. Kuzatilayotgan ob'ekt mikroskopdagi makrovint (6) yordamida topiladi. Tekshirilayotgan ob'ektni aniqroq ko'rish uchun mikrovint (7) ishlatiladi. U juda nozik ishlangan mexanizm bilan bog'liq bo'lganidan uni ortiqcha burash yaramaydi. Ikki qavatli stolcha (8) ning ostki qavati shtativga mahkam biritilgan bo'lib, u stolchanning ustki qavati (9) ni tutib turadi. Stolchanning ustki qavati ha-rakatchan bo'lib, uni o'ngga, chapga, orqaga va oldinga surish mumkin. Buning uchun stolchanning ikki tomonidagi vintlar (10) dan foydalaniladi. Buyum oynasi qo'l bilan oldinga yoki bir chekkaga surilganida tekshirilayotgan ob'ekt ko'zga chalinmay ko'rinishi mumkin. Shu sababli uni qo'l bilan emas, balki stolchani harakatga keltiradigan vintlar bilan surib, mikroskop doirasining markaziga keltirish kerak. Mikroskopdagi ko'zgu (13) yorug'likni to'plash uchun ishla-

## Hozirgi biologik mikroskop (MBI-1):



- 1 - shtativ; 2 — tubus;  
3 — okulyar; 4 — revol ver;  
5 — ob`ektiv; 6 — makrovint;  
7 — mikrovint; 8 — ikki qavatli stolchanning ostki qavati;  
9 — stolchanning ustki qavati;  
10 — stolchani surish vintlari;  
11 — Abbe kondensori;  
12 — kondensorni harakatga keltiruvchi vint;  
13 — mikroskop oynasi;  
14 — kondensor ostidagi halqacha;  
15 — qisqichlar.

tiladi. Abbe kondensori (11) maxsus oynalardan tuzilgan bo`lib, ob`ektivga yo`naltirilgan yorug`likni kuchaytirish va pasaytirish maqsadida ishlatiladi. Kondensor yuqoriga ko`tarilsa, tubusga tushadigan yorug`lik nurining kuchi ortadi. Kondensorni harakatga keltirish uchun mikroskop stolchasi ostiga o`rnatilgan vint (12) buraladi. Yorug`lik kuchayib ketsa, u holda kondensor ostidagi halqacha (14) ga oq, havo rang va boshqa tUSDagi shisha filtrlar o`rnatiladi. Buyum oynasini siljitmay bir o`rinda saqlash maqsadida oynani mahkamlovchi qisqich (15) lar ishlatiladi.

Mikroorganizmlarni tekshirishda, asosan 90x yoki **120** x li ob`ektivlar ishlatiladi. Bu ob`ektivlar *immersion* yoki *moyli* ob`ektiv deyiladi. 90x va 120x li ob`ektivlarni ishlatish vaqtida tayyorlangan va kuzatilayotgan ob`ektga kedr yoki kastorka moyi tomiziladi. So`ngra moy tomchisiga immersion ob`ektivning uchi botiriladi. Kondensor yuqoriga surilib oxirigacha ko`tariladi. Bu vaqtda kondensorda to`plangan yorug`likniig ham-masi moy tomchisi orqali o`tib, muhitga tarqalmasdan immersion ob`ektivga yo`naladi. Tekshirilayotgan ob`ekt esa juda aniq va ravshan ko`rinadi. Quruq sistemada, ya`ni 8x yoki **40x** ob`ektivlarda qaralganda moy ishlatilmaydi. Ob`ektiv bilan ob`ekt o`rtasida xavo bo`shlig`i bo`ladi. Havo bo`shligi orqali o`tgan yorug`likning bir qismi ob`ektivga bormasdan atrofga tarqaladi. Chunki havoning yorug`likni sindirish koeffitsient ( $n = 1,0$ ) buyum oynasini ( $n = 1,52$ ) dan pastroq bo`ladi. Bunda yorug`likning bir qismi yo`qolishi natijasida ob`ekt ham yaxshi ko`rinmaydi. Shu sababli immersion sistema qo`llaniladi. Bunda moyning yorug`likni sindirish koeffitsienta ( $n = 1,515$ ) bilan buyum oynasining yorug`likni sindirish

koeffitsienti ( $n \approx 1,52$ ) bir-biriga yaqin bo'lishi yorug'likning chetga tarqalishiga yo'l qo'ymaydi. Yorug'likning hammasi ob'ektiv ichiga o'tadi.

8x li ob'ektiv ishlatilganda kondensor oxirigacha pastga tu-shirilsa, 40x li ob'ektiv ishlatilganda bir oz yuqoriga ko'tariladi.

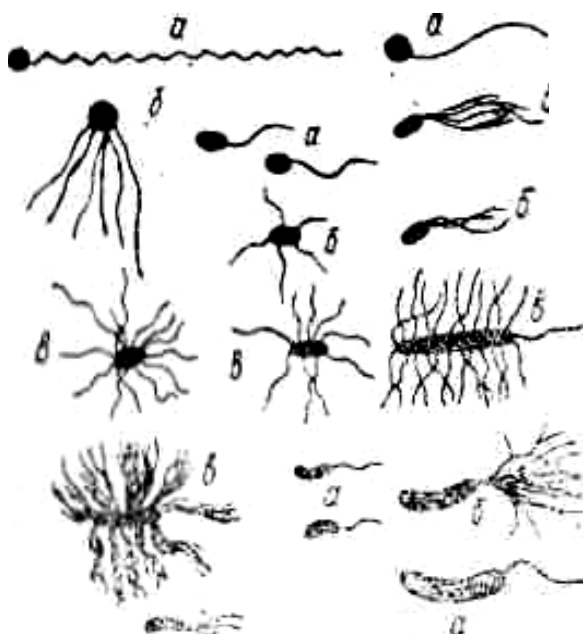
Tekshirish tugallangandan so'ng 90x yoki 120x li ob'ektiv ustidagi kedr moyini avval fil tr qog'oz, so'ngra spirt yoki benzin shimdiridgan mayin latta bilan artib olish zarur. Immersion ob'ektivlarni ehtiyotlik bilan ishlatish kerak.

### ***Nazorat savollar:***

1. Revolverning vazifasi nimadan iborat?
2. Yorug'lik kuchayib ketsa mikroskopning qaysi qismidan foydalaniladi?
3. Mikroskop necha marta kattalashtirib ko'rsatayotganini aniqlash uchun nima qilish kerak?

### ***2-mashg'ulot* Bakteriyalarning harakatlanishi.**

Bakteriyalar xivchinlari yordamida harakatlanadi. Xivchinlar protoplazmatik ipdan iborat. Ular bakteriyaning tanasiga qaraganda 20-baravar kalta bo'ladi. Ba'zi bakteriyalarning (jumladan, nitrozomonas yavanenzisning) xivchini tanasiga nisbatan 50 baravar uzun bo'ladi. Spiroketalar harakatlenganda tanasini bir tekis tebrantiradi. Achitqi zamburug'lari bir joyning o'zida harakatlanadi, ya'ni o'rnini almashtirmaydi. Bir joydan ikkinchi joyga siljish tezligi turli bakteriyalarda turlicha bo'ladi: ko'pchilik bakteriyalar bir sekund ichida o'z tanasi uzunligiga teng keladigan masofani bosib o'tadi. Ba'zilar, jumladan, vabo (xolera) vibrioni bir sekundda o'z tanasi uzunligiga nisbatan 15 baravardan ortiq masofaga siljiydi (tanasining uzunligi 2 mkm, bir sekundda o'tgan masofasi esa 30 mkm ga yaqin bo'ladi).



Xivchinlanish  
tiplari:

- a* — *monotrixlar*;
- b* — *lofotrixlar*;
- v* — *peritrixlar*

Bakteriyalarning xivchini hujayrada turlicha joylashadi: bakteriya hujayrasining bir tomonida bitta xivchin bo'lsa *monotrix*, hujayraning bir tomonida bir nechta xivchin bo'lsa *lofotrix*, hujayraning ikki tomonida bittadan yoki bir nechtadan xivchin bo'lsa *amfitrix* va xujayra butunlay xivchinlar bilan o'ralgan bo'lsa *peritrix xivchinlanish* deb aytiladi. Monotrix va lofotrix xivchinli bakteriyalar to'g'ri chiziq bo'ylab, peritrix xivchinli bakteriyalar esa yumalab harakatlanadi.

Bakteriyalarning xivchinini ko'rish uchun ultramikroskop va maxsus bo'yoqlar ishlatiladi. Xivchini tekshiriladigan bakteriya kumush tuzi eritmasida saqlanib, so'ngra unga formaldegid bilan ta'sir qilinadi. Bu eritmalar ta'sirida xivchinlar qora rangga kiradi.

Temperatura, zaharli moddalar va hayot protsesslarida paydo bo'ladigan boshqa birikmalar ta'sirida bakteriyalarning harakatlanishi tezlashishi yoki sekinlashishi mumkin.

#### ***Nazorat savollari:***

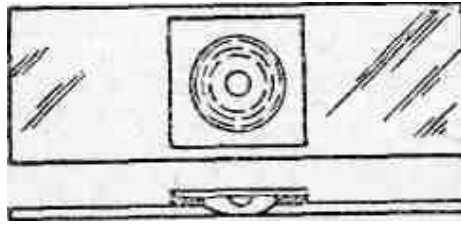
1. Lofotrix Hivchinlanish deb nimaga aytiladi ?
2. Bakteriyalarning hivchinlarini mikroskopda ko'rish uchun qanday reaktivlardan foydalaniladi?
3. Vabo xolerasi qanday harakatlanadi?

### ***3- mashg'ulot. Harakatchan mikroorganizmlarni kuzatish.***

Kerakli jixozlar: mikroskop, o'rtasi chuqur buyum oynasi, qoplag'ich oyna, bakterial ilmoq, spirt lampa, vazelin, iflos suv.

Ishning bajarilish tartibi: Bakteriyalarni tirik holda ko'rish uchun to'xtab qolgan iflos suv ishlatiladi. Bu suvni tayyorlash uchun 20—25 g quruq pichan maydalanadi va 200 ml suv solingan idishga botirilib, 30<sup>0</sup> li termostatda 2—3 kun saqlanadi. Mikroorganizmlar neytral sharoitda yaxshi rivojlanishini nazarda tutib, idishga ozgina oq bo'r solinadi. Hosil qilingan iflos suvdan osma hamda ezilgan tomchili preparatlar tayyorlanadi.

Osma tomchili preparat tayyorlash uchun o'rtasi chuqur buyum oynasining chuqurchasi atrofiga vazelin surkab qo'yiladi. Tozalangan qoplag'ich oyna o'ng qo'lga olinib sterillanadi, ya'ni sirtidagi mikroblarni yo'qotish uchun spirt lampa alangasi ustidan 2—3 marta o'tkaziladi. So'ngra chap qo'lga bakterial ilmoq olinib, cho'g' bo'lguncha spirt lampasi ustiga tutiladi. Sterillangan ilmoq yordamida tekshiriladigan ob'ektdan —sasigan suvdan bir tomchi olib qoplagich oyna ustiga tomiziladi. So'ngra u teskarisiga aylantirilib, buyum oynasidagi atrofiga vazelin surkalgan chuqurcha ustiga qoplanadi.



Osma tomchili preprati tayyorlash uchun ishlatiladigan o'rtasi chuqur buyum oynasi  
a —ustidan ko'rinishi; b — yonidan ko'rinishi

Ezilgan tomchili preparat tayyorlash uchun tekis buyum oynasi artib tozalangandan keyin sterillanadi va ustiga tekshiriladigan suyuqlik tomchisi tomiziladi. So'ngra usti qoplag'ich oyna bilan yopiladi. Natijada suyuqlik ezilgan holatga aylanadi. Tayyorlangan preparatlar mikroskopning 8x va 40x li ob'ektivlari orqali tekshirilib, ularning ichida harakatsiz va harakatlanayotgan tirik mikroorganizmlar borligi aniqlanadi.

*Eslatma: a — qoplag'ich oyna o'rniga emul siyadan tozalangan fotoflyonka bo'laklari ishlatilsa, u bir marta foydalanib, so'ngra tashlab yuboriladi; b — o'rtasi chuqur oyna o'rniga oddiy buyum oynasi ishlatilganda uning ustiga o'rtasi doira shaklida o'yib olingan va namlangan fil tr qog'oz yopishtirib qo'yiladi. Uning ustiga tekshiriladigan tomchi tomizilgach, qoplag'ich oyna yopiladi.*

### **Nazorat savollari:**

1. Osma tomchili preparatning tayyorlanish tartibi?
2. Ezilgan tomchili preparat qanday tayyorlanadi?
3. Bu mashg'ulotda qaday reaktivlar ishtirok etadi?

### **4-mashg'ulot Bakteriyalarning morfologik tuzilishi**

Bakteriyalarning shakli va o'lchami xilma-xil bo'ladi. Sharsimon bakteriyalarning diametri 1—2 mkm dan katta bo'lmaydi, biroq tifoisa valutans (*Thiophysa valutans*) ning diametri 18 mkm ga yetadi. Sharsimon bakteriyalar eng oddiy tuzilgan mikroorganizmlardir.

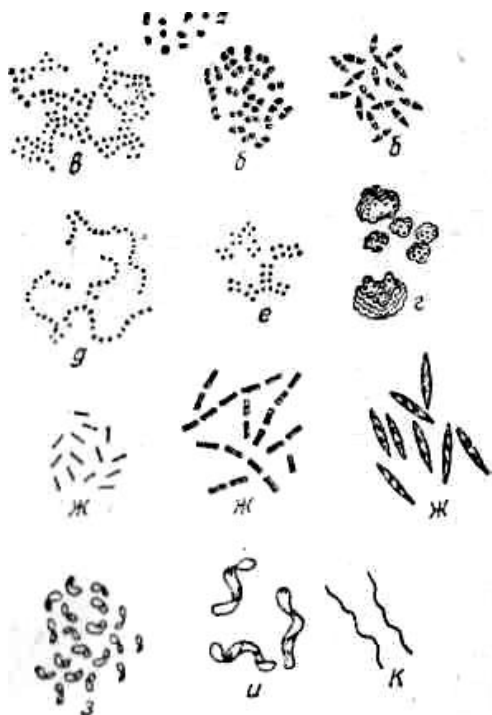
Yakka-yakka joylashgan sharsimon bakteriyalar *kokk* (Cocci), ikkitadan joylashganlari *diplokokk* (Diplococci), to'rttadan joylashganlari *tetrakokk* (Tetracocci), sakkiztadan joylashganlari *sartsina* (*Sarcina*) va bo'linish natijasida zanjir hosil qilganlari *streptokokk* (*Streptococci*), uzum shingili shaklidagilari *stafilokokk* (*Staphylococci*) deb ataladi.

Tayoqchasimon bakteriyalarning uzunligi 1—4 mkm, ko'ndalang kesimi 0,5—1 mkm dan oshmaydi. Lekin oltingugurt bakteriyasi — *beggiato mirabilis* (*Beggiatoa mirabilis*) ning ko'ndalang kesimi 50 mkm ga yetadi. Yirik bakteriyalar unchalik ko'p uchramaydi. Tayoqchasimon

bakteriyalar asosan spora hosil qiladigan hamda spora hosil qilmaydigan ikki gruppaga bo'linadi. Spora hosil qiluvchilari batsilla, spora hosil qilmaydiganlari bakteriya deyiladi. Hujayrasi bir oz bukilib turgan bakteriyalar *vibrion* (*Vibrio*), bir necha marta oddiy bukilib spiral shaklida bo'lganlari *spirilla* (*Spirilla*) va oddiy spiral , shaklidagilari *spiroxeta* (*Spirochete*) deyiladi.

Bulardan tashqari, oddiy mikroskopda ko'rinmaydigan, o'lchami 20—30 nanometr (nm) bo'lgan tirik organizmlar ham bor. Ular maxsus fil tr orqali o'tganligi sababli *fil trlanuvchi viruslar* deb ataladi. Fil trlanuvchi viruslar yoki ul tramikroblar qatoriga bakteriofaglar ham kiradi. Bakteriofaglar lizin moddasi ajratadi. Lizin ta'sirida zararli mikroblar nobud bo'ladi, ya'ni erib ketadi.

Mikrobiologiyaga oid mashg'ulotlar vaqtida yuqumli kasalliklar bilan zararlanmaslik uchun ehtiyotlik bilan ishlash, jumladan, mashg'ulot boshlashdan oldin va uni tugatgandan so'ng qo'lni sovunlab yuvish hamda boshqa sanitariya-gigiena qoidalariga amal qilish zarur, aks holda ko'ngilsiz oqibatlar yuz berishi mumkin.



Har xil mikroorganizmlar:

- a* — kokklar;
- b* — diplokokklar;
- v* — stafilokokklar;
- g* — sartsiialar;
- d* — streptokokklar;
- e* — tetrakokklar;
- j* — tayoqchasimon bakteriyalar va batsillalar;
- z* — vibrionlar;
- i* — spirillalar;
- k* — spiroxetalar

### ***Nazorat savollari:***

1. Sartsina qanday joylashgan bakteriya xisoblanadi?
2. Bir necha marta oddiy bukilib spiral shaklida bo'lgan bakteriyalar nima deb ataladi?
3. Bakteriofaglar qanday modda ajratadi?

## **5- mashg'ulot. Mikroorganizmlarni fiksatsiyalangan va bo'yalgan holda tekshirish.**

Kerakli jixozlar: mikroskop, buyum oynasi, bakterial ilmoq, spirt lampa, to'xtab qolgan suv yoki tish kiri, fil'trlanadi qog'oz, Lyoffler sin'kasi yoki fuksin bo'yog'i.

Ishning bajarilish tartibi: Bu mashg'ulotda to'xtab qolgan iflos suvdan yoki tish kiridan bakteriyali preparat tayyorlash uchun oddiy buyum oynasi ishlatiladi. U yaxshilab arilib sterillanadi. Buning uchun oyna spirt lampa alangasi ustidan 2—3 marta o'tkaziladi. So'ngra tekshiriladigan suyuqlikdan sterillangan bakterial ilmoqda bir tomchi olib, buyum oynasiga surkaladi, ya'ni mazok tayyorlanadi. Mazok ochiq havoda quritiladi, so'ngra bakteriyalarni oyna ustida fiksatsiyalash maqsadida, oyna spirt lampa alangasi ustidan 2—3 marta o'tkaziladi. Tayyorlangan preparat ustiga 2—3 tomchi Lyoffler sin'kasi yoki fuksin bo'yog'i tomiziladi. Oradan 1—2 minut o'tgach, bo'yoq yuviladi. Preparat ustidagi suv tomchilari fil'trlanadi qog'ozga shimdirib olinadi. So'ngra mazok ustiga bir tomchi kedr yoki kastorka moyi tomizib, u avval quruq (moyga botirilmagan, 8x li), keyin immersion ob'ektiv orqali ko'riladi. Preparatda sharsimon, tayoqchasimon, spiralsimon va boshqa shakldagi mikroblar borligi aniqlanadi.

### ***Nazorat savollari:***

1. Mazok qanday tayyorlanadi?
2. Kedr moyi yo'q bo'lsa, qanday moy ishlatiladi?
3. Mashg'ulot so'ngida preparatda qanday bakteriyalar ko'rinadi?

## **6- mashg'ulot. Mikroorganizmlarning o'lchamini aniqlash**

Kerakli jixozlar: mikroskop, ob'ektiv mikrometr, okulyar mikrometr.

Ishning bajarilish tartibi: Bu mashg'ulotda okulyar va obektiv mikrometrlardan foydalaniladi. Okulyar mikrometr shishadan tayyorlangan doiradan iborat. Doiraning diametri mikroskop okulyarining diametridan bir oz kichikroq bo'ladi. Okulyar mikrometr doirasining markazida 5 mm uzunlikdagi 50 ta chiziq bor. Chiziqlarning orasi 0,1 mm ga teng keladi.

Mashg'ulotni boshlashdan oldin okulyar mikrometr mikroskop okulyarining ichiga joylanadi. Mikroskopda qaragan vaqtda okulyar mikrometrning chiziqlari aniq ko'rinadi, lekin chiziqlar o'rtasidagi oraliqlar yuqorida ko'rsatilgan darajaga teng bo'lmaydi. Okulyar mikrometr chiziqlari o'rtasidagi oraliqni aniq belgilash maqsadida ob'ektiv mikrometrdan foydalanishga to'g'ri keladi. Ob'ektiv mikrometr buyum oynasiga ishlangan, ya'ni oynaning markaziga uzunligi 1 mm keladigan ma-

sofada 100 ta chiziq chizilgan. Bu chiziklar orasi 0,01 mm, ya'ni 10 mkm ga teng bo'ladi.

Ob'ektiv mikrometr yordamida okulyar mikrometr chiziqlari o'rtasidagi oraliqlar necha mikrometrga tengligi aniqlanadi. Buning uchun ob'ektiv mikrometr mikroskop stolchasiga joylanib, so'ngra okulyar mikrometr chiziqlari ob'ektiv mikrometr chiziqlari bilan taqqoslab ko'riladi. Agar ob'ektiv va okulyar mikrometr chiziqlari bir-biriga to'g'ri kelsa,

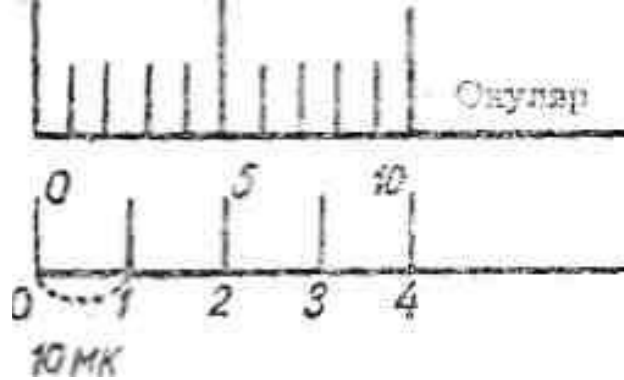


Okulyar

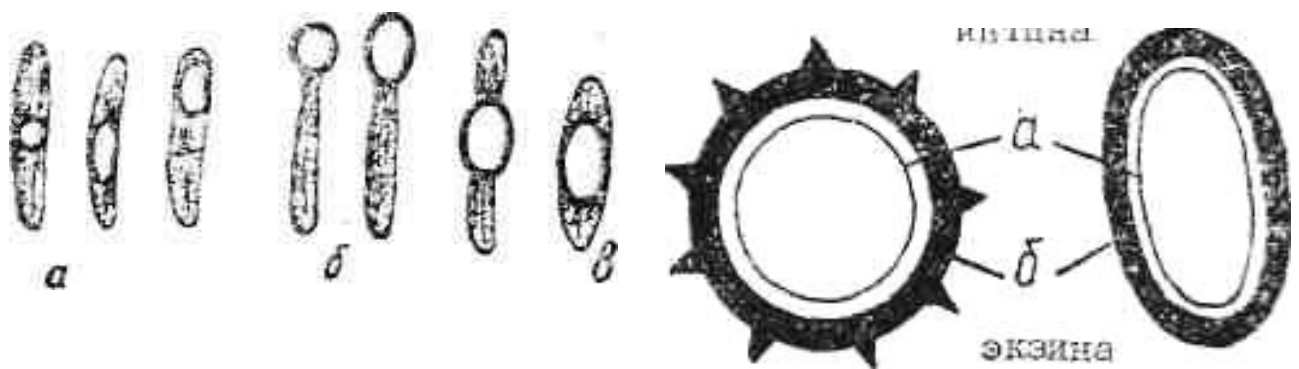
okulyar mikrometr chiziqlari o'rtasidagi oraliqlar 10 mkm ga tengligini ko'rsatadi. Bordiyu, okulyar chiziq oralig'ining beshtasi ob'ektivdagi 2 ta chiziq oralig'iga to'g'ri kelsa (rasmga qarang), u holda okulyardagi chiziqlar oralig'i 4 mkm ga teng bulib qoladi. Okulyar mikrometrdagi 5 ta chiziq orasi ob'ektiv mikrometrdagi chiziqlarning 10 bo'lagiga to'g'ri kelsa, u holda okulyar mikrometr chiziqlarining oralig'i 2 mkm ga teng bo'ladi.

Ob'ekt yoki buyumni tekshirish vaqtida ishlatilayotgan okulyar yoki ob'ektiv o'zgartirilsa, okulyar mikrometrda ko'ringan chiziqlar oraliqlarining qiymati ham o'zgarishini hisobga olish kerak. Masalan, 8 x li ob'ektivda ko'ringan chiziqlar oraliqlari 40x li ob'ektiv ishlatilganda boshqa songa tenglashib qoladi. Demak, bu sonni aniqlash uchun mikroskop stolchasiga ob'ektiv mikrometrli qo'yib, okulyarda ko'ringan chiziqlar oraliqlarining qiymatini qaytadan aniqlab olish kerak. Ana shunda mikroskopda ko'ringan har qanday ob'ektning o'lchamini bemalol aniqlash mumkin bo'ladi.

**Spora hosil bo'lishi.** Tayoqchasimon bakteriyalarning ba'zi turlari rivojlanish bosqichining ma'lum davrida spora hosil qiladi. Bunda mikroorganizmlarning vegetativ hujayrasi ichidagi sitoplazmaning hammasi yoki bir qismi quyushib, shar yoki ellips shaklga kiradi, ya'ni *spora* hosil bo'ladi.



Okulyar mikrometr chiziq-  
lari orasidagi masofaning qiyma-  
tini aniqlash.



Vegetativ hujay-ralarning spora hosil  
bo'l-gan vaqtdagi shakli:

*a* - o'z shaklini yo'qotmagan vegetativ  
hujayralar; *b*—baraban tayoqchasiga  
o'xshab qolgan vegetativ hujayralar; *v* —  
duksimon shaklga kirgan vegetativ  
hujayralar.

Spora k'ndalang kesimining k'yrinishi:  
A-intina, b-ekzina kavatlari

Hujayra po'sti spora hosil bo'lishida ishtirok etmasa ham, undagi harakatlanish organlari — *xivchinlar* qisqa vaqt ichida o'z vazifasini bajaraveradi. Bitta ona hujayrada bittagina spora hosil bo'ganligi sababli bu hodisani bakteriyalarning ko'payish protsessi deb tushunish xatodir. Sporalar mikroorganizmlarning noqulay sharoitdan saqlanishi uchun xizmat qiladi.

Spora, odatda, vegetativ hujayradan maydaroq bo'ladi. Spora hosil bo'lgandan keyin ona hujayra o'z shaklini o'zgartirmaydi. Ba'zi batsillalar sporasining diametri vegetativ hujayraning ko'ndalang kesimidan kattaroq bo'lib, u hujayra markaziga joylashsa, bu holda hujayra duksimon shaklga kiradi. Batsillalarning ba'zi turlarida sporalar vegetativ hujayraning bir

uchida hosil bo'ladi. Natijada batsillaning shakli baraban tayoqchasiga o'xshab qoladi.

Spora hosil bo'lgandan so'ng ona hujayraning po'sti erib ketadi. Spora ikki qavatli bo'ladi. Uning tashqi qavati *ekzina* deb ataladi, u o'zidan suv o'tkazmaydi va sporani **tashqi** muhit ta'siridan saqlaydi. Ichki qavati *intina* deb ataladi va sporaning unib chiqishiga yordam beradi.

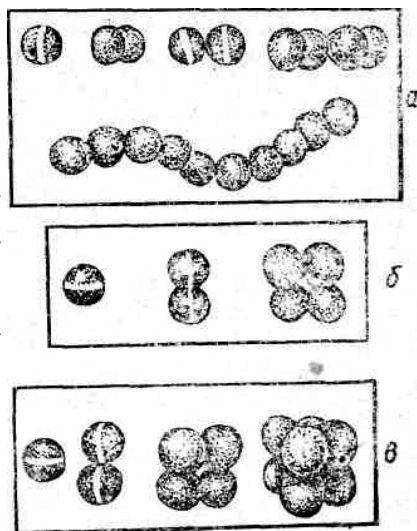
Ko'pchilik bakteriyalarning sporasi 120—140° issiqda ham hayot faoliyatini yo'qotmaydi. Ayrim bakteriyalarning sporasi — 253° sovuqda ham nobud bo'lmaydi.

Muhitda oziq moddalar yetarli bo'lib, optimal temperatura hosil qilinsa, sporadan yosh hujayra o'sa boshlaydi. Yosh vegetativ hujayra sporaning bir uchidan o'sib chiqsa, bunday o'sish *polyar o'sish*, o'rta qismidan o'sib chiqqanda *zsa ekvatorial o'sish* deyiladi. Sporadan o'sib chiqqan hujayra intina po'stiga o'ralgan bo'ladi.

Spora hosil qilish protsessi doimiy xususiyat bo'lib hisoblansa ham, ba'zi vaqtlarda bakteriyalar bu xususiyatini yo'qotadi. Bunday bakteriyalar *asporogen irq* deyiladn. Bu hodisa doimiy yoki vaqtincha bo'lishi mumkin. Bakteriyalarning asporogen irqqa aylanishida zaharli moddalar va boshqa ba'zi faktorlarning ta'siri juda katta rol o'yiaydi. Kokk va spiralsimon bakteriyalar spora hosil qilmaydi.

### Bakteriyalarning ko'payishi.

Bakteriyalar oddiy bo'linish yo'li bilan ko'payadi. Ona hujayra o'rtasida halqasimon parda paydo bo'ladi. Bu parda vegetativ hujayrani o'rtasidan bo'lishi natijasida ikkita yangi hujayra hosil bo'ladi. Sharsimon bakteriyalarning bo'linish tipi sistematika uchun juda katta ahamiyatga ega. Ular bir sathda bo'linsa *kokk*, *diplokokk*, *streptokokk* yoki *stafilokokklar*, bir-biriga perpendikulyar sathda bo'linsa, *tetrakokklar*, uch tomondan perpendikulyar, sathda bo'linganda *sartsina* hosil bo'ladi. TSilindrsimon bakteriyalar faqat ko'ndalangiga, spiralsimonlari esa uzunasiga bo'linadi.



Bakteriyalarning ko'payish tezligi sharoitga bog'liq. Oziq moddalar yetarli va temperatura qulay bo'lsa, hujayra har 20—40 minutda bo'linib ko'payaveradi. Agar bakteriyalar shu tezlikda ko'payaversa, 5 sutka mobaynida dengiz va okeanlarni to'ldirib yuborishi mumkin. Lekin sharoit o'zgarib turishi va boshqa faktorlar ularning bunday tezlik bilan ko'payishiga to'sqinlik qiladi.

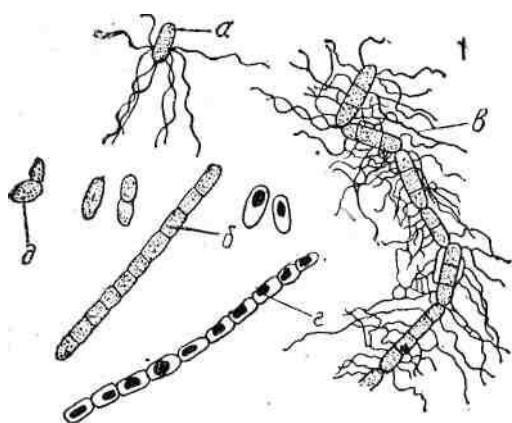
Sharsimon bakteriyalarning ko'payish xillari:

- a — hujayraning bir sathda bo'linishi;
- b — hujayraning ikkita perpendikulyar sathda bo'linishi; v — hujayraning uchta perpendikulyar sathda bo'linishi.

Bakteriyalar jinsiy yo'l bilan ham ko'payadi. Bunda ikki hujayra bir-biriga yaqinlashib qo'shiladi. Hujayralar ichida gonidiyalar hosil bo'ladi. Gonidiyalardan yangi hujayralar o'sib chiqadi.

**Bakteriyalarning rivojlanish sikli.** Bakteriyalarning rivojlanish sikli bir necha fazaga bo'linadi.

Pichan batsillasi (*Bacillus subtilis*) ning rivojlanish sikli. Bu batsillaning yosh hujayrasi peritrix tipda xivchinlanganligi sababli yumalab harakatlanadi. Rivojlanish tsiklining dastlabki davrlarida hujayra xivchinlarini yo'qotib, harakatdan to'xtaydi va tezlik bilan bo'lina boshlaydi. Hujayralar bunday ko'payish natijasida bir-biriga ulanib, zanjir hosil kiladi va ularda xivchinlar paydo bo'ladi. Bu hujayralar xivchinlar yordamida bir oz vaqt harakatlangandan so'ng yana ayrim hujayralarga bo'linib harakatlanaveradi. Bu protsess ko'p marta takrorlangandan so'ng hujayra ichida spora hosil bo'ladi. Spora hosil qilgan vegetativ hujayra



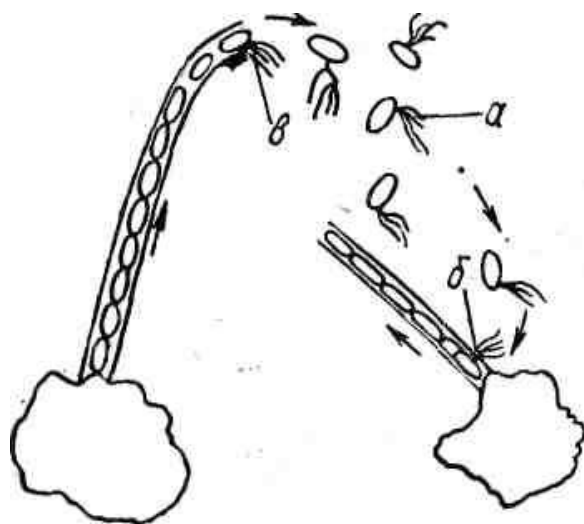
Pichan batsillasi (*Bacillus subtilis*) ning rivojlanish tsikli (sxema).

*a* — harakatchan hujayra; *b* — xivchinini tashlab bo'linishi; *v* — qaytadan xivchkn hosil qilishi; *g* — spora hosil qilishi; *d* — sporadan o'sib chiqishi.

bir joyda to'xtab qoladi. Uning po'sti eriydi va spora tashqariga chiqib qoladi. Qulay sharoitga duch kelishi bilan sporaning po'sti yoriladi va undan harakatchan pichan batsillasi o'sib chiqali.

Sporadan o'sib chiqqan vegetativ hujayra ham yuqorida aytilgan bosqichlarni o'tib, spora hosil qiladi va shu bilan rivojlanish siklini tugallaydi.

Ipsimon bakteriyalar suv ostidagi narsalarga yopishib olib hayot kechiradi. Ular shilimshiq qin ichiga joylashib yashaydi



Ipsimon bakteriyalar (*Cladotrix motoma*) ning rivojlanish tsikli (sхема):

- a* — harakatchan bakteriyalar;
- b* — suv ostidagi narsaga yopishib qolish va ko'payish vaqti;
- v* — voyaga yetgan hujayraning qin ichidan chiqib ketishi.

va voyaga yetganda har qaysi hujayraning bir uchida *xivchinlar to'plami* paydo bo'ladi. Xivchinli bakteriyalar — hujayralar bir qancha vaqt o'tgandap keyin suv ostidagi narsalarga yopishib oladi va xivchinini yo'qotadi. Xivchinini yo'qotgan hujayra tezlik bilan ko'payib, shilimshiq qinga o'raladi, bu hujayralar voyaga yetguncha shu qin ichida bo'ladi.

#### ***Nazorat savollari:***

1. Okulyar mikrometr nima?
2. Ob yektiv mikrometr yordamida nima aniqlanadi?
3. Asporogen irq nima?

#### **7- mashg'ulot. Pichan batsillasining elektiv kul'turasini tayyorlash.**

Kerakli jixozlar: quruq pichan, tarozi, bitta katta va bir nechta kichik kolba, elektr plitka, oq bo'r, termostat.

Ishning bajarilish tartibi: Bir necha xil mikroorganizmlar aralashmasida bir turning rivojlanishini ta'minlash usuli *elektiv kul'tura tayyorlash* deb ataladi. Elektiv kul'tura tayyorlashdan oldin tekshiriladigan organizmning yashash va rivojlanish sharoitini bilib olish kerak. Pichan batsillasi yaxshi rivojlanishi uchun aerob (kislorodli) sharoit bo'lishi zarur. Bundan tashqari, bu batsilla geterotrof bo'lganligi sababli u rivojlanishi uchun yetarli miqdorda organik oziq ham bo'lishi kerak. Bunday sharoitda ko'pchilik mikroorganizmlarning yashashi va rivojlanishi ancha qulay bo'ladi. Ular orasidan pichan batsillasini ajratib olish uchun sporasining issiqqa chidamliligidan foydalaniladi. Pichan batsillasining sporalari 2 soat qaynatilganda ham o'z hayot faoliyatini saqlab qoladi. Lekin spora hosil qiluvchi bakteriyalarning ko'pchiligi va spora hosil qilmaydigan bakteriyalarning hammasi eritma qaynatilganda nobud bo'ladi.

Pichan batsillasining elektiv kul'turasi quyidagicha tayyorlanadi: 10—15 g maydalangan quruq pichan hajmi 200—300 ml bo'lgan suvli kolbaga solinib, 30 minut qaynatiladi. Bu aralashmani neytrallash uchun unga 1—2 g maydalangan oq bo'r qo'shiladi. Aralashma qaynatilganda pichan tarkibidagi organik moddalar eritmaga o'tadi va sporadan o'sib chiqqan batsilla uchun oziq bo'ladi. Keyin qaynatilgan suyuqlikdan 3 ta toza kolbaga 1—2 sm<sup>3</sup> qalinlikda quyib olinadi. Kolbalarni og'zi paxtadan qilingan tiqin bilan berkitiladi va 30° issiq termostatda 1—4 kun saqlanadi. So'ngra tekshiriladi.

### ***Nazorat savollari:***

1. Pichan batsillasini yaxshi rivojlanishi uchun qanday sharoit bo'lishi zarur?
2. Pichan batsillasining sporalari ikki soat qaynatilsa qanday o'zgarish bo'ladi?
3. Elektiv kul'tura nima?

### ***8- mashg'ulot. Pichan batsillasining rivojlanish siklini tekshirish.***

Kerakli jixozlar: mikroskop, kedr moyi, buyum oynasi, qoplag'ich oyna, bakterial ilmoq, Sil -karbol fuksini va sin'ka bo'yoqlari, fil'trlanadi qog'oz, pichan batsillasining 1, 2, 3 va 4 kunlik elektiv kul'turasi, 5% li xromat kislota, spirt lampa, 5% li sul'fat kislota, termostat.

Ishning bajarilish tartibi: Kolbada qolgan pichan qaynatmasi ichida asosan pichan batsillasining sporalari to'plangan bo'ladi. Sporalar uchun qulay sharoit yaratilishi bilan ulardan vegetativ hujayralar o'sib chiqqan boshlaydi.

Termostatda bir kun turgan pichan: qaynatmasidan sterillangan bakterial ilmoqda bir tomchi olinib, osma yoky ezilgan tomchi tayyorlanadi. Bu preparat mikroskopda qaralganda sporadan o'sib, chiqqan harakatchan batsillalar ko'rinadi. Ularning butun tanasi xivchinlar bilan o'ralgan bo'ladi.

Pichan qaynatmasi ikki kun saqlangandan so'ng unda havoning kamayishi va oziq moddalar stishmasligi natijasida harakatchan batsillalar xivchinini tashlab, harakatsiz holatga o'tadi va tezlik bilan bo'lina boshlaydi. Batsillalarning bo'linishi natijasida koloniyalar hosil bo'ladi, har qaysi hujayra o'zidan shilimshiq modda chiqaradi. Bu shilimshiqli batsillalarning koloniyasi *zoogleya* deb ataladi. Zoogleya suyuqlik yuzasida yupqa parda shaklida bo'ladi.



Zoogleya ichidagi  
batsillalarning  
ko'rinishi.

Zoogleya ichidagi batsillalarni ko'rish uchun suyuqlik yuzasidagi pardadan olib buyum oynasiga yuqtiriladi va ochiq havoda quritiladi. Quritilgan preparat fiksatsiya qilingandan so'ng fuksin yoki sin'ka bilan bo'yalib, mikroskopning 8x va 40x li ob'ektivlari orqali kuzatiladi. Bunda preparatda bir-biriga ulangan ip shaklidagi hujayralar ko'rinadi. So'ngra bir necha kun saqlangan pichan batsillasi kul'turasidan mazok tayyorlanadi va fiksatsiya qilinadi. Mazok fiksatsiya qilingandan keyin ustiga 5% li xromat kislota tomizilib, 5 minut tinch qoldiriladi. Shundan keyin xromat kislota suv bilan yuvib tashlanadi. Yuvilgan preparat — mazok ustiga TSil -karbol fuksini bo'yog'idan 6—7 tomchi tomiziladi va bo'yoqni bug'lantirish uchun spirt lampa alangasi ustida 5 minut tutiladi. Bunda bo'yoq qurib qolmasligi kerak. Agar qurib qoladigan bo'lsa, mazokka buyoqdan qo'shib turiladi. Shundan keyin preparatdagi bo'yoq suv bilan yuvilib, ustiga 5% li H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> tomiziladi. Oradan 10—15 sekund o'tishi bilan sul'fat kislota yuvib tashlanadi. So'ngra preparat ustiga 2—3 tomchi Lyoffler sin'kasi tomizilib, 2 minut o'tgandan keyin u ham yuvib tashlanadi. Preparatda qolgan suv tomchilari fil'trlanadi qog'ozga shimdirib olinadi.



Ikki qayta bo'yalgan bak-  
teriya preparati:

*a—qizil yoki pushti rangli  
spore; b—havo rangga buyalgai  
vegetativ hujayra.*

Shu tartibda tayyorlangan preparat ustiga bir tomchi kedr moyi tomizilib, mikroskopning quruq va immersion sistemalari orqali qaraladi.

Bunda preparatdagi sporalar pushti rangga, vegetativ hujayralar havo rangga bo'yal-ganligi aniq ko'rinadi.

***Nazorat savollari:***

1. Bu mashg'ulotda qanday reaktivlar ishlatiladi?
2. Pichan qaynatmasi ikki kun saqlangandan so'ng qanday o'zgarish ro'y beradi?
3. Zoogleya nima?
4. Mashg'ulot so'ngida sporalar qanday rangga kiradi?

***9- mashg'ulot. Mikroorganizmlarning tabiatda tarqalishi.***

**Tuproq mikroflorasi.** Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning soni million va milliardlar bilan ifodalanadi. Ba'zi olimlar ma'lumotiga ko'ra, 1 g tuproq tarkibida 2,5—5 milliardgacha mikroorganizm bo'ladi. Bir gektar yerdagi mikroorganizmlarning umumiy vazni 3—5 t ga yaqin bo'ladi.

Tuproqning fizik va ximiyaviy xossalari, tarkibida oziq moddalar ko'pligi, namlik va havo yetarli bo'lishi turli-tuman mikroorganizmlarning rivojlanishi uchun juda qulay sharoit hisoblanadi. Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning soni va xili kun sayin ko'payib hamda o'zgarib turadi. Ular, odatda, inson, hayvon va o'simlik qoldiqlari hisobiga ko'payadi. Arktikada va issiq Sahroi Kabir qumliklarida ham minglab, millionlab uchraydi.

S. Razumov va R. Remezovlar ma'lumotiga ko'ra, tuproqning ustki qatlamida mikroorganizmlar soni ko'p bo'lib, chuqurlashgan sari kamaya borar ekan. Tuproq qatlami chuqurlashgan sari mikroorganizmlarning soni kamaya borishiga ularning tuproq zarrachalari tomonidan yutilishi sabab bo'ladi. Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning soni yil fasllariga qarab ham o'zgarib turadi. Ular tuproq strukturasi yaxshilashda, chirindisi tarkibidagi moddalarni parchalab, uni mineral birikmalar bilan boyitishda juda katta rol o'ynaydi.

Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar juda xilma-xil bo'l-ganligidan bir-biriga salbiy yoki ijobiy ta'sir ko'rsatadi, ya'ni bir-biri bilan simbioz holda yoki bir-biriga antagonist bo'lib hayot kechiradi.

***Nazorat savollari:***

1. 1g tuproq tarkibida qancha mikroorganizm bo'ladi?
2. Tuproqdagi mikroorganizmlar to'g'risida qaysi olimlar tajribalar o'tkazgan?
3. Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar nima xisobiga ko'payadi?

**9.1- mashg'ulot. Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar sonini aniqlash (O. G. Shulgina tomonidan o'zgartirilgan S. N. Vinogradskiy usuli)**

Kerakli jixozlar: mikroskop, mikropipetka, tuproq, buyum oynalari, karbol kislotali eritrozin bo'yog'i, okulyar mikrometr.

Ishning bajarilish tartibi: Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar sonini aniqlash uchun 5 g tuproq olib, 250 ml hajmli kolbaga solinadi. Shu kolbaga 50 ml sterillangan suv qo'shib 5 minut chayqatgandan so'ng 1—2 minut tindiriladi. Buyum oynasiga eni 1 sm va uzunligi 4 sm keladigan kvadrat chizib, unga yuqorida tayyorlangan eritmadan 0,01 ml olib bir tekisda yuqtiriladi. Bu mazok quritilgandan so'ng absolyut spirt eritmasi bilan yoki spirt lampa alangasida fiksatsiyalanib, karbol kislota (fenol) da eritilgan eritrozin bo'yog'i bilan bo'yaladi. 30 minutdan keyin bo'yoq yuvilib, preparat quritiladi va bir tomchi kedr moyi tomizib, immersion ob'ektiv orqali mikroskopda kuzatiladi. Endi 1 g tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar sonini aniqlash uchun quyidagi ishlar bajariladi:

1. Mikroskopda ko'ringan doiraning umumiy sathi aniqlanadi. Buning uchun okulyar mikrometr yordamida doiraning radiusi aniqlanib, quyidagi formulaga muvofiq umumiy sathi topiladi:

$$S = \pi n r^2$$

Bu erda:  $S$ — istalgan doiraning yuzasi;  $n$  — 3,14 (3,14159) irratsion son—doira aylanasining diametriga bo'lgan nisbati;  $r^2$ — doiraning radiusi.

Masalan, doiraning radiusini 0,075 yoki 0,08 mm ga teng deb olib, yuqoridagi formulaga muvofiq doiraning umumiy sathi topiladi:

$$S = \pi r^2 = 3,14 \times (0,08)^2 = 3,14 \times 0,0064 = 0,020094.$$

Demak, mikroskopda ko'ringan doiraning umumiy sathi 0,020094 yoki 0,02 mm<sup>2</sup> ga teng ekan.

2. Mikroskop doirasida ko'ringan mikroorganizmlar soni sanaladi. Bu ishni bajarish uchun ularning doira ichidagi soni aniqlanib daftarga yoziladi. So'ng stolchani harakatlantiradigan vintlar yordamida preparatni siljitib, uning boshqa joyida ko'ringan doira ichidagi mikroorganizmlar soni ham daftarga yozib qo'yiladi. Shu usulda (preparatni harakatlantirib) 50—100 ta doiradagi mikroorganizmlar soni aniqlangach, ularning o'rtachasi topiladi. Faraz qilaylik, kuzatilgan 50 ta doira ichida 1500 dona mikroorganizm bo'lsa, bitta doira ichidagilarning o'rtacha soni:  $1500:50 = 30$  dona bo'ladi. Demak, olingan tajriba dalillariga asoslanib, bitta doira ichidagi mikroorganizmlar soni 30 dona deyish mumkin.

3. Yuqoridagi sonlarga asoslanib, tajriba o'tkazilayotgan buyum

oynasining  $4 \text{ sm}^2$  yuzasiga yuqtirilgan yoki  $0,01 \text{ g}$  ( $\text{ml}$ ) aralashma ichidagi mikroorganizmlarning umumiy sonini aniq-lash uchun quyidagi tenglamadan foydalaniladi:

$$0,02\text{mm}^2\text{—g } 30 \text{ dona bakteriya} \quad xq \quad \frac{400 \times 30}{0,02} = \frac{12000}{0,02} = 600 \text{ 000 dona}$$

$$4\text{sm}^2 = 400\text{mm}^2 \text{ — } x \text{ dona ,,}$$

$1 \text{ g}$  tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar sonini aniqlash uchun tubandagi tenglamadan foydalaniladi (buning uchun  $0,01 \text{ ml}$  aralashmadagi tuproqning vazni  $0,001 \text{ g}$  ga teng deb olinadi):

$$0,001 \text{ g-} 600000 \quad x = \frac{1 \times 600000}{0,001} = 600 \text{ 000 000 dona}$$

$1 \text{ g-x}$

Demak, tekshirilgan tuproqning bir gramida  $600 \text{ 000 000}$  dona mikroorganizm bor ekan.

Havo mikroflorasi. Tuproqdan ko'tariladigan chang o'zi bilan birga mikroorganizmlarni ham havoga tarqatib, havoni ifloslaydi. Havoning quruq bo'lishi va ul'trabinafsha nurlar havodagi mikroorganizmlarning hayoti uchun xavflidir. Ularning soni yil fasllariga qarab o'zgarib turadi qishda oz, yozda ko'p, kuzda va bahorda o'rtacha bo'ladi. Havoning yuqori qatlamlariga tomon mikroorganizmlar soni kamaya boradi.

### ***Nazorat savollari:***

1. Bu mashg'ulotni o'tkazishda qanday asboblari ishlartiladi?
2.  $1 \text{ g}$  tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar soni qanday aniqlanadi?
3. Bu mashg'ulotda qanday formulalar bilan ishlanadi?

### ***10- mashg'ulot. Havo tarkibidagi mikroorganizmlarni aniqlash va ularni bir-biridan ajratib olish.***

Kerakli jixozlar: Petri idishlari, probirkada sterillan-GPA yoki GPJ oziq muhitlari, termostat, Vol'fgyugel kamerasi.

Ishning bajarilish tartibi: Bu mashg'ulotni o'tkazishda Kox usulidan foydalanish mumkin. Bunda go'sht-pepton-agarli (GPA) yoki go'sht-pepton-jelatinli (GPJ) qattiq oziq muhiti ishlatiladi.

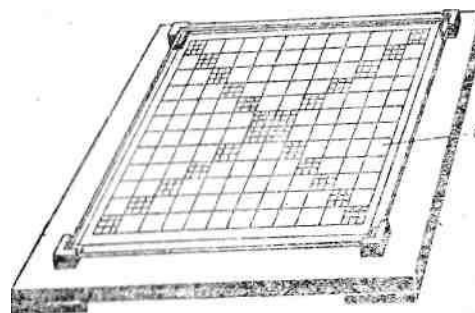
Tajriba o'tkazish uchun quyidagilarga amal qilish zarur: *a* — probirkada eritilgan GPA li oziq muhiti Petri idishiga quyiladi va darhol idishning qopqog'i yopiladi; *b* — idish ichidagi suyuq GPA qotguncha stol ustida qoldiriladi; *v* — idish ichidagi oziq muhiti qotgandan so'ng havosi tarkibidagi mikroblarni aniqlash mo'ljallangan (auditoriya, koridor, kucha, oshxona va boshqa) joylarga olib boriladi; *g* — shu joyda idishning qopqog'i  $5 \text{ minut}$  ochiq qo'yiladi. Shu vaqt ichida oziq muxiti

yuzasiga havodagi mikroblar tushadi. Belgilangan vaqtdan so'ng idishning qopqog'i yopiladi. Qopqoqning ustiga tajriba o'tkazgan studentning ismi, familiyasi va kursi yozilgan etiketka yopishtirilib, idish qog'ozga o'ralgach, 20—30° issiq termostatga qo'yiladi. Ularni termostatga qo'yishdan oldin, qopqog'i pastga qaratilgan bo'lishi kerak. Aks holda qopqoq ustiga to'plangan suv tomchilari plastinka yuzasiga tushadi, natijada mikroblar bir-biriga aralashib ketadi.

Qattiq oziq muhitidagi har bir mikroorganizm hujayrasi ko'payib, o'ziga xos koloniyalar hosil qiladi. Bu koloniyalar (to'dalar) mikroorganizmning turiga qarab har xil shaklda bo'ladi va turli rangda tovlanib turadi. Bir necha kun o'tgandan so'ng Petri idishidagi qattiq oziq muhitida paydo bo'lgan koloniyalarning soni havo tarkibida qancha mikroorganizm borligini aniqlashga imkon beradi.

Petri idishidagi oziq muhitidagi bakteriyalar sonini Volfgyugel kamerasi yordamida aniqlash juda oson .

Buning uchun kamera ichiga Petri idishi to'ntarib qo'yiladi. Kameraning yuqori tomonidagi oyna 1 sm<sup>2</sup>ga teng bo'lgan kataklarga bo'lingan. Petri idishining sathiga ro'para-ro'para kelgan 10—20 katakchadagi koloniyalarning sonini sanab, 1 sm<sup>2</sup> sathga teng kelgan bakteriyalarning o'rtacha



Vol fgyugel kamerasi: a- katakchalarga bo'lingan plastinka

<sup>1</sup> Volfgyugel kamerasi o'miga tsellofan qog'ozga ishlangan katakchalardan foydalanish mumkin.

son idishdagi oziq muhitining umumiy sathiga ko'paytiriladi. Natija havoning mikroorganizmlar bilan ifloslanganlik darajasini ko'rsatadi.

1 m<sup>3</sup> havo tarkibidagi mikroorganizmlar sonini topish uchun avval 100 sm<sup>2</sup> oziq muhitidagi mikroorganizmlar koloniyasini aniqlash kerak. Chunki V. S Omelyanskiy ma'lumotiga ko'ra 10 l havo tarkibida bo'lgan mikroorganizmlar 5 minut ichida 100 sm<sup>2</sup> yuzaga tushar ekan. Bu ko'rsatkich aniqlangandan so'ng 1 m<sup>3</sup>, ya'ni 1000 l havo tarkibidagi mikroorganizmlar soni, aniqlanadi. Masalan, 100 sm<sup>2</sup> yuzada 35 ta koloniya o'sgan, deb faraz qilaylik. Demak, V. S. Omelyanskiy ma'lumotiga asoslanib, 10 l havo tarkibida 35 dona bakteriya borligi aniqlandi. Endi 1

$m^3$ , ya'ni 1000 l havo tarkibidagi bakteriyalar sonini aniqlash uchun tubandagi proporsiya tuziladi:

$$101 - 35 \quad x = \frac{1000 \times 35}{10} = \frac{3500}{1}$$

$$1000 \text{ l} = x$$

Tajriba materiallarini chuqurroq analiz qilish maqsadida quyidagi ishlar bajariladi:

1. GPA plastinkasi ustida o'sgan koloniyalardan bir nechta (2—3 ta) sini tanlab, tubandagi jadvalda ko'rsatilgan savollarga to'la javob qaytariladi:

Koloniyaning nomera	Koloniyaning rangi	Koloniya chetining ko'rinishi	Koloniyaning shakli (yumaloq, o'rtasi botgan va xokazo)	Koloniyaning ichki tuzilishi (zich, nuqtasimon va xokazo)
1				
2				
3				

2. Tanlab olingan koloniyalardagi mikroblarning harakatlanishi, shakli, hajmi va boshqa ko'rsatkichlari tubandagi jadval savollariga oid javoblarda aniqlanadi:

Kaloniyaning nomeri	Ko'rsatkichlari						
	Xarakatlanishi	Xarakatsiz	Shakli	Sporasi		Spora xosil qiladigan vegetativ qismining shakli	Xajmi (mkm)
				yo'q	bor		
1							
2							
3							

Eslatma: bakteriyalarning harakatlanishini aniqlash uchun ezilgan tomchi preparata tayyorlansa, shaklini, hajmini aniqlash va sporalarini kuzatish uchun mazok tayyorlanib fiksatsiyalanadi, bo'yaladi.

***Nazorat savollari:***

1. Volfgyugel kamerasi yordamida nima aniqlanadi?
2. GPA- nima?
3. Volfgyugel kamerasi o'rniga nima ishlatilishi mumkin?

## 11- mashg'ulot. Suvdagi mikroblar sonini aniqlash

**Suv mikroflorasi.** Suv tarkibidagi organik va anorganik moddalarning miqdoriga qarab, mikroblarning soni ham turlicha bo'ladi. Suvdagi mikroblarning ko'pchiligi saprofit hayot kechiradi. Ular orasida kasallik qo'zg'atuvchi mikroorganizmlar ham uchraydi. Bularning ko'pchiligi suv ostidagi loyqaga joylashadi. Uning tarkibida mikroblar yashashi uchun barcha zarur sharoit mavjud. Lekin suvga tushgan quyosh nurlari va suv tarkibidagi bakteriofaglar, sodda hayvonlar, antagonist organizmlar ishlab chiqargan mahsulotlar ta'sirida mikroorganizmlar keng tarqala olmaydi. Shuning uchun suvda mikroblar soni tuproqdagiga nisbatanancha kam bo'ladi.

Suvdagi mikroblar sonini aniqlash uchun Petri idishiga 1 ml suv quyib, unga eritilgan GPJ yoki GPA dan 10—12 ml chamasi qo'shib aralashtiriladi. GPJ yoki GPA qotib qolgandan so'ng idish 25—30° issiq termostatga qo'yilib, bir sutka saqlanadi. Shundan so'ng qattiq oziq muhitida hosil bo'lgan bakteriya, mikroblar koloniyasining soni Vol'fgyugel kamerasi yordamida aniqlanadi.

### *Nazorat savollari:*

1. Suvdagi mikroorganizmlar nima uchun keng tarqala olmaydi?
2. Suvdagi mikroblar sonini aniqlash usulining tartibini ayting?
3. Mikroblar koloniyasining soni nima yordamida aniqlanadi?

## 12 -mashg'ulot. Bakteriyalarni Gramm usulida bo'yash

Bu mashg'ulotni o'tkazishda bakteriyalarning Gramm usulida bo'yalishi yoki bo'yalmasligiga katta e'tibor beriladi. Gramm usulida bo'yalish darajasiga qarab, bakteriyalar musbat va manfiy gruppalariga bo'linadi. Masalan, Gramm usulida bo'yalsa *gramm-musbat*, bo'yalmasa *gramm-manfiy* deb ataladi. Gramm-musbat bo'yalganda bakteriyalar qoramtir-binafsha rangli gramm-manfiy bo'yalganda qizil rangli bo'lib ko'rinadi.

Bakteriyalar Gramm usulida quyidagicha bo'yaladi: fiksatsiyalangan va yuvilgan mazok ustiga gentsian-violet bo'yog'idan ko'proq tomiziladi, 1—2 minutdan so'ng u yaxshilab yuvib tashlanadi. So'ngra yod eritmasi tomiziladi va 1—2 minutdan keyin U ham yuvib tashlanadi, so'ng preparat ustiga 95% li etil spirt tomizilib, 0,5—1 minutgacha tinch qoldiriladi. Spirtni yuvib tashlagandan keyin preparat ustiga suyultirilgan fuksin bo'yog'i tomiziladi va u 1—2 minut davomida bo'yaladi, shundan so'ng Fuksin bo'yog'i yuvilib, preparat fil'trlanadi qog'oz bilan quritiladi. Keyin

ustiga bir tomchi kedr moyi tomizilib, mikroskopda avval quruq, so'ngra immersion ob`ektiv orqali ko`riladi.

Mikroorganizmlar Gramm usulida manfiy va musbat bo'yalishini aniqlashda achib qolgan pivo yuzasidagi parda tarkibida musbat bo'yaladigan achitqi zamburug'lari (drojjilar) hamda sirka kislotali bijg'ish protsessini qo'zg'ovchi manfiy buyaladigan bakteriyalar to'plangan bo'ladi. Preparatda musbat buyaladigan achitqi zamburug'lari to'q binafsha, manfiy buyaladigan sirka kislota bakteriyalari qizil rangda tovlanib turadi.

Gramm usulida bo'yash uchun zarur bo'yoqlarni tayyorlash qo'llanma oxiridagi qo'shimcha materiallar bo'limida ko'rsatidgan.

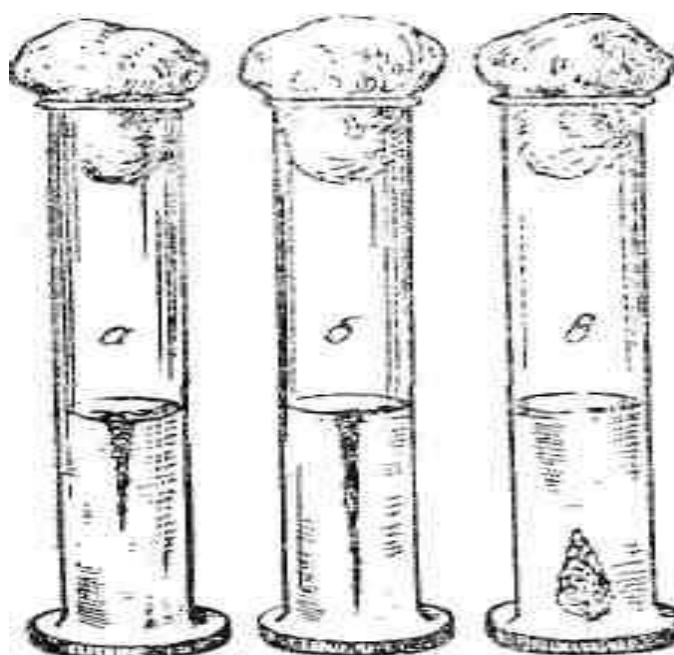
#### ***Nazorat savollari:***

1. Grammusbat bo'yalgan bakteriyalar qanday rangda bo'ladi?
2. Gramm usulida bo'yalmagan bakteriyalarnima debnimaga aytiladi?
3. Achib qolgan pivo yuzasidagi parda tarkibida qanday mikroorganizmlar mavjud?

#### ***13- mashg'ulot. Mikroorganizmlarning kislorodga bo'lgan munosabatini aniqlash.***

Kerakli jixozlar: yarmigacha qattiq oziq muhiti quyilgan probirkalar yoki tsilindr.

Ishning bajarilish tartibi: Mikroorganizmlarning turini aniqlashda ularni kislorodga bo'lgan munosabatini ham e'tiborga olish zarur. Kislorodga bo'lgan munosabatiga ko'ra ular quyidagi uch gruppaga bo'linadi:



### **Mikroorganizmlarning kislorodga bo'lgan munosabati:**

*a — aerob; b — fakul tativ anaerob; v — haqiqiy anaerob sharoitda o'sgan for-malari.*

a) aerob bakteriyalar havo o'tib turadigan sharoitda normal rivojlanadi, havosiz sharoitda rivojlanmaydi;

b) anaerob bakteriyalar—havosiz sharoitda normal o'sada va rivojlanadi;

v) fakul tativ anaerob bakteriyalar—kislorodli va kislorodsiz sharoitda ham bemalol o'sadi va rivojlanaveradi.

Agar qattiq oziq muhit solingan silindr yoki probirkaga mikroorganizmlar, ukol vositasida yuqtirilsa, ularning kislorodga bo'lgan munosabati yaqqol ko'rinadi. Jumladan, aerob bakteriyalar oziq muhitining ustki tomonida, anaerob bakteriyalar pastki tomonida, fakul'tativ anaerob bakteriyalar esa har ikkala tomonida rivojlanganligi aniqlanadi.

### ***Nazorat savollari:***

1. Mikroorganizmlar kislorodga bo'lgan munosabatiga ko'ra qanday guruxlarga bo'linadi?

2. Fakul tativ anaerob bakteriyalarga ta'rif bering.

3. Oziq muxitiga mikroorganizmlar yuqtirilsa, ularning kislorodga bo'lgan munosabati qanday ko'rinishlarda namoyon bo'ladi?

### ***14- mashg'ulot. Mikroorganizmlarni tekshirishda ishlatiladigan oziq muhitlarini tayyorlash va sterillash usullari.***

Kerakli jixozlar: go'sht, pepton, maxsus tunuka voronka, shisha voronka, fil'trlanadi qog'oz, qizil lakmus qog'oz, kristalik soda, avtoklav, probirka va kolbalar, jelatin va agar-agar, Kox qaynatkichi, tuxum.

Ishning bajarilish tartibi: Yuqorida aytilganidek, mikrobiologiya praktikasida mikroorganizmlarning morfologiyasini va fiziologik protsesslarini o'rganish hamda ularni bir-biridan ajratib olish uchun quyidagi oziq muhitlari ishlatiladi:

**Peptonli go'sht sho'rvasi (PGSh).** Buni tayyorlash uchun avval 500 g go'sht suyak, chandir va yog'idan tozalanib maydalanadi. Maydalangan go'shtga 1 l suv qo'shib 15° issiqda 2,4 soat tinch qoldiriladi. Shundan so'ng go'sht aralastirilgan suv doka orqali kolbaga

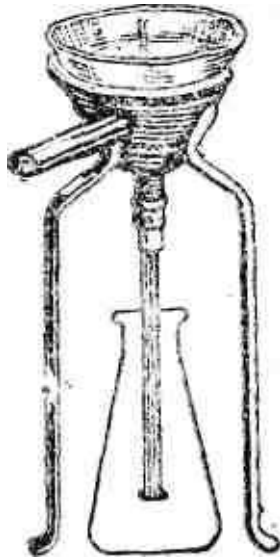
fil'trlanadiladi. Bu fil'trlanadiat 30 minut qaynatiladi, so'ngra issiqligida burmali fil'trlanadidan qayta o'tkaziladi. Qaynatish vaqtida kamaygan suv miqdori to'ldiriladi, ya'ni kolbadagi suvni 1 l ga yetkazysh uchun sho'rvaga toza suz qo'shiladi. Shu tartibda tayyorlangan eritma *go'sht sho'rvasi* (bul'on) deb ataladi.

Bir litr go'sht sho'rvasiga 10 g pepton va 5 g osh tuzi qo'shiladi. Qo'shilgan pepton eriguncha sho'rva isitiladi. Peptonli sho'rvani neytral holga keltirish maqsadida unga kristalik soda qo'shiladi. Sho'rva neytral holga kelganligini aniqlash uchuy undan bir necha tomchi olib, lakmus qog'ozga tomiziladi, qizil lakmus qog'oz endi ko'kara boshlagan bo'lsa, bu hodisa sho'rvaning kuchsiz ishqoriy yoki neytralga yaqinligini ko'rsatadi. Neytrallangan vaqtda eritma loyqalanadi, uni tindirish uchun avtoklavga qo'yib 120° issiqda 30 minut qizdiriladi. Keyin olib fil'trlanadiladi va toza probirkalarga yoki kolbalarga taqsimlanadi. Probirka va kolbalarning og'zi paxtadan yasalgan tiqin bilai berkitiladi. Fil'trlanadiat quyilgan va og'zi berkitilgan kolba yoki probirkalar qaytadan avtoklavga joylanib, 120 C° issiqda 15 yoki 30 minut qizdiriladi. Sovigandan so'ng u oziq muhiti sifatida ishlatiladi.

Bakteriyalarning turini aniqlashda va ularni bir-biridan ajratishda suyuq oziq muhiti (go'sht-peptonli sho'rva) unchalik qulay bo'lmaganligidan, odatda, kam ishlatiladi. Buning o'rniga jelatin yoki agar-agar qo'shilgan qattiq oziq muhitidan foydalaniladi. Qattiq oziq muhiti sathida har qaysi bakteriya o'ziga xos koloniya hosil qiladi. Bu koloniyalar rangi va shakliga qarab bir-biridan farq qiladi.

Qattiq oziq muhiti tayyorlash uchun jelatin yoki agar-agar ishlatiladi. Bulardan tashqari, kremniy (suyuq oyna) dan tayyorlangan gelni oziq moddalar bilan boyitib, bakteriyalarni parvarish qilishda ishlatish mumkin.

G o' s h t - p e p t o n - j e l a t i n (GPJ). Bu oziq muhitini tayyorlash uchun 1 l peptonli go'sht sho'rvasiga 100—120 g maydalangan jelatin qo'shiladi. Sho'rvaga qo'shilgan jelatinni eritish uchun kolba Kox qaynatkichida yoki avtoklavda qizdiriladi. Avtoklavning temperaturasi 100° dan ortib ketmasligi uchun uning jo'mragi ochiq bo'lishi kerak, chunki jelatin yuqori temperaturada o'z xususiyatini yo'qotadi. Go'sht-pepton-jelatin aralashmasi Kox qaynatkichidan yoki avtoklavdan olinib fil'trlanadiladi. Buning uchun burmali fil'trlanadi qo'yilgan shisha voronka tunukadan yasalgan ikki qavatli maxsus voronkaga joylashtiriladi va shu voronka ichiga quyilgan suv isitib turiladi. Bu fil'trlanadidan o'tadigan go'sht-pepton-jelatinning qotib qolishiga yo'l qo'ymaydi. Fil trat probirka yoki kolbalarga taqsimlanadi.



Aralashma fil'trlanadigan  
maxsus tunuka voronka.

Probirka va kolbalarning og'zi paxtadan yasalgan tiqin bilan berkitilib, Kox qaynatkichiga joylanadi. GPJ eritmasidagi mikroorganizmlarni nobud qilish uchun u Kox qaynatkichida  $100^{\circ}$  issiqda 15—30 minut sterillanadi. Oradan 24 soat o'tgach, qaynatkichdagi GPJ qaytadan qizdiriladi. Yana 24 soat vaqt o'tgach,  $100^{\circ}$  issiqda 15 minut saqlanib qaytadan sterillanadi. Shunday qilib, bu oziq muhiti Kox qaynatkichida 3 sutka davomida 3 marta sterillanadi.

GPJ asosan sovuq sharoitda ishlatiladi, chunki temperatura  $24^{\circ}$  gacha isishi bilan jelatin suyulib qoladi. Shuning uchun mikrobiologiya praktikasida ko'pincha agar-agardan tayyorlangan oziq muhitidan foydalaniladi.

G o' s h t-p e p t o n-a g a r-a g a r l i o z i q m u h i t i (GPA). Bu oziq muhitini tayyorlash uchun kolbadagi 1 l peptonli go'sht sho'rvasiga 15—20 g maydalangan agar-agar aralashiriladi. Aralashmadagi agar-agar eritish uchun kolba avtoklavga joylanib,  $120^{\circ}$  temperaturada 20 minut qizdiriladi. Agar-agar erigandan so'ng bir dona tuxum oqi suvda suyultirilib, avtoklav ichidagi eritmaga qo'shiladi. Avtoklavning qopqog'ini mahkam berkitib, kolba ichidagi eritma  $120^{\circ}$  temperaturada yana 15—20 minut qizdiriladi. Eritma ichidagi oqsil va boshqa moddalar tuxum oqi ta'sirida cho'kadi, tiniq eritma esa cho'kma ustiga yig'iladi. Shu tarzda tindirilgan GPA avtoklavdan olinib, issiq voronka orqali fil'trlanadi va probirka yoki kolbalarga taqsimlanadi. GPA quyilgan idishlarning og'zi paxta tiqin bilan berkitilib, yana avtoklavga joylanadi va  $120^{\circ}$  temperaturada 20—30 minut sterillanadi.

Yuqorida aytib o'tilgan oziq muhitlaridan tashqari sut, kartoshka, tuproq va boshqalardan ham foydalaniladi.

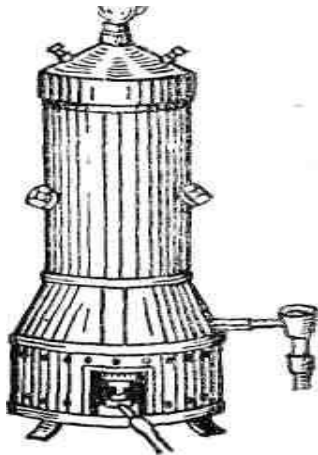
### ***Nazorat savollari:***

1. Suyuq oziq muxiti qulay bo'lmaganda, o'rniga qanday oziq muxitidan foydalanish mumkin?
2. GPJ nima?
3. GPA oziq muxiti qanday tartibda tayyorlanadi?
4. Oziq muxiti sifatida yuqoridagilardan tashqari nimalardan foydalansa bo'ladi?

### ***15- mashg'ulot. Oziq muhiti va idishlarni sterillash, mikroorganizmlarni parvarish qilish va shu maqsadda ishlatiladigan asboblarni.***

**Kox qaynatkichida sterillash.** Buning uchun qaynatkichga 5 sm qalinlikda suv quyiladi. So'ngra oziq muhitlari solib sterillanadigan probirka va kolbalar sim savatga yoki tunuka chelakka joylanib, qaynatkich ichidagi tirgak ustiga qo'yiladida, qaynatkichning qopqog'i yopiladi. Bular 3 kun davomida 3 marta sterillanadi.

Birinchi kuni qaynatkich ichidagi probirka yoki kolbalar 100° issiqda 30 minut qizdirilganda, spora hosil qilmaydigan hamda sporalari issiqqa chidamsiz bakteriyalar nobud bo'ladi. Sterillanayotgan narsalar Kox qaynatkichida kelgusi kungacha qoldiriladi. Ikkinchi kuni qaynatkich qaytadan 100° gacha qizdirilganda sporalari issiqqa chi-damli batsillalar



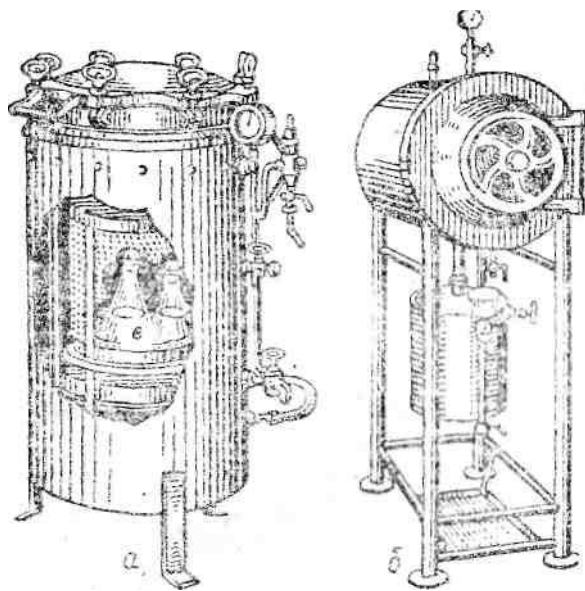
Kox qaynatkichi.

ham nubod bo'ladi. Oziq muhitini butunlay sterillash maqsadida uchinchi kuni yana 30 minut qizdiriladi. Shunda oziq muhiti mikroorganizmlardan butunlay tozalanadi.

**Avtoklavda sterillash.** Avtoklavga avval 5—10 sm qalinlikda suv quyiladi. So'ngra sterillanadigan buyumlar unga joylanib, qopqog'i mahkam berkitiladi. Ichidagi havo chiqib ketguncha uning jo'mragi ochiq holda qoldiriladi. Suv bug'i bir tekis chiqa boshlagandan keyin jo'mragi berkitiladi.

Avtoklavga o'rnatilgan manometr bir atmosferaga ko'tarilganligi kuzatiladi. Ana shu vaqtda avtoklav ichidagi va probirka ichidagi oziq muhitidagi mikroorganizmlarning hammasi nobud bo'ladi. Sterillash 20 minut davom etadi. Shundan so'ng manometr strelkasi nol darajaga kelguncha avtoklav sovitiladi, so'ngra bug' chiqib bo'lguncha jo'mragi ochiq qoldiriladi. Bug' chiqishi to'xtagandan keyin qopqog'i ochilib, undan sterillangan oziq muhiti olinadi.

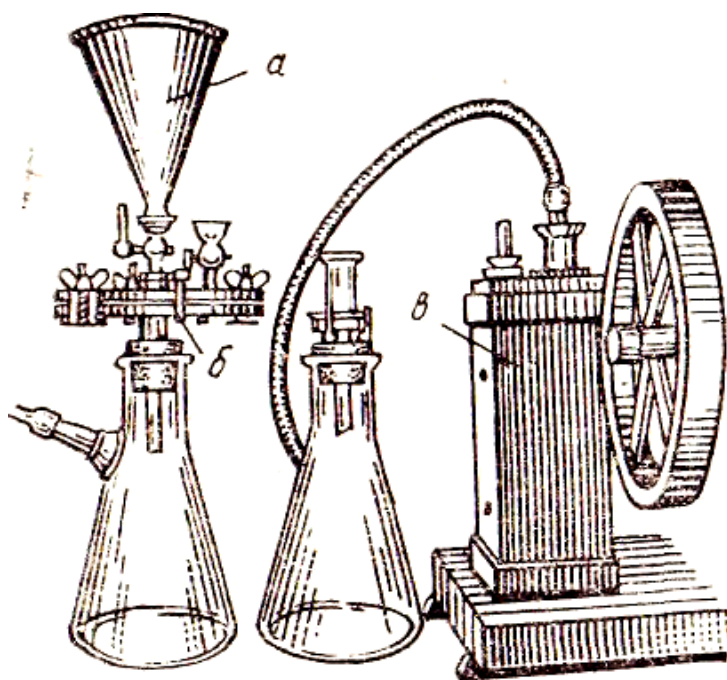
Sut va issiqlik ta'sirida buziladigan boshqa suyuqliklar ichidagi sporasiz bakteriyalarni nobud qilish maqsadida pas-terlash usuli qo'llaniladi. Bu usulda suyuqliklar 60—70° issiqda 15—30 minut yoki 70—80° issiqda 5—10 minut qizdiriladi.



Avtoklavning turlari:

*a*-vertikal, *b*-gorizontal shakldagi  
avtoklav, v-  
sterillanadigan suyuqliklarni joylash.

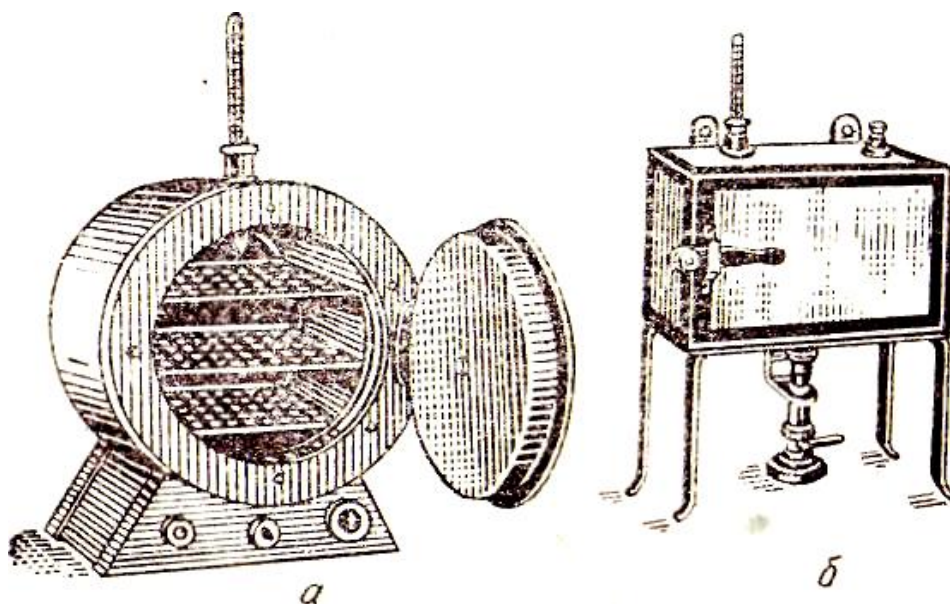
Yuqoridagi usullardan tashqari, sovuq sterillash usuli ham qo'llaniladi. Bu holda Paster-Shamberlen ishlab chiqargan sopol idishlardan foydalaniladi. Buning uchun sterillanadigan eritma mayda teshikchalari bo'lgan sopol fil'trdan o'tkaziladi. Biroq bakteriofaglar



Zeyts fil tri:

*a — fil trlanadigan suyuqlikni quyish uchun voronka;*  
*b — fil tr; v —havo so'rib olinadigan Komovski nasosi.*

va ul'tramikroblar sopol fil'tr orqali o'tib ketadi. Shuning uchun bunday fil'tratda mikroblar bo'lmaydi deyish noto'g'ri. Keyingi yillarda asbestdan yasalgan Zeyts fil'tridan ham foydalanilmoqda.



Quritkich shkaflar: *a- zamonaviy shkaf; b — Paster pechkasi.*

Sterillangan oziq muhitlarini sterillangan idishlarga solish kerak. Shu sababli idishlar ham quruq issiqda barvaqt sterillab qo'yilishi kerak. Buning uchun Paster pechkasi yoki quritkich shkaflar ishlatiladi. Petri va Kox idishlari, probirkalar va ishlatiladigan boshqa buyumlar qog'ozga o'ralib, quritish shkafiga joylanadi va temperatura 150—160° ga yetguncha 2 soat davomida qizdiriladi.

Tajribada foydalaniladigan mikroorganizmlarni parvarish qilish uchun turli sxemada ishlangan termostatlar qo'llaniladi. Termo-statda mikroorganizm uchun zarur bo'lgan temperatura muayyan nuqtada saqlab turiladi.

### *Nazorat savollari:*

1. Kox qaynatkichida sterillash tartibi qanday?
2. Avtoklavda sterillash tartibi qanday?
3. Sovuq sterillash usuli mavjudmi?

### **Ba'zi reaktielarni tayyorlash usullari**

**1. Absolyut spirt tayyorlash.** Bunday spirt tayyorlash uchun 95% li etil spirtning 1 litriga oq poroshok holiga kelguncha qizdirilgan 150 g mis kuporosi ( $\text{CuSO}_4$ ) qo'shiladi. Bir qancha vaqt o'tgandan so'ng, bu aralashma boshqa idishga quyiladi va unga 10—20 g ga yaqin qizdirilgan mis sul fat tuzi solinadi.

**2. Millon reaktivi** metall holidagi simobni kuchli nitrat kislotada eritish yo'li bilan tayyorlanadi. Bu reaktivlar 1:1 nisbatda olinadi. Simob erib bo'lgandan keyin aralashmaga hajm jihatidan teng miqdorda suv qo'shiladi, so'ngra aralashma qora shisha idishga quyilib, og'zi mahkam berkitiladi. Simob zaharli bo'lganligidan bu reaktivni ochiq joyda tayyorlash kerak.

**3. Parometr qo'ng'iroqchasini bargga yopishtirish uchun mastika (elim) tayyorlash.** Uch ikki xil tayyorlanadi:

a) chinni kosada 2 qism kanifolga 3 qism vazelin qo'shib aralashtirib, suv hammomida eritiladi. Hosil bo'lgan eritma spirt lampa alangasida qaynatiladi. So'igra unga 2 qism maydalangan rezina qo'shib, obdon erib bo'lguncha yana qaynatiladi;

b) 5 g kanakunjut moyiga 7 g kanifol qo'shib, to kanifol erib bo'lguncha aralashma spirt lampa alangasida qaynatiladi.

Tayyor mastika quyuuq bo'lishi kerak. Yuqorida ko'rsatilgan ishlar ochiq joyda bajarilishi shart.

### **4. Sokslet usulida Feling suyutsligi tayyorlash:**

*Birinchi eritma:* 34,64 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  tuzi 500 ml hajmli kolbaga solinadi va 250 ml sup qo'shib eritiladi. So'ngra kolbaning chizirigacha suv quyiladi.

*Ikkinchi eritma:* 173 g segpet ( $\text{KNaC}_4\text{H}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) tuzi va 51,6 g NaOH 500 ml hajmli kolbaga solinib, 250 ml suvda eritiladi. Bu moddalar erib bo'lgandan so'ng kolbaning chizig'igacha suv qo'shiladi.

Bu eritmalarning har qaysisi alohida saqlanadi. Analiz vaqtida ular bir xil hajmda qo'shib ishlatiladi.

**5. Qo'rg'oshin-mis-natriy nitrat  $[\text{Na}_2\text{CuPb}(\text{NO}_2)_6]$  ning kompleks tuzi eritmasini tayyorlash.** Buning uchun natriy nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) dan 2 g, mis atsetat  $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$  dan 0,9 g va qo'rg'oshin atsetat  $[\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2]$  tuzi kristalidan 1,6 g olib, 0,2 ml 30% li atsetat kislota qo'shilgan 15 ml distillangan suvda eritiladi. Bu eritma beqaror bo'lganligi uchun uni yangilab turish kerak.

**6. Yod=kaliy yodid (Lyugol) eritmasini tayyorlash:** 2g kristalik kaliy yodid (KJ) 5 ml suvda eritilib, unga 1 g yod kristali qo'shib, chinni xovonchada eziladi. So'ng shu aralashmaga 295 ml suv qo'shiladi;

b) mikroorganizmlar hujayrasida glikogen va granulyoza birikmalari borligini aniqlashda kontsentrlangan Lyugol eritmasi ishlatiladi. Buning uchun 20 g kaliy yodidga 7 g yod qo'shib, 300 ml suvda eritiladi. Eritma qora shisha idishda saqlanadi. Bunday idish bo'lmasa, idish ustidan kora qog'oz o'rab qo'yish zarur.

**7. Barit suvi tayyorlash.** Buning uchun 7—10 g chamasi bariy ishqori —  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  100 ml suvga solinib, kuchsiz alangada eritiladi, so'ngra aralashma 900 ml suv solingan idishga quyiladi va og'zi darhol berkitiladi. Bu idishdagi eritma 10—15 minut chayqatiladi. Eritma tinigandan so'ng, tiniq bari suvi sifon yordamida boshqa toza idishga quyib olinadi.

**8. Oksalat kislota eritmasini tayyorlash.** 2,8636 g kristalik oksalat kislota 1 l hajmli kolbada eritiladi. Bu eritma karbonat angidrid ( $\text{CO}_2$ ) miqdorini aniqlashda ishlatiladi. 1 ml oksalat kislota 1 mg  $\text{CO}_2$  ga teng bo'ladi.

**9. Fol reaktivi tayyorlash.** Bunday reaktiv tayyorlash uchun 5—10% li qo'rg'oshin atsetat  $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}]$  eritmasiga o'yuvchi natriy (NaOH) ning 10% li eritmasi reaksiya vaqtida hosil bo'ladigan cho'kma eriguncha qo'shiladi.

**10. Rux-yod-kraxmal eritmasini tayyorlash.** Bunday reaktiv tayyorlash uchun 2 g kraxmalni 5—10 ml suvga aralashtirib, unga qaynab turgan 20% li rux yodid ( $\text{ZnI}_2$ ) eritmasidan 50 ml qo'shiladi va spirt lampa alangasida qaynatiladi. So'ngra bu eritmaga yana 1 g rux yodid qo'shib, 500 ml ga yetguncha suv quyiladi. Tayyor eritma qora shisha idishda saqlanadi.

## Preparatlarni fiksatsiyalash usullari

Preparatlar: 1) undagi mikroorganizmlarni nobud qilish; 2) mikroblarni buyum oynasiga mustahkam yopishtirish (suv bilan yuvganda buyum oynasidagi mazok yuvilib ketmasligini ta'minlash); 3) nobud bo'lgan bakteriyalar (oqsil birikmalar) tezroq bo'yalishini ta'minlash maqsadida fiksatsiyalanadi.

Odatda, mikroblar buyum oynasiga yopishib qolishi uchun preparat spirt lampa alangasi ustidan bir necha marta o'tkaziladi. Biroq bunday fiksatsiyalashda ularning morfologik tuzilishi o'zgarib ketishi sababli preparatlar quyidagi ximiyaviy birikmalar bilan fiksatsiyalanadi.

1. **Etil spirt.** Odatda, etil spirtning 95% li eritmasi, ayrim vaqtlarda absolyut spirt ham ishlatiladi. Fiksatsiyalash vaqtida bu spirt buyum oynasida tayyorlangan mazok ustiga tomiziladi. Oradan bir necha minut o'tgach, preparat suv bilan yuviladi va bo'yaladi.

2. **50 ml spirtga 50 ml efir qo'shilgan aralashma.** Buyum oynasidagi mazok ustiga bu aralashmadan bir necha tomchi tomiziladi va bug'lanib ketguncha qoldiriladi (Nikiforov bo'yicha).

3. **Atseton.** Mazokli buyum oynasi atseton eritmasiga botiriladi. Ora-dan 5 minut o'tgach, mazok quriydi. Qeyin bo'yab ko'riladi.

4. **Formalin.** Mazokli buyum oynasini ho'llab Petri idishiniig qopqog'iga yopishtiriladi va idishga 10—15 ml chamasi formalin eritmasi quyiladi. So'ngra qopqog'i yopilib, unga yopishtirilgan buyum oynasidagi mazok birmuncha vaqt formalin bilan bug'lantiriladi. Formalin bug'i ta'sirida mikroblar nobud bo'lib, buyum oynasiga yopishib qoladi.

5. **Fiksatsiyalovchi moddalar aralashmasi.** Bu tipdagi fiksatorlarni tayyorlashda har xil ximiyaviy birikmalardan foydalaniladi. TSitologik tekshirishlarda mikroblarning ichki tuzilishini aniqlash uchun tayyorlangan mazoklar 7 ml 3% li kaliy bixromat, 7 ml 1 % li xromat kislota eritmasi va 4 ml osmiy kislota eritmasidan iborat aralashmada 1—2 minut fiksatsiyalanadi.

### Mikrobiologiya praktikasida ishlatiladigan bo'yoqlar

Fiksatsiyalangan preparatni suv bilan yaxshilab yuvib, ustiga mo'l qilib bo'yoq tomiziladi. Mikrobiologiyada ishlatiladigan bo'yoqlarning turi juda ko'p bo'lib, har qaysi bo'yoq o'ziga xos ta'sir ko'rsatadi.

1. **Metilen ko'ki.** 100 ml 96% li etil spirtga 3 g metilen ko'ki eritiladi. Hosil bo'lgan eritma bir necha kun saqlanadi va shu vaqt ichida bir necha marta chayqatiladi. So'ngra eritma fil'trlanadi. Bu bo'yoqni ishlatishdan oldin unga 5—10 baravar distillangan suv qo'shiladi, bu bo'yoq bilan preparat 2—3 minut davomida bo'yaladi.

2. **Fuksin (asosiy).** Qizil rangli fuksin bo'yog'i juda barqaror bo'ladi. Uni tayyorlash uchun 100 ml 96% li spirtga 10 g asosiy fuksin .kristallarimi

qo'shib, to'yingan eritma hosil qilinadi. Shu eritmadan 10 ml olib, unga 100 ml suv qo'shiladi. Bu bo'yoq bilan preparat 1—3 minut davomida bo'yaladi.

**3. TSil -karbol fuksini.** Avval kontsentrlangan fuksin eritmasi tayyorlanadi. Buning uchun 1 g fuksin 10 ml 96% li spirtda eritiladi. Shu eritmaga 100 ml 5% li karbol (fenol) kislota eritmasi qo'shiladi. Oradan 24 soat o'tgach, aralashma fil'trlanadi. Bu bo'yoq bilan preparat 2—3 minut davomida bo'yaladi.

**4. Metilen-violet yoki pioktanin bo'yog'i.** Bu bo'yoq ham metilen ko'ki va fuksin bo'yoqlari singari tayyorlanadi. Metilen-violet bo'yog'i yod eritmasi bilan birgalikda ishlatilganda bakteriyalar juda yaxshi bo'yaladi. Bu bo'yoq bakteriyalarni Gramm usulida bo'yashda ishlatiladi.

**5. Eritrozin.** Avval 5 g karbol kislota (fenol) 100 ml distillangan suvda eritilib, so'ngra unga 1—5 g eritrozin bo'yog'i qo'shiladi. Eritrozinning karbol kislota dagi eritmasi tuproq zarrachalarini bo'yamasdan, uning ichidagi bakteriyalarnigina bo'yaydi. Bu bo'yoq tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlashda ishlatiladi.

**6. Yod eritmasi.** Bu eritmani tayyorlash uchun 1 g kristalik yodni 2 g kaliy yodid tuziga qo'shib, 300 ml distillangan suvda eritiladi. Bu eritma Lyugol eritmasi ham deyiladi.

**7. Gentsial-violet bo'yog'i.** Bu bo'yoq 100 ml suvga 11 ml gentsian-violet bo'yog'ining to'yingan eritmasi va 10 tomchi anilin aralastirib tayyorlanib, bakteriyalarni Gramm usulida bo'yashda ishlatiladi.

## Foydalanilgan adabiyotlar:

1. Mishustin E. N., Emsev V.G. «Mikrobiologiya» . M. Kolos 1987
2. Gusev M. B., Mineeva L. A. «Mikrobiologiya». M. Izd-vo MGU, 1985.
3. Prozorkina N.B., Rubashkina L. A. “Osnovo’ mikrobiologii, virusologii i immunologii”. Rostov na Donu. Feneks. 2002.
4. Rukovodstvo k prakticheskimii zanyatiyam po mikrobiologii. Pod red. Egorova N. S. M: Izd-voMGU, 1983,
5. Ya.F.Nizametdinova M.L. Mansurova, I. A. Muzaffarova, E. N. Kondrart’eva, A. H. Vahobov, “Mikrobiologiyadan amaliy mashg’ulotlar”. Metodik qo’llanma. Toshkent ToshDU 1992y.
6. Vahobov A. H. “O’simlik viruslarini aniqlashda immunologiya usullarini qo’llash” (uslubiy ko’rsatma), Toshkent, ToshDU 1991.
7. A. H. Vahobov, “Mikrobiologiya va virusologiya” (Ma’ruzalar matni) 2001.
8. Gusev M. B., Mineeva “Mikrobiologiya” M. 2003.
9. G. D. Mustaqimov. “O’simliklar fiziologiyasi va mikrobiologiya asoslaridan amaliy mashg’ulotlar”. Toshkent O’qituvchi 1990.
10. B.G.Gariev. «Mikrobiologiya» Toshkent. Mehnat. 1990

## MUNDARIJA

1- <i>mashg'ulot</i>	Biologik mikroskopning tuzilishi.....
2- <i>mashg'ulot</i>	Bakteriyalarning harakatlanishi.....
3- <i>mashg'ulot.</i>	Harakatchan mikroorganizmlarni kuzatish.....
4- <i>mashg'ulot</i>	Bakteriyalarning morfologik tuzilishi.....
5- <i>mashg'ulot.</i>	Mikroorganizmlarni fiksatsiyalangan va bo'yalgan holda tekshirish.....
6- <i>mashg'ulot.</i>	Mikroorganizmlarning o'lchamini aniqlash.....
7- <i>mashg'ulot.</i>	Pichan batsillasining elektiv kul turasini tayyorlash.....
8- <i>mashg'ulot.</i>	Pichan batsillasining rivojlanish siklini tekshirish.....
9- <i>mashg'ulot.</i>	Mikroorganizmlarning tabiatda tarqalishi.....
9.1- <i>mashg'ulot.</i>	Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlar sonini aniqlash (O. G. Shulgina tomonidan o'zgartirilgan S. N. Vinogradskiy usuli).....
10- <i>mashg'ulot.</i>	Havo tarkibidagi mikroorganizmlarni aniqlash va ularni bir-biridan ajratib olish.....
11- <i>mashg'ulot.</i>	Suvdagi mikroblar sonini aniqlash.....
12 - <i>mashg'ulot.</i>	Bakteriyalarni Gramm usulida bo'yash.....
13- <i>mashg'ulot.</i>	Mikroorganizmlarning kislorodga bo'lgan munosabatini aniqlash.....
14- <i>mashg'ulot.</i>	Mikroorganizmlarni tekshirishda ishlatiladigan oziq muhitlarini tayyorlash va sterillash usullari.....
15- <i>mashg'ulot.</i>	Oziq muhiti va idishlarni sterillash, mikroorganizmlarni parvarish qilish va shu maqsadda ishlatiladigan asboblari.....

