

**Умумий микробиология
Фанидан лаборатория ишларини бажариш буйича
ТАРКАТМА МАТЕРИАЛЛАР**

БИОЛОГИЯ ВА УНИ ЎҚИТИШ УСЛУБИЯТИ КАФЕДРАСИ

Тузувчи:

Б.ф.н., кат.укит.Д.Имомова

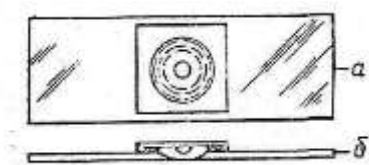
ЖИЗЗАХ – 2009 й.

1-машғулот. Ҳаракатчан микроорганизмларни кузатиш

Асбоб ва реактивлар: микроскоп, ўртаси чуқур буюм ойнаси, қоплағич ойна, бактериал илмоқ, спирт лампа, вазелин, ифлос сув.

Бактерияларни тирик ҳолда кўриш учун тўхтаб қолган ифлос сув ишлатилади. Бу сувни тайёрлаш учун 20—25 г куруқ пичан майдаланади ва 200 мл сув солинган идишга ботирилиб, 30° ли термостатда 2—3 кун сақланади. Микроорганизмлар нейтрал шароитда яхши ривожланишини назарда тутиб, идишга озгина оқ бўр солинади. Ҳосил килинган ифлос сувдан осма ҳамда эзилган томчили препаратлар тайёрланади.

Осма томчили препарат тайёрлаш учун ўртаси чуқур буюм ойнасининг чуқурчаси атрофига вазелин суркаб қўйилади. Тозаланган қоплағич ойна ўнг



**1-расм. Осма томчи
препарати тайёрлаш
учун ишлатилади-ган
ўртаси чуқур буюм**

қўлга олиниб стерилланади, яъни сиртидаги микробларни йўқотиш учун спирт лампа алангаси устидан 2—3 марта ўтказилади. Сўнгра чап қўлга бактериал илмоқ олиниб, чўғ бўлгунча спирт лампаси устига тутилади. Стерилланган илмоқ ёрдамида текшириладиган объектдан — сасиган сувдан бир томчи олиб қоплағич ойна устига томизилади. Сўнгра у тескарисига айлантирилиб, буюм ойнасидаги атрофига вазелин суркалган чуқурча устига қопланади (1-

расм).

Эзилган томчили препарат тайёрлаш учун текис буюм ойнаси артиб тозалангандан кейин стерилланади ва устига текшириладиган суюқлик томчиси томизилади. Сўнгра усти қоплағич ойна билан ёпилади. Натижада суюқлик эзилган ҳолатга айланади. Тайёрланган препаратлар микроскопнинг 8х ва 40х ли объективлари орқали текширилиб, уларнинг ичида ҳаракатсиз ва ҳаракатланаётган тирик микроорганизмлар борлиги аниқланади.

Эслатма: *a* — қоплағич ойна ўрнига эмульсиядан тозаланган фотоплёнка бўлаклари ишлатилса, у бир марта фойдаланиб, сўнгра ташлаб юборилади; *b* — ўртаси чуқур ойна ўрнига оддий буюм ойнасм ишлатилганда унинг устига ўртаси доира шаклида ўйиб олинган ва памланган фильтр қоғоз ёпиштириб қўйилади. Унинг устига текшириладиган томчи томизилгач, қоплағич ойна ёпилади.

2- машғулот. Микроорганизмларни фиксацияланган ва бўялган холда текшириш

Асбоб ва реактивлар; микроскоп, буюм ойнаси, бактериал илмоқ, спирт лампа, тўхтаб қолган сув ёки тиш кири, фильтр қоғоз, Лёффлер синькаси ёки фуксин бўёғи.

Бу машғулотда тўхтаб қолган ифлос сувдан ёки тиш киридан бактерияли препарат тайёрлаш учун оддий буюм ойнаси ишлатилади. У яхшилаб артилиб стерилланади. Бунинг учун ойна спирт лампа алангаси устидан 2—3 марта ўтказилади. Сўнгра текшириладиган суюқликдан стерилланган бактериал илмоқда бир томчи олиб, буюм ойнасига суркалади, яъни мазок тайёрланади. Мазок очик ҳавода қуритилади, сўнгра бактерияларни ойна устида фиксациялаш мақсадида, ойна спирт лампа алангаси устидан 2—3 марта ўтказилади. Тайёрланган препарат устига 2—3 томчи Лёффлер синькаси ёки фуксин бўёғи томизилади. Орадан 1—2 минут ўтгач, бўёк ювилади. Препарат устидаги сув томчилари фильтр қоғозга шимдириб олинади. Сўнгра мазок устига бир томчи кедр ёки касторка мойи томизиб, у аввал қуруқ (мойга ботирилмаган, 8х ли), кейин иммерсион объектив орқали кўрилади. Препаратда шарсимон, таёқчасимон, спиралсимон ва бошқа шаклдаги микроблар борлиги аниқланади.

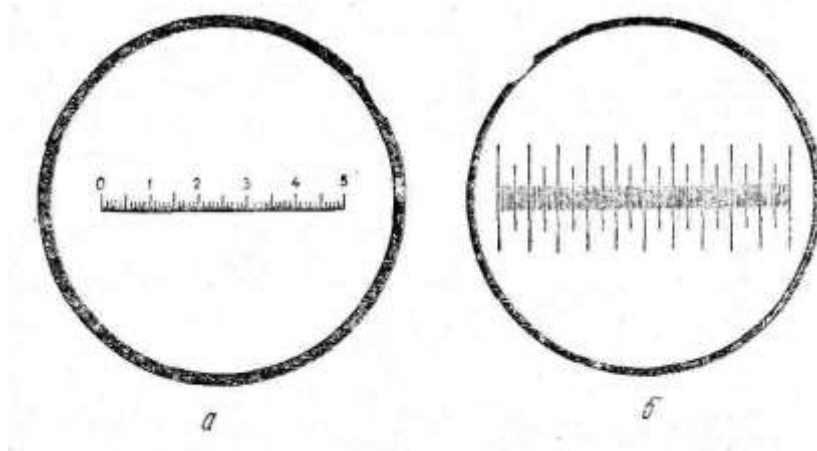
3- машғулот. Микроорганизмларнинг ўлчамини аниқлаш

Асбоблар: микроскоп, объектив микрометр, окуляр микрометр.

Бу машғулотда окуляр ва объектив микрометрлардан фойдаланилади, Окуляр микрометр шишадан тайёрланган доирадан иборат. Доиранинг диаметри микроскоп окулярининг диаметридан бир оз кичикроқ бўлади. Окуляр микрометр доирасининг марказида 5 мм узунликдаги 50 та чизик бор. Чизикларнинг ораси 0,1 мм га тенг келади (60-расм).

Машғулотни бошлашдан олдин окуляр микрометр микроскоп окулярпипиг ичига жойланади. Микроскопда қараган вақтда окуляр микрометрнинг чизиклари аниқ кўринади, лекин чизиклар ўртасидаги ораликлар юқорида кўрсатилган даражага тенг бўлмайди. Окуляр микрометр чизиклари ўртасидаги ораликни аниқ белгилаш мақсадида объектив микрометрдан фойдаланишга тўғри келади. Объектив микрометр буюм ойнасига ишланган, яъни ойнанинг марказига узунлиги 1 мм келадиган масофада 100 та чизик чизилган. Бу чизиклар ораси 0,01 мм, яъни 10 мкм га тенг бўлади.

Объектив микрометр ёрдамида окуляр микрометр чизиклари ўртасидаги ораликлар неча микрометрга тенглиги аниқланади. Бунинг учун объектив микрометр микроскоп столчасига жойланиб, сўнгра окуляр микрометр чизиклари объектив микрометр чизиклари билан таққослаб кўрилади (61-расм). Агар объектив ва окуляр микрометр чизиклари бир-бирига тўғри келса, окуляр микрометр чизиклари ўртасидаги ораликлар 10 мкм га тенглигини кўрсатади. Борди-ю, окуляр чизик оралигининг бештаси объектпвдаги 2 та чизик оралиғига тўғри келса (расмга қаранг), у ҳолда окулярдаги чизиклар оралиғи 4 мкм га тенг бўлиб қолади. Окуляр микрометрдаги 5 та чизик ораси объектив микрометрдаги чизикларнинг 10 бўлагига тўғри келса, у ҳолда окуляр микрометр чизикларининг оралиғи 2 мкм га тенг бўлади.



3-расм.

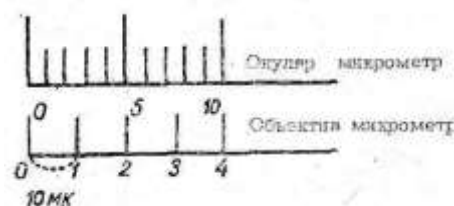
а — окуляр; б — объектив микрометр.

Объект ёки буюмни текшириш вақтида ишлатилаётган окуляр ёки сбе́ктив ўзгартирилса, окуляр микрометрда кўринган чизиқлар оралиқларининг қиймати ҳам ўзгаришини ҳисобга олиш керак. Масалан, 8х ли объективда кўринган чизиқлар оралиқлари 40х ли объектив ишлатилганда бошқа сонга тенглашиб қолади. Демак, бу сонни аниқлаш учун микроскоп столчасига объектив микрометрни қўйиб, окулярда кўринган чизиқлар оралиқларининг қийматини қайтадан аниқлаб олиш керак. Ана шунда микроскопда кўринган ҳар қандай объектнинг ўлчамини бемалол аниқлаш мумкин бўлади.

Спора ҳосил бўлиши. Таёқчасимон бактерияларнинг баъзи турлари ривожлакиш босқичининг маълум даврида спора ҳосил қилади. Бунда микроорганизмларнинг вегетатив ҳужайраси ичидаги цитоплазманинг ҳаммаси ёки бир қисми қуюқлашиб, шар ёки эллипс шаклга киради, яъни *спора* ҳосил бўлади.

Ҳужайра пўсти спора ҳосил бўлишида иштирок этмаса ҳам, ундаги ҳаракатланиш органлари — *хивчинлар* қисқа вақт ичида ўз вазифасини бажараверади. Битта она ҳужайрада биттагина спора ҳосил бўганлиги сабабли бу ҳодисани бактерияларнинг кўпайиш процесси деб тушуниш хатодир. Споралар микроорганизмларнинг ноқулай шароитдан сақланиши учун хизмат қилади.

Спора, одатда, вегетатив ҳужайрадан майдароқ бўлади. Спора ҳосил бўлгандан кейин она ҳужайра ўз шаклини ўзгартирмайди (62-расм, а). Баъзи бациллалар спорасининг диаметри вегетатив ҳужайранинг кўндаланг кесимидан каттароқ бўлиб, у ҳужайра марказига жойлашса, бу ҳолда ҳужайра дуксимон шаклга киради. Бациллаларнинг баъзи турларида споралар вегетатив ҳужайранинг бир учида ҳосил бўлади. Натижада бацилланинг шакли барабан таёқчасига ўхшаб қолади (62-расм, б).

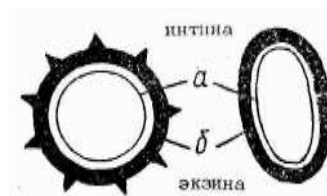


4-расм. Окуляр микрометр чизиқлари орасидаги масофанинг қийматини аниқлаш.



5-расм. Вегетатив ҳужайраларнинг спора ҳосил бўлган вақдаги шакли:

а — ўз шаклини йўқотмаган вегетатив ҳужайралар; б — барабан таёқчасига



6-расм. Спора кўндаланг кесимининг кўриниши:

Спора ҳосил бўлгандан сўнг она ҳужайранинг пўсти эриб кетади. Спора икки қаватли бўлади. Унинг ташқи қавати *экзина* деб аталади, у ўзидан сув ўтказмайди ва спорани ташқи муҳит таъсиридан сақлайди. Ички қавати *интина* деб аталади ва споранинг униб чиқишига ёрдам беради (63-расм).

Кўпчилик бактерияларнинг спораси 120—140° иссиқда ҳам ҳаёт фаолиятини йўқотмайди. Айрим бактерияларнинг спораси — 253° совуқда ҳам нобуд бўлмайди.

Муҳитда озик моддалар етарли бўлиб, оптимал температура ҳосил қилинса, спорадан ёш ҳужайра ўса бошлайди. Ёш вегетатив ҳужайра споранинг бир учидан ўсиб чиқса, бундай ўсиш *поляри ўсиш*, ўрта қисмидан ўсиб чиққанда эса *экваториал ўсиш* дейилади. Спорадан ўсиб чиққан ҳужайра интина пўстига ўралган бўлади.

Спора ҳосил қилиш процесси доимий хусусият бўлиб ҳисобланса ҳам, баъзи вақтларда бактериялар бу хусусиятини йўқотади. Бундай бактериялар *аспороген ирқ* дейилади. Бу ҳодиса доимий ёки вақтинча бўлиши мумкин. Бактерияларнинг аспороген ирққа айланишида заҳарли моддалар ва бошқа баъзи факторларнинг таъсири жуда катта роль ўйнайди. Кокк ва спиралсимон бактериялар спора ҳосил қилмайди.

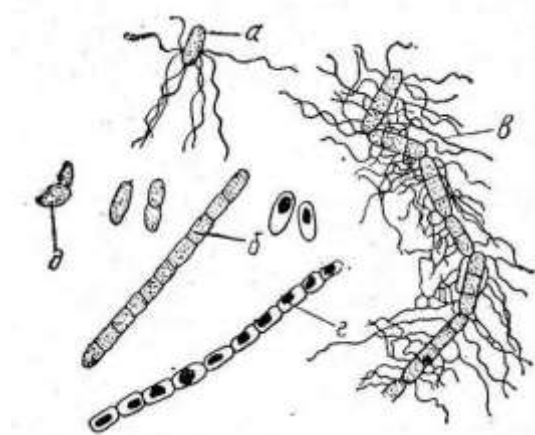
Бактерияларнинг кўпайиши. Бактериялар оддий бўлиниш йўли билан кўпаяди. Она ҳужайра ўртасида ҳалқасимон парда пайдо бўлади. Бу парда вегетатив ҳужайрани ўртасидан бўлиши натижасида иккита янги ҳужайра ҳосил бўлади. Шарсимон бактерияларнинг бўлиниш типини систематика учун жуда катта аҳамиятга эга. Улар бир сатҳда бўлинса *кокк*, *диплококк*, *стрептококк* ёки *стафилококклар*, бир-бирига перпендикуляр сатҳда бўлинса, *тетракокклар*, уч томондан перпендикуляр сатҳда бўлинганди *сарцина* ҳосил бўлади (64-расм). Цилиндрсимон бактериялар фақат кўндалангига, спиралсимонлари эса узунасига бўлинади.

Бактерияларнинг кўпайиш тезлиги шароитга боғлиқ. Озик моддалар етарли ва температура қулай бўлса, ҳужайра ҳар 20—40 минутда бўлиниб кўпаяверади. Агар бактериялар шу тезликда кўпаяверса, 5 сутка мобайнида денгиз ва океанларни тўлдириб юбориши мумкин. Лекин шароит ўзгариб туриши ва бошқа факторлар уларнинг бундай тезлик билан кўпайишига тўсқинлик қилади.

Бактериялар жинсий йўл билан ҳам кўпаяди. Бунда икки ҳужайра бир-бирига яқинлашиб қўшилади. Ҳужайралар ичида гонидиялар ҳосил бўлади. Гонидиялардан янги ҳужайралар ўсиб чиқади.

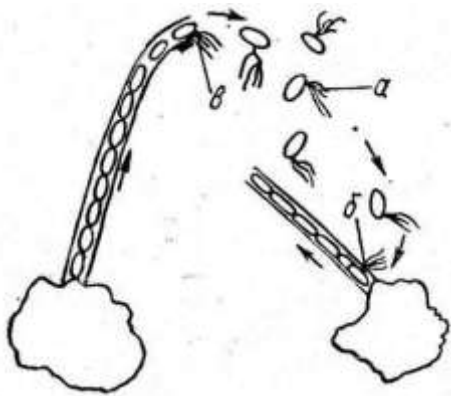
Бактерияларнинг ривожлаиш цикли. Бактерияларнинг ривожлаиш цикли бир неча фазага бўлинади.

Пичан бацилласи (*Bacillus subtilis*) нинг ривожланиш цикли. Бу бацилланинг ёш хужайраси перитрих типда хивчинланганлиги сабабли юмалаб ҳаракатланади. Ривожланиш циклининг дастлабки даврларида хужайра хивчинларини йўқотиб, ҳаракатдан тўхтайтиди ва тезлик билан бўлина бошлайди. Хужайралар бундай кўпайиш натижасида бир-бирига уланиб,



65-расм. Пичан бацилласи (*Bacillus subtilis*) нинг ривожланиш цикли (схема).

а — ҳаракатчан хужайра; б — хивчинни ташлаб бўлиниши; в — қўтадан хивчин ҳосил қилиши;



66-расм. Ипсимон бактериялар (*Cladotrix dicbotoma*) нинг ривожланиш цикли (схема):

а — ҳаракатчан бактериялар; б — сув остидаги нарсага

занжир ҳосил қилади ва уларда хивчинлар пайдо бўлади. Бу хужайралар хивчинлар ёрдамида бир оз вақт ҳаракатлангандан сўнг яна айрим хужайраларга бўлиниб

ҳаракатланаверади. Бу процесс кўп марта такрорлангандан сўнг хужайра ичида спора ҳосил бўлади. Спора ҳосил қилган вегетатив хужайра бир жойда тўхтаб қолади. Унинг пўсти эрийди ва спора ташқарига чиқиб қолади. Қулай шароитга дуч келиши билан споранинг пўсти ёрилади ва ундаи ҳаракатчан пичан бацилласи ўсиб чиқади (65-расм).

Спорадан ўсиб чиққан вегетатив хужайра ҳам юқорида айтилган босқичларни ўтиб, спора ҳосил қилади ва шу билан ривожланиш циклини тугаллапди.

Ипсимон бактериялар сув остидаги нарсаларга ёпишиб олиб ҳаёт кечиради. Улар шилимшиқ қин ичига жойлашиб яшайди ва вояга етганда ҳар қайси хужайранинг бир учига *хивчинлар тўплами* пайдо бўлади. Хивчинли бактериялар — хужайралар бир қанча вақт ўтганда кейин сув остидаги қарса ларга ёпишиб олади ва хивчинини йўқотади. Хивчинини йўқотган хужайра тезлик билан кўпайиб, шилимшиқ қинга ўралади, бу

хужайралар вояга етгунча шу қин ичида бўлади (66-расм).

4- машғулот. Пичан бацилласининг электив культурасини тайёрлаш

Асбоб ва реактивлар: куруқ пичан, тарози, битта катта ва бир **нечта** кичик колба, электр плитка, оқ бўр, термостат.

Бир неча хил микроорганизмлар аралашмасда бир турминг ривожланишини таъминлаш усули *электив культура тайёрлаш* деб аталади. Электив культура тайёрлашдан олдин текшириладиган организмнинг яшаш ва ривожланиш шароитини билиб олиш керак. Пичан бацилласи яхши ривожланиши учун аэроб (кислородли) шароит бўлиши зарур. Бундан ташқари, бу бацилла гетеротроф бўлганлиги сабабли у ривожланиши учун етарли микдорда органик озиқ ҳам бўлиши керак. Бундай шароитда кўпчилик микроорганизмларнинг яшаш ва ривожланиши анча қулай бўлади. Улар орасидан пичан бацилласини ажратиб олиш учун спорасининг иссиққа чидамлилигидан фойдаланилади. Пичан бацилласининг споралари 2 соат қайнатилганда ҳам ўз ҳаёт фаолиятини сақлаб қолади. Лекин спора ҳосил қилувчи бактерияларнинг кўпчилиги ва спора ҳосил қилмайдиган бактерияларнинг ҳаммаси эритма қайнатилганда нобуд бўлади.

Пичан бацилласининг электив культураси қуйидагича тайёрланади: 10—15 г майдаланган куруқ пичан ҳажми 200—300 мл бўлган сувли колбага солиниб, 30 минут қайнатилади. Бу аралашмани нейтраллаш учун унга 1—2 г майдаланган оқ бўр қўшилади. Аралашма қайнатилганда пичан таркибидаги органик моддалар эритмага ўтади ва спорадан ўсиб чиққан бацилла учун озиқ бўлади. Кейин қайнатилган суюқликдан 3 та тоза колбага 1—2 см³ қалинликда қуйиб олинади. Колбаларнинг оғзи пахтадан қилинган тикин билан беркктилади ва 30° иссиқ термостатда 1—4 кун сақланади. Сўнггра текширилади.

5- машғулот. Пичан бацилласининг ривожланиш циклини текшириш

Асбоб ва реактивлар: микроскоп, кедр мойи, буюм ойнаси, қоплагич ойна, бактериал илмок, Циль-карбол фуксини ва синька бўёқлари, фильтр қоғоз, пичан бацилласининг 1, 2, 3 ва 4 кунлик электив культураси, 5% ли хромат кислота, спирт лампа, 5% ли сульфат кислота, термостат.

Колбада қолган пичан қайнатмаси ичида асосан пичан бацилласининг споралари тўпланган бўлади. Споралар учун қулай шароит яратилиши билан улардан вегетатив хужайралар ўсиб чиқа бошлайди.

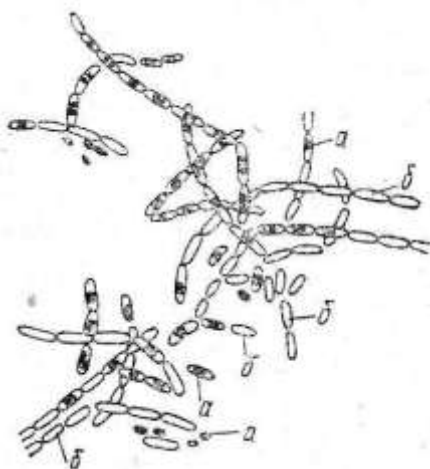
Термостатда бир кун турган пичан қайнатмасидан стерилланган бактериал илмокда бир томчи олиниб, осма ёки эзилган томчи тайёрланади. Бу препарат микроскопда қаралганда спорадан ўсиб чиққан ҳаракатчан бациллалар кўринади. Уларнинг бутун танаси хивчинлар билан ўралган бўлади (65- расм, а).

Пичан қайнатмаси икки кун сақлангандан сўнг унда ҳавонинг камайиши ва озиқ моддалар етишмаслиги натижасида ҳаракатчан бациллалар хивчиини ташлаб, ҳаракатсиз ҳолатга ўтади ва тезлик билан бўлина бошлайди. Бациллаларнинг бўлиниши натижасида колониялар ҳосил бўлади, ҳар қайси хужайра ўзидан шилимшиқ модда чиқаради. Бу шилимшиқли

бациллаларнинг колонияси *зооглея* деб аталади. Зооглея суюқлик юзасида юпка парда шаклида бўлади (67-расм).



**67-расм. Зооглея
ичидаги**



**68-расм. Икки қйта
бўялган бактерия
препарати:**

а — қизил ёки пушти раигли спора; б — ҳаво
рашта бўялган всгетатива ҳужайра.

Зооглея ичидаги бациллаларни кўриш учун суюқлик юзасидаги пардадан олиб буюм ойнасига юктирилади ва очик ҳавода қуригилади. Қурилган препарат фиксация қилингандан сўнг фуксин ёки синька билан бўялиб, микроскопнинг 8х ва 40х ли объективларн оркали куза тилади. Бунда препаратда бир-бирига уланган ип шаклидаги ҳужайралар кўринади. Сўнггра бир неча кун сақланган пичан бацилласи культурасидан мазок тайёрланади ва фиксация қилинади. Мазок фиксация қилинтандан кейин устига 5% ли хромат кислота томизилиб, 5 минут тинч қолдирилади. Шундан кейин хромат кислота сув билан ювиб ташланади. Ювилган препарат — мазок устига Циль-карбол фуксини бўёғидан 6—7 томчи томизилади ва бўскни буғлантириш учун спирт лампа алангаси устида 5 минут тутилади. Бунда бўёқ қуриб қолмаслиги керак. Агар қуриб қоладиган бўлса, мазокка буёқдан кўшиб турилади. Шукдан кейин препаратдаги бўёқ сув билан ювилиб, устига 5% ли H_2SO_4 томизилади. Орадан 10—15 секунд ўтиши билан сульфат кислота ювиб ташланади. Сўнггра препарат устига 2—3 томчи Лёффлер синькаси томизилиб, 2 минут ўтгандан кейин у ҳам ювиб ташланади. Препаратда қолган сув томчилари филтьр қоғозга шимдириб олинади.

Шу тартибда тайёрланган препарат устига бир томчи кедр мойи томизилиб, микроскопнинг қуруқ ва иммерсион системалари оркали қаралади. Бунда препаратдаги споралар пушти рангга, вегетатив ҳужайралар ҳаво рангга бўялганлиги аниқ кўринади (68-расм).

Микроорганизмларнингтабиатда тарқалиши

Тупроқ микрофлораси. Тупроқ таркибидаги микроорганизмларнинг сони миллион ва миллиардлар билан ифодаланади. Баъзи олимлар маълумотиға кўра, 1 г тупроқ таркибида 2,5—5 миллиардгача микроорганизм бўлади. Бир гектар ердаги микроорганизмларнинг умумий вазни 3—5 т га яқин бўлади.

Тупроқнинг физик ва химиявий хоссалари, таркибида озик моддалар кўплиги, намлик ва ҳаво етарли бўлиши турли-туман микроорганизмларнинг ривожланиши учун жуда қулай шароит ҳисобланади. Тупроқ таркибидаги микроорганизмларнинг сони ва хили кун сайин кўиайиб ҳамда ўзгариб

туради. Улар, одатда, инсон, ҳайвон ва ўсимлик қолдиқлари ҳисобига кўпаяди. Арктикада ва иссиқ Саҳрои Қабир қумликларида ҳам минглаб, миллионлаб учрайди.

С. Разумов ва Р. Ремезовлар маълумотига кўра, тупроқнинг устки қатламида микроорганизмлар сони кўп бўлиб, чуқурлашган сари камая борар экан. Тупроқ қатлами чуқурлашган сари микроорганизмларнинг сони камая боришига уларнинг тупроқ заррачалари томонидан ютилиши сабаб бўлади. Тупроқ таркибидаги микроорганизмларнинг сони йил фаслларига қараб ҳам ўзгариб туради. Улар тупроқ структурасини яхшилашда, чириндиси таркибидаги моддаларни парчалаб, уни минерал бирикмалар билан бойитишда жуда катта роль ўйнайди.

Тупроқ таркибидаги микроорганизмлар жуда хилма-хил бўлганлигидан бир-бирига салбий ёки ижобий таъсир кўрсатади, яъни бир-бири билан симбиоз ҳолда ёки бир-бирига антагонист бўлиб ҳаёт кечирадп.

6- машғулот. Тупроқ таркибидаги микроорганизмлар сонини аниқлаш (О.Г. Шульгина томонидан ўзгартирилган С. Н. Виноградский усули)

Асбоб ва реактивлар: микроскоп, микропипетка, тупроқ, буюм «йналари, карбол кислотали эритрозин бўёғи, окуляр микрометр.

Тупроқ таркибидаги микроорганизмлар сонини аниқлаш учун 5 г тупроқ олиб, 250 мл ҳажмли колбага солинади. Шу колбага 50 мл стерилланган сув қўшиб 5 минут чайқатгандан сўнг 1—2 минут тиндирилади. Буюм ойнасига эни 1 см ва узунлиги 4 см келадиган квадрат чизиб, унга юқорида тайёрланган эритмадан 0,01 мл олиб бир текисда юктирилади. Бу мазок қуритилгандан сўнг абсолют спирт эритмаси билан ёки спирт лампа алангасида фиксацияланиб, карбол кислота (фенол) да эритилган эритрозин бўёғи билан бўялади. 30 минутдан кейин бўёқ ювилиб, препарат қуритилади ва бир томчи кедр мойи томизиб, иммерсион объектив орқали микроскопда кузатилади. Энди 1 г тупроқ таркибидаги микроорганизмлар сонини аниқлаш учун қуйидаги ишлар бажарилади:

1. Микроскопда кўринган доиранинг умумий сатҳи аниқланади. Бунинг учун окуляр микрометр ёрдамида доиранинг радиуси аниқланиб, қуйидаги формулага мувофиқ умумий сатҳи топилади:

$$S = \bar{n}r^2$$

Бу ерда: S — исталган доиранинг юзаси; $\bar{n}$ — 3,14 (3,14159) иррацион сон—доира айланасининг диаметрига бўлгап нисбати; r^2 —доиранинг радиуси.

Масалан, доирапинг радиусини 0,075 ёки 0,08 мм га тенг деб олиб, юқоридагп формулага мувофиқ доиранинг умумий сатҳи топилади:

$$S = \bar{n}r^2 = 3,14 \times (0,08)^2 = 3,14 \times 0,0064 = 0,020094.$$

Демак, микроскопда кўринган доиранинг умумий сатҳи 0,020094 ёки 0,02 мм² га тенг экан.

2. Микроскоп доирасида кўринган микроорганизмлар сони саналади. Бу ишии бажариш учун уларнинг доира ичидаги сони аниқланиб дафтарга ёзилади. Сўнг столчани ҳаракатлантирадиган винтлар ёрдамида препаратни силжитиб, унинг бошқа жойида кўринган доира ичидаги микроорганизмлар сони ҳам дафтарга езиб қўйилади. Шу усулда (препаратни ҳаракатлантириб) 50—100 та доирадаги микроорганизмлар сони аниқлангач, уларнинг ўртачаси топилади. Фараз қилайлик, кузатишган 50 та доира ичида 1500 дона микроорганизм бўлса, битта доира ичидагиларнинг ўртача сони: 1500:50 — 30 дона бўлади. Демак, олинган тажриба далилларига асосланиб, битта доира ичидаги микроорганизмлар сони 30 дона дейиш мумкин.

3. Юқоридаги сонларга асосланиб, тажриба ўтказиладиган буюм ойнасининг 4 см² юзасига юқтирилган ёқн 0,01 г (мл) аралашма ичидаги микроорганизмларнинг умумий сонини аниқлаш учун қуйидаги тенгламадан фойдаланилади:

$$\begin{array}{l} 0,02\text{мм}^2 \text{ — } 30 \text{ дона бактерия} \\ 4\text{см}^2 = 400\text{мм}^2 \text{ — } x \text{ дона} \end{array} \quad x = \frac{400 \times 30}{0,02} = \frac{12000}{0,02} = 600000 \text{ дона}$$

1 г тупроқ таркибидаги микроорганизмлар сонини аниқлаш учун тубандаги тенгламадан фойдаланилади (бунинг учун 0,01 мл аралашмадаги тупроқнинг вази 0,001 г га тенг деб олинади):

$$\begin{array}{l} 0,001 \text{ г — } 600000 \\ 1 \text{ г — } x \end{array} \quad x = \frac{1 \times 600000}{0,001} = 600000000 \text{ дона.}$$

Демак, текширилган тупроқнинг бир грамида 600 000 000 дона микроорганизм бор экан.

Ҳаво микрофлораси. Тупроқдан кўтариладиган чанг ўзи билан бирга микроорганизмларки ҳам ҳавога тарқатиб, ҳавони ифлослайди. Ҳавонинг куруқ бўлиши ва ультрабинафша нурлар ҳаводаги микроорганизмларнинг ҳаёти учун ҳавфлидир. Уларнинг сони йил сраслларига қараб ўзгариб туради: кишда оз, ёзда кўп, кузда ва баҳорда ўртача бўлади. Ҳавонинг юқори қатламларига томон микроорганизмлар сони камая боради.

7-машғулот. Ҳаво таркибидаги микроорганизмларни аниқлаш ва уларни бир-биридан ажратиш олиш

Асбоб вареактивлар: Петри идишлари, пробиркада стерилланган ГПА ёки ГПЖ озик муҳитлари, термостат, Вольфгюгель камераси.

Бу машғулотни ўтказишда Кох усулидан фойдаланиш мумкин. Бунда гўшт-пептон-агарли (ГПА) ёки гўшт-пептон-желатинли (ГПЖ) қаттиқ озик муҳити ишлатилади.

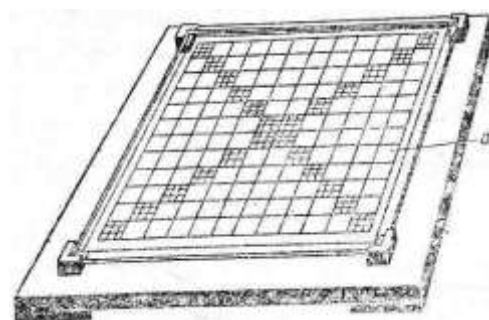
Тажриба ўтказиш учун қуйидагиларга амал қилиш зарур: а — пробиркада эритилган ГПА ли озик муҳити Петри идишига қуйилади ва

дархол идишнинг қопқоғи ёпилади; *б*—идиш ичидаги суюқ ГПА котгунча стол устида қолдирилади; *в* — идиш ичидаги озиқ муҳити қотгандан сўнг ҳавоси таркибидаги микробларни аинқлаш мўлжалланган (аудитория, коридор, кўча, ошхона ва бошқа) жойларга олиб борилади; *г* — шу жойда идишнинг қопқоғи 5 минут очик қўйилади. Шу вақт ичида озиқ муҳити юзасига ҳаводаги микроблар тушади. Белгиланган вақтдан сўнг идишнинг қопқоғи ёпилади. Қопқокнинг устига тажриба ўтказган студентнинг исми, фамилияси ва курси ёзилган этикетка ёпиштирилиб, идиш қоғозга ўралгач, 20—30° иссиқ термостатга қўйилади. Уларни термостатга қўйишдан олдин, қопқоғи пастга қаратилган бўлиши керак. Акс ҳолда қопқок устига тўпланган сув томчилари пластинка юзасига тушади, натижада микроблар бир-бирига аралашиб кетади.

Қаттиқ озиқ муҳитидаги ҳар бир микроорганизм ҳужайраси кўпайиб, ўзига хос колониялар ҳосил қилади. Бу колониялар (тўдалар) микроорганизмнинг турига қараб ҳар хил шаклда бўлади ва турли рангда товланиб туради. Бир неча кун ўтгандан сўнг Петри идишидаги қаттиқ озиқ муҳитида пайдо бўлган колонияларнинг сони ҳаво таркибида қанча микроорганизм борлигипи аниқлашга имкон беради.

Петри идишидаги озиқ муҳитидаги бактериялар сонини Вольфгюгель камераси¹ ёрдамида аниқлаш жуда осон (69-расм). Бунинг учун камера ичига Петри идиши тўнтариб қўйилади. Қамеранинг юқори томонидаги ойна 1 см²га тенг бўлган катакларга бўлинган. Петри идишининг сатҳига рўпарама-рўпара келган 10—20 катакчадаги колонияларнинг сонини санаб, 1 см² сатҳга тенг келган бактерияларнинг ўртача сонни топилади, сўнгга бу сон идишдаги озиқ муҳитининг умумий сатҳига кўпайтирилади, Натижа ҳавонинг микроорганизмлар билан ифлосланганлик да ражасини кўрсатади.

1 м³ ҳаво таркибидаги микроорганизмлар сонини топиш учун аввал 100 см² озиқ муҳитидаги микроорганизмлар колониясини аниқлаш керак. Чунки В. С. Омелянский маълумотиға кўра, 10 л ҳаво таркибида бўлган микроорганизмлар 5 минут ичида 100 см² юзага тушар экан. Бу кўрсаткич аниқлангандан сўнг 1 м³, яъни 1000 л ҳаво таркибидаги микроорганизмлар сони аниқланади. Масалан, 100 см² юзада 35 та колония ўсган, деб фарз қилайлик. Демак, В. С. Омелянский маълумотиға асосланиб, 10 л ҳаво таркибида 35 дона бактерия борлиги аниқланди. Энди 1 м³, яъни 1000 л ҳаво таркибидаги бактериялар сонини аниқлаш учун тубандаги пропорция тузилади:



69-расм. Вольфгюгель камераси:

а — катакчаларга бўлинган пластинка.

¹ Вольфгюгель камераси ўрнига целлофан қоғозга ишланган катакча-лардан фойдаланиш мумкин.

$$\begin{array}{l} 10 \text{ л} — 35 \\ 1000 \text{ л} — x \end{array}$$

$$x = \frac{1000 \times 35}{10} = 3500 \text{ дона.}$$

Тажриба материалларини чуқурроқ анализ қилиш мақсадида қуйидаги ишлар бажарилади:

1. ГПА пластинкаси устида ўсган колониялардан бир нечта (2—3та) сини танлаб, тубандаги жадвалда кўрсатилган саволларга тўла жавоб қайтарилади:

Колониянинг номери	Колониянинг ранги	Колония четининг кўриниши	Колониянинг шакли (юмалоқ, уфтаси ботган ва ҳ.)	Колониянинг ички тузилиши (зич, нуқтасимон ва ҳ.)
1				
2				
3				

2. Танлаб олинган колониялардаги микробларнинг ҳаракатланиши, шакли, ҳажми ва бошқа кўрсаткичлари тубандаги жадвал саволларига оид жавобларда аниқланади:

Колониянинг номери	Кўрсаткичлари						Ҳажми (мкм)
	ҳаракат ла-ниши	ҳаракат -	шакли	спораси		спора ҳосил қиладиган аегетатив қисмининг шакли	
1				йўқ	бор		
2							

Эслатма: бактерияларнинг ҳаракатланишини аниқлаш учун эзилган томчи препарати тайёрланса, шаклини, ҳажмини аниқлаш ва спораларини кузатиш учун мазок тайёрланиб фиксацияланади, бўялади. Бу ишни бажариш тартиби 116—119-бетларда батафсил баён этилган.

Сув микрофлораси. Сув таркибидаги органик ва анорганик моддаларнинг миқдorigа қараб, микробларнинг сони ҳам турлича бўлади. Сувдаги микробларнинг кўпчилиги сапрофит ҳаёт кечиради. Улар орасида касаллик қўзғатувчи микроорганнзмлар ҳам учрайди. Буларнинг кўпчилиги сув остидаги лойқага жойлашади. Унинг таркибида микроблар яшаши учун барча зарур шароит мавжуд. Лекин сувга тушган қуёш нурлари ва сув

таркибидаги бактериофаглар, содда ҳайвонлар, антагонист организмлар ишлаб чиқарган маҳсулотлар таъсирида микроорганизмлар кенг тарқала олмайди. Шунинг учун сувда микроблар сони тупроқдагига нисбатан анча кам бўлади.

8- машғулот. Сувдаги микроблар сонини аниқлаш

Сувдаги микроблар сонини аниқлаш учун Петри идишига 1 мл сув қуйиб, унга эритилган ГПЖ ёки ГПА дан 10—12 мл чамаси қўшиб аралаштирилади. ГПЖ ёки ГПА қотиб қолгандан сўнг идиш 25—30° иссиқ термостатга қўйилиб, бир сутка сақланади. Шундан сўнг каттиқ озик муҳитида ҳосил бўлган бактерия, микроблар колониясининг сони Вольфгюгель камераси ёрдамида аниқланади (7-машғулотга қаранг).

9- машғулот. Бактерияларни Грамм усулида бўяш

Бу машғулотни ўтказишда бактерияларнинг Грамм усулида бўйлиши ёки бўйламаслигига катта эътибор берилади. Грамм усулида бўйлиш даражасига қараб, бактериялар мусбат ва манфий группаларга бўлинади. Масалан, Грамм усулида бўйланса *грамм-мусбат*, бўйламаса *грамм-манфий* деб аталади. Грамм-мусбат бўйланганда бактериялар қорамтир-бинафша рангли, грамм-манфий бўйланганда қизил рангли бўлиб кўринади.

Бактериялар Грамм усулида қуйидагича бўйлади: фиксацияланган ва ювилган мазок устига генциан-виолет бўёғидан кўпроқ томизилади, 1—2 минутдан сўнг у яхшилаб ювиб ташланади. Сўнгра йод эритмаси томизилади ва 1—2 минутдан кейин у ҳам ювиб ташланади, сўнг препарат устига 95% ли зтил спирт томизилиб, 0,5—1 минутгача тинч қолдирилади. Спиртни ювиб ташлагандан кейин препарат устига суюлтирилган фуксин бўёғи томизилади ва у 1—2 минут давомида бўйлади, шундан сўнг фуксин бўёғи ювилиб, препарат филтр қоғоз билан қуритилади. Кейин устига бир томчи кедр мойи томизилиб, микроскопда аввал қуруқ, сўнгра иммерсион объектив орқали кўрилади.

Микроорганизмлар Грамм усулида манфий ва мусбат бўйлишини аниқлашда ачиб қолган пиво юзасидаги парда таркибида мусбат бўйладиган ачитки замбуруғлари (дрожжилар) ҳамда сирка кислотали бижғиш процессини кўзғовчи манфий бўйладиган бактериялар тўпланган бўлади. Препаратда мусбат бўйладиган ачитки замбуруғлари тўқ бинафша, манфий бўйладиган сирка кислота бактериялари қизил рангда товланиб туради.

Грамм усулида бўйаш учун зарур бўёқларни тайёрлаш қўлланма охиридаги қўшимча материаллар бўлимида кўрсатилган (181 —182-бетларга қarang).

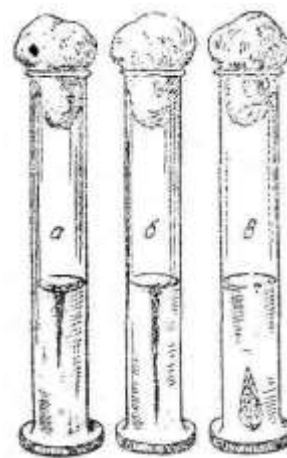
10- машғулот. Микроорганизмларнинг кислородга бўлган муносабатини аниқлаш

Асбоблар: ярмигача қаттиқ озиқ муҳити қуйилган пробиркалар ёки цилиндр.

Микроорганизмларнинг турини аниқлашда уларнинг кислородга бўлган муносабатини ҳам эътиборга олиш зарур. Кислородга бўлган муносабатига кўра улар қуйидаги уч группага бўлинади:

а) аэроб бактериялар ҳаво ўтиб турадиган шароитда нормал ривожланади, ҳавосиз шароитда ривожланмайди;

б) анаэроб бактериялар — ҳавосиз шароитда нормал ўсади ва ривожланади;



70-расм.

Микроорганизмларнинг кислородга бўлган муносабати:

а — аэроб; б — факультатив
анаэроб; в — облигатный анаэроб

в) факультатив анаэроб бактериялар — кислородли ва кислородсиз шароитда ҳам бемалол ўсади ва ривожланаверади.

Агар қаттиқ озиқ муҳит солинган цилиндр ёки пробиркага микроорганизмлар 70-расмда кўрсатилгандек, укол воситасида юктирилса, уларнинг кислородга бўлган муносабати яққол кўринади. Жумладан, аэроб бактериялар озиқ муҳитининг устки томонида, анаэроб бактериялар пастки томонида, факультатив анаэроб бактериялар эса ҳар иккала томонида ривожланганлиги аниқланади (70-расм).

11-машғулот. Микроорганизмларни текширишда ишлатиладиган озиқ муҳитларини тайёрлаш ва стериллаш усуллари

Асбоб ва реактивлар: гўшт, пептон, махсус тунука воронка, шиша воронка, фильтр қоғоз, қизил лакмус қоғоз, кристалик сода, автоклав, пробирка ва колбалар, желатин ва агар-агар, Кох қайнаткичи, тухум.

Юқорида айтилганидек, микробиология практикасида микроорганизмларнинг морфологиясини ва физиологик процессларини ўрганиш ҳамда уларни бир-биридан ажратиш олиш учун қуйидаги озиқ муҳитлари ишлатилади:

Пептонли гўшт шўрваси (ПГШ). Бунини тайёрлаш учун аввал 500 г гўшт суяк, чандир ва ёғидан тозаланиб майдаланади. Майдаланган гўштга 1 л сув қўшиб 15° иссиқда 24 соат тинч қолдирилади. Шундан сўнг гўшт аралаштирилган сув доқа орқали колбага филтрланади. Бу филтрат 30 минут қайнатилади, сўнгра иссиқлигида бурмали филтрдан қайта ўтказилади. Қайнатиш вақтида камайган сув миқдори тўлдирилади, яъни колбадаги сувни 1 л га етказиш учун шўрвага тоза сув қўшилади. Шу тартибда танёрланган эритма *гўшт шўрваси* (бульон) деб аталади.

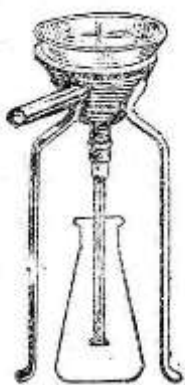
Бир литр гўшт шўрвасига 10 г пептон ва 5 г ош тузи қўшилади. Қўшилган пептон эригунча шўрва иситилади. Пептонли шўрвани нейтрал ҳолга келтириш мақсадида унга кристалик сода қўшилади. Шўрва нейтрал ҳолга келганлигини аниқлаш учун ундан бир неча томчи олиб, лакмус қоғозга томизилади, қизил лакмус қоғоз энди кўкара бошлаган бўлса, бу ҳодиса шўрванинг кучсиз ишқорий ёки нейтралга яқинлигини кўрсатади. Нейтралланган вақтда эритма лойқаланади, уни тиндириш учун автоклавга қўйиб 120° иссиқда 30 минут қиздирилади. Кейин олиб филтрланади ва тоза пробиркаларга ёки колба-ларга тақсимланади. Пробирка ва колбаларнинг оғзи пахтадан ясалган тикин билан беркитилади. Филтрат қуйилган ва оғзи беркитилган колба ёки пробиркалар қайтадан автоклавга жойланиб, 120° иссиқда 15 ёки 30 минут қиздирилади. Совигандан сўнг у озиқ муҳити сифатида ишлатилади.

Бактерияларнинг турини аниқлашда ва уларни бир-биридан ажратишда суюқ озиқ муҳити (гўшт-пептонли шўрва) унчалик қулай бўлмаганлигидан, одатда, кам ишлатилади. Бунинг ўрнига желатин ёки агар-агар қўшилган

каттик озик муҳитидан фойдаланилади. Қаттик озик муҳити сатҳида ҳар қайси бактерия ўзига хос колония ҳосил қилади. Бу колониялар ранги ва шаклига қараб бир-биридан фарқ қилади.

Қаттик озик муҳити тайёрлаш учун желатин ёки агар-агар ишлатилади. Булардан ташқари, кремний (суяқ ойна)дан тайёрланган гелни озик моддалар билан бойитиб, бактерияларни парвариш қилишда ишлатиш мумкин.

Гўшт-пептон-желатин (ГПЖ) - Бу озик муҳитини тайёрлаш учун 1 л пептонли гўшт шўрвасига 100—120 г майдаланган желатин қўшилади. Шўрвага қўшилган желатинни эритиш учун колба Кох қайнаткичида ёки автоклавда қиздирилади. Автоклавнинг температураси 100° дан ортиб кетмаслиги учун унинг жўмраги очик бўлиши керак, чунки желатин юқори температурада ўз хусусиятини йўқотади. Гўшт-пептон-желатин аралашмаси Кох қайнаткичидан ёки автоклавдан олиниб филтрланади. Бунинг учун бурмали филтр қўйилган шиша воронка тунукадан ясалган икки қаватли махсус воронкага жойлаштирилади ва шу воронка ичига қуйилган сув иситиб туриладн (71-расм). Бу филтрдан ўтадиган гўшт-пептон-желатиннинг қотиб қолишига йўл қўймайди. Филтрат пробирка ски колбаларга тақсимланади.



71-расм. Аралашма
Филтрландиган
махсус тунука

Пробирка ва колбаларнинг оғзи пахтадан ясалган тикин билан беркитилиб, Кох қайнаткичига жойланади. ГПЖ эритмасидаги микроорганизмларни нобуд қилиш учун у Кох қайнаткичида 100° иссиқда 15—30 минут стерилланади. Орадан 24 соат ўтгач, қайнаткичдаги ГПЖ қайтадан қиздирилади. Яна 24 соат вақт ўтгач, 100° иссиқда 15 минут сақланиб қайтадан стерилланади. Шундай қилиб, бу озик муҳити Кох қайнаткичида 3 сутка давомида 3 марта стерилланади.

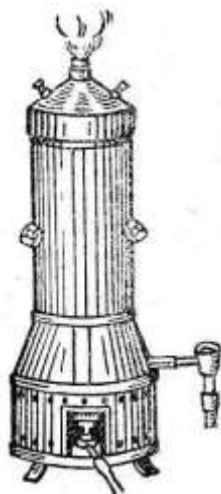
ГПЖ асосан совуқ шароитда ишлатилади, чунки температура 24° гача исиши билан желатин суюлиб қолади. Шунинг учун микробиология практикасида кўпинча агар-агардан тайёрланган озик муҳитидан фойдаланилади.

Гўшт-пептон-агар-агарли озик муҳити (ГПА). Бу озик муҳитини тайёрлаш учун колбадаги 1 л пептонли гўшт шўрвасига 15—20 г майдаланган агар-агар аралаштирилади. Аралашмадаги агар-агарни эритиш учун колба автоклавга жойланиб, 120° температурада 20 минут қиздирилади. Агар-агар эригандан сўнг бир дона тухум оқи сувда суюлтирилиб, автоклав ичидаги эритмага қўшилади. Автоклавнинг қопқоғини маҳкам беркитиб, колба ичидаги эритма 120° температурада яна 15—20 минут қиздирилади. Эритма ичидаги оқсил ва бошқа моддалар тухум оқи таъсирида чўқади, тиник эритма эса чўкма устига йиғилади. Шу тарзда тиндирилган ГПА автоклавдан олиниб, иссиқ воронка орқали филтрланади ва пробирка ёки колбаларга тақсимланади. ГПА қуйилган идишларнинг оғзи пахта тикин билан беркитилиб, яна автоклавга жойланади ва 120° температурада 20—30 минут стерилланади.

Юқорида айтиб ўтилган озиқ муҳитларидан ташқари сут, картошка, тупроқ ва бошқалардан ҳам фойдаланилади.

12- машғулот. Озиқ муҳити ва идишларни стериллаш, микроорганизмларни парвариш қилиш ва шу мақсадда ишлатиладиган асбоблар

Кох қайнаткичида стериллаш. Бунинг учун қайнаткичга 5 см қалинликда сув қуйилади. Сўнгра озиқ муҳитлари солиб стерилланадиган пробирка ва колбалар сим саватга ёки тунука челака жойланиб, қайнаткич ичидаги тиргак устига қўйиладиганда, қайнаткичнинг қопқоғи ёпилади (72-расм). Булар 3 кун давомида 3 марта стерилланади.



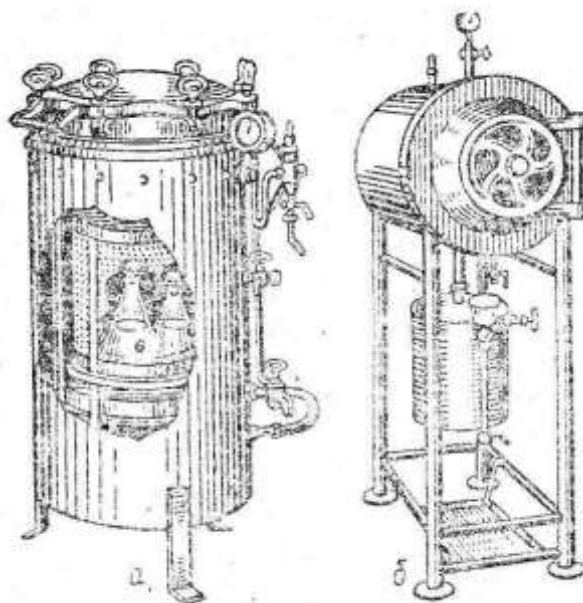
72-расм. Кох

Биринчи кун қайнаткич ичидаги пробирка ёки колбалар 100° иссиқда 30 минут қиздирилганда, спора ҳосил қилмайдиган ҳамда споралари иссиққа чидамсиз бактериялар нобуд бўлади. Стерилланаётган нарсалар Кох қайнаткичида келгуси кунгача қолдирилади. Иккинчи кун қайнаткич қайтадан 100° гача қиздирилганда споралари иссиққа чидамли бациллалар ҳам нобуд бўлади. Озиқ муҳитини бутунлай стериллаш мақсадида учинчи кун яна 30 минут қиздирилади. Шунда озиқ муҳити микроорганизмлардан бутунлай тозаланади.

Автоклавда стериллаш. Автоклавга аввал 5—10 см қалинликда сув қуйилади. Сўнгра стерилланадиган буюмлар унга жойланиб, қопқоғи муҳкам беркитилади. Ичидаги ҳаво чиқиб кетгунча унинг жўмраги очик холда қолдирилади. Сув буғи бир текис чиқа бошлагандан кейин жўмраги беркитилади (73-расм).

Автоклавга ўрнатилган манометр бир атмосферага кўтарилганлиги кузатилади. Ана шу вақтда автоклав ичидаги ва пробирка ичидаги озиқ муҳитидаги микроорганизмларнинг ҳаммаси нобуд бўлади. Стериллаш 20 минут давом этади. Шундан сўнг манометр стрелкаси ноль даражага келгунча автоклав совитилади, сўнгра буғ чиқиб бўлгунча жўмраги очик қолдирилади. Буғ чиқиши тўхтагандан кейин қопқоғи очилиб, ундан стерилланган озиқ муҳити олинади.

Сут ва иссиқлик таъсирида бузиладиган бошқа суюқликлар

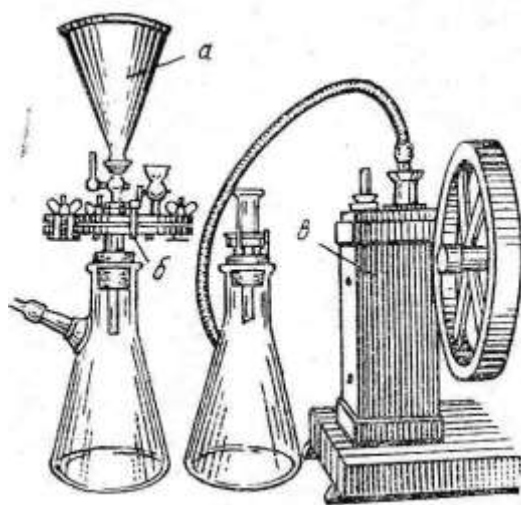


73-расм. Автоклавнинг турлари:

а — вертикал; б — горизонтал шаклдаги автоклав; в — стерилланадиган суюқликларни жойлаш.

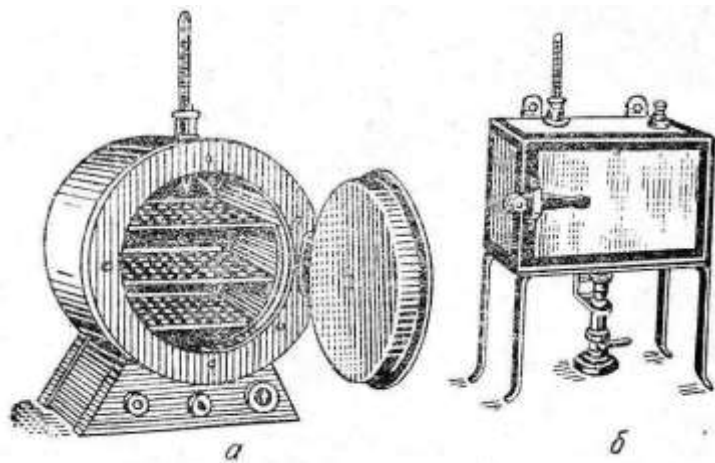
ичидаги спорасиз бактерияларни нобуд қилиш мақсадида пастерлаш усули қўлланилади. Бу усулда суюқликлар $60—70^{\circ}$ ис сикда 15—30 минут ёки $70—80^{\circ}$ иссикда 5—10 минут қиздирилади.

Юқоридаги усуллардан ташқари, совуқ стериллаш усули ҳам қўлланилади. Бу ҳолда Пастер-Шамберлен ишлаб чиқарган сопол идишлардан фойдаланилади. Бунинг учун стерилланадиган эритма майда тешикчалари бўлган сопол филтрдан ўтказилади. Бироқ бактериофаглар ва ультрамикроблар сопол филтър орқали ўтиб кетади. Шунинг учун бундай филтратда микроблар бўлмайди дейиш нотўғри. Кейинги йилларда асбестдан ясалган Зейтц филтридан ҳам фойдаланилмоқда (74-расм).



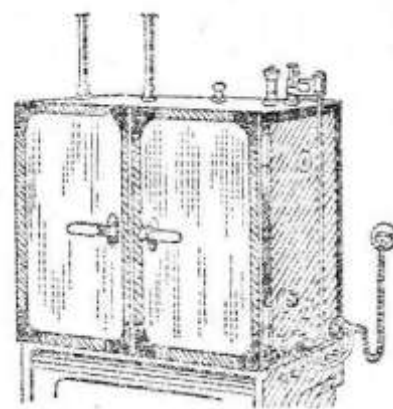
74- расм. Зейтц фильтри:
а — фйльтрланадиган
суюқликни қўйиш учун воронка;
б —
филтър: в — жаво сўғиб

Стерилланган озиқ муҳитларини стерилланган идиш ларга солиш керак. Шу сабабли идишлар ҳам қуруқ иссикда барвақт стериллаб қўйилиши керак. Бунинг учун Пастер печкаси ёки қуриткич шкафлар ишлатилади (75-расм). Петри ва Кох идишлари, лробркалар ва ишлатиладиган бошқа буюмлар қоғозга ўралиб, қуритиш шкафига жойланади ва температура $150—160^{\circ}$ га етгунча 2 соат давомида қиздирилади.



75-расм. Қуриткич шкафлар:

а — замонавий шкаф; б — Пастер печкаси.



76-расм. Иссққсув билан
иситиладиган термостат.

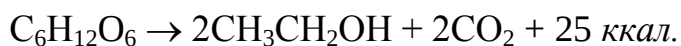
Тажрибада фойдаланиладиган микроорганизмларни парвариш қилиш учун турли схемада ишланган термостатлар қўлланилади (76-расм). Термостатда микроорганизм учун зарур бўлган температура муайян нуктада сақлаб турилади.

АЗОТСИЗ ОРГАНИК БИРИНМАЛАРНИНГ МИКРООРГАНИЗМЛАР ТОМОНИДАН ЎЗГАРТИРИЛИШИ

Табиатда микроорганизмларнинг фойдали ва фойдасиз турлари жуда кўп. Шунинг учун фойдасиз микроорганизмларнинг ҳаёт процесси ўрганилиб, уларга қарши кураш чоралари ишлаб чиқилмоқда. Фойдали микроорганизмларнинг ҳаёт лроцессидида ҳосил бўладиган маҳсулотларни халқ хўжалигида ишлатиш учун уларининг актив формаларидан фойдаланилмоқда. Бу организмлардан тўғри ва самарали фойдаланиш учун қуйида табиатда знг муҳим ҳисобланган спирт, сут, мой, целлюлоза, пектин каби моддаларнинг бижғиш процесси билан, шунингдек, спиртниинг оксидланиши натижасида сирка кислота ҳосил бўлиш йўллари билан қисқача танишамиз.

Спиртли бижғиш

Вино тайёрлаш усуллари қадимдан маълум бўлишига қарамай, шакарнинг парчаланиши натижасида этил спирт ҳосил бўлиши XVII аср охиридагина аниқланган. Лазуазье маълумотиға кўра, шакарнинг парчаланиши натижасида этил спирт ва карбонат ангндрид ажралиб чиқади. Бу реакция қуйидагича боради:



Спиртли бижғиш процесси тирик организмлар иштирокида боришини, яъни биологик процесс эканлигини 1858 йилда Луи Пастер аниқлаган. Бу давргача спиртли бижғиш процесси химиявий реакциялардан иборат ходиса, деб қаралган, холос.

Спиртли бижғиш процесси сахаромицес (*Saccharomyces*) оиласига мансуб ачитқи замбуруғларининг иштироки билан боришини ҳам Луи Пастер аниқлаган. Бу процесс ҳавосиз шароитда боришини назарда тутиб, бижғиш — анаэроб шароитдаги ғаёт эканлигини уқтириб ўтган.

Баъзи моғор замбуруғлари ҳам бижғиш процессини кўзғайди. Лекин булар таъсирида ҳосил бўлган спирт миқдори 5—7% дан ошмайди. 1 г шакар бижғиши натижасида 0,5 г чамаси спирт ва бошқа маҳсулотлар (сирка альдегид, глицерин, бутил, изобутил ва амил спиртлар, сирка ва қаҳрабо кислоталар) ҳосил бўлади. Шакарннинг 1—5% га яқини замбуруғларнинг озикланиши вақтида сарф бўлади. Реакция вақтида ажралиб чиқадиган 25—27 кал га яқин энергия замбуруғларнинг ҳаёт фаолиятида сарфланади.

Ачитқи замбуруғлари факультатив анаэроб организмлар қаторига киради, лекин аэроб шароитда ҳам ҳаёт кечири олади. Ачитқи замбуруғларининг аэроб шароитдаги ҳаёт фаолияти натижасида шакарнинг кўп қисми сув ва сирка кислотагача парчаланади. Бунда спирт кам ҳосил

бўлади. Булардан ташқари, аэроб шароитда замбуруғларнинг кўпайиши ҳам тезлашади. Шундан фойдаланиб, ачитқи замбуруғларини тўплаб олиш мақсадида, бижғиш процессида озик муҳити ичига ҳаво юбориб турилади.

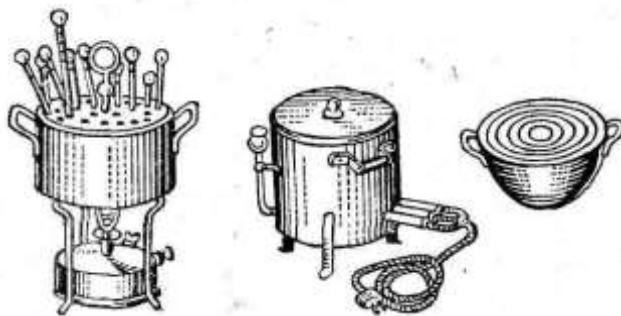
Анаэроб шароитда 10—15% гача этил спирт тўпланади. Агар бижғиш вақтида муҳитга натрий сульфит тузи (Na_2SO_3) қўшилса, спирт ўрнига 25% га якин глицерин тўпланади. Демак, спиртли бижғиш процессидан глицерин тайёрлашда ҳам фойдаланилади. Спиртли бижғиш процесси нормал ўтишини таъминлаш учун $\text{pH} = 3—6$, температура $25—40^\circ$ бўлиши керак. Азот манбаи сифатида пептон, аминокислоталар ва аммиакдан фойдаланиш мумкин.

13- машғулот. Спиртли бижғиш ва бу процессни қўзғатувчи тирик организмлар

Асбоб ва реактивлар: микроскоп, колбалар, эгри шиша най ўрнатилган каучук тиқин, сувли идиш, пробиркалар, куруқ ачитқи, пиво ачитқиси, сув ҳаммоми, термометр, шакарнинг 10% ли эритмаси, ишқорнинг 10% ли эритмаси, буюм ва қоплагич ойналар, йод эритмаси, ҳовонча.

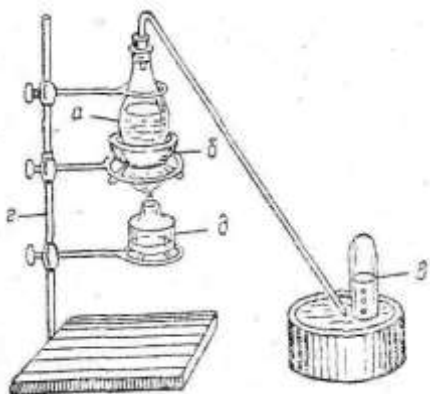
Бу машғулотни ўтказиш учун аввал 3—5 г куруқ ачитқига шакарнинг 10% ли эритмасидан 10 мл қўшиб, ҳовончада эзилади (эритилади) ва 40—60 минут тиндирилади. Сўнгра 100 мл ҳажмли колбага шакарнинг 10% ли эритмасидан 50 мл қуйиб, унга олдин тайёрлаб қўйилган ачитқи-шакар аралашмасидан қўшилади. Колбанинг оғзи эгри шиша най ўрнатилган каучук тиқин билан маҳкам беркитилади. Бижғиш процесси актив ўтиши учун колба $30—35^\circ$ иссиқ сув ҳаммомига жойлаштирилади (77-расм). Найнинг иккинчи учига сув тўлдирилган пробирка тўнқариб кийгизилиб, сувли идишга ботириб қўйилади (78-расм). Орадан 20—30 минут ўтгач, бижғиш процессида ажралиб чиқаётган карбонат ангидрид (CO_2) пробиркага тўпланади. Кейин пробирканинг оғзи бармоқ билан беркитилиб, пастга қаратилган ҳолда бармоқ олинади ва дарҳол 10% ли ишқор қуйилган стаканга ботириб қўйилади. Пробиркадаги CO_2 гази ишқор билан реакцияга киришади. Ундаги газ ўрнини ишқор олади, яъни пробиркани тўлдиради. Айни вақтда колбадан ажралиб чиқаётган газ иккинчи пробиркага йиғиб олинади ва у ёнишга ёрдам бермаслиги аниқланади.

Ачитқи замбуруғларини микроскопда кўриш учун пиво ачитқисидан фойдаланиш мумкин. Агар пиво ачитқиси бўлмаса, куруқ ачитқи (хамиртуруш) сувда эритилади. Шу тартибда тайёрланган эритмадан буюм ойнасига бир томчи томизиб, усти қоплагич ойна билан ёпилади.



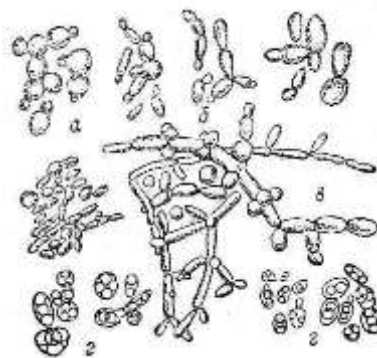
77-расм. Сув
ҳаммоми-нинг

Препаратда куртакланиш йўли билан кўпаяётган сахаромицес серевизия (*Saccharomyces cerevisiae*) замбуруғи борлиги кўзга ташланади. У овал шаклда бўлади. Шу препаратнинг ўзида бошқа шаклдаги замбуруғларни ҳам кўриш мумкин (79-расм).



78-расм. Спиртли бижғиш
процессини кузатиш асбоби:

а — шакар билан ачитқи аралаш эритма солинган колба; б — сув Ҳаммоми, в — сгшртли бижғиш процессида ажралиб чиққан CO_2 ни тўплаш учун қўйилган сувли пробирка; г — штатив; д — спирт лампа.



79-расм. Ачитқи замбуруғлари:

а - сахаромицес серевизия (*Saccharomyces cerevisiae*); б - сахаромицес глепсоидес (*Saccharomyces eleipsoideus*); в — куртакланиш процесейда ҳсил бўлган колония; г-спорали Ҳужайралар.

Замбуруғлар таркибида ҳайвон крахмали—гликоген тўпланади. Уни аниқлаш учун препаратга йод эритмаси томизилади. Йод таъсирида гликоген қизғиш-қўнғир рангга киради.

Эслатма: гликоген в3 гранулёзайи **аниқлашдан** олдин препаратдаги мазокни спирт лампа алангасида эмас, балки спирт-эфир аралашмаси билан фиксациялаш зарур.

Сут кислотали бижғиш

Одам фаолиятида сут кислотали бижғиш процесси қадимдан қўлланилиб келинган бўлса-да, унинг биологик процесс эканлигини ва унда тирик организмлар иштирок этишини 1960 йилда Луи Пастер исботлаб берди. Бу процесс маносахаридлар парчаланиб, икки молекула сут кислота ҳосил бўлиши билан характерланади. Бу реакция қуйидагича боради:



Реакция вақтида ҳосил бўладиган энергия бу процессни қўзғатувчи бактериялар томонидан сарфланади. Бижғиш процессида ҳосил бўладиган сут кислота кўп бактериялар учун антисептик модда — захар ҳисобланади. Шунга кўра, сутни чиритувчи бактериялар таъсиридан сақлаш мақсадида, қатик ва бошқа маҳсулотлар тайёрлашда сут кислотали бижғиш процессидан фойдаланилади.

Сут таркибида озик моддалар кўп бўлганлиги сабабли унда турли-туман бактериялар ҳам тобора кўпаяверади. Шунанг учун қатик ивителидиган бўлса, сут пастерланади, яъни ярим соат давомида 70—75° гача иситилади. У совитилгандан сўнг унга сутни бижғитувчи бактериялар ачитқиси қўшиб аралаштирилади. Пастерланган сутдан ивитилган қатик жуда ширин ва қимизак мазали бўлади. Кефир ва қимиз тайёрлаш ишлари ҳам сут кислотали бижғиш асосида бажарилади. Кефир ва қимиз тайёрлашда сут кислотали ва спиртли бижғиш процессларини қўзғатувчи тирик микроорганизмлардан фойдаланилади. Қимиз таркибида 2% спирт ва 1% сут кислота бўлгани ҳолда, кефир таркибида уларнинг ҳар қайсиси 1% ни ташкил қилади. Қимиз ва кефир таркибида спирт кўпроқ тўпланишини таъминлаш мақсадида улар паст (15°C) температурали жойда сақланади. Агар температура 20° дан ошиб кетса, у ҳолда сут кислота спиртга нисбатан кўп ҳосил бўлади.

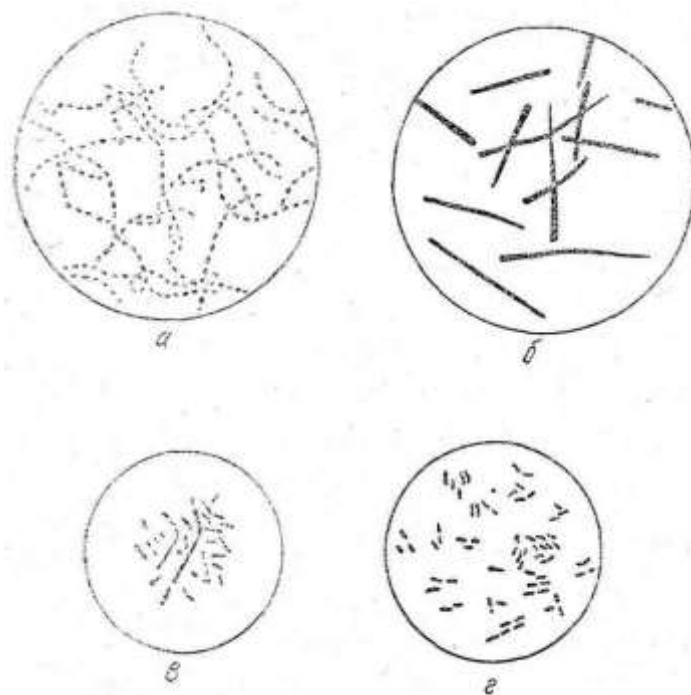
Сут кислотанинг кўп ёки оз тўпланниши сут таркибидаги нейтралловчи моддага боғлиқ. Сут кислотани казеин нейтраллайди.

Казеин таркибидаги кальций элементи сут кислота билан қўшилиб туз ҳосил қилади. Казеиннинг ўзи эса эриб сузма (творог) шаклида пастга чўқади. Бижғиётган муҳитга оқ бўр қўшилса, туз кўп (60—70% гача) тўпланади.

Сут кислотали бижғиш процессини қўзғатувчи бактериялар табиатда кенг тарқалган бўлиб, сабзавотларни тузлашда ва ем-хашакни силослашда ишлатилади. Ем-хашакни силослаш вақтида сут кислотали бижғиш процессини қўзғатувчи бактерияларнинг актив культуралари ем-хашак орасига сепилади.

Сут кислотали бижғиш процессида қуйидаги бактериялар иштирок этади:

1. Стрептококкус лактис (*Streptococcus lactis*) юмалоқ спора ҳосил қилмайдиган бактериялар. Улар занжир ҳалқалари шаклида бир-бирига уланиб туради ва 30—38° иссиқда яхши ривожланади. Улар моно ва дисахаридларни осонлик билан бижғитиши натижасида 1% гача сут кислота ҳосил қилади (80-расм, *а*).



80-расм. Сут кислотали бижғиш процессида иштирок этадиған бактериялар:

а — стрептококкус лактис (*Streptococcus lactis*); б — бактериум булгарикум (*Bacterium bulgaricum*); в — бактериум куккумерис ферментати (*Bacterium fermentati*); г — бактериум

2. Лактобактериум булгарикум (*Lactobacterium bulgaricum*) ўлчами 15 дан 20 мкм гача бўлган спорасиз таёқчалардир. Бу бактериялар глюкоза, галактоза ва лактозани бижғитиб, 3,2% гача сут кислота ҳосил қилади. 40—48° иссиқда яхши ривожланади (80-расм, б).

3. Бактериум делбрюкки (*Bacterium delbriickii*) болгар таёқчасига ўхшайди. Бу бактериялар саноатда сут кислота ҳосил қилиш учун ишлатиладн. Уларнинг озикланиш муҳитига оқ бўр кўшилса, тўпланган сут кислота миқдори 10% га етиб қолади.

4. Бактериум брассика (*Bacterium brassica*) ва бактериум куккумерис ферментати (*Bacterium coccum fermentati*). Бу бактерияларнинг биринчиси карам, иккинчиси эса бодринг тузлашда иштирок этади (80-расм, в).

Булардан ташқари, табиатда бактериум коли (*Bacterium coli*) номли бактериялар ҳам кенг тарқалган бўлиб, улар одам ва ҳайвонлар ичагида яшайди (80-расм, г). Бу бактериялар иштирокида шакар бижғиганда сут кислотадан ташқари, сирка кислота, CO_2 ва водород ҳосил бўлади.

14- машғулот. Сут кислотали бижғиш процессида ҳосил бўладиган сут кислотани ва бу процессни қўзғатувчи бактерияларни аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: микроскоп, буюм ойналари, бактериал илмоқ, қатик, тузланган бодринг ва карам намакоблари, 1% ли фенол эритмаси, FeCl_3 нинг 1% ли эритмаси, Лёффлер синькаси ва фуксин бўёғи.

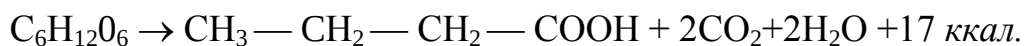
Сут кислота ҳосил бўлганлигини аниқлаш учун Уффельман реакцияси ўтказилади. Бунинг учун пробиркага фенолнинг 1% ли эритмасидан 3 мл қуйиб, унга бир неча томчи FeCl_3 эритмаси қўшилса, аралашма кўк рангга киради. Шу пробиркага тузланган бодринг ёки карам намақоби қўшилгандан кейин эритманинг ранги сарғайиши таркибида сут кислота борлигини билдиради. Қатик таркибида сут кислота борлигини аниқлашда ҳам шундай ходиса юз беради.

Қатикдан қуйидаги усулда препарат тайёрланади: оддий буюм ойнасида қатикдан мазок тайёрланиб қуриштилади. Фиксация қилиш учун мазок устига 10 томчи спирт-эфир аралашмаси томизилиб, сўнгра 5—10 минут тинч қолдирилади. Спирт-эфир аралашмаси таъсирида қатик таркибидаги ёғ заррачалари йўқолади, бактериялар эса нобуд бўлиб, ойнага ёпишиб қолади. Маълум вақтдан сўнг мазок Лёффлер синькаси билан бўялади ва микроскопда кўрилади. Бунда овал шаклдаги ва бир-бирига занжир ҳалқаларига ўхшаб уланган стрептококкус лактис ҳамда узун таёқча шаклидаги бактериум булгарикум кўринади (80- расм, а, б).

Бодринг намақобида бактериум куккумерис ферментати, карам намақобида эса бактериум брассика номли бактериялар майда таёқча шаклида кўринади. Уларни кўриш учун намақобдан мазок тайёрланиб, ҳавода қуриштилади, спирт лампа алангасида фиксацияланади ва бўялгандан сўнг микроскопда кўрилади.

Мой кислотали бижғиш

Табиий шароитда мой кислота ҳосил бўлишини 1814 йили немис олими Шеврель аниқлаган. Мой кислотали бижғиш процессида мой кислота ҳосил бўлишида тирик организмлар иштирок этганлигини ва бу биологик процесс эканлигини 1861 йили Луи Пастер исботлаб берди. Бу процесс қуйидаги тенглама асосида боради:



Булардан ташқари, мой кислотали бижғиш процессида сут ва сирка кислоталар, этил ва бутил спиртлар, ацетон ва метан (CH_4) ҳам ажралиб чиқади.

Мой кислотали бижғишни кўзғатувчи бактерияларнинг кўпчилиги ташқи муҳитга кучли ферментлар ишлаб чиқаради. Бу ферментлар таъсирида целлюлоза гидролизланади (парчаланади). Целлюлоза ва крахмалнинг парчаланиши натижасида ҳосил бўладиган оддий шакарларни (юқоридаги реакция асосида) мой кислотали бижғишни кўзғатувчи бактериялар бижғитади. Бунда иштирок этадиган бактериялар кислородли шароитда яшай олмайди, яъни улар анаэроб бактериялар группасига киради. Бу бактериялар табиатда кенг тарқалган бўлиб, ифлос сувда, сут, пишлоқда, тупроқда ва бошқа турли муҳитда учрайди. Улар спора ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлиб, споралари 1—2 соат қайнатилганда ҳам ҳаёт фаолиятини сақлаб қолади.

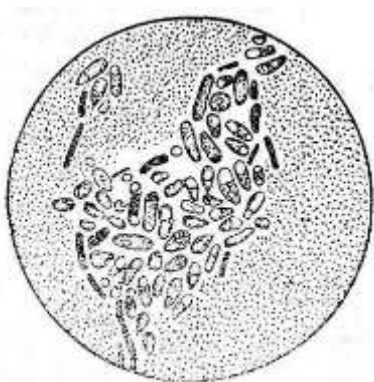
Мой кислотали бижғиш процесси бир томондан фойдали бўлса, иккинчи томондан зарар келтиради. Фойдали томони шундаки, бу процесс ёрдамида ёғ кислоталар, бутил ва этил спиртлар, ацетон ва бошқа маҳсулотлар олинади. Бактерияларнинг баъзи бир турлари, жумладан, клостридиум пастеурианум (*Clostridium pasteurianum*) молекуляр азотни ўзлаштиради. Бу процесс қишлоқ хўжалиги ўсимликлари учун зарур бўлган азот бирикмаларининг тўпланишида жуда катта роль ўйнайди. Агар сариеғ, пишлоқ, сут ва бошқа маҳсулотларга мой кислотали бижғишни кўзғатувчи бактериялар тушиб қолса, уларда ҳосил бўлган мой кислота ва бошқа бирикмалар таъсирида маҳсулотларнинг сифати пасаяди. Мой кислотали бижғиш процессининг бу томони халқ хўжалиги учун жуда зарарлидир.

15- машғулот. Мой кислотали бижғишни кўзғатувчи микроорганизмларнинг электив культурасини тайёрлаш

Асбоб ва реактивлар: колба, арпа майсаси, оқ бўр, каучук тикин, электр плитка, шакарнинг 5% ли эритмаси, тупроқ, пробирка, 96% ли спирт, концентрланган сульфат кислота, буюм ва коплағич ойналар, спирт лампа, Лёффлер синькаси ва карбол-фуксин бўёғи, микроскоп, иммерсион мой, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ эритмаси.



81-расм. Мой кислотали бижғиш процесси кузатиладиган асбоб.



82-расм. Мой кислотали бижғиш процессини кўзғатувчи бактериялар

—
клостридиум пастеурианум
(*Clostridium pasteurianum*).

Мой кислотали бижғиш процессини кўзғатувчи бактерияларни тўплаб олиш учун: 1) озиқ муҳити таркибида тезда шакар (масалан, крахмал)га айланидиган моддалар бўлиши; 2) анаэроб шароит яратиш; 3) спораларнинг иссиққа чидамлилигидан фойдаланиш; 4) озиқ муҳитида нейтрал шароит яратиш зарур.

Анаэроб шароит яратиш учун 200 мл хажмли колбага шакарнинг 5% ли эритмасидан 150 мм қуйиб, унга азот манбаи сифатида 5 г майдалапган арпа майсаси ва нейтраллаш учун 2 г оқ бўр қўшиб қайнатилади. Қайнаб турган суюқликка бир қисм тупроқ қўшиб, колбанинг оғзи расмда кўрсатилгандек, эгри най ўрнатилган каучук тикия билан беркитилади ва температураси 30° ли термостатга қўйилади (81-расм). Тупроқ қайнаб турган суюқликка ташланганда таркибидаги спорасиз ва кўпчилик спорали бактериялар нобуд бўлади. Мой кислотали бижғишни кўзғатувчи бактерияларнинг споралари эса ҳаёт фаолиятини сақлаб

колади ва суюқлик совигандан кейин тезда ривожлана бошлайди.

Орадан 3—4 кун ўтгандан кейин мой кислотали бижғиш процесси борганлиги ва бу процессда иштирок этган бактериялар текширилади. Бу иш куйидагича олиб борилади:

1. Мой кислотали бижғишда ажралиб чиқадиган карбонат ангидрид ва водородни йиғиб олиш учун сув тўлдирилган пробиркага эгри найнинг иккинчи учи кийгизилиб, колбадан ажралиб чиқаётган газлар пробиркага йиғиб олинади. Пробирканинг оғзини бармоқ билан беркитиб, тиниқ барит суви солинган идишга ботирилади. Агар барит суви лойқаланса, бу ҳодиса пробиркада CO_2 гази тўпланганлигини кўрсатади. Пробиркада водород тўпланганлигини аниқлаш учун эса ундаги лойқаланган сувнинг ярмини тўкиб, оғзи юқорига қаратилади ва унга дарҳол ёниб турган гугурт чўпи яқинлаштирилади. Водород ҳаво билан бирга портловчи аралашма ҳосил қилганлиги сабабли у портлайди.

2. Колбадаги эритмадан 2—3 мл олиб, унга 1 мл 96% ли спирт ва 10 томчи концентрланган сульфат кислота томизиб қиздирилади. Ҳосил бўлган мой кислота аралашмадаги спирт билан бирикиб, мураккаб эфир ҳосил қилади. Пробиркадан ажралиб чиққан ёқимли ҳид реакция борганлигини ва бижғиш вақтида мой кислота ҳосил бўлганлигини кўрсатади.

3. Бациллаларни аниқлаш учун бактериал препарат тайёрланади ва уларнинг спораси, ҳам вегетатив хужайраларини аниқлаш учун шу препаратнинг ўзи икки қайта бўялади. Бунда вегетатив хужайралар кўк рангда, уларнинг спораларн қизил ёки пушти рангда товланади (82-расм).

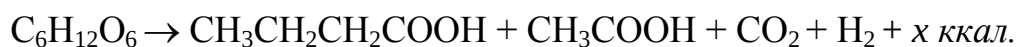
Целлюлозанинг бижғиши

Ўсимликлар ҳужайрасининг пўсти, асосан, целлюлоза деб аталадиган моддадан тузилган. Ер юзасига ва тупроқ орасига тушиб қолган ўсимлик қолдиқлари турли бактерия, замбуруғ ва бошқа тирик организмлар таъсирида парчаланади. Целлюлозани фақат ўз организмда целлюлоза ва целлюбиаза ферментлари ишлаб чиқарадиган бактериялар парчалайди. Табиатда бу бактериялар борлигини биринчи марта рус микробиологи В. А. Омелянский аниқлаган ва целлюлоза бижғиши процессининг химиявий моҳиятини кўрсатиб берган. Унинг айтишича, биринчи босқичда бактериялар томонидан ажратилган ферментлар таъсирида целлюлоза оддий шакарларга парчаланади. Бу процесс қуйидагича боради:



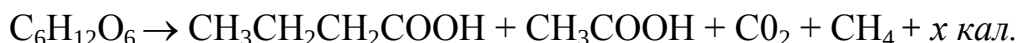
Иккинчи босқичда бактериялар глюкозани мой ва сирка кислоталаргача, водород ва метан газларигача парчалайди. Ҳосил бўлган маҳсулотларнинг турига қараб, бу процесс *водородли ёки метанли бижғиши* деб аталади. Целлюлозанинг бижғишида бактерияларнинг қуйидаги турлари иштирок этади:

1. Водородли бижғишда бациллус целлюлоза гидрогеникум (*Bacillus cellulosaе hydrogenicum*) номли бактерия иштирок этади за реакция қуйидагича боради;



Бу бактериянинг узунлиги 10—12 мкм келади. Споралари вегетатив ҳужайранинг бир қутбда жойлашганлиги сабабли, барабан таёқчасига ўхшаб кўринади.

2. Метанли бижғишда бациллус целлюлоза метаникус (*Bacillus cellulosaе methanicus*) номли бактерия иштирок этади. Реакция вақтида водород ўрнига метан газ и ажралиб чиқади. Бу реакция қуйидагича боради:



Метанли бижғишда иштирок этадиган бациллалар ҳужайрасининг ҳажми водородли бижғишда иштирок этадиган бациллаларнинг ҳажмидан кичик бўлади. Целлюлоза бижғишини қўзғатувчи бактериялар В. А. Омелянский номи билан *Bac. Omelanskii* деб юритилади.

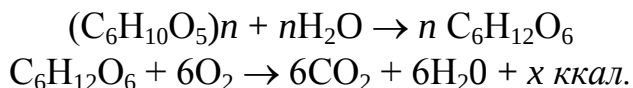
Водородли бижғишда бир молекула мой кислотага 1,7 молекула сирка кислота тўғри келгани ҳолда, метанли бижғишда бир молекула мой кислотага 9 молекула сирка кислота тўғри келади. Юқорида айтиб ўтилган бактериялар ҳужайрасида химиявий тузилиши жиҳатидан крахмалга ўхшаган гарнулёза моддаси учрайди.

Фекалийда учрайдиган бациллус целлюлоза дизолвенс (*Bacillus cellulosaе dessolvens*) номли бацилла ҳам целлюлозани парчалашда иштирок этади. Унинг узунлиги 12 мкм бўлиб, овал шаклдаги спора ҳосил қилади.

Целлюлозани 31—51° да парчалаб, мой ва сирка кислоталар, этил спирт, карбонат ангидрид ва водород ҳосил қилади.

Юқорида айтиб ўтилган бактериялар целлюлозани анаэроб шароитда бижғитади, шунинг учун ҳам *облигат анаэроб бактериялар* деб аталади.

Аэроб шароитда яшовчи миксобактериялардан целлфалцикула целлвибрио (*Cellfalcicula cellvibrio*) ва актиномицетлар целлюлозани парчалашда иштирок этади. Бу тирик организмлар биринчи галда целлюлозани шакарларга парчалаб, кейин шакарларни карбонат ангидрид ва сувгача оксидлайди. Бу реакция қуйидагича боради:

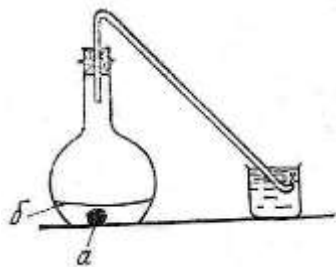


16- машғулот. Целлюлозани бижғитувчи бактерияларни аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: колба, фильтр қоғоз, $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, MgSO_4 , K_2HPO_4 , NaCl , CaCO_3 тузлари ва FeSO_4 тузининг 1% ли эритмаси, эгри най ўрнатилган каучук тиқин, сув солинган идиш, микроскоп, буюм ойналари, фуксин бўёғи, спирт лампа.

Целлюлозани бижғитадиган бактерияларни тўплаб олиш учун қуйидаги тажриба ўтказилади:

500 мл водопровод сувида 0,5 г $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, 0,5 г K_2HPO_4 , 0,25 г MgSO_4 , 0,1 г NaCl ва озик муҳитиини нейтраллаш учун озгина CaCO_3 ҳамда 2 томчи 1% ли FeSO_4 тузи эритмаси қўшиб эритилади. Эритмага целлюлозани бижғитувчи бактериялар юктириш учун унга текшириладиган тупроқдан 1 г чамаси қўшиб аралаштирилади. Сўнгра 250 мл ҳажмли колба ичига фильтр қоғоз қўйилиб, у юқорида тайёрланган суюқ аралашма билан тўлдирилади. Колбанинг оғзи расмда кўрсатилгандек қилиб, эгри шиша най ўрнатилган каучук тиқин билан беркитилади. Найнинг иккинчи учи сув тўлдирилган идишга ботирилади (83-расм). Шундан кейин колба ва сувли идиш 35° иссиқ термостатга қўйилади.



83-расм. Целлюлозанинг
бижгишини кузатиш
асбоби:

a — тупроқ *б* — фильтр
қоғоз.



84-расм. Целлюлозани
бижғитувчи бактериялар.
Бациллус Омелямскнй (*Bacillus*
Omelanski):

a — ёш ҳужайралар; *б* — спорали вегетатив

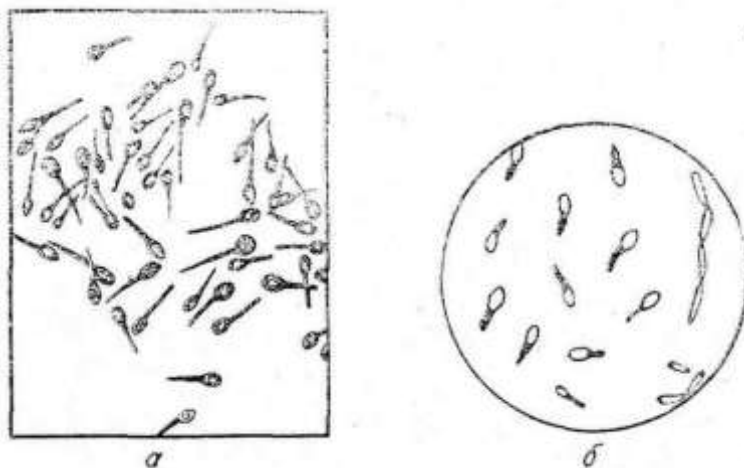
Бижғиш процесси натижасида эритма лойқаланади, фильтр қоғоз эса шилимшиқланади ва сарғаяди. Газларнинг ҳаракатланиши натижасида толаларга ажралган ва титилган фильтр қоғоз парчалари колба оғзигача кўтарилиб, тўпланади. Бижғиш натижасида ҳосил бўлган газлар эгри най орқали ташқарига чиқади. Мой ва сирка кислоталар эса эритма таркибида қолади.

Клетчаткани бижғитувчи бактерияларни кўриш учун юқорига кўтарилган қоғоз парчаларини ёки колба ичидаги суюқлик остига чўккан фильтр қоғозни олиб, буюм ойнасида мазок тайёрланади. У қуритилгандан сўнг фуксин бўёғи билан бўялиб, микроскопнинг иммерсион объективи орқали қаралади. Бу мазокда таёқчасимон бациллус Омелянский кўринади (84-расм). Бу бактерия хужайрасининг бир учида спора ҳосил бўлганлиги учун у барабан таёқчасига ўхшайди.

Пектиннинг бижғиши

Ўсимликлар танасида доим бўладиган ва хужайраларни бир-бирига ёпиштириб турадиган моддани немис олими Эрлих *пектин* (студень — куйқа) деб атаган. Пектнн совуқ сувда эримаса ҳам, сувда қайнатилганда гидролизланади. Натижада 65% гидропектин ва 35% арабан (арабиноза ангидрид) ҳосил бўлади. Гидропектиннинг асосий қисмини пектин кислота ташкил этади. Пектиннинг бижғишида иштирок этадиган бактериялар пектиназа ферменти ишлаб чиқаради. Пектиннинг бижғиш процессидан зиғир, наша, каноп сингари толали ўсимликларнинг толасини ажратиб олишда фойдаланилади. Бу процесс *ивитиш* деб аталади. Сувда ва шудрингда ивитиш усули бор.

Сувда ивитишда анаэроб бактериялар — асосан клостридиум пектиноворум (*Clostridium pectinovorum*) ва клостри диум фельзинеум (*Clostridium felsineum*) иштирок этади (85-расм, *a*, *б*).



85-расм. Пектинни биџитувчи бактериялар:

а — клостридум пектиноворум (*Clostridium*

Фрибес томонидан аниқланган гранулобактер пектиноворум спора ҳосил қиладиган бацилла бўлиб, узунлиги 10—15 мкм ва йўғонлиги 0,8 мкм келади. Спораси таёқчанинг бир учида жойлашгани учун бу бактерия барабан таёқчасига ўхшайди.

Булардан ташқари, спора ҳосил қилувчи шарсимон бактериялар ҳам иштирок этади. Сувда ивитиш процесси икки даврга бўлинади. Биринчи давр 12—13 соат давом этади. Бу даврда кўп миқдорда карбонат ангидрид ва водород ажралиб чиқиши натижасида озик муҳити кўпиради. Бу ҳодиса пектиннинг гидролизланганини кўрсатади. Иккинчи даврда гидролизланган пектин ҳисобига ҳосил бўлган шакарлардан мой ҳамда сирка кислоталар ва қисман сут кислота ҳосил бўлади.

Шудрингда ивитишда аэроб бактериялар ва моғор замбуруғлари иштирок этади. Сувда ивитишга қараганда шудрингда ивитиш жуда секин боради. Агар ивитиш вақтида муқор столонифера (*Mucor stolonifera*) номли моғор замбуруғи иштирок этса, у ҳолда процесс тезлашади. Чунки у температуранинг паст бўлишига қарамасдан, куз фаслида тўкилган барглари ҳам осонлик билан чирита олади.

Канопни ивитишда И. А. Макринов томонидан аниқланган бациллус канмабис (*Bacillus cannabidis*) номли бацилла иштирок этади. Бу процессда мой кислотадан ташқари, валериан кислота ва этил спирт ҳосил бўлади.

17- машғулот. Пектинни бижғитиш ва зиғирни ивитиш процессларида иштирок этадиган бактерияларки аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: куритилган зиғирпоя, қайчи, пробиркалар, пробиркаларни кислородсиз шароитга жойлаштириш учун керакли идишлар, 10% ли пирогаллол ва КОН эритмалари, микроскоп, буюм ойналарн, фуксин, иммерсион мой.

Бу машғулотни ўтказиш учун аввал 5—6 см узунликдаги курук зиғирпоялар дасталанади. Сўнгра бу дасталар дистилланган сувга солиб 10 минут қайнатилади. Кейин пробиркага 10 мл сув қуйиб устига қайнатилган зиғирпоя дасталари солинади ва яна 15 минут қайнатилади, яъни стерилланади. Бу стерилламган суюқликка клостридиум пектиноворум бактериясини юктириш учун намланган ва майдаланган зиғирпоянинг бир парчаси пробиркага ташланади. Бу бактериялар фақат анаэроб шароитда ривожланади. Шу сабабли пробиркалар қўйиладиган идиш ичида кислород бўлмаслиги керак. Кислородсиз идишга қўйилган пробиркалар 30—35° иссиқ термостатга жойланади.

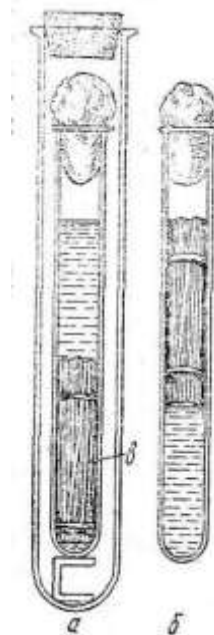
Эслатма: пробиркалар қўйиладиган идишдаги кислородни йўқотиш учун идиш ичига 5—10 мл 10% ли пирогаллол ва 5—10 мл 10% ли КОН эритмаси қуйилади. Бу аралашма қуйиладиган жой расмда [шаклда кўрсатилган.

Пробиркага солинган зиғирпоя таркибидаги пектин моддаси шакар ва бошқа маҳсулотларгача парчаланади. Шакарнинг бижғиши вақтида ҳосил бўладиган газлар (CO_2 , H_2) таъсирида пробиркадаги зиғирпоя дастаси юқорига кўтарилади, эритма эса лойқаланади (86-расм, б).

Ишни бажариш учун пробиркадаги дастадан бир дона поя олиб, унинг луб толалари бир-биридан ажралиш-ажралмаслиги текширилади. Сўнгра унинг бир учини бармоқ билан сиқиб, шираси буюм ойнасига томизилади, яъни мазок тайёрланади. Бу мазок куригандан кейин фиксациялангандан сўнг фуксин билан бўялиб, микроскопда қаралганда, жуда ингичка узун бациллалар кўринади. Уларнинг учига спора ҳосил бўлганлиги сабабли, улар барабан таёқчасига ўхшайди.

Этил спиртнинг сирка кислотагача оксидланиши, яъни сирка кислотали бижғиш

Этил спирт бактериялар таъсирида оксидланиб, сирка кислота ҳосил қилишини 1862 йилда Пастер исботлаб берган. Шу билан бирга у бу процессда иштирок этадиган тирик организмларнинг тоза культурасини тайёрлаш усулини ҳам ишлаб чиққан.



**86-расм. Пектинни
бнжғитишда зиғирпоя
дасталарини
жойлаштириш
тартиби:**

а — зиғирпоя дасталарининг
бижғиш прицссси бошланишидан
олдннги ҳлати; б — бижғиш
процесси тугагидан кейинги
ҳлати; в — зиғирпоя дасталари.

Сирка кислотали бижғиш процессини қўзғатувчи бактериялар табиатда кенг тарқалган. Улар спора ҳосил қилмайдиган аэроб организмлардир. Спиртнинг оксидланиш процесси қуйидагича боради:



Сирка кислотали бижғишда иштирок этадиган бактериялар ёки ацетобактер саноатда сирка кислота олиш учун ишлатилади. Сирка кислотали бижғиш процессида *Acetobacter xylinum* номли бактерия (87-расм, а) муҳитда 4,5% гача сирка кислота ҳосил қилади, аммо у сирка кислотани сув ва CO_2 газигача оксидлаш хусусиятига ҳам эга. Бу бактерия қалин тоғайсимон шилимшиқ парда ҳосил қилади. Унга йод ва H_2SO_4 таъсир эттирилса, кўк рангга бўялади. Ацетобактер ачитқи замбуруғлари билан биргаликда «чой кваси» деган ичимлик тайерлашда ишлатилади.

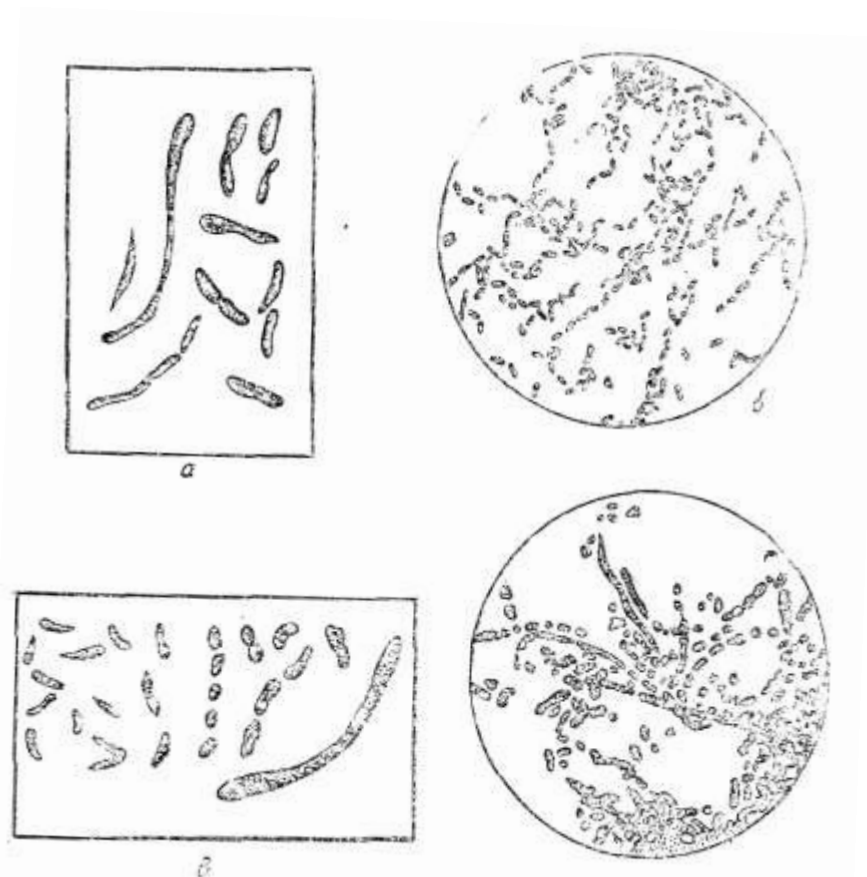
Сирка кислотали бижғиш процессида асосан қуйидаги бактериялар иштирок этади:

1. Ацетобактер ацети (*Acetobacter aceti*) занжир ҳалқалари шаклида бири-бирига уланган калта таёкчалардан иборат (87-расм, б). Спора ҳосил қилмайди. Бу бактерия кўпинча пиво юзасида учрайди ва муҳитда 6% гача сирка кислота тўплайди. Ацетобактер ацети нормал ривожланиши учун температура 30—34° бўлиши зарур. Температура 40°С га кўтарилса, унинг инволюцион (ўзгарган) формалари ҳосил бўлади. Инволюцион формаси чўзинчоқ ёки ноксимон шаклга киради.

2. Ацетобактер орлеанензе (*Acetobacter orleanense*) кўпинча узум винолари юзасида зич парча ҳосил қилади. Пардаси йод таъсирида сарик рангга бўялади; 9,5% гача сирка кислота ҳосил қилади (87- расм, в).

3. Ацетобактер пастеурианум (*Acetobacter pasteurianum*) нинг хужайралари калта таёкча шаклида бўлиб, ташқи кўринишидан ацетобактер ацетига ўхшайди (87-расм, г).

Сирка кислотали бижғиш процессини қўзғатувчи бактериялар ҳосил қиладиган парда бир хилда бўлмаслиги ва йод таъсирида ҳар хил рангга бўялиши уларни бир-биридан ажратиб олишда ва турини аниқлашда катта роль ўйнайди.



87-расм. Сирка кислотали бижғиш процессида иштирок этадигап микроорганизмлар:

а — ацетобактер ксилимум (*Acetobacter xylinum*);
 б — ацетобактер ацети (*Acetobacter aceti*); в — ацетобактер орлеанензе (*Acetobacter orleanense*); г — ацетобактер пастеурианум (*Acetobacter pasteurianum*).

18- машғулот. Спиртнинг оксидланиши процессида иштирок этадиган сирка кислота бактерияларини тўплаш ва аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: конуссимон колбалар, пиво, шакар, йод эритмаси, буюм ойнаси, микроскоп, FeCl_3 тузи эритмаси, эритмани нейтраллаш учун кристаллик сода.

Сирка кислотали бижғишда иштирок этадиган бактериялар яхши ривожланиши учун кислоталилик даражаси билан температура ўртасида муайян нисбат сақланиши зарур. Чунончи, температура 40° , 35° , 30° , 25° , 20° , 15° ; эритмадаги кислота микдори шунга мувофиқ 0, 5, 10, 15, 20, 25% бўлиши керак.

Бу машғулотни ўтказиш учун 4 та конуссимон колба олиниб, уларнинг ҳар қайсисига 50 мл дан пиво қўйилади ва ичида 2 г дан шакар эритилади. Биринчи ва иккинчи колбаларга тегилмайди. Учинчи колбадаги эритманинг кислоталилиги 10% га, тўртинчи колбадаги эритмаиики 20% га етгунча сирка кислота қўйилади. Колбаларнинг оғзи пахтадан ясалган тикин билан беркитилади. Биринчи ва учинчи колбалар 30° ли термостатда, иккинчи ва тўртинчи колбалар эса уй температурасида сақланади.

Колбалардаги эритмаларнинг кислоталилик даражаси ва температура бир хилда бўлмаслиги сабабли сирка кислотали бижғишни кўзгатувчи бактерияларнинг бир неча тури ривожланади. Бу бактериялар улар томонидан ҳосил қилинган парданинг ўсиш хилига қараб, бир-биридан фарк қилинади.

1. Ацетобактер ацети (*Acetobacter aceti*) номли бактериялар шилимшиққа ўхшаш силлиқ парда ҳосил қилади. Уларнинг пардаси колба деворига кўтарилади ва йод таъсирида сарғаяди.

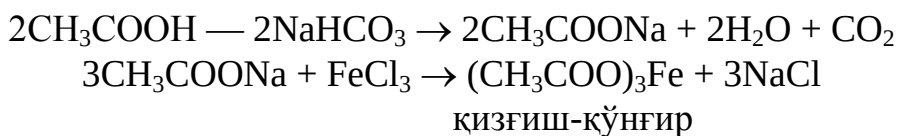
2. Ацетобактер рансенс (*Acetobacter rancens*) номли бактериялар сернам парда ҳосил қилади. Уларнинг пардаси ҳам колба деворига кўтарилади ва йод таъсирида сарғаяди.

3. Ацетобактер пастеурианум (*Acetobacter pasteurianum*) номли бактерияларнинг пардаси қуруқ ва ғадир-будур бўлиб, йод таъсирида кўкаради.

4. Ацетобактер кутзингианум (*Acetobacter kiitzingianum*) номли бактерияларнинг пардаси шилимшиқсимон силлиқ бўлади, колба деворига ёпишиб кўтарилади ва йод таъсирида кўкаради.

Бактериялар пардасининг ўсиш шакли ва йод таъсирида бўялиши текширилади:

1. Эритмада сирка кислота бор-йўқлиги аниқланади. Бунинг учун колбадан олинган суюқлик сода кристаллари билан нейтралланади ва устига FeCl_3 эритмаси қуйилади, натижада эритма қизғиш-кўнғир рангга киради. Эритма рангининг бундай ўзгариши тарққбида сирка кислота борлигидан далолат беради. Бу реакция қуйидагича боради:



2. Бактерияларнинг колба деворига ёпишган пардасидан кичик бўлакча олиб, мазок тайёрланади. У спирт лампа алангасида фиксация қилингандан кейин фуксин билан бўялиб, сўнгра микроскопда кўрилади.

МИКРООРГАНИЗМЛАР ИШТИРОКИДА АЗОТЛИ БИРИКМАЛАРНИНГ ЎЗГАРИШИ

Аммонификация процесси

Оқсил ва тарққбида азот бўлган бошқа органик бирикмалар парчаланишидан муҳитда аммиак тўплапиши *аммонификация* дейилади. Одатда, бу процесс *оқсилнинг чириши* деб айтилади. Оқсил чириши процессида аммиакдан ташқари, H_2S , индол ($\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$), метил-меркаптан (CH_3SH), фосфат кислота (H_3PO_4) ва бошқа бирикмалар ҳосил бўлади. Ўзидан ташқи муҳитга протеолитик ферментлар ишлаб чиқарадиган тирик организмларгина бевосита оқсилга таъсир қила олади ва уни парчалайди. Бошқа организмлар пайтон ва аминокислоталарни аммиаккача парчалаш мумкин.

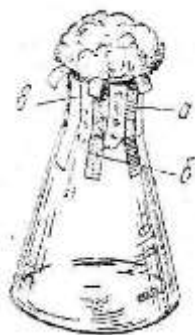
Аммонификация процессида, бактериялардан ташқари, актиномицетлар ва моғор замбуруғлари ҳам иштирок этади. Аммонификация процесси табиатда кенг тарқалган бўлиб, қишлоқ хўжалигида жуда муҳим роль ўйнайди. Бу процессда ҳайвонлар ва ўсимликлар қолдиғи таркибидаги азотли органик моддалар парчаланиб, ўсимликларнинг озикланиши учун зарур бўлган минерал моддалар ҳосил бўлади. Шунинг ҳам айтиб ўтиш керакки, агар табиатда аммонификация процесси юз бериб турмаса, ер юзаси ўсимликлар ва ҳайвонлар қолдиғига тўлиб кетган бўлар эди.

Демак, аммонификация табиатда азотнинг айланишида биринчи тартиб процесс бўлиб ҳисобланади. Бу процессда иштирок этувчи бактериялар жуда хилма-хил бўлиб, уларнинг баъзи турлари анаэроб, бошқа турлари аэроб шароитда ҳаёт кечиради. Бу процессда факультатив анаэроб бактериялар ҳам иштирок этади.

19- машғулот. Оксил чириши процессида иштирок этадиган бактерияларни аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: колба, пентон (эрувчан оксил), тупроқ, қизил лакмус қоғоз, кўрғошин ацетат $[Pb(CH_3COO)_2]$ тузи эритмаси ва оксалат кислота ($H_2C_2O_4$) шимдирилган қоғозлар, тикин тайёрлаш учун пахта, буюм ойналари, фуксин, микроскоп, бактериал илмок, иммерспон мой (кедр мойи).

Бу ишни бажариш учун 200 мл хажмли колбанинг 3/4 қисмигача 3% ли пентон эритмаси тўлдирлиб, унга 0,5 г чамаси тупроқ аралаштирилади. Тупроқ таркибидаги аэроб ва анаэроб бактериялар таъсирида бу аралашмада аммонификация процесси бошланади.



88-расм. Аммонификация процессини текшириш учун ўтказиладиган тажриба:

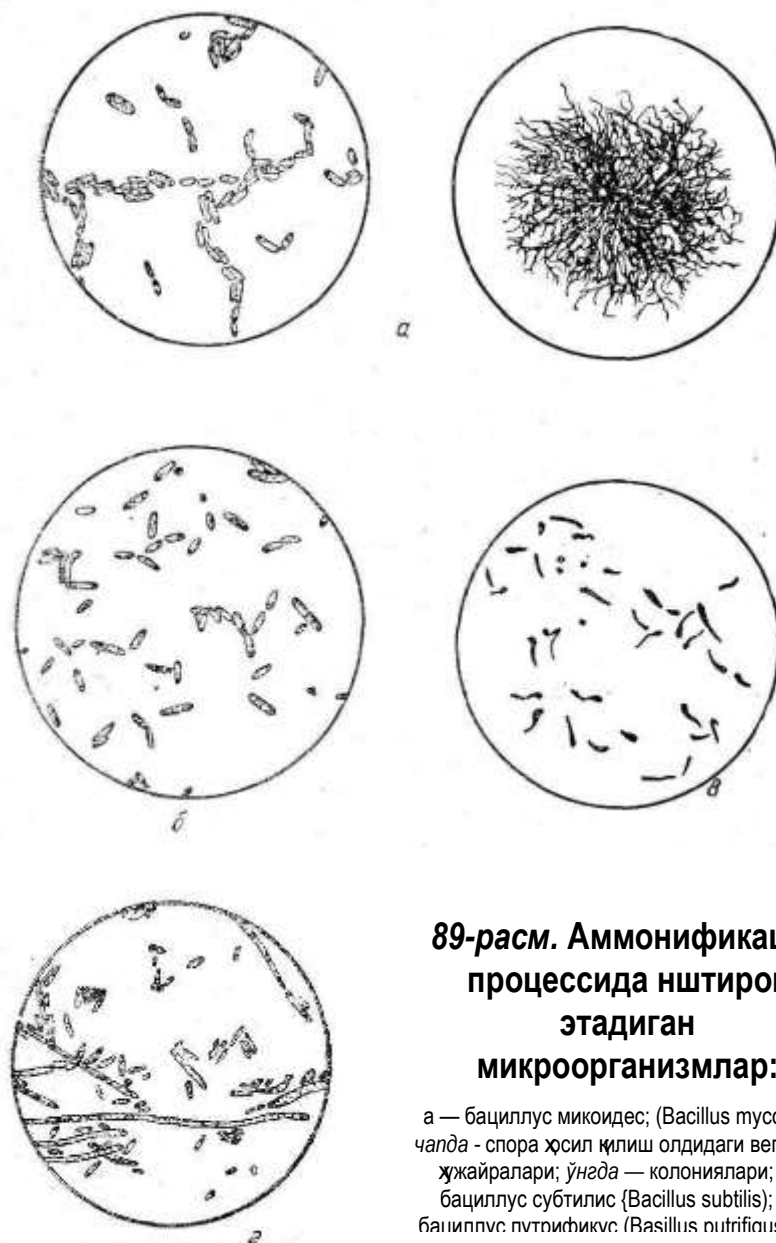
а — қизил лакмус қоғоз;
б — оксалат кислота ($H_2C_2O_4$) ва
в — кўрғошин ацетат $[Pb(CH_3COO)_2]$

Колба оғзига қўйилган пахта тикиннинг бир жойига сувда намланган қизил лакмус қоғоз, иккинчи жойига концентрланган оксалат кислота ($H_2C_2O_4$) ва учинчи жойига кўрғошин ацетат $[Pb(CH_3COO)_2]$ тузи эритмаси шимдирилган қоғоз парчалари осиб қўйилади (88-расм). Бактерияларга қулай шароит яратиш учун колба 30° иссиқ термостатга қўйилади. Орадан бир неча кун ўтгач, осиб қўйилган қоғозларнинг ранги ўзгарган-ўзгармаганлиги текширилади. Жумладан, қизил лакмус қоғоз процесс вақтида ажралиб чиққан аммиак таъсирида кўк рангга киради. Кўрғошин ацетат тузининг эритмаси шимдирилган қоғоз H_2S иштирокида қора рангга, оксалат кислота шимдирилган қоғоз индол таъсирида пушти рангга киради.

Бу реакцияларнинг ҳаммаси аммонификаторлар таъсирида пептоннинг парчаланиши натижасида ҳосил бўлган маҳсулот борлигини исботлайди.

А. Аэроб шароитда ҳаёт кечириб, оксил чиришини активлаштирувчи организмларни кўриш учун: дастлаб тоза ва қуруқ буюм ойнасининг ўртасига бир томчи сув томизилади. Сўнгра стериллаб совитилган илмоқда қолба ичидаги тупроқ юзасидан намуна олиб, буюм ойнасидаги сув томчисига яхшилаб аралаштирилади. Бу аралашмадан бир томчи олиб, бошқа буюм ойнасида мазок тайёрлагач, очиқ ҳавода қурилади. Биринчи буюм ойнасида қолган аралашма устига қоплагич ойна ёпиб, бактерияларнинг ҳаракатланиши ёки ҳаракатланмаслиги кузатилади.

Қуриштишга қўйилган препаратдаги мазок фиксацияланиб, фуксин билан бўялганидан кейин, микроскопнинг 90х ли объективи орқали қаралади ва мавжуд организмларнинг шакли, спора ҳосил қилиши аниқланади.



**89-расм. Аммонификация
процессида нштирок
этадиган
микроорганизмлар:**

а — бациллус микойдес; (*Bacillus mycoides*);
б — бациллус микойдес - спора ҳосил қилиш олдидидаги вегетатив
ҳужайралари; в — колониялари; г —
бациллус субтилис (*Bacillus subtilis*); д —
бациллус нутрификус (*Bacillus nutritivus*); е —

Микроскопда овал шаклли спора ҳосил қиладиган ҳаракатчан майда таёқчалар — бациллус микойдес (*Bacillus mycoides*) борлиги кўринади. Бу

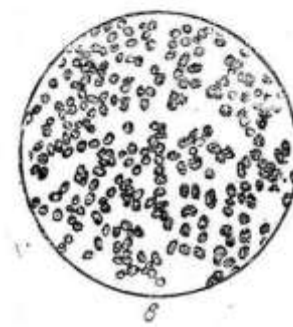
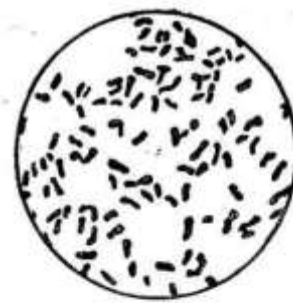
бацилла перитрих типда жойлашган хивчинли бўлиб, оксилни аммиаккача парчалайди. Қаттиқ озик муҳити юзасида замбуруғ мицеллалари (иплари) га ўхшаш колониялар ҳосил қилади (89-расм, а). Оксилнинг чиришида пичан бациллеси (*Bacillus subtilis*) ҳам актив иштирок этади (89-расм, б).

Б. Оксилнинг анаэроб шароитда парчалаишида иштирок этадиган бациллус путрификанс (*Bacillus putrificans*) нинг бор-йўқлигини аниқлаш учун колбадаги муҳит ўртасидан унинг тубигача чуқур қилиниб, илмоқда тупроқ олинади ва буюм ойнасига томизилган сувда суюлтирилади. Сўнгра бу суюқликдан, юқорида кўрсатилгандек, эзилган, томчи ва фиксацияланган препарат тайёрланади ва мпкроскопнинг кичик ҳамда катта объективлари орқали қаралади. Бунда спора ҳосил қилувчи, барабан таёқчаси шаклидаги бациллалар кўринади (89-расм, б).

Протеус вулгарис (*Proteus vulgaris*) номли бактерия эса ингичка таёқчалар шаклида кўринади (89- расм, г). Бу бактерия спора ҳосил қилмайди. Оксилнинг парчаланиши натижасида индол ва H_2S ҳосил бўлади. Агар муҳитга углевод кўшилса, карбонат ангидрид ва водород газлари ҳам ажралади. Протеус вулгарис факультатив анаэроб бактерия бўлиб, аэроб ва анаэроб шароитда яшайди. Дафтарга микроскопда кузатилганларнинг расмини чизиб, тегишли маълумотлар ёзиб олинади.

Нитрификация процесси

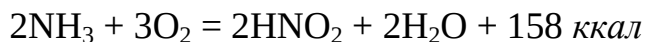
Оксил чириши натижасида тупроқда тўпланган аммиак ва аммоний тузлари ўзига хос микроорганизмлар томонидан оксидланади. Оксидланиш процессида нитрит ва нитрат кислота ҳамда уларнинг тузлари ҳосил бўлади. Бу процесс *нитрификация* деб аталади. Нитрификация процессида иштирок этадиган микроорганизмларни бошқа бактериялардан ажратиш олиш методикасини 1888—1890 йилларда рус микробиологи С. Н. Виноградский ишлаб чиққан. Аммиакнинг оксидланиши биологик процесс эканлигини олимлар эътироф этган бўлсалар-да, унда қандай мпкроорганизмлар иштирок этганлиги ўша давргача аниқланмаган эди. Бу масалани Виноградский ҳал қилди. У ўзининг амалий тажрибаларида нитрификация процессини кўзғатузчи бактериялар органик моддали муҳитда ривожлана олмаслигини аниқлаган. Бу бактериялар таркибида 0,2% га яқин органик моддалар (пептон ёки глюкоза) бўлган муҳитда ҳам яшай олмаслигига ишонч ҳосил қилган.



90-расм. Нитрификация процессининг биринчи фазасида иштирок этадиган нитрозомонас (*Nitrosomonas*) номли бактериянинг а, б, в хиллари.

Юқоридагиларии назарда тутиб, Виноградский нитробактериялар учун таркиби махсус аноорганик моддалардан иборат бўлган озиқ муҳити рецептини ишлаб чиққан. Шу билан бирга, у нитрификация процесси 2 фазадан иборат эканлигини ва унда икки хил бактерия иштирок этишини исботлаб берган.

Нитрификациянинг биринчи фазасида аммиак ва аммоний тузлари нитрит кислотагача оксидланади. Бу реакция қуйидагича боради:



Реакция охирида нитрит кислота ҳосил бўлгунча бир қанча оралик реакциялар боради. Бу реакцияларни қуйидагича ифодалаш мумкин.

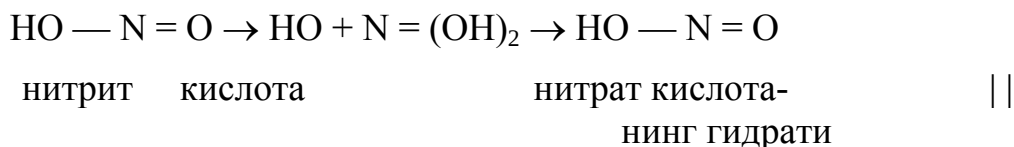


Нитрификация процессининг биринчи фазасини овал шаклдаги нитрозомонас (Nitrosomonas) бактерияси қўзғатади. Бу бактерия ҳаракатчан, хивчини танасига нисбатан 50 барабар узун бўлади. Нитрозомонас хужайрасининг йирик-майдалигига қараб, *а*, *б*, *с* тур хиллари учрайди (90-расм, *а*, *б*, *с*).

Нитрификациянинг иккинчи фазасида нитрит кислота нитрат кислотагача оксидланади. Бу фазада учбурчак шаклдаги майда таёқчасимон нитробактер (Nitrobacter) иштирок этади (91-расм). Реакцияни қуйидагича ифодалаш мумкин:



Нитрит кислотанинг нитрат кислотагача оксидланиши вақтида оралик маҳсулот сифатида нитрит кислотанинг гидрати ҳосил бўлиб, охирида у нитрат кислотага айланади. Бу реакция қуйидагича ифодаланади:



Q

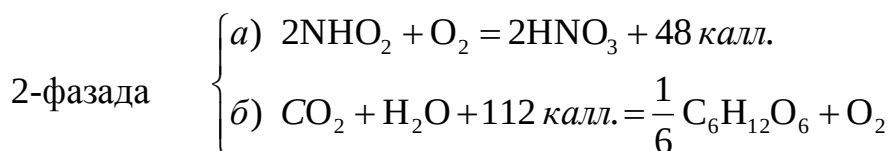
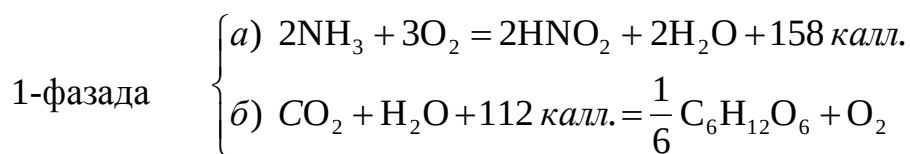
кислота

Нитрификация процессида энергия ажралиб чиқади. Бу энергия ҳисобига бактериялар карбонат ангидридни ўзлаштириб, ўз танасини тузиш учун зарур бўлган органик моддаларни (жумладан, углеводларни) тайёрлайди. Демак, бу бактериялар ҳам, яшил ўсимликлар сингари, озиқлапиш процессида карбонат ангидридни ўзлаштиради.

Яшил ўсимликлар карбонат ангидрид ўзлаштиришида қуёш (ёруғлик) энергиясидан фойдаланиб, ўзи органик моддалар синтезлайди. Бу процесс *фотосинтез* деб аталади.

Нитробактериялар карбонат ангидридни ўзлаштириб, органик моддалар ҳосил қилишида химиявий реакциялар вақтида ажралиб чиқадиган

энергиядан фойдаланади. Шунга кўра, бу процесс *хемосинтез* деб аталади. Бу реакция қуйидагича боради:



20- машғулот. Нитрификация процессини кўзғатувчи бактерияларни аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: Випоградский колбалари, текстда кўрсатилган тузлар. Несслер реактиви, рух-йод-крахмал эритмаси, дифениламин кристаллари, H_2SO_4 нинг концентранган эритмаси, NH_4Cl нинг 10% ли эритмаси, оқ чинни ликопчалар, микроскоп, буюм ойналари, Циль фуксини.

Бу машғулотни ўтказиш учун тубандаги шартларга амал қилиш керак.

1) анорганик тузлардан озик модда тайёрланади;

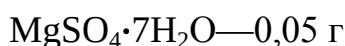
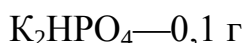
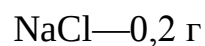
2) озик модда таркибида органик моддалар бўлмаслиги таъминланади;

3) у ҳаво билан етарли даражада таъминланади;

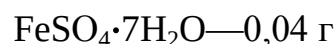
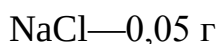
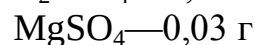
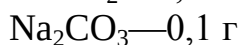
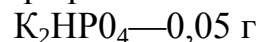
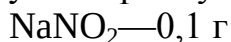
4) озик модда таркибида ишқорий шароит яратиш учун унга оқ бўр қўшилади;

5) бактерияларнинг ривожланиши учун зарур температура яратилади.

Нитрификация процессининг биринчи фазасида иштирок этадиган бактерияларни тўплаш учун 100 мл сувга тубандаги тузлар кристалли қўшиб эритилади:



Нитрификация процессининг иккинчи фазасини кўзғатувчи бактерияларни кўпайтириш учун қуйидаги тузлар эритмаси ишлатилади:



91-расм. Нитрификация процессининг иккинчи фазасида иштирок

Тайёрланган эритмалар Виноградский колбаларига 5—10 мл дан қуйилади ва ҳар бирига бир чимдимдан тупроқ қўшиб аралаштирилади. Сўнгра колбаларнинг оғзи пахта тиқин билан беркитилиб, 30° иссиқ термостатга жойланади. Орадан 15—20 кун ўтгач, биринчи фазада нитрит, иккинчи фазада нитрат кислота ҳосил бўлганлиги кузатилади ва бу процессларни қўзғатувчи бактериялар билан танишилади.

Бунинг учун оқ чинни ликопчага биринчи колбадаги суюқликдан бир неча томчи қуйилиб, устига Несслер реактиви томизилади. Агар аммиак оксидланмасдан қолса, суюқлик қизғиш-жигар ранг ёки зарғалдоқ тусга киради. Бу реакция қуйидагича боради:



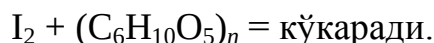
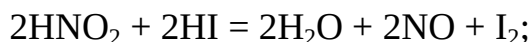
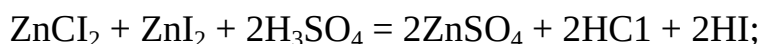
қизғиш-жигар

ранг

ёки

зарғалдоқ

Юкоридаги усулда тайёрланган эритмада нитрит кислота бор-йўқлиги рух-йод-крахмал реактиви ёрдамида аниқланади. Бунинг учун оқ чинни устига 3 томчи рух-йод-крахмал эритмаси ва бир томчи суюлтирилган сульфат кислота томизиб аралаштирилади. Сўнгра биринчи колбадаги эритмадан бир неча томчи олиб унга қўшилади. Нитрит кислота таъсирида суюқлик кўкариб қолади. Бу реакция қуйидагича боради:



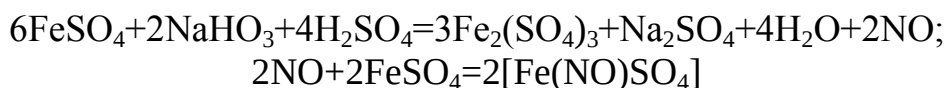
крахмал

Иккинчи колбада нитрат кислота борлигини аниқлаш учун қуйидаги реакциялар ўтказилади:

1. Ликопчага 2—3 томчи копцентрланган сульфат кислота томизилиб, унда дифениламин кристаллари эритилади. Сўнгра тайёрланган эритмага текшириладиган суюқликдан озгина қўшилади. Агар текшириладиган эритма таркибида нитрат кислота бўлса, у ҳолда эритма дастлаб кўкиш-бинафша ва кейинроқ кўкиш-қўнғир рангда товланиб турадиган булут ҳосил қилади. Бироқ нитрит кислота билан ҳам шундай реакция боради. Шу сабабли дастлаб эритмадаги нитрит кислотани йўқотиш керак. Бунинг учун текшириладиган эритмага 10% ли NH_4Cl дан бир оз қўшиб, аралашма киздирилади.

2. Қичик пробиркага FeSO_4 тузининг тўйинган эритмасидан қуйиб, унга текшириладиган суюқлик аралаштирилади. Сўнгра бу аралашмага жуда эҳтиётлик билан кучли сульфат кислота қўшилади (сульфат кислотани пробирка девори бўйлаб қуйиш керак). Агар реакция натижасида аралашмада қўнғир рангли ҳалқа ҳосил бўлса, бу ҳодиса нитрат кислота борлигини

кўрсатади. Бу реакция фақат нитрат кислотага хос бўлиб, тубандагича боради:



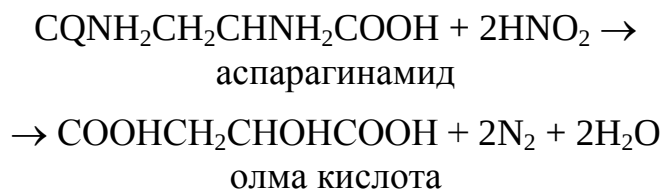
Нитрификация процессини кўзғатувчи бактериялар билан танишиш учун биринчи ва иккинчи колбадаги эритмадан иккита буюм ойнасига бир томчидан томизиб мазок тайёрланади. Мазок Циль фуксини билан бўялади ва иммерсион системада кузатилади. Биринчи колбадаги нитрозомонас (*Nitrosomonas*) бактериялари шарсимон, иккинчи колбадаги нитробактер (*Nitrobacter*) ингичка ва узун таёқчалар шаклида кўринади (90- ва 91-расмларга қаранг).

Денитрификация процесси

Мухит (тупроқ) таркибидаги нитрит, нитрат, аммиак ва амин бирикмаларидаги азот баъзи микроорганизмлар томонидан молекуляр азотгача қайтарилади. Бу процесс *денитрификация* деб аталади. Денитрификаторлар табиатда кенг тарқалган бўлиб, тупроқда, дарё ва ҳатто денгиз сувларида ҳам учрайди. Бу микроорганизмлар Шимолий муз океанида ҳам яшашини рус олими Б. Л. Исаченко аниқлаган. Потапов маълумотларига кўра, денитрификаторлар баҳор ва куз фаслларда кўпайиб, ёз фаслида камаяр экан, улар тупроқнинг 10—15 см чуқурликдаги қатламида жойлашади.

Денитрификаторлар таъсирида тупроқдаги нитратлар миқдори камайиб кетади. Шу сабабли улар қишлоқ хўжалигига зарар келтирувчи процессларни кўзғатувчи микроорганизмлар қаторига киради. Денитрификация процесси куйидаги кўринишларда содир бўлади:

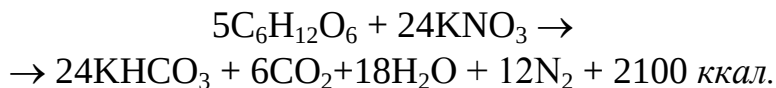
а) нитрат кислота билан амид бирикмалари ўртасида рўй берадиган реакциялар вақтида азот эркин ҳолда ажралиб чиқади, натижада тупроқ таркибидаги нитратлар миқдори камаяди; бу шаклдаги денитрификация процессида тирик микроорганизм (бактерия)лар иштирок этмайди, реакция куйидагича боради;



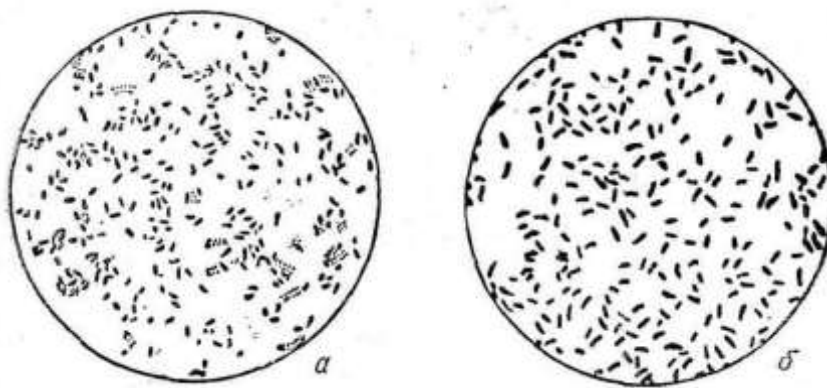
б) денитрификация процессининг иккинчи хили турли-туман бактериялар иштирокида ўтади, улар молекуляр азотдан ташқари, кўп миқдорда CO_2 гази ажратади, бу реакция натижасида тўпланган карбонат тузлари ҳисобига муҳит (тупроқ)нинг ишқорийлиги кучаяди.

Денитрификаторлар факультатив анаэроб организмлар бўлиб, аэроб шароитда углевод, спиртлар, органик кислоталар ва бошқа органик бирикмалар билан озиклапаётганида уларни оксидлаш учун эркин кислороддан фойдаланади. Анаэроб шароитда яшаган вақтида эса

моддаларни оксидлаш учун нитратлар таркибидаги кислородни сарфлайди. Шу вақтда нитратлар таркибидаги азот аммиак ва молекуляр азотгача қайтарилади. Юқорида айтиб ўтилган оксидланиш реакциялари натижасида ҳосил бўладиган энергия денитрификаторларнинг ҳаёт фаолиятида сарфланади. Бирикмадаги азотнинг молекуляр шаклга айланиш реакцияси куйидагича боради:



Тупроқдаги нитрат тузларининг денитрификаторлар томонидан парчаланишига йўл қўймаслик учун тупроқни эркин ҳаво билан бойитиш зарур. Бунинг учун қишлоқ хўжалигида ерларни чопиш ва юмшатиш тадбирлари қўлланилади. Ер чопилса, тупроқдаги нитрат тузлари сақланиб қолишидан ташқари, нитрификация процессини қўзғатувчи бактерияларнинг ҳаёт фаолияти кучаяди, натижада ўсимликлар учун зарур нитрат тузлари миқдори ҳам ортади.



92-расм. Денитрификация процессини қўзғатувчи бактериялар:

Денитрификанс (*Bacterium denitrificans*) номли бактерия перитрих хивчинланган ҳаракатчан кичик таёқчадан иборат бўлиб, спора ҳосил қилмайди (92-расм, а). У нитрит кислота тузларини эркин азотгача парчалайди. Бактериум коли (*B. coli*) номли бактерия иштирокида эса нитратларни ҳам парчалай олади.

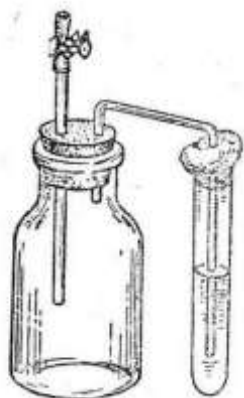
Нихоят, денитрификаторлар қаторига бўйи 0,5 мкм, эни 0,3 мкм келадиган ахромобактер стутзери (*Achromobacter stutzeri*) номли бактериялар ҳам қиради. Улар кутбли хивчинланган ҳаракатчан кичик таёқчалардан иборат бўлиб, бир-бирига уланиб занжир ҳосил қилади (92-расм, б). Сутни ачитади, шакарни парчалаганда газ ва пептопли муҳитда H_2S ҳосил бўлади. Нитратларни молекуляр азотгача қайтаради.

21- машғулот. Денитрификаторларнинг электив культурасини тайёрлаш

Асбоб ва реактивлар: колба ёки пробиркалар, глюкоза ($C_6H_{12}O_6$), K_2HPO_4 , KNO_3 ва сегнет тузи, буюм ойналари, микроскоп, шиша таёқча ёки бактериал илмоқ, концентранган H_2SO_4 , дифениламин кристаллари.

Машғулоти бажариш учун 1 л дистилланган сувда 20 г сегнет тузи, 2 г калий нитрат (KNO_3), 0,5 г калий гидрофосфат (K_2HPO_4) ва 0,2 г магний сульфат ($MgSO_4$) тузлари эритилади. Колба ёки бошқа шиша идиш эритма билан оғзигача тўлдирилиб, унга бир чимдим тупроқ қўшилади. Сўнг колбанинг оғзи эгрп шиша най ўрнатилган каучук тикин билан маҳкам беркитилиб, найнинг иккинчи учи пробиркадаги сувга ботириб қўйилади (93-расм). Тайёрланган асбоб 30° иссиқ термостатда бир неча ҳафта сақланади. Кейин қуйидаги ишлар бажарилади:

а) колбадаги эритмадан CO_2 гази ажралаётгани аниқланади: агар эритмадан газ ажралиб турса, бу ҳодиса денитрификация процесси бораётганлигини кўрсатади; энди чиқаётган газ эгри най орқали $Ba(OH)_2$ нинг тиниқ эритмаси солинган пробиркага йўналтирилса, оқ чўкма ҳосил бўлиши CO_2 гази ажралаётганини кўрсатади;



93-расм.
Денитрификация

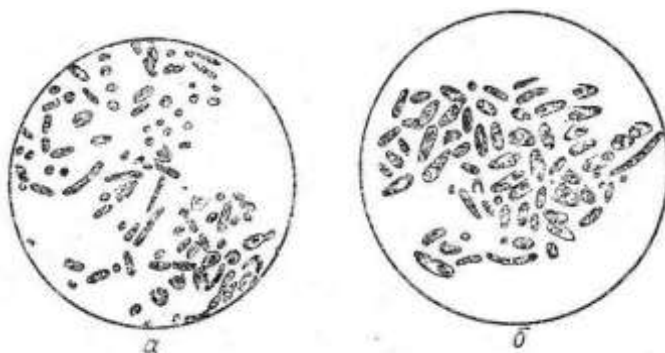
б) эритмада нитрат кислотанинг парчаланганлиги аниқланади: бунинг учун колба ёки пробиркадаги эритмадан бир неча томчи олиб, оқ чинни ликобчага ёки тагига оқ қоғоз ёзилган буюм ойнасига томизилади, сўнг унга концентранган H_2SO_4 да эритилган дифениламин аралаштирилади; агар бу аралашманинг ранги ўзгармаса текширилатган эритмадаги нитрат тузларини денитрификаторлар батамом парчалаб юборганлиги тасдиқланади;

в) колба ёки пробиркадаги эритмадан бир томчи олиб мазок тайёрланади. У қуритилиб фиксациялангандан сўнг бўялади ва микроскопнинг иммерсион системаси орқали кўрилади. Бу препаратда кичик таёқча шаклидаги бактериум денитрификанс ва бир-бирига занжирсимон уланган бактериум стutzerлар кўринади.

МОЛЕКУЛЯР АЗОТНИ ЎЗЛАШТИРУВЧИ МИКРООРГАНИЗМЛАР

Ҳавонинг таркиби 75-80% азот, 21-23,2% кислород, қолган 1-3% бошқа инерт газлардан иборат. Бир гектар ер устидаги ҳаво таркибида 80 минг тоннагача азот элементи бўлишига қарамасдан, маданий ўсимлик (экин)лар молекуляр азотни бевосита ўзлаштира олмайди. Шу сабабли, экинларни азот билан таъминлаш учун ерга таркибида азот бўлган сунъий уғит солинади. Бироқ табиатдаги молекуляр азотни баъзи кўк-яшил сувўтлар (жумладан, *Nostoc muscorum*) ва баъзи бактериялар ўзлаштириши ҳам аниқланган. Молекуляр азотни ўзлаштирадиган бактериялар борлигини биринчи марта 1893 йилда рус олимни С. Н. Виноградский аниқлаган ва унга *Clostridium pasteurianum* деб ном берган (94-расм). *Clostridium* спора ҳосил қилувчи таёқчасимон бацилла бўлиб, спора ҳосил

қилиш босқичида унинг вегетатив хужайраси дукка ўхшаб қолади. У анаэроб шароитда мрй кислотали бижғиш процессини қўзғатади.



**94- расм. Молекуляр азотни ўзлаштирувчи
клостридиум пастеурианум (*Clostridium
pasteurianum*):**

а — ёш культураси; б — спора ҳсил қилиш босқичи.

22-машгулот. Клостридиумнинг электив культурасини тайёрлаш

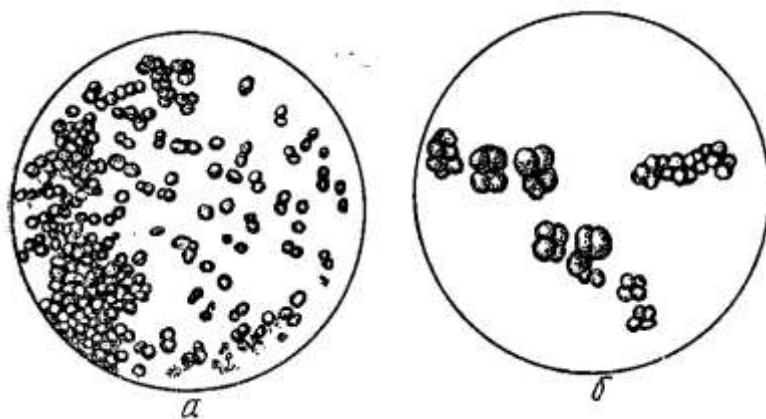
Асбоб ва реактивлар: Петри идишлари, тупроқ, шпатель, шакар ёки глюкоза, карбол кислотада эритилган эритрозин бўёғи, микроскоп, буюм ойналари, кедр мойи, спирт лампа, бактериал илмоқ.

Бунинг учун 1 г глюкоза эритилган 40—60 мл сувга 100 г тупроқ кўшиб, лой ҳолига келгунча аралаштирилади. Бу аралашма шпатель (куракча) ёрдамида Петри идишига солиниб, устини силлиқлаб қопқоқ билан беркитилади, сўнгра 30° нссик термостатда бир неча ҳафта сақланади. Кейин Петри идишининг қопқоғини очиб, аралашма ҳидлаб кўрилади; агар ундан ёқимсиз ҳид келса, аралашмада мой кислота ҳосил бўлганлигини билдиради. Мой кислотали бижғиш процессда газлар ажралганлиги сабабли лой ҳам кўпикланиб туради. Бу процессларнинг ҳаммаси клостридиумнинг ҳаёт фаолияти натижасида рўй беради.

Клостридиумнинг ўзини кўриш учун кўпириб турган лойдан озгина олиб, сувда суюлтирилади ва ундан мазок тайёрланади. У қуригандан сўнг 5 минут давомида спирт билан фиксацияланади. Мазокдаги спирт учиб кетгандан кейин устига карбол кислотада (фенолда) эритилган эритрозин бўёғи томизиб, бактериялар бўялади. Бир неча минутдан сўнг бўёқни ювиб, мазок қурилади ва микроскопнинг иммерсион объективи орқали кўрилади. Бу препаратда узун таёқча шаклидаги ва дуксимон бактериялар кўринади.

Азотобактер

1901 йилда немис олими Бейеринк молекуляр азотни ўзлаштирадиган клостридиумдан бошқа бактериялар ҳам борлигини аниқлаган. Бу бактериялар қўнғир рангда бўлганлиги сабабли уларга азотобактер хроококкум (*Azotobacter chroococcum*) деган ном берган (95-расм). Азотобактер аэроб шароитда ҳаёт кечиради. Микроскопда шар шаклида кўринади. Азотобактер биттадан, иккитадан ёки учтадан бўлиб, шилимшиқ ғилоф ичида жойлашади. Бу ғилоф *капсула* деб аталади. Капсула бактерияларни ноқулай шароитдан ҳимоя қилиш вазифасини бажаради.



95-расм. Молекуляр азотни ўзлаштирувчи азотобактер хроококкум (*Azotobacter chroococcum*):

а — биттадан ва иккитадан қўшилган типн;

б — саккизтадан қўшилган сарцина типи.

Азот

κ типда

хивчинланган бўлади. Бу бактерия клостридиумга нисбатан молекуляр азотни 5—6 баравар кўпроқ ўзлаштиради. Агар ерга кальцийли ва фосфорли ўғитлардан ташқари бор ёки молибден солинса, азотобактернинг ҳаёт фаолияти активлашади. Қислотали тупроқларда азотобактер яшамайди, унинг ҳаёт кечириши учун тупроқнинг рН 6 дан паст бўлмаслиги керак.

Тупроқни азотобактер билан бойитиш мақсадида сунъий бактериал ўғит ишлатиладн. *Азотоген* ёки *азотобактерин* деб аталадиган бу ўғит ерга экинлар уруғига аралаштириб солинади. Унинг таъсирида ҳосил 20% гача ортади. Бир гектар ерга 3 кг азотогеп сарфланади. Азотоген билан аралаштирилган уруғларни шу куннинг ўзидаёқ экиш зарур.

23- машғулот. Азотобактернинг электив культурасини тайёрлаш

Асбоб ва реактивлар: Петри идиши, тупроқ, шпатель маннит ёки глицерин, карбол кислотада эритилган эритрозин бўёғи, буюм ойналари, кедр мойи, спирт лампа, бактериал илмоқ.

Азотобактерни тўплаб олиш учун 100 г тупроққа 2 г маннит ёки глицерин аралаштирилади. Бу аралашма устига бир оз сув қуйиб, хамирсимон лой тайёрланади. Уни Петри идишига солиб, усти шпатель билан силлиқ қилиб сувалади. Сўнгра идишнинг оғзини ёпиб, 30° иссиқ термостатда бир неча ҳафта сақланади. Шундан кейин идишдаги лой юзасида оқ рангли ялтироқ колониялар ҳосил бўлганлигини кўриш мумкин, кейинчалик бу колониялар кўнғир тусга киради.

Бактериялар билан танишиш мақсадида колониянинг бир бўлакчасини олиб, 1—2 томчи сувда суюлтирилади ва шу суюқликдан мазок тайёрланади. Мазок қуригандан сўнг 5 минут давомида спирт билан фиксацияланади. Фиксацияланган мазок устига карбол кислотада эритилган эритрозин бўёғи томизиб бўялади. Кейин ювилади, қуритилиб, бир томчи кедр мойи томизилади ва микроскопнинг иммерсион объективи орқали кўрилади.

Эритрозин таъсирида тупроқ заррачалари бўялмасдан фақат бактсриялар бўялади. Бу препаратда азотобактер хроококкум ҳамда уларни ўраб олган капсула кўрннади.

Тугунак бактериялар

Дуккакдош экинларга маҳаллий ёки минерал ўғит берилмаганда ҳам улар нормал ривожланиб, ҳосилга кириши қадимдан маълум. Буннинг сабабларини биринчи марта француз олими Жан-Батист Буссенго 1833 йилдан бошлаб текширган. Шу текшириш натижаларига асосланиб, у дуккакдош ўсимликлар молекуляр азотни ўзлаштира олади, деган хулосага келган. Орадан 20 йил ўтгач, Буссенго дуккакдош ва дон экинлари устидаги тажрибаларини янгидан бошлайди ва бу тажриба усулларини тобора такомиллаштира боради. У тажриба учун ишлатиладиган тупроқ таркибидаги азотли бирикмаларни йўқотиш учун улар батамом ёниб бўлгунча тупроқни қиздиради (стериллайди). Шу тарзда тайёрланган тупроқни идишларга солиб, уларнинг ярмига нўхат ва қолган ярмига дон экинлари уруғини экади. Лекин экилган нўхат ва дон экинлари уруғи кўкариб чиқса ҳам, кейинчалик ўсмай қолаверганлигини аниқлайди. Буссенго бу тажриба натижаларига асосланиб, ўзининг дастлабки, яъни дуккакдош ўсимликлар ҳаводаги эркин азот билан озикланиб, бемалол ўсади ва ривожланаверади, деган фикридан воз кечади.

1888 йилда немис олимлари Гельригель билан Вильфарт ҳам дуккакдош ўсимликлар устида тажриба олиб борадилар. Улар бу тажрибаларда дуккакдош ўсимликлар уруғини қиздирилган ҳамда қиздирилмаган тупроқ солинган идишларда экиб ўстирадилар ва шу тажриба натижаларига асосан қуйидаги хулосага келадилар:

1) қиздирилмаган (табiiй) тупроқ солинган идишга экилган уруғдан кўкарган дуккакдош ўсимликларнинг илдизида тугунаклар ҳосил бўлади, қиздирилган тупроқ солинган идишга экилган дуккакдош ўсимликларда эса бундай ҳодиса юз бермайди.

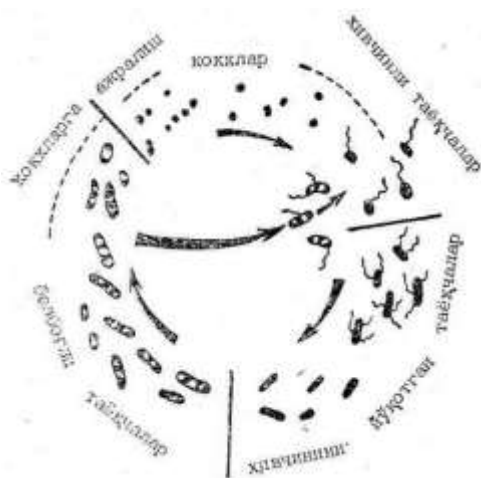
2) илдиз системасида тугунаклар ҳосил қилган дуккакдош ўсимликларгина молекуляр азотни ўзлаштира олади.

Дуккакдош ўсимликлар молекуляр азот ўзлаштириш сабабларини рус олими М. С. Воронин билан немис олими Бейеринк ҳам исботлаганлар. Воронин 1865 йилда биринчи бўлиб, дуккакдош ўсимликлар илдизидаги тугунаклар ичида таёқчасимон ва шохланган бактериялар борлигини аниқлаган. Бейеринк эса 1888 йилда бу тадқиқотни давом эттириб, тугунаклар ичидаги бактерияларни тоза ҳолда ажратиб олган ва уларга бактериум ризобиум радицикола (*B. rhizobium radicicola*) деган ном берган. Шунга асосан улар *тугунак бактериялар* деб аталган. Бу бактерияларнинг йўғонлиги 1 мкм, узунлиги 4—5 мкм келади. Баъзилари шохланиб туради. Майда таёқча шаклидаги формалари ҳам учрайди, уларнинг узунлиги 0,9 мкм, йўғонлиги 0,2 мкм дан ошмайди.

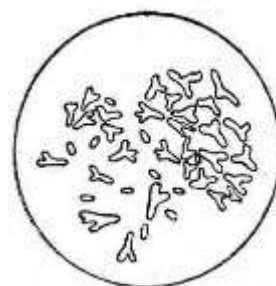
Бактериум ризобиум радициколанинг ривожланиш цикли жуда мураккаб бўлиб, бу цикл мобайнида унинг шакли ҳам жуда ўзгариб туради. Ёш тугунак бактериялар анча ҳаракатчан бўлиб, уларнинг йўғонлиги 0,18 мкм ва

узудлиги 0,9 мкм келади. Виноградский маълумотларига кўра, бу бактериялар 24 соатда 2,5 см масофага силжир экан.

Ҳаракатчан бактериялар ривожланиш даврининг биринчи босқичида оддий бўлиниш йўли билан кўпаяди. иккинчи босқичида эса хивчинларини йўқотиб, ҳаракатдан тўхтайди ва ҳажми катталашади. Бактериянинг хужайраси ичида вакуола ҳосил бўлади, хужайранинг ўзи эса белбоғли бўлиб кўринади. Белбоғли хужайра кокк шаклидаги ҳаракатчан бир нечта хужайраларга бўлинади. Ана шу вақтдан ривожланиш даврининг биринчи босқичи янгидан бошланади (96-расм). Қариган бактерияларнинг баъзи бирлари шохланган шаклда бўлади ва *бактероид* деб аталади. Улар ҳам белбоғли бўлиб кўринади (97-расм).

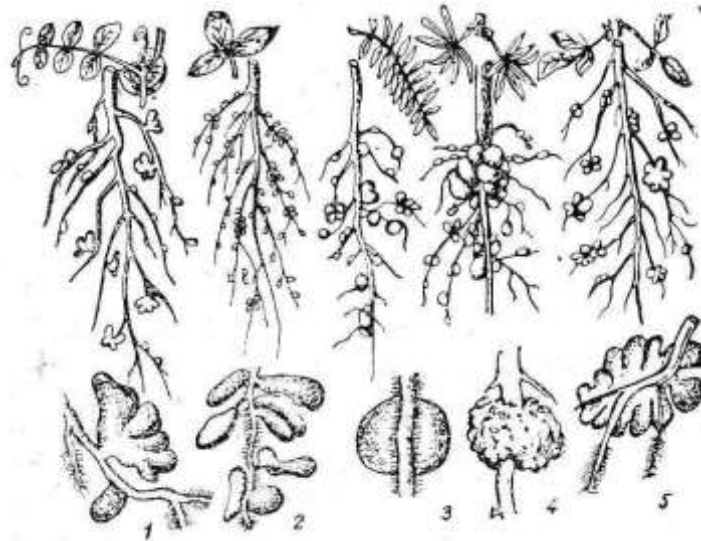


96-расм. Тугунак бактерияларнинг ривожланиш цикли.



97-расм. Шохланган вегетатив хужайралар — бактериоидларнинг кўриниши.

Тугунак бактериялар тугунак ичидагина яшамасдан, тупроқда ҳам бир неча йилгача нобуд бўлмай сақланади. Бу бактериялар радицикола деган умумий ном билан аталса ҳам, ҳар қайси дуккакдош ўсимликнинг ўзига хос бактерияси бўлади. Тугунак бактериялар ўзига хос хусусиятларига кўра: нўхат, вика, чина ва бурчок; люпин ва сераделла; беда ва кашкарбеда; ловия, соя; нут; себарга ва бошқа дуккакдош ўсимликлар илднзида ривожланадиган группаларга бўлнади (98-расм).



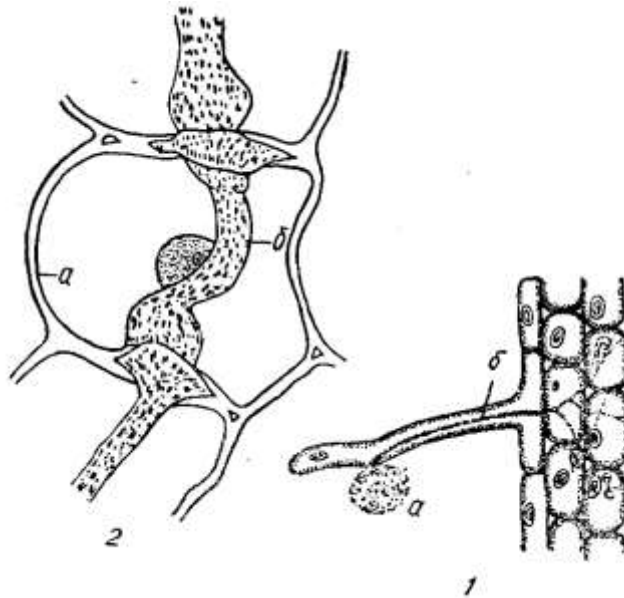
98-расм. Дуккакдош ўсимликлар тугунагининг шакли:

1 — нўхат; 2 — себарга; 3 — серэделла; 4 — люпин;
5 — қашқарбсда илдизида ҳосил булган тугунаклар.

Дуккакдош ўсимликлар тугунак бактерияларни азотсиз органик моддалар билан таъинлаб туради. Бактериялар эса дуккакдош ўсимликларга азотли бирикмаларни етказиб беради, яъни улар ўзаро симбиоз ҳаёт кечиради.

Тупрокда эркин ҳолда яшайдиган тугунак бактериялар ўсимликнинг илдиз тўқималарига киришдан олдин илдиз тукчалари ёнига тўпланиб кўпайиш билан бир қаторда, уларнинг пўстини юмшатади. Хужайра ичига кирган бактериялар ўзидан шилимшиқ чиқаради, у ипсимон бўлиб чўзилади. Бу *инфекцион ип* деб аталади (99-расм). Илдиз тукчаларининг хужайралари бактериялар томонидан юмшатилгандан сўнг тезда бўлинади ва чўзилиб тугунакка айланади. Тугунак ҳосил бўлгандан кейин хужайраларнинг протоплазмаси тугунак бактериялар билан тўлади. Ўсимликлар хужайраси бўлингандан тугунак бактериялар ҳам деярли баравар тақсимланади (100-расм).

Дуккакдош экинларни ўзига хос актив тугунак бактериялар билан бойитиш мақсадида улар сунъий йўл билан тайёрланган бактериал ўғитлар билан аралаштирилади. Бу ўғитлар *нитрогец* деб аталади. Нитрогенни сувда эритиб, экиладиган дуккакдош ўсимликлар уруғи шу эритмада намланади. Нитроген билан намланган уруғларни шу куннинг ўзидаёқ экиш зарур, акс ҳолда бактерияларнинг активлиги пасайиб кетади. Уруғи нитроген билан намлаб экилган дуккакдош ўсимликларнинг ҳосили 14—50% ортади.



**99-расм. 1 — бактерияларнинг илдиз тукчалари
орқили ўсимликлар тўқимасига кириши:**

а — илдиз тукчаси ёнида тўпланган бактериялар;
б — илдиз тукчаси ичида инфекцион ип ҳосил бўлиши;

**2 — катта қилиб кўрсатилган ҳужайра ва инфекцион
ип:**

а — ўсимлик ҳужайраси; б — инфекцион ип.



**100-расм. Ўсимликлар ҳужайраси бўлинганда тугунак
бактериялар ҳужайрасиинг тақсимлапиши.**

24-машгулот. Тугунак бактерияларни тўплаш ва аниқлаш

Асбоб ва реактивлар: микроскоп, ҳар хил ёшдаги тугунаклар, буюм ойналари, синька ёки фуксин, спирт лампа, шакар, сода, нўхат ёки бошқа дуккакдош ўсимликлар уруғи, ўлчозли колба, воронка, фильтр.

Бу иш қуйидагича бажарилади:

1. 100 мл сувга 10 г нўхат ёки бошқа дуккакдош ўсимлик уруғи солиниб, дуккаклар ёрилгунча (30 минут) қайнатилади. Эритма иссиқ ҳолича 100 мл ҳажмли идишга филтрланади. Бу филтратга унинг ҳажми 100 мл га етгунча сув қўшилади (сув қўшишдан олдин филтрат кристаллик сода билан нейтралланади). Сўнгга бу аралашмага 2 г шакар ва 1,5—2 г агар-агар қўшиб эритилади. Шу тарзда тайёрланган суюқлик Петри идишларига 0,5 см қзлинликда куйиб қотирилади, Қотиб қолган пластинкага таркибида тугунак бактериялар бўлган суюқлик суркалади. Пластинкага суркалаган суюқлик биронта дуккакдош ўсимлик тугунагидан сиқиб олинади. Сўнгга Петри идишя 25—35° иссиқ термостатга қўйилиб, бир неча кун сақланади. Бу вақт ўтгандан сўнг Петри идишидаги пластинкада тугунак бактериялар колонияси ҳосил бўлади. Колонияларни ташкил этган бактериялар микроскопда текширилади.

2. Дуккакдош ўсимликнинг ёш тугунагидан суви сиқиб чиқарилади. Буюм ойнасига ундан бир томчи томизиб мазок тайерланади. Мазок фиксациялангандан кейин синька ёки фуксин билан бўялиб, микроскопда кўрилганда таёксимон бактериялар борлигн кузатилади.

3. Яхши ривожланган (қариган) тугунакли кесиб, суви сиқиб олинади ва юқорида кўрсатилгандек, бактерияли препарат тайёрланади. Бу препарат микроскопда каралганда бактериод деб атадган шохлапган формалари кўринади.

Микроорганизмларнинг турини аниқлаш

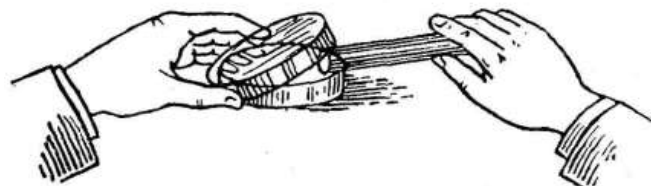
Ер юзасининг турли иқлим шароитида тарқалган микроорганизмлар жуда хилма-хилдир. Уларнинг баъзилари ҳайвонот оламига мансуб бўлса, бошқаларн ўсимликлар оламининг вакиллари дир. Улар шакли, ҳажми, ҳаракатлапиши, озиқ муҳитида ўсиш формалари ва бошқа морфологик-физиологнк белгилари билан бир-биридан кескин фарқ қилади.

Баъзи микроорганизмлар паст температурада яхши ривожланса, бошқаларининг ривожланиши учун температура ўртача ёки юқори бўлиши керак. Айрим микроорганизмлар кислородли муҳитда яшаса, бошқалари кислородсиз шароитда нормал ривожланади. Булардан ташқари, углерод ва азот бирикмаларига бўлган муносабатига кўра ҳам улар бирбиридап кескин фарқ қилади.

Микроорганизмларнинг тури кўп ва хилма-хил бўлганлиги учун улар ҳавода, сувда, ўсимликларда, одам ва ҳайвонларнинг ташқи ҳамда ички органларида, ер юзасида ва ернинг чуқур қатламларида жуда сон-саноксиз бўлади. Уларнинг баъзилари зарарли, бошқалари деярли зарарсиздир.

Микроорганизмлар ичида фойдали турлари ҳам кам эмас. Уларнинг айримлари халқ хўжалигида турли-туман маҳсулотлар олишда ишлатилади. Микроорганизмларнинг турини аниқлаш учун уларнинг тоза културасини тайёрлаш керак. Бу анча мураккаблигини ҳисобга олиб, 7-машғулота баёк этилган усулдан фойдаланиб баъзи бактерияларнинг турини аниқлаш тавсия этилади.

Масалан, ҳаво таркибидаги бактериялар турини аниқлаш учун дастлаб уларни бир-биридан ажратиб олиш зарур. Бунинг учун стерилланган ва эритилган агар-агарли озиқ муҳитини стерилланган Петри идишига қуйиб, қопқоғи ёпилади ва пластинка шаклида қотирилади (101-расм).



101-расм. Пробиркада эритилган агар-агарни Петри идишига қуйиш тартиби.

Аудитория, синф, молхона, кўча ёки бошқа жойнинг ҳавосида қандай бактериялар борлигини аниқлаш учун озиқ муҳити қотирилган Петри идиши ҳавоси текшириладиган жойга олиб борилади. Сўнг шу жойдаги ҳаво таркибидаги бактериялар пластинкага тушиши учун идишнинг қопқоғи 5 минут очик қолдирилади. Шундан кейин қопқоғини ёпиб, идиш 37° иссиқ термостатда 24 соат сақланади. Кейин термостатдан олиб 48 соат давомида уй температурасида сақланади. Шу давр ичида ҳаводан тушган бактерияларнинг ҳар бир тури идишдаги муҳитда мустақил ривожланиб, ўзига хос колония ҳосил қилади. Бактериялар хилма-хил бўлганлигидан ҳосил бўлган колонияларнинг шакли, ранги бир-биридан кескин фарқ қилади.

Идиш ичидаги бактерияларнинг турини аниқлаш мақсадида бир нечта колонияни танлаб олиб, уларнинг характерли белгилари қуйидаги жадвал графаларига ёзилади:

Колониянинг номери	Тажриба ни		Колониянинг ранги	Колониянинг умумий кўриниши				Колониянинг				Эслатма
	бошлаш	тугатиш		ялтирок	хира	шилиш иқ	қуруқ	усти		четлари		
								вақти	қавариқ	ичкариг а ботган	текис, силиқ	
1												
2												
3												

Танлаб олинган колониялар таркибидаги бактериялар турини аниқлаш учун қуйидаги ишларни бажариш зарур:

Бактериялар турини аниқлашда, юқорида айтиб ўтилган белгиларидан ташқари, культурал ва физиологик белгилари, яъни кислородга ва турли озик муҳитига таъсирини ҳам аниқлаш зарур. Бунинг учун 10-машғулотда баён этилган ишлар олиб борилади. Бактерияларнинг желатинга ва сутга таъсирини ҳам аниқлаш зарур. Бунинг аниқлаш учун желатинли қаттиқ озик муҳитига укол сифатида (10-машғулотга қаранг) бактерия юктириб, желатиннинг эриш-эримаслиги аниқланади. Сутнинг бактерия таъсирида ивиганлиги ва ивимаганлигини аниқлаш учун эса пробиркадаги стерилланган сутга текшириладиган бактерия юктирилади. Бу тажрибада олинган маълумотлар қуйидаги жадвал графаларига ёзилади.

Колониянинг номери	Гўшт-пептон-агар озик муҳитида ўсиш формалари			Сутнинг ўзгариши		Желатиннинг ўзгариши	
	аэроб	анэроб	факультат иф анэроб	коагуллана ди (ивийди)	коагуллан майди (ивийди)	суюқланад и	суюқланма йди
1							
2							
3							

Юқорида кўрсатилган учта жадвал графаларини тўлдириб бўлгандан сўнг, 171—175-бетдаги аниқлагич ёрдамида текшириладиган бактерия турининг номи топилади.

Эслатма: а) гўшт-пептон шўрваси, гўшт-пептон-агар-агар, желатинли озик муҳитлари тайёрлаш, уларни колба ва пробиркаларга таксимлаш ҳамда стериллаш усуллари олдинги темаларда баён этилган (130—134-бетлар); б) илмий текшириш муассасаларида микроблар турини аниқлашда уларнинг бошқа кўпгина белгилари ҳам ҳисобга олинади.