

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O'RTA MAHSUS TA'LIM VAZIRLIGI
NAMANGAN MUHANDISLIK-TEXNOLOGIYA
INSTITUTI

**“Qishloq xo'jaligi mahsulotlarini saqlash va daslabki ishlash
texnologiyasi” kafedrası**

**QISHLOQ XO'JALIK BIOTEXNOLOGIYASI
VA MIKROBIOLOGIYA**
fanidan laboratoriya mashg'ulotlarni o'tkazish bo'yicha

USLUBIY KO'RSATMA



Namangan – 2017

Ushbu Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi va mikrobiologiya fanidan uslubiy ko'rsatma 5410500-Qishloq xo'jalik mahsulotlarini saqlash va dastlabki ishlash texnologiyasi ta'lim yo'nalishi talabalari uchun mo'ljallangan.

Tuzuvchilar:

dots. X.Boltaboyev
ass. I.Qurbonov

Taqrizchi:

NamDU “Umumiy biologiya”
kafedrasini mudiri, biologiya fanlari
nomzodi, dotsent D.Dehqonov

Ushbu uslubiy ko'rsatma «Qishloq xo'jaligi mahsulotlari texnologiyasi» kafedrasining 2017 yil -avgustagi 1-sonli yig'ilishida muhokama etildi va ma`qullandi.

Ushbu uslubiy ko'rsatma institut kengashining 2017 yil -avgustdagi 1-sonli yig'ilishida ko'rib chiqildi va tasdiqlandi.

«Qishloq xo'jaligi biotexnologiyasi va mikrobiologiya» fanidan o'tiladigan laboratoriya mashg'ulotlariga ajratilgan soatlar

№	Laboratoriya mashg'ulotlarining nomi	Ajratilgan soat
1	Mikroskop va uning tuzilishi. Mikroskop bilan ishlash usuli	4
2	Preparat tayyorlash usullari. Preparatlarni bo'yash usullari	4
3	Mikroorganizmlar hujayralarining shakllari	4
4	Sterillash usullari	4
5	Mikroorganizmlarni o'stirish uchun oziqa muhitlari va ularni tayyorlash usullari	4
6	Mikroorganizmlarni ekish usullari	4
7	Mikroorganizmlarni sof kulturasini ajratib olish usullari va ularni turlarini aniqlash usullari	4
8	Suv va havo mikroflorasi	4
9	Tuproq mikroflorasi	4
10	Rizosfera mikroflorasini o'rganish	4
11	Epifit mikroorganizmlarni aniqlash	4
12	Spirтли bijg'ish	4
13	Sut kislotali va moy kislotali bijg'ish	4
14	Tugunak bakteriyalarni sof kulturasini ajratish va ular asosida bakterial preparat tayyorlash	4
15	Mikroorganizmlarni antagonistik xususiyatlarini aniqlash	4
16	Bakteriya hujayrasidan plazmid DNK ni ajratish	4
17	Agarozali gelda DNK elektroforezi	4
18	O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash	4
19	Steril o'simtalar o'stirish	4
20	O'simliklarni klonal mikroko'paytirish. Kartoshka apikal meristemasini ajratish va o'stirish	4
21	Kartoshka tugunaklarini tinim holatiga o'tishi va uyg'onishini boshqarish	4
22	Entomopatogen bakteriyalar ajratish va ular asosida entomopatogen bakterial preparat olish	4
23	Antogonist mikroorganizmlarni ajratib olish	2
JAMI		86

LABARATORIYA ISHI №1

Mavzu: Mikroskop va uning tuzilishi. Mikroskop bilan ishlash usuli.

Maqsad: Mikrobiologik laboratoriyada ish koidalari, texnika xavfsizligini o'rganish: Mikroskop tuzilishini o'rganish: Mikroskopdan foydalanish texnikasi va unga xizmat ko'rsatish: Mikroskop preparatlar tayyorlash:

Ishning moddiy ta'minoti: Biologik mikroskoplarning turli modellari imersion ion, tayyor bo'lgan mikrobiologik preparatlar

Mikroskop - grekcha so'zdan olingan bo'lib, mikro-kichik skopiya-ko'raman degan ma'noni bildiradi, ya'ni kichik narsalarni ko'rish deganidir. Optik asbob bo'lib 0,2-0,3 mkm li kichik ob'ektlarni ko'rsatish xususiyatiga ega.

17 asrning 40 yillarida rimlik professor **A. Kirxer** (1601-1680) kattalashtiruvchi qurilma orqali har xil ob'ektlarni kuzatadi va o'ta mayda «chuvalchaglarni ko'radi». Bu mikroorganizmlar edi. Ammo bu tajribalar tasodifiy kashfiyotlar edi.

Mikroorganizmlarning ochilishi birinchi mikroskopni kashf etilishi bilan bog'liqdir. Birinchilar qatori **Gans va Zaxariy Yansen**, so'ngra **G. Galiley va K. Drebbelg'** tomonidan eng sodda mikroskoplar yaratildi va yanada takomillashtirildi.

Mikroorganizmlar haqida yanada ko'proq ma'lumotlar to'plagan shaxs mikrobiologiya tarixining «**morfologiya**» davrini boshlab bergan gollandiyalik **Antoni van Levenguk (1632-1723)** bo'ldi

Levenguk shishadan ziynat buyumlar yasaydigan korxonada ishlar edi. U shisha linzalar yasab, ulardan mayda narsalarni kattalashtirib ko'radigan asbob – sodda mikroskop yasaydi. U o'z mikroskopida ko'lmak suv tomchilarini, tish kiridan tayyorlangan preparatlarni, turli xil organik moddali suvlar (qaynatmalar) ni tekshirib, ular ichida har tomonga qarab harakatlanuvchi tirik mavjudotlarni kuzatadi va ularning rasmlarini chizadi. U shu ko'rgan mavjudotlariga “tirik hayvonchalar” – «Animalkula viva» deb nom beradi. O'z izlanishlari natijalarini u Londondagi qirollik ilmiy jamiyatiga bildiradi. 1677 yili mazkur ilmiy jamiyat Levenguk ishlarini qaytadan tekshirib ko'radi va uning natijalari xaqiqat ekanligini tan oladi.

Rossiyada birinchi mikroskop XVIII asrning 30 - yillarida Ivan **Belyaev va Ivan Kulibinlar** tomonidan kashf etilgan.

Mikrobiologiya sohasida shunday katta kashfiyotlarning ochilishi mikroskopik texnikaning rivoj topishi bilan chambarchas bog'liqdir. 1873 yilda **Ernest Abbe** mikroskoplar uchun linzalar sistemasini takomillashtirgan, 1903 yilda **Zidentopf va Jigmondi** ulg'tramikroskopni, 1908 yilda **A. Kyoller va Zidentopf** birinchi lyuminestsent mikroskopni kashf etgan bo'lsalar, nihoyat **1928-1931** yillarga kelib birinchi **elektron mikroskop** yaratildi. 1934 yili **F. TSernike** fazo-konstrast printsipini takomillashtirdi. Elektron mikroskopda 0,02 nm dan to 7 A gacha va undan ham mayda buyumlarni ko'rish mumkin bo'ldi. Bu

kashfiyotlar mikrobiologiyani yana bir qirrasini, mikroorganizmlarning ulg'rastrukturalarini o'rganishga turtki bo'ldi. Oddiy yorug'lik mikroskoplarida faqatgina tayoqcha bo'lib ko'ringan bakteriyalarni nanometrlar bilan o'lchanadigan xivchinlari, fimbriylari, piliylari, hujayra devori va uni birnecha qavatdan iboratligi, tsitoplazmatik membrana va uning nozik strukturalari, tsitoplazma uning tarkibidagi yadro moddalar, ribosomalar va zaxira moddalarini borligi aniqlandi.

Mikrobiologiyani rivojlanishida mikroskopik texnika. Yuqorida aytib o'tilgandek, mikroskopik texnikaning taraqqiy etishi, uning ko'rsatish qobiliyatining oshishi mikroorganizmlarni o'rganishni yanada jadallashtirdi. **Qorong'i maydonda ko'rish, lyuminescent mikroskop, fazo-kontrast mikroskop va elektron mikroskoplarning yaratilishi** mikroorganizmlarni nozik strukturalarini (hivchinlar, hujayra devori, tsitoplazmatik membrana va tsitoplazmaning ichki strukturalari) o'rganish imkoniyatini yaratdi.

Qorong'i maydonda ko'rish mikroskopi. Ko'rish maxsus kondensor yordamida amalga oshiriladi. Odatda ishlatiladigan **kondensorlar** - (yorug' maydonli mikroskopda) o'rtadagi nurlarini o'tkazib, chetkilarini tutib qolsa, qorong'i maydonli mikroskopda kondensor faqat chetki nurni o'tkazadi, nurlarning og'ish burchagi katta bo'lganligi uchun, ular obektivga tushmaydi, natijada ko'rish maydoni qorong'i bo'lib qoladi. Agar mikroskop ostida ko'riladigan preparat bir jinsli bo'lmay, xar xil optik zichlikka ega zarralar tutsa, unda kondensordan o'tgan qiyshiq nurlar preparatdan o'tganda zich zarralarni aylanib o'tadi - **difraktsiya** yuz beradi. **Difraktsiya** natijasida nurlar har tomonga sochilib obektivga tushadi. Natijada qorong'i fonda turgan bakteriyalar yaltirab ko'rinadi. Bu usulda ko'rish OI – 7 yoki OI- 19 kabi yoritgichlar ishlatilsa yaxshi natija beradi.

Ayniqsa, XX asrning 30 - 40-yillarida yaratilgan elektron mikroskoplar hujayra organoidlarining strukturasi bilan funktsiyasi orasidagi bog'lanishni aniqlashga, mikroorganizmlardagi bioximiyaviy jarayonlarni o'rganishga imkon berdi.

Elektron mikroskopda elektronlardan chiqadigan nurning to'liq uzunligi yorug'lik nurining to'liq uzunligiga nisbatan ancha qisqa. Unda shisha linzalar o'rniga “elektron linzalar” - elektromagnit maydonlar paydo bo'ladi, bular buyumlar molekulalarini yutadi, barcha optik sistema vakuumga (10^{-4} mm simob ustuniga) joylashtiriladi. SHuning uchun ko'riladigan obyektlar quruq bo'lishi kerak. Aks xolda obyektdagi suv vakuumda qaynab ketadi va buyum yemiriladi. Elektronlar oqimi tekshiriladigan obyektga tushganda, termik va radiatsion o'zgarishlar sodir bo'ladi, bu esa buyumning strukturasi buzib yuborishi mumkin. Ikki nuqta orasidagi masofa 10 A (angstrom)ga teng bo'ladi, bunda buyum 100000 marta kattalashgan bo'ladi (3- rasm).

Tekshiriladigan buyumlar, odatda, 10000 - 30000 marta kattalashtirib ko'riladi. Elektron mikroskoplarda ko'riladigan buyumlar nihoyatda yupqa bo'lishi qerak.

SHvetsiyalik olim SHestrand elektron mikroskoplar uchun yupqa kesmalar tayyorlaydigan mikrotom yaratdi. Bu mikrotom yordamida tayyorlanadigan kesmalar qalinligi 100 - 150 A ga teng bo'ladi. Ko'riladigan buyumning suvi quritilib, so'ngra u fiksatsiya qilinadi va qotirish uchun metakril smolasi bilan ishlov beriladi. SHundan keyin mikrotomda 100 - 150 A qalinlikda kesmalar tayyorlanib, maxsus ishlov berilgandan so'ng elektron mikroskopda ko'riladi.

Mikroorganizmlar turli xil morfologik xususiyatlariga ega ekanligini nazarda to'lib, ularni o'rganishda turli xil mikroskoplar uslublaridan ya'ni biologik, lyuminitsent elektron protonli va maxsus faza- kontrastsli mikroskop asosan ikki kismdan tashkil topgan: 1.optik 2.mexanik

1. Mexanik qism- mikroskopning asosi va trubasini to'lib turishni yoysimon tutgich, predmet stolchasi va o'lib turuvchi asosdan tuzilgan. Tubi tutgichi makro va mikro vintlar yordamida yukoriga ko'tarish yo'li bilan ko'rilyotgan ob'ektni tinikligini ta'minlaydi.

2. Mikroskopning optik kismi akulyar, ob'ektiv va yoritish kurulmasidan tashkil topgan. Akulyar tubisning yukori kismida joylashgan, uning kattalashtirish imkoniyati sonlar bilan belgilangan (7x,10x,15x,20x)

Okulyar yuqori optik va pastki yigiruvchi linzalardan iboratdir. Ob'ektiv mikroskopning asosiy va eng muxim kismi bo'limi uning optik kuvvatini belgilaydi. Ob'ektni kattalashtirishga va ko'llanishiga karab ko'rik xolda va emirsimon moy yordamida qo'llanish mumkin.

Quruq ob'ektivlar nisbatan katta foks oralig'iga ega bo'lib, (8x,10x) asosan uncha kattalashtirishni talab kilmaydigan (400-600) marta yirik biologik xujayralarni ko'rish uchun foydalaniladi.

Bunda ob'ektiv va preparat oralig'ida xavo katlami bo'ladi. Preparat oynasi va xavoning yorug'lik nurlarini sindirish ko'rsatmalari turlicha bo'lganligi uchun, nurlarning bir kismi atrofga taralib kuzatuvchining ko'ziga yetib bormaydi. SHuning uchun mikroorganizmlar o'rganishda asosan imirsimon ob'ektivlardan (85x, Pk33) foydalaniladi. Ular suv yordamida 900-1500 martagacha ob'ektni kattalashtira oladi.

Preparatni yorituvchi nurlardan to'la foydalanish va uning kaytarilishni, preparat oynasi va koplovchi oynasi orasida sinishini preparat va ob'ektiv frontal linza orasidagi sinishini oldini olish uchun ob'ektiv va preparat orasiga immersion moy tomiziladi. Uning yorig'ini sindirish ko'rsatkichi (Pk1,515) shishaning ko'rsatkichiga (Pk1,52) yaqin. Xavoning yorug'likni sindirish ko'rsatkichi Pk1 ga teng. SHuning uchun yorug'lik nurlari bir kismi kuzatuvchining ko'ziga yetib bormaydi suyuqlik tomchisi preparatga tizilib, o'nga ob'ektni tushiriladi. Kattalashtirish darajasi yukori bo'lgan ob'ektni foks masofasi 1,9-2,1 mm uni tomchidan linza va preparat orasida bir xil optik muxit hosil imkoniyatini beradi. Bu esa o'z navbatida ob'ektivdan kelgan nurlarni kuchaytiradi. Bioolam tipidagi mikroskoplar 7,10,15, 20 marta kattalashtiradigan akulyar bilan jixozlangan bo'lib, ob'ektni 1800 martagacha kattalashtira oladi.

Yig'uvchi linza yoki kondensor bir necha linzalardan iborat bo'lib preparatni yaxshilab yoritish imkonini beradi. U oynasidan tushadigan nurni predmet stolchasining tirkishi orkali predmet yuzasiga o'tkazadi. Kondensorni vint yordamida yukoriga va pastga harakatlantirish mumkin. Bo'yalgan mikroorganizmlarni kondensorni yukoriga ko'tarilgan xolda kuzatiladi. Bunda nazorat maydoni kengayadi va muxit bilan mikroorganizmlarni yorug'likni turlicha sindirish xisobiga mikroblarning kurinishi tiniklashadi.

Iris-kondensor tagiga joylashtirilgan diofragma bo'lib u kondensatorga tushayotgan yorug'likni kerakli mikdorda o'kazishni ta'minlaydi. Iris bir necha

po'lat katakchalardan ibora va bu katakchalar yordamida u yoki bu tarafga surilishi mumkin. Natijada tirkishni toraytirib yoki kengaytirish imkoni tug'iladi.

Binokulyar- 2 akulyarli va ob'ektivli mikraskop bo'lib ikki ko'z bilan ob'ektni kuzatish va uni anik ko'rish imkonini beradi.

Faza kontrast mikraskop- preparatlarning kontrastirni suniy ravishda kuchaytirish imkonini beradi. Bu esa bo'yalmagan mikroorganizmlarni xujayralarni yaxshirok o'rganish imkonini beradi.

Lyuminisent mikraskop-to'lkin uzunligi 300-400 mm ultrabinafsha yoki kiska to'lkinli xavo rang nurlar (460 mm) mikroorganizmlarga tushirilganda ulardan chikadigan yorug'liklar (flyurensesiya) xodisasi foydalanishga asoslangan.

Elektron mikraskop-biologik ob'ektlarni 500000 marta va undan ham kattarak ko'rsatish kobiliyatiga ega. Bu usul bilan mikrobiologiyada viruslarni va mikroblar xujayralarini eng nozik strukturalarini o'rganiladi. Elektron mikroskoplarda yorug'lik o'rniga elektronlar oqimidan foydalaniladi.

Mikroskopdan foydalanish qoidalari:

Mikraskop bilan ishlashning asosiy qoidalaridan biri uni tug'ri o'rnatish, nazorat maydonchasini va preparatni tug'ri yoritishdan iboratdir. Yoritish uchun tabiiy yorug'likdan yoki OI-19,7,32 kabi maxsus yoritgichlardan foydalanish mumkin.

Maksimal yoritish uchun revolvorni eng kichik ob'ektivga yetkazib uning kuzatilayotgan ob'ekt bilan oralig'ini bir 1,5-2 sm quyiladi.

Okulyarga karab turib oynacha orkali yorug'lik nurlari tutilgach diofragma kondensor org'ali ob'ektivga yo'naltiriladi va kuzatish maydonchasini bir xilda yoritilishiga erishiladi. Mikraskop ish oxirigacha joyidan jildirilmasligi kerak. Bo'yalmagan ob'ektlarni ko'rishda nazorat maydonini diofragmani toraytirish yoki kondensatorni pasga tushirish yo'li bilan koraytirib preparat yuzasiga foks tug'rılanadi. Mikroskopda immersion ob'ektlar bilan ishlash ko'yidagicha amalga oshiriladi.

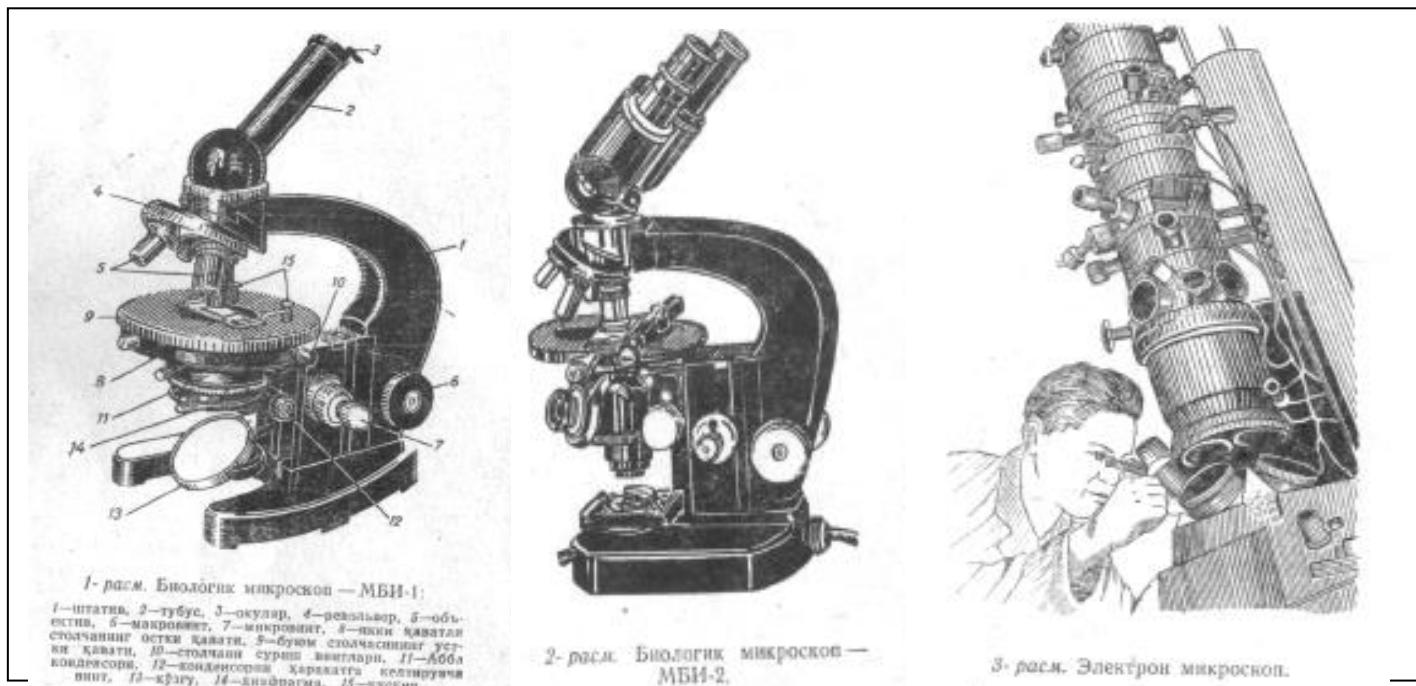
-Tayyor preparatga yoki ob'ektga bir tomchi immersion moy tomizib preparat buyum stoliga o'rnatiladi.

-Revolvorni aylantirib ob'ektni (90X) extiyotkorlik bilan o'rnatib, tubus asta sekin ob'ektiv immersion moyga tekkuncha tushiriladi.

-Extiyotkorlik bilan qoplag'ich oynani sindirmay mikrometrik vint bilan taxminiy foks o'rnatiladi.

-Oxirgi aniq foksni mikrovint orqali bir martadan ortiq buramasdan to'g'rılanadi.

Tuzatish ishlari tugamas, predmet oynasini mikroskopdan olib tubus tagiga kichik ob'ektni qo'yib ob'ektivdagi immersion moyni benzin yoki spirt bilan xo'llangan yumshoq lata bilan artib mikroskopni qobiq ostiga joylashtiriladi. Yorug'lik va elektron mikroskoplar qo'yidagi rasmlarda ko'rsatilgan.



LABARATORIYA ISHI №2

Mavzu: Preparat tayyorlash usullari. Preparatlarni bo'yash usullari

Tirik mikroorganizmlarni o'rganish uchun preparat tayyorlanadi.

a) "Ezilgan tomchi" xolidagi preparat tayyorlash. Toza plonbirlangan predmet oynachasiga bir tomchi vodoprovot suvi bakteriyalarni tuzatish uchun zamburug'larni ko'rish uchun esa etil spirti geliserining teng mikdordagi aralashmasi tomiziladi. Unga mikrobiologik xalka orkali o'rganilayotgan kulturadan ozgina solib aralashtiriladi va koplagic oyna bilan berkitiladi (tomchi bunda eziladi). Bu uslubda mikrop suspenziyasi predmet oynasiga tomizilgach o'nga kuchsiz (1:1000) bo'yok (xavorang metil yoki fuksin) suyukligi tomizib aralashtirib koplagic oyna yopiladi. Ushbu uslubda hamirturushlarning tarkibiga bo'yok moddalari bemalol kirganligi uchun tez va anik bo'yaladi. Tirik xujayralar esa aksincha.

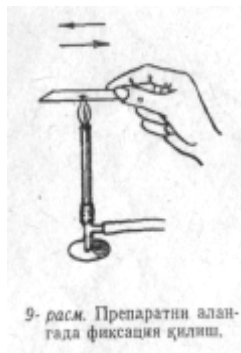
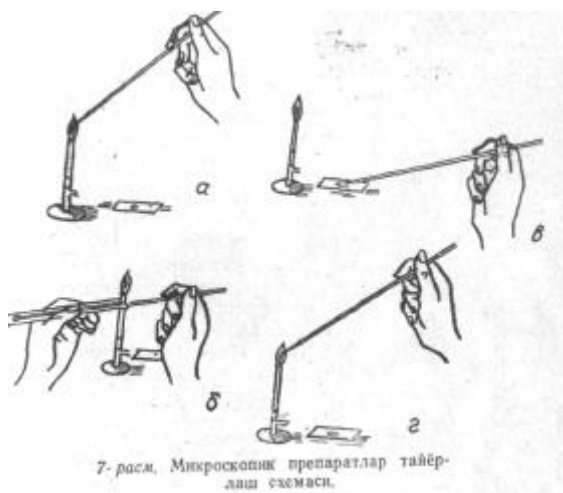
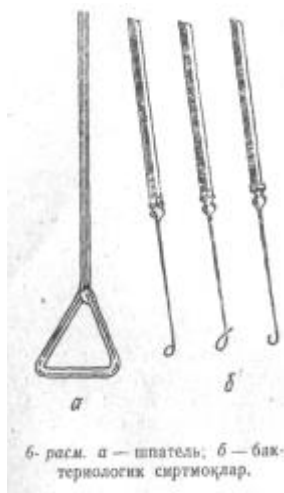
b) Preparatlar "Muallaq tomchi" xolida tayyorlash. Bu preparatni tayorlash chukurchali oynasidan foydalaniladi. Qoplagich oynacha o'rtasiga mikropli suspenziya tomizib preparat tayyorlanib premet oynachasini chukurchasini pasga kilib chukurcha atrofiga vazilin surtib yopiladi. So'ngra preparat koplagic oynasi yuqoriga qaratib ag'dariladi. Vazelnli koplagic oynani zich kilib predmet oynachaga yopishtiradi va nam kamera hosil kiladi.

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

musbat bo'yalganda bakteriyalar qoramtir-binafsha rangli gramm-manfiy bo'yalganda qizil rangli bo'lib ko'rinadi.

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

Mikroorganizmlar Gramm usulida manfiy va musbat bo'yalishini aniqlashda achib qolgan pivo yuzasidagi parda tarki bida musbat bo'yaladigan achitqi zamburug'lari (drojjilar) hamda sirka kislotali bijg'ish protsessini qo'zg'ovchi manfiy buyaladigan bakteriyalar to'plangan bo'ladi. Preparatda musbat buyaladigan achitqi zamburug'lari to'q binafsha, manfiy buyaladigan sirka kislota bakteriyalari qizil rangda tovlanib turadi. Qo'yida preparat tayyorlash uchun ishlatiladigan asboblari va tayyorlanish jarayonidan rasmlar keltirilgan.



LABARATORIYA ISHI №3

Mavzu: Mikroorganizmlar hujayralarining shakllari

Mikrorganizmlar shakliga qarab bir necha guruhlariga: bakteriyalar, zamburug'lar, spiroxetalar, viruslarga bo'linadi.

Mikroblar orasida bakteriyalar tabiatda ko'p tarqalgan bo'ladi. Bakteriyalar xujayralarning tuzilishiga qarab bir necha xil shaklda bo'ladi. Bakteriyalar xujayrasining tuzilishiga qarab bir necha xil shaklda bo'ladi. Bakteriyalar xujayrasining kattaligi 0,2 mikrondan 70 - 100 mikrongacha bo'ladi. Tanasining eni esa 0,1 mikrondan 1 mikrongacha bo'ladi.

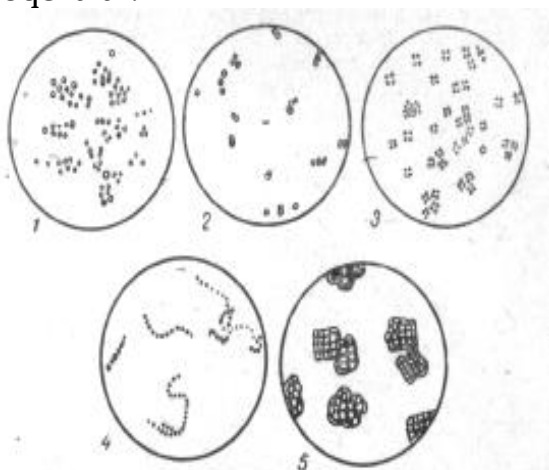
Sharsimon bakteriyalar yoki kokklar. Mikrokokklar – yakka-yakka bo'lib turadi; diplokokklar – ikkitadan bo'lib turadi; tetrakokklar – to'rttadan bo'lib turadi; streptokokklar – munchoqqa o'xshab tizilib turadi; sartsinalar – to'p-to'p bo'lib kub shaklida joylashgan bo'ladi.

Tayoqchasimon bakteriyalar: bakteriyalar - spora xosil qilmaydigan tayoqchalar; batsillalar – spora xosil qilmadigan tayoqchalar. Xar bir batsilla xujayrasida faqat bitta spora xosil bo'ladi. Aksari batsillalar spora xosil qilish paytida shaklini o'zgartirmaydi.

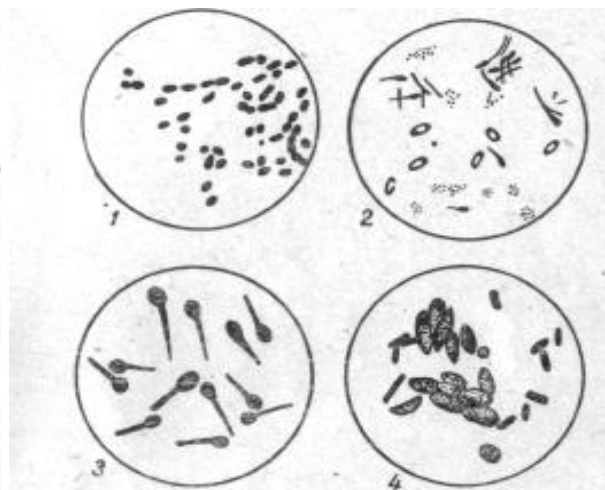
Bazi batsillalar spora xosil qilganda tayoqcha shakli o'zgaradi, chunki tayoqchanning spora xosil bo'lgan joi kengayadi. Agar spora tayoqchanning o'rtasida xosil bo'lsa, tayoqchanning o'rta qismi kengayib, limon yoki urchiq shakliga kiradi. Batsillalarning bunday shakli klostiridiy deyiladi.

Spora tayoqchanning bir uchida xosil bo'lsa, tayoqcha faqat shu uchidan kengayib, baraban tayoqchasining shaklini oladi. Batsillaning bunday shakli plentridiy deb ataladi.

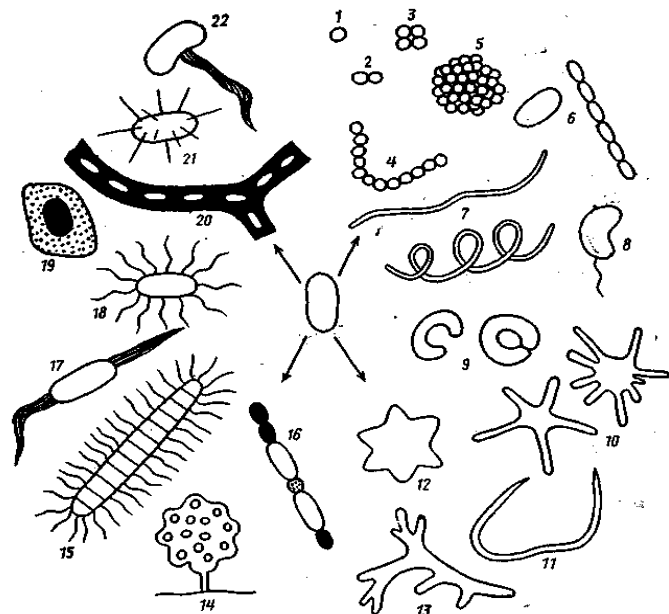
Buramali bakteriyalar: vibrionlar – vergulga o'xshash bir buramali tayoqchalar; spirillalar – lotincha S xarfiga o'xshaydigan, ikki-uch buramali tayoqchalar; spiroxetalar – spiral yoki shtoporga o'xshaydigan serburamali tayoqchalar.



14- ras. Sharsimon bakteriyalar (kokklar):
1—mikrokokklar, 2—diplokokklar, 3—tetrakokklar, 4—streptokokklar, 5—sartsinalar.



16- ras. Batsillalar:
1 va 2—har bir xujayraning markazida sporasiz bo'lgan tayoqchalar. Tayoqchalar spora hosil qilganida shakli o'zgarib, 3—pleurococcidia (baraban tayoqchalari), 4—klostiridiyalar (ur-
chuksimon tayoqchalari).

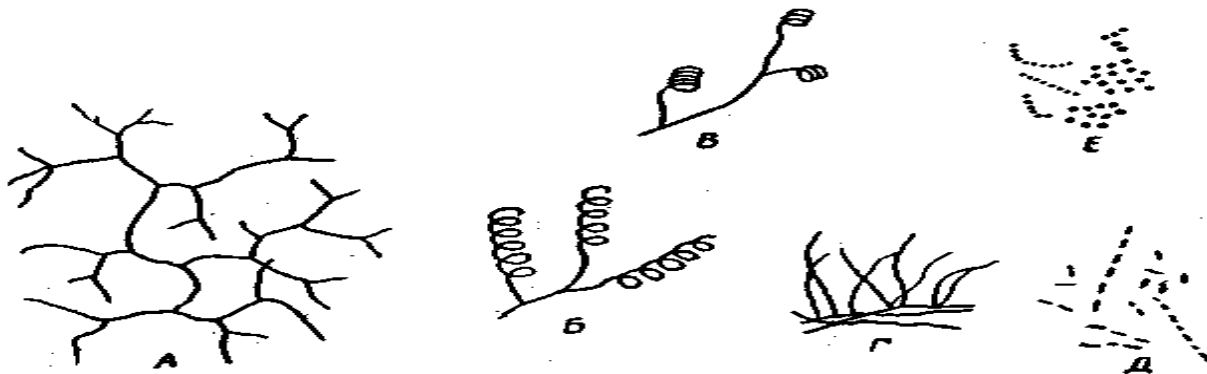


Prokariotlarning turli shaklli vakillari:

1 - kokk; 2 - diplokokk; 3 - sartsina; 4 - streptokokk; 5 - sferasimon bakteriyalarning koloniyasi; 6 – tayoqchasimon bakteriyalar (yakka hujayra, hujayralar zanjiri); 7 - spirillalar; 8 - vibriion; 9 - yopiq va ochiq xalqa shaklidagi bakteriyalar; 10 – o'simta hosil qiluvchi bakteriyalar (prostekalar); 11-chuvalchangsimon bakteriyalar; 12 - oltiburchakli yulduz ko'rinishidagi bakteriyalar; 13 - aktinomitsetlar vakillari; 14-miksobakteriyalarning meva tanalari; 15 - lateral joylashgan xivchinli *Caryophanon* avlodining ipsimon shaklli bakteriyasi; 16 - Spora (akinetlar) geterotsistalar hosil qiluvchi ipsimon tsianobakteriyalar; 8, 15, 17, 18 - har xil tipda hivchin hosil qiluvchi bakteriyalar; 19 - kapsula hosil qiluvchi temir gidrat oksididan tuzilgan qobiqqa o'ralgan ipsimon *Sphaerotilus guruxi*; 21 - tikonlar hosil qiluvchi bakteriya; 22 - *Gallionella* sp

AKTINOMETSITLAR

Aktinometsidlarda juda ingichka ipsimon bir xujayrali mitseliy bor. Ularda chinakam yadro yo'q. Mitseliyning bir qismi substradga botib tursa, bir qismi substrat ustida joylashib, xavoli mitselliyni xosil qiladi. Aktinometsitlar xavoli mitseliy iplarining erkin uchlarida spora yoki konidiy xosil qilish yo'li bilan ko'payadi. Aktinometsitlar mitseliysi tuzulish jixatidan sodda mog'orlarga va ba'zi bir xususiyatlariga ko'ra bakteriyalarga xam o'xshaydi.



Aktinomitsetlar:

A — mitseliy; B, B' — spiral sporabandlar; G — to'g'ri sporabandlar;
E — sharsimon sporalar; D — silindrsimonlar sporalar

ZAMBURUG'LAR

Zamburug' va achitqilar tana tuzulishiga ko'ra bakteriyalardan farq qiladi. Ular uch xil usulda ko'payadi. Vegetativ, jinsiy va jinssiz.

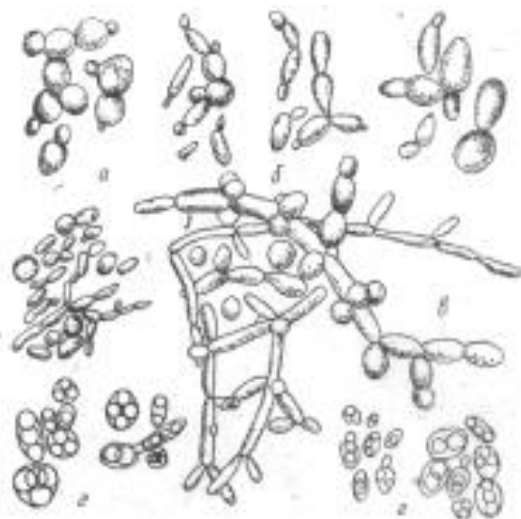
Bir xujayrali zamburug'lar. Achitqi zamburug'lari. Achitqilar xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi. Achitqi xujayralari dumaloq yoki cho'zinchoq, ba'zan cho'ziq bo'ladi. Achitqi xujayralarida xayvon kraxmali — glikogen to'planadi. Achitqi xujayralari bakteriyalardan yirikroq bo'lib, kurtaklanish yo'li bilan ko'payadi. O'zi uchun noqulay sharoitlarda sporali xaltalar xosil qiladi.

Bu sporali xaltalar qulay sharoit bo'lishi bilan unib, achitqi xujayralariga aylanadi va yana kurtaklanish yo'li bilan ko'paya boshlaydi.

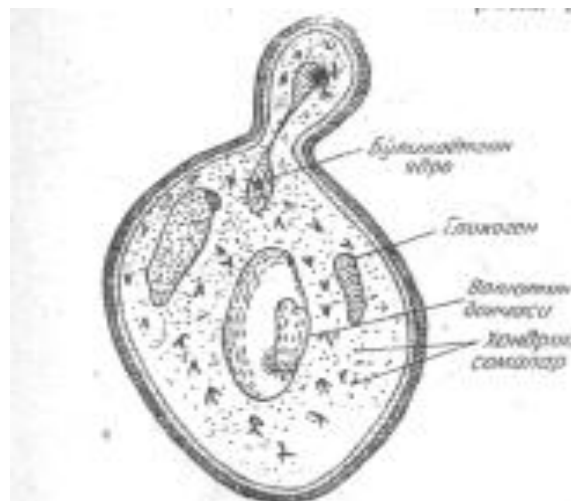
Mog'or zamburug'lari. Fikometsitlar sinfiga kiradi. Mog'or zamburug'larida yo'g'on bir xujayrali mitseliy bor. Ular jinsiy yo'l bilan ko'payganda zigosporalar xosil qiladi. Jinssiz ko'payganda endosporalar xosil qiladi. Sporangiy mitselliyning maxsus shoxchalarida vujudga keladi.

Ko'p xujayrali zamburug'lar. Ko'p xujayrali zamburug'larga aspergilsimonlar oilasi kiradi, bularda ko'p xujayrali mitseliy bor. Aspergilsimonlar oilasi xaltali zamburug'lar sinfiga kiradi, jinsiy yo'l bilan ko'payganda sporali xaltalar xosil qiladi. Bu oila ikki avlodga bo'linadi: aspergil avlodi yoki leykasimonmog'or. Jinssiz ko'payganda sporalar yoki konidiylar xosil qiladi. Bular konidiyli shoxchalarda vujudga kelib, leyka shaklida joylashadi.

Penitsilla avlodi yoki shingilsimon mog'or. Jinssiz ko'payganda sporalar yoki konidiylar xosil qiladi, bular konidiyli shoxchalarda vujudga keladi va shingilga o'xshab joylashadi.



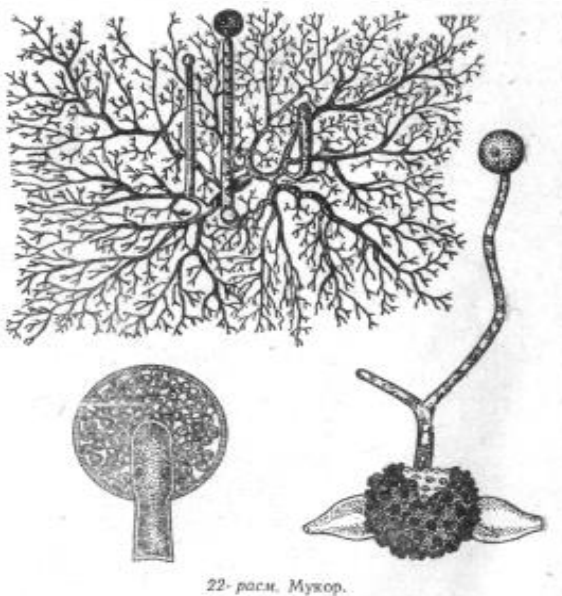
19- расм. Ачитқалар.



20- расм. Ачитқалар хужайраси-
нинг тузилиши.



21- расм. Микодерма.



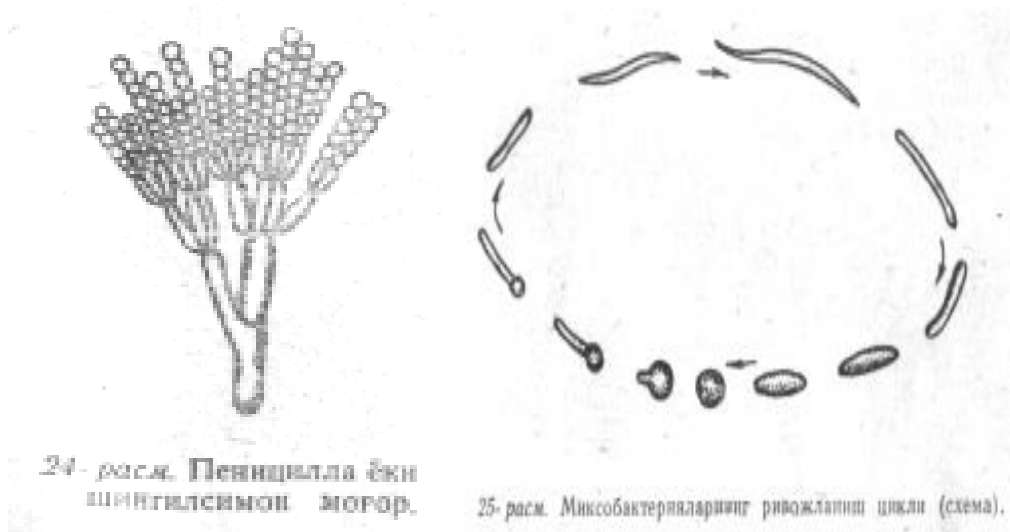
22- расм. Мукур.

MIKSObAKTERIYALAR

Miksobakteriyalar tashqi ko'rinishidan bakteriya xujayralariga o'xshash bo'lib, tanasining uchi o'tkir va qayrilgandir. Miksobakteriyalar asosan tuproqda, go'ngda va o'simlik qoldiqlarida ko'p uchraydi. Miksobakteriyalar neytral muxitda yaxshi rivojlanadi. Ular 25° dan 30° issiq temperaturada yaxshi o'sadi. Miksobakteriyalarning kattaligi 1 – 2 mikrondan 10 mikrongacha bo'ladi. Miksobakteriyalar zamburug' va bakteriyalarga qaraganda kamroq tarqalgan bo'lsa xam ularga nisbatan antoginistik xususiyatga egadir.

Miksobakteriyalar o'simlik va xayvonot qoldiqlarini aktiv ravishda parchalaydi. Shuningdek, kletchatkani va xitin moddalarni xam parchalab, o'simliklar uchun oziq moddalarga aylantiradi.

Miksobakteriyalarni A. A. Imshenetskiy mukammal tekshirgan.



LABARATORIYA ISHI №4

Mavzu: Sterillash usullari

Sterilizatsiya-latin tilidan tarjima qilinganda urug'sizlantirish degan ma'noni anglatadi. Mikrobiologiya amaliyotida esa sterilizatsiya tirik mikroorganizmlarni o'ldirish yoki ularni muxit tarkibidan butunlay yo'kotishga aytiladi.

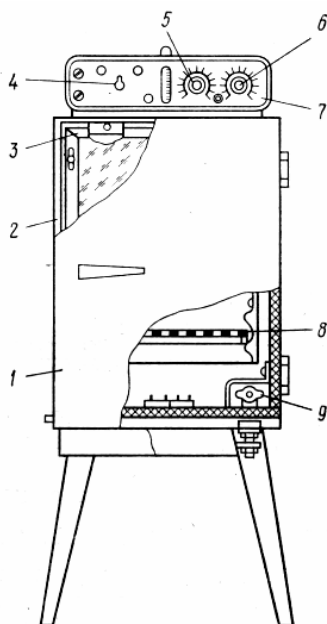
Sterilizatsiyaning turli yo'llari mavjud. Termik sterilizatsiya -kaynatish, alangada kuydirish, issik xavo yordamida, bosim ostidagi tuyingan bug' bilan, tindalyatsiya yoki bir necha marta (bo'lib-bo'lib) kaynayotgan suv bug'ida amalga oshiriladi: sovuk xoldagi-sterilizatsiya-filtirlash, fizik omillar (ul'trabinafsha nurlar, ul'tra tovush) yordamida yoki ximiyaviy moddalar (antiseptiklar) yordamida amalga oshiriladi. Ozuka muxitlarining sterilizatsiya qilish. Bosim ostidagi tuyingan bug' bilan ozuka muxitlari 0,5 1,0 va 2 atm bosimi ostida (o'nga munosib ravishda bug'ning harorati 112, 120 va 134 S ortadi) Avtoklavlarda sterilizatsiya kilinadi. Yukori bug' va harorat kiska muddat ichida mikroorganizmlarning vegetativ tanasi va sporalarini xalok kiladi.

Avtoklavlarda sterilizatsiyaning davomiyligi ozuka muxitni tarkibiga bog'lik. Tarkibida kantlar vitaminlar (pivo sulosi) oksillar (jelatilniy sut) ni 0,5 atm, bosimidagi 112⁰ Sli bug' bilan 20-30 min. Go'sht - peptonli ozuka muxitlarini bir atm-120⁰S da 20-30 minut sterilizatsiya kilinadi. Tindalyatsiya usulida esa-100⁰S dan yukori haroratda o'z xususiyatini yo'kotadigan ozuka muxitlarini kaynayotgan suv bug'i ta'sirida, bosimsiz oddiy sharoitda bir necha marta 30-40 minutdan sterilizatsiya qilishdir.

esa-
mumkin
porali

tselyuzali

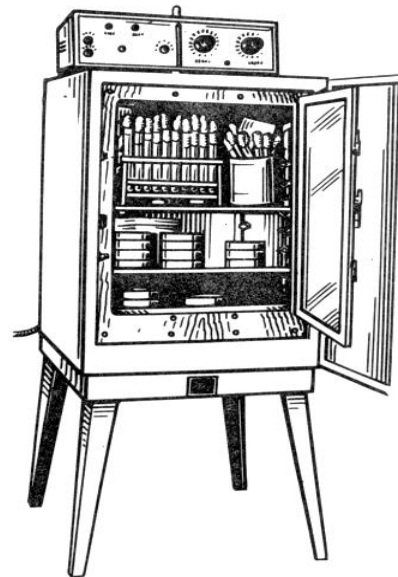
tutilib
idishlari
kog'ozga
165-



avtoklavlarda sterilizatsiya kilinadi.

Mayda metaldan yasalgan asboblar-pintset, bakteriologik igna, sirtmok va boshkalar ish paytida olinganda kizdirish yo'li bilan disenfektsiyalovchi aralashmada sterilizatsiya kilinadi.

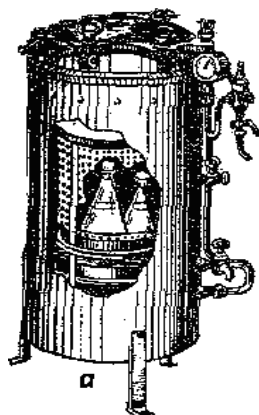
Termostatlar (quyidagi rasm - havoli, suvli) berilgan doimiy haroratda ozuq muhitida mikroorganizmlarni o'stirish uchun mo'ljallangan. Laboratoriyada alohida guruh mikroorganizmlarni rivojlantirish uchun talab etiladi-gan turli haroratli bir nechta termostat: mezofillar uchun - 28-30⁰S, termofillar uchun - 43-55⁰S, patogen turdofillar uchun - 37⁰S li termostatlar o'rnatiladi. Termostatlar har xil shaklda, o'lchamda va tuzilmali bo'ladi. Ular unchalik katta bo'lmagan shkaf ko'rinishidan bir nechta bo'limlardan tashkil topgan politermostat yoki alohida termostat xonasigacha bo'lishi mumkin.



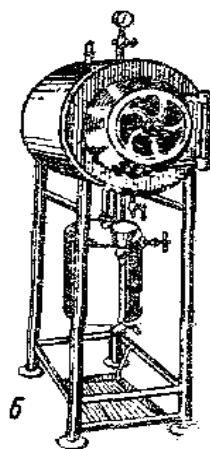
Quruq havoli elektr termostat:
1 - tashqi eshik; 2 - korpus; 3 - ichki eshik; 4 -
termostatni elektr tarmog'iga ulaydigan tumbalar; 5 -
xaroratni aniq o'rnatish uchun potentsiometr; 6 -
xaroratni taxminiy o'rnatish uchun potentsiometr; 7 - 15
boshqarish bloki; 8 - tokchalar; 9 - isituvchi element

Termostat.
Tokchalarda mikroorganizmlar ekilgan
probirkalar va Petri chashkalari.

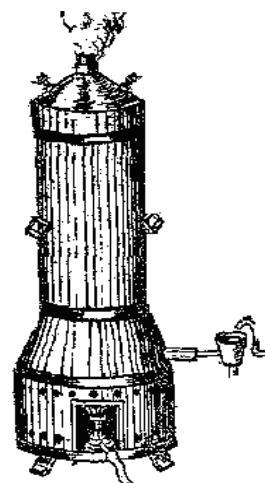
Filtirlash yo'li bilan sterilizatsiya kilinganda ozuka muxitlari va eritmalarini kizdirish bo'lmagan sharoitda kilinadi. Bunda mayda (xujayralarni tutib koluvchi) fil'tirlardan foydalaniladi. Amaliyotda kolodiy, atsetat, tselyulozali, membranali fil'tirlar, asbest va boshkalardan foydalaniladi. Mikroorganizmlar suyuqlik bilan birga nasos yordamida fil'tirdan o'tkazilganda porada koladi. Labaratoriya asbob anjomlari va shisha sterilizatsiya kilish. Buning uchun yuvilgan va o'ralgan shisha idishlar kuritish shkaflarida 170⁰S da ikki soat davomida yoki



a-vertikal avtoklav;
b- gorizontal avtoklav.



Koh qaynatgichi



LABARATORIYA ISHI №5

Mavzu: Mikroorganizmlarni o'stirish uchun oziqa muhitlari va ularni tayyorlash usullari

Mikroorganizmlarni yig'ish, ajratish va saklash xususiyatlarini o'rganish va mikdorini aniqlash uchun sun'iy ozuka muxitlaridan foydalaniladi.

Ozuka muxitlari deb tarkibida tirik xujayraning hamma ximiyaviy komponentlari xujayra tomonidan osonlik bilan o'zlashtiriladigan shaklda tutgan aralashmaga aytiladi. Deyarli barcha ozuqa muxitlarning tarkibida organogen (S, N, O₂, M) R, Su, K, Mg, /e, Sa kabi va ko'p elementlari mavjuddir. Tayyorlanish uslubi va undagi mahsulotlarning tarkibiga karab ozuka muxitlari tabiiy va sun'iylarga bo'linadi. Tabiiy ozuka muxitlari- sabzavot, mevalar va ularning kaynatmalari, sut, go'sht va baliklardan tayyorlangan sho'rvalar va boshkalar kiradi.

Sun'iy ozuqa muxitlari esa oziq-ovqat mahsulotlariga tegishli ishlov berilib va ularga ko'shimcha moddalar ko'shib (shakar, penton) tayyorlanadi.

Fizik xossalari bo'yicha ozuka muxitlari suyuq va kuyultirilgan bo'ladi.

Ozuqa muxitlarining tayyorlash maksadiga karab gruppaga bo'linadi:

- ___ oddiy yoki universal ko'pchilik mikroorganizmlar uchun yaroklilari.
- ___ maxsus ozuka muxitlari-universal ozuka muxitlarida yomon o'sadigan yoki umuman rivojlanmaydigan turdagi mikroorganizmlarni o'stirish uchun (shakarli go'sht peptonli bulion- strengokokklar uchun, suslo-turushlar va zamburug'lar uchun).
- ___ differentsial-diagnostik-o'rganilayotgan mikrobning sof kulturasini turini aniqlashda foydalaniladigan (ichak tayokchalari gruppasi uchun ENDO muxiti).

___ elektiv tanlangan fakat ayrim turdagi mikroorganizmlarni o'stirish uchun foydalaniladigan elektiv muxitlarga ekilgan turli xildagi mikroob urug'larning ayrim gruppalari uchun muxit kulay va ular tez rivojlanadi). Boshqa turdagi mikroorganizmlar gruppasi esa nokulay sharoitda rivojlanadi. Elektiv muxitlar mikroorganizmlarni tabiatdagi yashash joylaridan ajratish va ularni yig'ish uchun ishlatiladi.

Har kanday ozuka muxitlarining sifat ko'rsatkichlari bu kerakli mikdorda ozik moddalarning bo'lishi, ma'lum rN reaksiyasi, absolyut sterillik, namlik, shaffoflik va xokozolardir.

Bakteriologiyada universal ozuka muxitlaridan biri go'sht peptonli kaynatma hamda go'sht peptonli agardir. Ularning tayyorlanishi uchun go'shtning suvdagi ekstraktsiyasidan foydalaniladi.

Quyida ozuka muxitlarini tayyorlash uslublari keltirilgan.

1. Go'sht peptonli bulion-go'sht peptonli kaynatma tayyorlash: 500 gr yangi sof go'shtni (yog',suyak va paysiz) maydalab sirlangan idishga solib ustiga 1 l. vodorod suvi kuyib. 15 S haroratda 12 soat yoki 50 S da 30 minut koldiriladi. Ivib kolgan oksil ipchalari fil'tirlab, fil'tr sikib olinib, taxlangan fil'trdan kayta o'tkazib, 1l xajmga yetkaziladi. Hosil bo'lgan go'sht kaynatma 10gr pepton 5gr osh tuzi ko'shib pepton erib ketgunga kadar kizdiriladi. Issik suyuklik soda yordamida bir oz iskorlanadi(lakmus kog'ozi nim kizil rang berguncha). So'ngra kaynatma 30 min. Avtoklavda kizdirib ivigan oksil iplari fil'trlanadi. Qaynatmani tiniklashtirish uchun o'nga avtoklavga solishdan oldin 1 dona tuxum oksili ko'shib aralashtirib, so'ng fil'tirlanadi. Tinik kaynatma probirkalarga solib sterilizatsiya kilinadi. Go'sht kaynatmasidan turli xil ozuka muxiti- glyukozali yoki shakarli tayyorlanadi, buning uchun 1-2 glyukoza ko'shish kifoya (anaerob mikroorganizmlar uchun).

2. Go'sht peptonli kaynatma va go'sht peptonli agar- bakterialarni sanash uchun tayyorlanadi. Sof kul'turalar olish uchun albatta shaffof ozuka muxitlari bo'lishi kerak. Buning uchun go'sht peptonli bulion ga 10-12 jelatin yoki 1.5-2 agar ko'shib tayyorlanadi. Ularni suyuklanish Harorati gpj-24 S, go'sht peptonli agar-agar-100 S, muzlash Harorati-40S.

Go'sht peptonli jele-30 min davomida koxoviskiy kaynatgichida kaynatiladi. Go'sht peptonli agar-agar esa 20 min 120 S li avtoklavda pishiriladi. So'ngra go'sht peptonli jele ga Har 100 gr jelatin xisobiga 1-N eritmasidan 30-40 ml solib 40-50 S gacha sovitib, o'nga 500 mlga 1 tadan tuxim oksili solib yaxshilab kaynatib, fil'trlab probirkalarning 2.3 kismga kuyib 100⁰ S da 30 min sterilizatsiya kilinadi.

3. Kartoshkali agar-200 gr. tozalangan kartoshkani maydalab 1l.suv ko'shib, 30min kaynatiladi. kaynatma paxta tolasi orkali fil'tirlanib, xajmi1l ga yetkazib o'nga 2 agar ko'shiladi. Agar eriguncha kaynatiladi va o'nga rN-7 ga teng kilib 1-atm bosim ostida 20 min sterilizatsiya kilinadi.

4. Pivo-suslosi tayyorlash. Arpa sovuk suvda yuvib 35 S da o'stiriladi. Maysa donning xajmidan 2 marta kattalashgach uni kuritishadi va solod olinadi. Suslo tayyorlash uchun solod yirikrok kilib maydalanib va 1l. 250 gr. solinadi. Amilazani yaxshi ajralishi uchun 57⁰ S da kraxmal reaksiya bermaydigan darajagacha (yod bilan ko'k rang Hosil bo'lishi) kizdiriladi. Suslo paxta orkali

suzilib, kog'oz fil'tr orkali fil'trlanadi. Bunday suslo tarkibida 10-20 shakar bo'ladi. Uning anik mikdorini saHarametr yordamida aniklanadi. Suslo shakarga suv aralashtirilib kontsentratsiyasi 6-8 ga tushiriladi. So'ngra 115⁰ S Haroratda 0,5 atm. bosim ostida 30 min davomida sterilizatsiya kilinadi. Tayyor susloni pivo zavodlaridan olish mumkin.

5. Suslo-agar tayyorlash. Tayyor pivo suslosiga 2,5-3 agar ko'shib eriguncha kaynatiladi, paxta orkali fil'tirlab pivo suslosi singari sterilizatsiya kilinadi.

6. a) Drojili ozuka muxiti tayyorlash. 50-100 gr kuruk drojilarni maydalab 1l suvga aralashtirib, 10 min kaynatiladi, kog'oz fil'tr orkali fil'trlab, bug' yordamida 30 minutdan 3 kun katorasiga sterilizatsiya kilinadi.

b) 200 gr preslangan droji 1l suvga eritilib, 2gr 1N va 5ml. xloroform ko'shib 37⁰ S da 2-sutka ushlab, rN-7,4 ga yetkazilib, 30min sterilizatsiya kilinadi (30 min. 115 S da)

7. Dukkakli kaynatma. 50 gr. loviya 1gr, vodoprovod suviga solib, chala pishguncha kaynatiladi va paxta orkali fil'trlab 10 gr. shakar ko'shib birlamchi xajmga keltiriladi. Kuchsiz ishkoriy muxit Hosil kilib kolbalarga kuyib avtoklavda 1,5 atm. bosim ostida bug'da 30 min sterilizatsiya kilinadi

Talabalarning mustakil ishi: yukorida keltirilgan uslublar yordamida turli ozuka muxitlarini tayyorlang va sterilizatsiya kiling.

LABARATORIYA ISHI №6

Mavzu: Mikroorganizmlarni ekish usullari

Mikrobiologik tadqiqotlarning maksadi ozuqa muxitlarining turi va kanday idishlarda mikroorganizmlarni o'stirilishiga karab ularni turlicha ekish uslublari mavjud. Ekish jarayonida albatta sterillikni tayminlash va begona mikroorganizmlarni tushib kolishini oldini olish zarur.

1. Mikroorganizmlar kul'turalarini probirkaga ekish.

Pribirkaga mikroorganizmlar kul'turasini ekish usuli quyidagi boskichlardan iborat.

a) mikroorganizm kul'turasi va ozuka muxiti solingan probirkalarni chap ko'lining ikki barmogi bilan kiya shaklda ushlanadi: o'ng kulda mikrobiologik sirtmokni ushlab alangada kizdiriladi:

b) O'ng ko'l bilan sirtmokni kuyib yubormay Har ikki probirkaning po'klari sug'irib olinadi.

v) sterilangan sirtmokni mikroorganizmli probirkaga botirib, material olinadi.

g) kul'turani ekish: suyuq ozuka muxitiga kul'turani sirtmok bilan probirka devoriga suriladi, biroq kuyultirilgan agarli muxitga sirtmok probirkaning suvli

Issik sharoitda o'suvchi(teremofil) mikroorganizmlar 45-65 S da yaxshi rivojlanadilar. Haroratning optimal nuktasidan past yoki yukori bo'lishi mikroorganizmlarni rivojlanishini sekinlashtiradi. SHuning uchun ularni bir xil Haroratda temostatlarda o'stiriladi.

Yorug'lik. Ko'pchilik mikroorganizmlarga yorug'likning ahamiyati yuk, lekin kuyosh nuri ta'sirida ko'pchilik mikroblar xalokatga uchraydi. SHuning uchun ularni maxsus yoritilgan termostatlarda o'stiriladi.

Xavo almashinuvi. Mikroorganizmlar tabiatan erkin kislorodga nisbatan bo'lgan munosabatiga karab aeroblar va anaeroblarga bo'linadi. SHuning uchun ularni kislarodli va kislarodsiz sharoitlarda o'stiriladi.

Aerob va fakultativ anaerob mikroorganizmlar oddiy sharoitda ya'ni kislorodli xavo muxitida o'stiriladi.

Anaerob mikroorganizmlarni esa- turli xil yo'llar bilan xavosi so'rib olingan sharoitlarda o'stiriladi. Buning eng oddiy usuli yukori suyuqlik ostida ularni o'stirish(10-15 ml probirkalarda). Suyuq ozuqa muxiti ustiga yupkasterilangan vazelin moyi parafin kuyuladi. Suyuklik tarkibidagi erigan kislarodni chikarish uchun uning 20-30 minut suv Hammomida kaynatib so'ngra mikroblar kulturasini ekiladi. Bundan tashkari 0,2-0,3 li agar-agarning kuyuk muxitida chukurlashtirilgan uslubda Ham anaeroblarni o'stirish mumkin.

Qatt'iy anaeroblarni atrof muxitdan kislarodni butunlay so'rib olingan tartibda o'stiriladi. Germetik eksikator yoki mikroanat erostatlar ichiga mikroorganizm kulturalari joylashtirilib xavosi nasos bilan so'rib olinadi.

Ximiyaviy yo'l bilan xavosizlantirish uchun grmetik idishlar ichiga ishkoriy pirogalloza, temir va boshka moddalarni solib amalga oshirish mumkin. O'stirish muddatlari. Mikroorganizmlar tabiatiga karab bakterialar 24-48 soat davomida, mog'or zamburug'lari esa bir xafta davomida o'stiriladi.

LABARATORIYA ISHI №7

Mavzu: Mikroorganizmlarni sof kulturasini ajratib olish usullari va ularni turlarini aniqlash usullari

Mikroorganizmlarning sof kulturasini deb, biror mikroblar turini bitta xujayrasini elektiv ozuka muxitlarida o'stirilgan avlodiga aytiladi. Sof mikroorganizm kulturalari deyarli barcha mikrobiologik tadqiqotlar uchun zarurdir. CHunki tabiiy sharoitda turli xil ob'ektlar mikroflorasi juda turli-tumandir. Ularni fakat sof kulturalarini ajratib olingandan so'nggina xususiyatlarini o'rganish va turli soxalarda foydalanish mumkin.

Mikroorganizmlar sof kulturalarini ajratish bir necha ming xujayralardan bir donasini ajratib, uni maxsus ozuka muxitlari o'stirib, ko'paytirishga asoslangan. Aloxida bitta xujayrani ajratib olish uchun Perdilyev mikromaniulyatori yoki mikroselektoridan foydalaniladi. Ammo amaliyotda ko'pincha kattik ozuka muxitlariga mikroblarning aralashmasi ekiladi. Bunda Har bir koloniya 1 xil xujayralar avlodi deb karaladi.

Mikroorganizmlarni asosan agarli ozuka muxitlariga ekiladi. Bu uslub nemis olimi KOX ning plastinkali uslubi deb yuritiladi. va 2 uslubni o'z ichiga olgan:

1) Siyraklanib boruvchi ekish uslubi- bunda kattik ozuka muxiti solingan Petri chashkalariga olingan kulturaning shpaterni sterillamay ketma-ket ekish uslubidir.

Bu uslubdan shpatel bilan bir marta olingan kul'tura bir necha idishga ekiladi. Tabiiyki oxirgi idishlarda eng kam mikdorda mikroob tushadi.

2) O'rganiladigan materialni sterillangan suv yoki domziologik eritmada bir necha 10-100 va undan ortik marta suyultirib ozuqa muxitlariga ekish.



Озиқли муҳитни Петри ликобчасига қўйиш.



г. Петри ликобчасидаги колонияларни пробиркага экиш.

KOX uslubida to'g'ri ekilgan mikroorganizmlar ozuqa muxitlarida oddiy ko'z bilan ko'rish mumkin bo'lgan bir xil xujayralardan iborat bo'lgan koloniyalar Hosil kiladi. Keyingi boskichda esa koloniyalardan olingan xujayralar aldoxida ekilib ko'paytiriladi. Ajratilgan sof kul'turalar mikrofologik belgilari, kul'tural, fikreologik xususiyatlari, kislorodga bo'lgan munosabati oksilli va kandli moddalarni parchalashi va boshka bir kator xususiyatlari o'rganiladi.

Talabalarni mustaqil ishlari:

Mikroorganizmlarning sof kul'turalarini ajratish va ularni KOXning siyraklashtirish usulida ozuka muxitlariga ekish.

(1- BOSQICH)

1. Oldindan **go'sht peptonli agar** solib sterilizatsiya kilingan **go'sht peptonli agar** li 3ta Petri chashkasi solib, ularni tegishli yozuvlar bilan belgilab, birinchi idishga oldindan tayyorlangan mikroorganizm suspenziyasidan steril pipetka yordamida 1 ml tomiziladi. Uni Drigal'skiy shpateli yordamida idish ozuka muxiti yuzasi bo'ylab tarkatiladi. so'ngra shpatelni sterillamay 2chi 3chi idishlarga Ham mikroorganizmlar ekiladi. Ish tugagach shpatel sterillanib, idishlar tubini yukoriga kilib ag'dariladi va 37S li termostatga qo'yiladi.

(2- BOSQICHDA)

a) Go'sht peptonli agarda rivojlangan mikroorganizmlar koloniyalarini ta'riflang. 5-10 marta kattalashtiruvchi lupa yordamida idish qopqog'ini ochmay yorug'likka to'tib kuzating. So'ngra kelgusi tadqiqotlar uchun bakteriyalarni turini tanlang.

So'ngra kaloniyalar sonini, farqlanish belgilarini aniqlab yozib oling.

b) Tadqiqotlarni davom ettirish uchun tanlangan koloniyadan preparat tayyorlab, mikroskop ostida ko'rib, bir xil mikroblar xujayrasidan iborat ekanligiga ishonch hosil kiling. Tayyorlangan preparatlarni fuktsin bilan bo'yab imersiya ob'ektivida kuzating.

Bitta koloniyadan toza kultura ajratib olish. Bu usulni mikrobiologiya hammomida eritiladi, so'ngra 45-50 S gacha sovitiladi va Petri likopchasiga quyiladi. Buning uchun muhitli idishni o'ng qo'lda qiya ushlab, paxta tiqini olinadi. Keyin idishning og'zi grelka alangasida qizdirib olinadi, chap qo'lning bosh va ko'rsatkich barmog' bilan likopchanning qopqog'ini ochib, eritilgan muhit tezda quyiladi (15-20 ml); bunda likopchanning tubi to'liq qoplanishi kerak. Keyin likopcha qopqog'ini tezda berkitib, muhit soviguncha tinch qoldiriladi.

Aerob mikroorganizmlar yuza usulda ajratib olinadigan bo'lsa, bir tomchi yig'ma kul'tura yoki uning suyultirmasi ilmoqda yoki pipetkada sovigan muhit o'rtasiga tomiziladi (likopcha qopqog'ini qiya ochib turib). Keyin uni sterillangan shisha shpatelda likopchadagi muhit yuzasiga yoyiladi. SHundan so'ng material qoldig'i bo'lgan shu shpatel' ikkinchi, uchinchi, kamdan-kam holda to'rtinchi Petri likopchasidagi muhit yuzasiga surkab chiqiladi. Bunda likopchalar qopqog'i faqat shpatel' dezinfektsiyalovchi eritmaga botirib qo'yiladi. Sanoatda ishlab chiqarilgan achitqilardan, brajka, sut, suv, pivo, sharob, kvas, qimiz, xamir, tuproq, xomashyo yuvindisuvlari, jihozlar va hokazolardan ham ana shu yo'l bilan toza kul'tura olish mumkin. Buning uchun oldin sterillangan suvda yoki fiziologik eritmada suyultirma tayyorlab olinadi.

Yig'ma kul'turani qattiq ozuq muhiti yuzasiga shtrix usulida ekish ham mumkin.

Buning uchun ekish materialidan ilmiqda bir tomchi olib, 2-3 ta Petri likopchasidagi agar plastinkasi bo'ylab parallel yoki zigzagsimon shtrix bo'ylab ekiladi. Suyultirilgan yig'ma kul'tura bitta likopchaga shtrix usulida ekiladi.

LABARATORIYA ISHI №8

Mavzu: Suv va havo tarkibidagi mikroorganizmlarni aniqlash

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

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

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

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

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

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

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

1 m³ havo tarkibidagi mikroorganizmlar sonini topish uchun avval 100 sm² oziq muhitidagi mikroorganizmlar koloniyasini aniqlash kerak. Chunki V. S. Omelyanskiy ma'lumotiga ko'ra 10 l havo tarkibida bo'lgan mikroorganizmlar 5 minut ichida 100 sm² yuzaga tushar ekan. Bu ko'rsatkich aniqlangandan so'ng 1 m³, ya'ni 1000 l havo tarkibidagi mikroorganizmlar soni, aniqlanadi. Masalan, 100 sm² yuzada 35 ta koloniya o'sgan, deb faraz qilaylik. Demak, V. S. Omelyanskiy ma'lumotiga asoslanib, 10 l havo tarkibida 35 dona bakteriya borligi aniqlandi. Endi 1 m³, ya'ni 1000 l havo tarkibidagi bakteriyalar sonini aniqlash uchun tubandagi proporsiya tuziladi:

$$10 \text{ l} - 35 \quad \times q \frac{1000 \times 35}{10} q \frac{3500}{1}$$

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

Tajriba materiallarini chuqurroq analiz qilish maqsadida quyidagi ishlar bajariladi:

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

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

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

Koloniyaning nomeri	Ko'rsatkichlari					
	Xarakatlanishi	Xarakatsiz	Shakli	Sporasi		Spora xosil qiladigan vegetativ qismining shakli
				yo'q	bor	

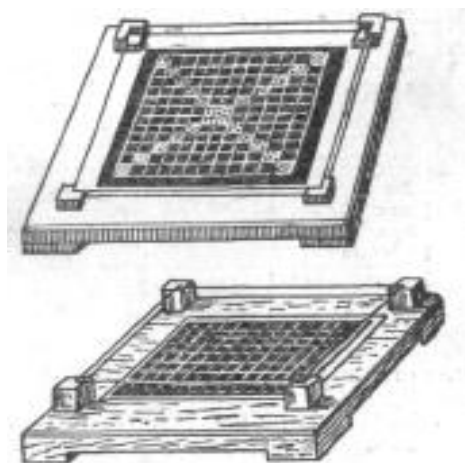
1							
2							
3							

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

Havo mikroflorasini aniqlashda ishlatiladigan Krotov apparati va sanash taxtasi quyida ko'rsatilgan.



43- ras. Krotov apparatining kuryani.



44- ras. Sanash taxtasi.

LABARATORIYA ISHI №9

Mavzu: Tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarni aniqlash.

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

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

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

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

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

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

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

$$Sqqr^2$$

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

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

$$Sqnr^2q3,14x(0,08)^2q3,14x0,0064q0,020094.$$

Demak, mikroskopda ko'ringan doiraning umumiy sathi 0,020094 yoki 0,02 mm² ga teng ekan.

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

3. Yuqoridagi sonlarga asoslanib, tajriba o'tkazilayotgan buyum oynasining 4 sm² yuzasiga yuqtirilgan yoki 0,01 g (ml) aralashma ichidagi mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash uchun quyidagi tenglamadan foydalaniladi:

$$0,02\text{mm}^2\text{—}g\ 30\ \text{dona bakteriya} \quad xq\ \frac{400x30}{0,02}q\frac{12000}{0,02}q600\ 000\ \text{dona}$$

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

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

$$0,001\ \text{g-}600000 \quad xq\ \frac{1x600000}{0,001}q600\ 000\ 000\ \text{dona}$$

1g-x

Demak, tekshirilgan tuprokning bir gramida 600 000 000 dona mikroorganizm bor ekan.

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

LABARATORIYA ISHI 10

Mavzu: Rizosfera mikroflorasini o'rganish

O'simliklarning ildizlariga yaqin joylashib rivojlanadigan mikroorganizmlar rizosfera mikroorganizmlari deyiladi (rhiza-ildiz, sphaera- shar).

Ildiz atrofida va ildizda rivojlangan rizosfera mikroorganizmlarning miqdori tuproq mikroorganizmlariga nisbatan bir necha marta ko'p bo'ladi. Ildizdan xar-xil organik moddalar ajralib chiqqani uchun unda rizosfera mikroorganizmlari juda ko'payadi.

Tekshiruvchilarning aniqlashicha, o'simlik mikroorganizmlar istemol qiladigan qand va organik moddalar-ni o'zining vegetatsiya davrida 4-5% miqdorda ajratib chiqaradi. Rizosfera mikroorganizmlari faqat o'simliklar ajratadigan organik moddalar xisobiga yashamasdan chiriyotgan ildiz epidermisi va ildiz tuklaridan xam oziq sifatida foydalanadi.

Tekshirishlardan ma'lum bo'lishicha xar qaysi o'simliklarning o'ziga xos rizosfera mikroflorasi bo'ladi. Masalan E. F. Beryozova boshqali osimliklar ildizida ko'pincha ammonifikatorlar, dentirifikatorlar bo'lishini; makkajo'xori ildizida anaerob azot to'plovchi va radiobakteriyalar: kartoshka ildizida mirobakteriya, aktinometsit va boshqalar bo'lishini aniqlagan. Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar ajratadigan turli organik moddalar xisobiga yashashi bilan birga o'z navbatida o'simliklarni o'sishi uchun zarur bo'lgan turli elementlar (azot, fosfor, vitamin va boshqalar) bilan taminlaydi. Rizosfera mikroorganizmlari spora xosil qilmaydigan mikroblar turkumiga kirsalar xam, asosan tuproq mikroflorasiga yaqin turadi. Rizosfera mikroorganizmlari o'simliklar ildizida, ildiz atrofida joylanishlariga qarab bir necha guruppalarga bo'linadi. E. F Beryozova ildizga yopishgan mikroflora o'simlik uchun katta xamyatga ega ekanligini, chunki bu mikroflora o'simlik uchun kerakli fizologik moddalarni sintez qilib berishdan tashqari, o'simliklar ildizini zararli mikroorganizmlar tasiridan saqlashini aniqlagan. Ildiz atrofiga yaqin joylashgan mikroorganizmlar tuproqdagi o'simlik o'zlashtira olmaydigan moddalarni yengil o'zlashtira oladigan xolga aylantiradi; bundan tashqari, o'simlik ildizidan chiqadigan bazi bir zararli moddalarni parchalaydi. Shuning uchun bunday mikroorganizmlar o'simliklarning o'sishida katta ahamyatga ega

Rizosfera bakteriyalarini N. A. Krasilnikov usulida aniqlanganda avvalo, sterillangan pintset bilan ildizga yopishgan tuproq ehtiyotkorlik bilan olinib,

sterillangan Petri likobchasiga solinadi. So`ngra tuproqdan Petri likobchasiga solinadi. So`ngra tuproqdan 1 g tortib olib sterillangan kolbaga solib, ustiga 99 ml sterillangan suv quyib, bir-ikki minut davomida yaxshilab chayqatiladi, keyin sterillangan pipetka yordamda sterillangan suvga qo`shib kolbaga navbatdagi navbatdagi eritmalar xosil qilinadi. Masalan 1:100000 yoki 1:1000000, undan yuquri 1:100000000 nisbatda eritma tayorlanadi. Tortinchi-beshinchi yoki beshinchi-oltinchi eritmadan 1 ml dan olib ikkita Petri likobchasiga DPA ga ekiladi. Ekilgan likobchalar 23-25⁰c termostatga ikki uch kunga qo`yladi. Keyin likobchada o`sib chiqqan kolonyalarning morfologik, fizologik xususiyatlari o`rganilib, mikroblar to`plamining soni 1 g tuproqqa xisob qilinib, umumiy soni aniqlanadi.

Rizosfera bakteriyalari E.S.Tepper usulida aniqlanganda o`simliklar ildizini kesak bo`lakchalaridan tozalab taxminan 1 g ildiz tortib olib, 50 ml sterillangan suv solingan kolbada 2 minut yuviladi. So`ngra ildizlar sterillangan pinset yordamda ko`lbadan silqitib olinib, 50 ml suv solingan boshqa ko`lbada yana yuviladi. Shunday qilib 7 marta yuviladi. 6 va 7- marta yuvilayotganda kolbaga 3-5 g sterillangan kvarts qumi solinib yuviladi.

Birinchi, ikkinchi yuvilganda yuvindida tuproq mikroflorasi qoladi; to`rtinchi, beshinchi, oltinchi va yettinchi marta yuvilganda yuvindida ildizga yopishgan rizosfera mikroblari qoladi. Bu yuvindilar kerakli darajagacha sterillangan suvda eritilib, GPA yoki DPA muxitlari yuzasiga shpatel yordamda ekiladi. Petri likobchasidagi GPA yoki DPA yuzasiga sterillangan pipetka yordamda 0.05 ml (1 tomchi) eritma quyiladi va shpatel bilan muhitning yuzasiga quriguncha surtiladi, so`ngra ikki-uch kun davomida 25<sup>0</sup> c termostatga qo`yiladi, so`ngra likobcha yuzasida o`sib chiqqan bakteriyalar to`plamining soni 1 ml eritmaga xisob qilinib, 1 g ildizda qancha rizosfera mikrobi borligi aniqlanadi. Masalan

0.05--- 500

$$x = \frac{1 \cdot 500}{0.05} = 10000$$

LABARATORIYA ISHI №11

Mavzu: Epifit mikroorganizmlarni aniqlash

Rizosfera mikroorganizmlari o`simliklar o`sish davrida ildizidan tanasiga xam ko`tariladi va o`simlik tanasiga tashqi muhitdan chang, xashorotlar orqali xar-xil mikroorganizmlar yuqadi. Osimlik tanasida uchraydigan mikroorganizmlar **epifit mikroblari** deyiladi. Epifit mikroorganizmlari asosan saprofitlar turkumiga kirib, ular o`simlik to`qimalaridan ajralib chiqadigan xar hil chiqindilar va o`simlik tanasidagi turli organik moddalardan oziq sifatida foydalanadi.

Epifit mikroblar faqat o`simlik tanasida, bargida va gulida emas, balki doni, turli mevalarida, shuningdek, sabzavotlarning yer usti qismida xam ko`plab uchrashi mumkun. Tekshiruvchilarning ma`lumotlariga ko`ra 1 g sifatli donda bir necha million epifit mikroblar uchratish mumkun.

E. I. Kvasnikov, M. G. Sumnevich va Y. M. Voznyakovskayalarning ma'lumotlariga qaraganda, epifit mikroblar turkumiga psodomanas Pseudomanas gruppasiga kiruvchi mikroblardan tashqari, xar hil zamburug'lar, sharsimon mikroblar, tayoqchasimon mikroblar va sut kislota xosil qiluvchi bakteriyalar ham kiradi. O'simlik tanasida uchraydigan mikroblar o'simlikning o'sishiga zarar yetkazmaydi, epifit guruhiga kiruvchi ba'zi bir zararli zamburug'lar esa o'simlik tanasidan ildiziga o'tib o'simlikning xosildorligiga ta'sir qilishi mumkun.

O'simlik tanasida uchraydigan epifit mikroblarni aniqlash uchun sterillangan pintset bilan boshqdan olingan dondan 10 g tarozida tortib olinib, 90 ml sterillangan suv quyilgan kolbaga solinadi va 5 g sterillangan qum qo'shib, 10 minut davomida yaxshilab chayqatiladi. Xosil bo'lgan yuvindidan 1 ml olib 1 : 10000 gacha eritma xosil qilinib, eritmada 1 ml olib ikkita Petri likobchasiga ekiladi. Bakteriya aniqlanishi kerak bo'lsa, eritma DPA ga ekiladi, agar eritmada zamburug'larni aniqlash kerak bo'lsa, suslo – agarga ekiladi.

Sabzavotlar urug'idagi epifit mikroblarni aniqlash uchun urug'dan 1 g olib, 9 ml sterillangan suv quyilgan kolbaga solib, ustidan 1 g sterillangan qum qo'shib, 10 minut davomida yaxshilab chayqatiladi, xosil bo'lgan yuvindidan 1 : 10, 1 : 10000 nisbatda eritma tayyorlab suslo – agarga ekiladi. Ekilgan likobchalar ikki uch sutka davomida 23 – 25 ° C termostatda saqlanadi, so'ngra oziq muhiti yuzasidan unib chiqqan mikroblar to'plamlarining xususiyatlarini o'rganiladi.

LABARATORIYA ISHI №12

Mavzu: Spirtli bijg'ish.

Spirtli bijg'ishda qand parchalanib, etil spirti va CO₂ vujudga keladi. Bu bijg'ishga achitqi zamburug'lari yoki achitqilar sabab bo'ladi. Spirtli bijg'ish – achitqilarning anaerob nafas olishi demakdir. Spirtli bijg'ish formulasi shunday:



Achitqilar – fakultativ anaeroblar. Ular aerob sharoitda ham, anaerob sharoitda ham yashayveradi. Achitqilar chin achitqilar va soxta achitqilar degan ikki oilaga bo'linadi.

Chin achitqilar oilasi ikki guruhga bo'linadi: madaniy achitqilar va yovvoyi achitqilar. Madaniy achitqilar non yopish, pivo, vino tayyorlash korxonalarida ishlatiladigan achitqilardan iborat bo'lib, Saccharomyces turkumiga kiradi. Ular yirik, yumaloq yoki cho'zinchoq bo'lib, kurtaklanish yo'li bilan ko'payadi. Xujayralarda zapas oziq modda – glikogen (hayvon kraxmali) bor. Achitqi hujayralaridagi glikogenni aniqlash uchun "ezilgan" tomchi preparati quyidagicha tayyorlanadi: buyum oynasiga suv o'rniga Lyugol eritmasidan bir tomchi tomiziladi, unga achitqilarni aralashtirib, qoplag'ich oyna yopiladi. Achitqi xujayralaridagi glikogen donalari qizg'ish – qo'ng'ir tusga kiradi. Pivo yoki xamir achitqilari (Saccharomyces cerevisiae) bilan tanishish uchun quruq mazoqtayyorlanadi. Preparat metilen ko'ki bilan bo'yaladi.

Yovvoyi achitqilar tabiatda keng tarqalgan, ko'pincha korxona zararkunandalari xisoblanadi. Yovvoyi achitqilar cho'ziq bo'lib, kurtaklanish yoki bo'linish yo'li bilan ko'payadi. Boyitilmagan muxitlarda xavo kislorodi bo'lganda xamma chin achitqilar sporali xaltachalar xosil qiladi.

Soxta achitqilar oilasi sporali xaltachalar xosil qilmaydi, faqat kurtaklanish yo'li bilan ko'payad, qandni salgina achitadi yoki butunlay achitmaydi. Soxta achitqilar oilasi ikki turkumga bo'linadi:

Torula turkumi – yumaloq achitqilar bo'lib, qandni bijg'itadi, natijada bir ozgina spirt xosil qiladi. Ular tabiatda keng tarqalgan – achigan sut maxsulotlari, silos va tuzlangan sabzavotlarda doimo bo'ladi.

Mikoderma turkumi – cho'ziq xujayrali parda xosil qiluvchi achitqilardir. Ular qandni bijg'itmay, CO_2 va H_2O ga qadar oksidlanadi. Aeroblar suyuqlik yuzasida parda xosil qiladi. Ko'pincha oziq – ovqat korxonalarining (masalan, sirka tayyorlanganda, sabzavot tuzlanganda va xakazo) zararkunandalari xisoblanadi.





Spirтли bijg'ishda achitqilar qandni parchalaydi, amalda 50 % CO₂ va 50 % etil spirti xosil bo'ladi.

Achitqi bir minutda qancha ko'p qandni parchalab, spirt va CO₂ xosil qilsa, ularning bijg'itish energiyasi o'shancha ko'proq bo'ladi. Bijg'ish energiyasini aniqlamoq uchun glukozaning 10 % li eritmasidan 50 ml olib kolbaga quyiladi va unga presslangan achitqilardan 1 – 2 g dan solinadi. Bijg'ish jarayonini tezlashtirish uchunkolba 30 – 35°C suv xammomiga 1 soat qo'yiladi, so'ngra kolbaning og'zi egri shisha nay o'rnatilgan kauchuk probka bilan maxkam berkitiladi, nayning ikkinchi uchiga suv to'latilib, suvli shisha idishga to'ntarilgan probirka ichiga kiritiladi. 30 – 40 minut o'tgandan so'ng, kolbada ajralayotgan korbanat angidrid egri shisha nay orqali to'ntarilgan probirkaga boradi, probirkada xavo pufakchalari xosil bo'lganini ko'ramiz. Kolbadagi bijg'iyotgan suyuqlikda spirt xosil bo'ladi. Spirтли bijg'ish jarayonini kuzatishda maxsus asbobdan foydalaniladi.

Qand bijg'iganda 50 % CO₂ va 50% spirt xosil bo'lganligidan, eritmadagi spirtning og'irligi xavoga uchib ketuvchi CO₂ ning og'irligiga tengdir, ya'ni $g=e$. Bijg'igan qand og'irligi CO₂+ spirt og'irligiga teng, ya'ni $b = g + e$. Binobarin, bijg'igan qand protsentini bilmoq uchun quidagicha xisob qilamiz:
 $e = a - b$, $g = e$, $d = g + e$,

$$x = \frac{d \cdot 100}{v}$$

Bunda:

- a – qand bijg'iguncha kolbaning og'irligini,
- b – qand bijg'igach kolbaning og'irligini,
- v – kolbadagi qandning dastlabki og'irligini,
- e – xavoga uchib ketgan CO₂ ning og'irligini,
- g – eritmadagi spirtning og'irligini,
- d – bijg'igan qand og'irligini,
- x – bijg'igan qand protsentini ifodalaydi

LABARATORIYA ISHI №13

Mavzu: Sut kislotali va moy kislotali bijg'ish

Sut kislotali bijg'ish – sut kislotali bijg'ishga sut kislota bakteriyalari sabab bo'ladi. Sut kislota bakteriyalari – fakultativ anaeroblar, ammo ular anaerob sharoitni yaxshi ko'radi, shunday bo'lgach, sut kislota xosil qilib bijg'ish – ularning anaerob nafas olishi demakdir. Sut bakteriyalarning oziqlanishi uchun qulay muxitdir, chunki sutda shu bakteriyalarning xayot faoliyati uchun zarur qand va boshqa moddalar bor. Sut kislota bakteriyalari sutni bijg'itar ekan, bir talay sut kislotalarni xosil qiladi. Bu kislota sutda boshqa mikroblarning ko'payishiga to'sqinlik qiladi. Shu sababli qatiqda asosan sut kislota bakteriyalari va birozgina achitqilar bo'ladi. Bular uchun ham muhitning kislotali reaksiyasi qulaydir. Xom sut 30 – 35° temperaturada saqlansa, sut kislota bakteriyalari sut kislotalarni hosil qilishi tufayli 10 – 12 soatdan keyin achiydi.

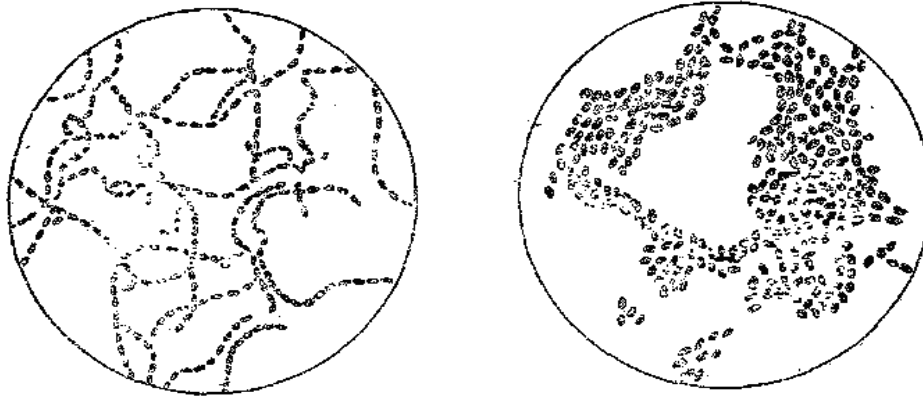
Sut kislota bakteriyalari ikki guruhga bo'linadi.

Tipik sut kislota bakteriyalari – sporasiz, harakatsiz, gramm – musbat, fakultativ anaerob kokklar va tayoqchalardan iborat bo'lib, bir talay sut kislota hosil qiladi. Sut mahsulotlarida va achitilgan sabzavotlarda ko'p bo'ladi. Asosiy vakillari: Sut kislota streptokokki – *Streptococcus lactis* sutda bo'ladi; yirik sut kislota tayoqchalari – *Bact. Bulgarium* (bolgar tayoqchasi) bular ham sutda uchraydi; sut kislotalarning mayda tayoqchalari – *Bact. Cucumeris fermentati* – bodringni achitadi va *Bact. Brassicae* – karamni bijg'itadi.

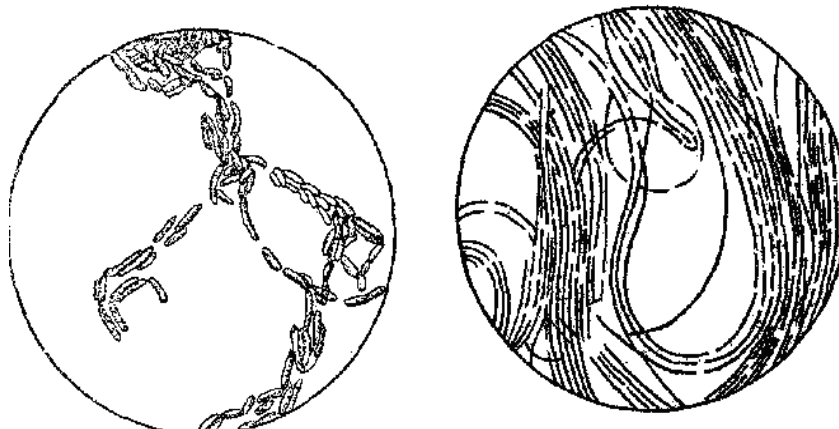
Bu bakteriyalar bilan tanishmoq uchun qatiq va sutdan hamda muzlagan sabzavotlar suvidan preparat tayyorlab quritilib spirt alangasida yoki Nikiforov aralashmasida qotirilib metilen ko'ki yoki karbol fuksini bilan bo'yaliq, mikroskop ostida immersion obyektiv bilan ko'riladi. Spirt va efir mikroblarni o'ldiradi, ularni oynaga yopishtiradi va preparatni bo'yashga halal beradigan sut moyini eritib yuboradi. Mikroskopda ko'rilgan sut kislota borligini aniqlashda asosan quyidagi usullardan foydalaniladi. 1) qatiqda sut kislota borligini bilish uchun Uffelmann reaksiyasi o'tkaziladi. Buning uchun bir foizli fenol eritmasidan 5mg olib, kuchsiz FeCl_2 eritmasidan bir necha tomchi qo'shilsa, sut kislotalarning temirli tuzi achitadigan sut kislota bakteriyalarini aniqlash uchun tuzlangan bodring yoki karam suvidan 1 – 2 ml olib, filtrlab, xosil bo'lgan filtratga 5 ml sulfat kislota va 10 tomchi to'yintirilgan mis kuporosi eritmasidan qo'shib yaxshilab aralashtirib, 100° C issiq suv hammomida 5 daqiqa saqlab, so'ngra sovutiladi va 1 -2 tomchi 0,2 % tiofenning spirtidagi eritmasidan qo'shiladi. Agar filtratda sut kislota bo'lsa, filtrat to'q – qizil rang hosil qiladi.

Tipik bo'lmagan sut kislota bakteriyalari – sporasiz, xarakatchan gramm – manfiy tayoqchalardir. Ular qandni bijg'itganda bir ozgina sut kislota, sirka kislota CO_2 , H_2 va boshqa moddalar hosil bo'ladi. Eng ko'p uchraydigan vakili – ichak tayoqchasi (*Bact. Coli*) tabiatda keng tarqalgan bo'lib suv, tuproq, go'ngda, xayvon va odam ichagida va boshqa substratlarda uchraydi.

Tipik bo'lmagan sut kislota bakteriyalarning boshqa xillari ham ko'p. Ularning ba'zi hillari javdar unidan non pishirganda ishlatiladi.



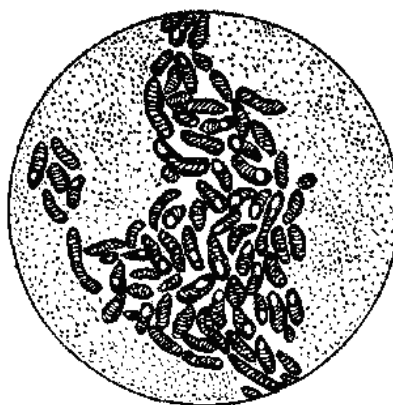
Sut kislotali bijg'ituvchi streptokokk bakteriyasi.



Bolgar tayoqchasi.

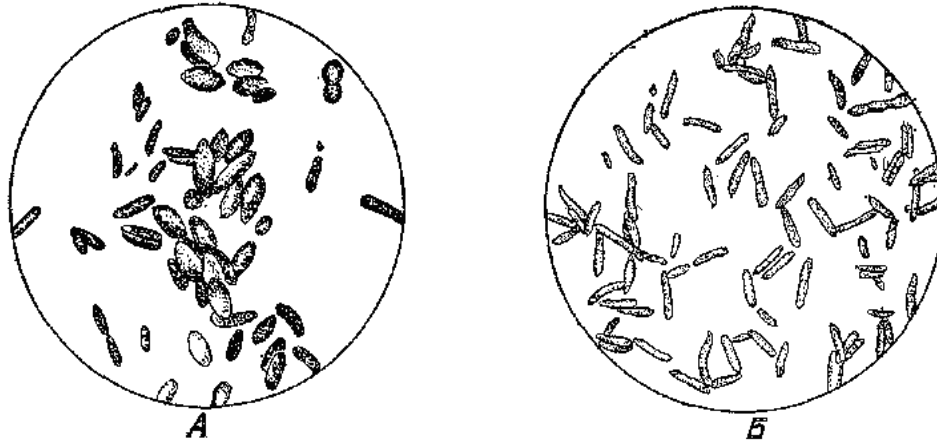
Atsedofil tayoqchasi.

Moy kislotali bijg'ish – Moy kislotali bijg'ish protsessi tabiatda keng tarqalgan. Bu biologik protsess ekanligini 1861 yilda Lui Paster isbotlab bergan. Protsessni moy kislotali bijg'ituvchi bakteriyalar olib boradi. Tipik anaeroblar, spora hosil qiladigan, vegetativ hujayralari dugsimon, baraban tayoqchasiga o'xshash, 1-5 nm uzunlikda bo'ladi. Bular tabiatda keng tarqalgan bo'lib, sutni, pishloqni, konservalarni buzadi, sabzavotlarni chiritadi va xalq xo'jaligiga katta zarar yetkazadi. Lekin bahzi vakillari (*Clostrasterianum*) molekulyar azotni o'zlashtirib, tuproqni azotga boyitadi.



Clostrasterianum

Tuproqda uchraydigan bakteriyalarning 90% moy kislotali bijg'ish protsessida ishtirok etuvchilardir.



A-Clostridium acetobutylicum; B-Clost. Butylicum

Qandning anaerob sharoitida parchalanishidan moy kislota, CO_2 va H_2 hosil bo'ladi.



Moy kislotali bijg'ish – moy kislota bakteriyalarining anaerob nafas olishi demakdir. Moy kislota bakteriyalarining hammasi qat'iy anaerob bo'lib, harakatchan, sporali tayoqchalardir.

Moy kislota bakteriyalarining elektiv kulturasini olishda bir necha hil muxitdan foydalaniladi. 1) hom kartoshka to'rg'ab probirkaga solinadi. Probirkada anaerob sharoit tug'dirish uchun ustidan anchagina suv quyiladi, ishqoriy reaksiya hosil qilish uchun biroz bo'r qo'shiladi, probirkaning og'zi yopilib, sporasiz barcha bakteriyalarni o'ldirish uchun suv hammomida $8 - 100^\circ$ da 10 minut qizdiriladi. So'ngra probirkalar termostatga qo'yiladi. 2) 100 ml no'xot bulyoniga 2 gr saxaroza yoki kraxmal, 0,5 g pepton, 0,5 g osh tuzi, 2 g bo'r qo'shib muhit tayyorlab, moy kislota bakteriyalarining elektiv kulturasini olinadi. Buning uchun 150 – 200 ml li sterillangan kolbaga yarim choy qoshiqda tuproq solinadi. Tuproq ustiga 40 – 50 ml yuqoridagi oziqli muhitdan solib, kolbani elektroplitkaga 1 -2 minut qo'yib sporasiz bakteriyalarni o'ldirish uchun qaynatiladi, so'ngra kolbadagi muhit 100 ml gacha yetkaziladi. Kolbaning o'g'zi rasmda ko'rsatilganidek, egri nay o'rnatilgan kauchuk probka bilan berkitiladi, so'ngra kolbaga yorliq yopishtirilib 6 -7 davomida $27 - 30^\circ \text{C}$ termostatga qo'yiladi.

LABARATORIYA ISHI №14

Mavzu: Tugunak bakteriyalarni sof kulturasini ajratish va ular asosida bakterial preparat tayyorlash

Simbiotik azotfiksatorlar. Bular tugunak bakteriyalarni bo'lib, dukakli o'imliklar bilan simbioz holatda yashaydi va havodagi azotning tuproqqa yig'ilishiga yordam beradi. Tugunak bakteriyalar dukakli o'simliklarning ildizida yashashga va rivojlanishga moslashgan. Hozirgi vaqtda olimlar tugunak bakteriyalarning 16 hilini aniqlangan. Bular bir-biridan morfologik, fiziologik va kultural xususiyatlariga qarab farqlanadi. Har qaysi tugunak bakteriya har hil dukakli o'simliklar ildizida yashashga moslashgan. Hozirgi kunda ulardan nohot , mosh , beda , loviya , searga, nut, lyupina va boshqa dukakli o'imliklar ildizida yashovchi 10 hili yahshi o'rganilgan. Tugunak bakteriyalari dukakli o'imliklar ildizida rivojlanib, havodagi azotni o'zlashtiradi, natijada dukakli o'simliklar ekilgan yerning har bir gektariga

200- 300 kg dan azot to'playdi. Tuproq bakteryalarni o'simliklar bilan simbioz holatida azot to'playdi . Aks holda tuproqda erkin holda yashasa ham havodagi molekulyar azotni yerga toplay olmaydi. Tuganak bakteryalar o'zining aktivligi va tuproqda azot to'plash qobiliyatiga qarab ham bir necha hilga bo'linadi. Tuganak bakteryalarning aktiv fo'rmasi dukakli o'simliklar ildizida hosil qilgan tuganaklari odatda katta, usti tekis , pushti rangda bo'ladi. Aktiv bo'lmagan tuganak bakteryalarning dukakli o'simliklar ildizida tuganakli odatda mayda, burishgan, tarqoq,rangi sariq bo'ladi. Tuganak bakteryalarning rivojlanish protsessi juda murakkab bo'ladi. Rivojlanishning boshlang'ich davrida ular harakatchan , mayda tayoqcha shaklida bo'lib , so'ngra o'zlarnig shakillanishini o'zgartirib, belbog'li yirik tayoqcha bakteryalarga aylanadi,yani o'zlarining tanalarida shohlar hosil qiladi. Tuganak bakteryalar hujayrasining kattaligi 1 mikrondan 4-5 mikrongacha, optimal yashash issig'ligi 25-28⁰ C bo'lib , 60-70⁰ C da o'ladi. 15-19⁰ C so'vuqda rivojlanishidan to'htamaydi. Muhitning riyaksiyasi betaraf bo'lsa, tuganak bakteryalar yahshi rivojlanadi. O'simliklar gullaganda dukakli o'simlik ildizidagi tuganaklarning aktivligi oshadi. Tuganak bakteryalari tuproqda dukkakli o'simliklar ildiziga ildiz tukchalari o'sib ildizda tuganaklar hosil qiladi.

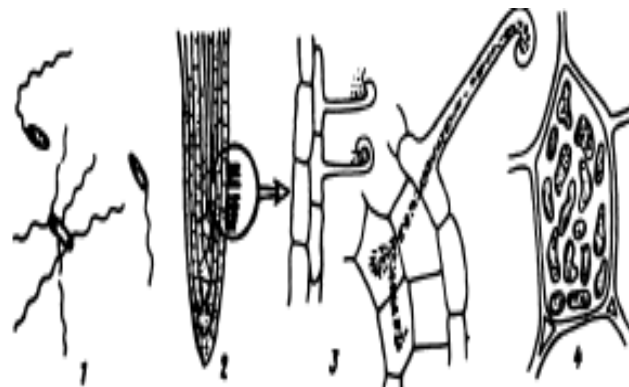
Tuganak bakteryalarni aniqlash. Buning uchun bir necha usuldan foydalaniladi.1.Tuganak bakteryalarning morfologiyasini aniqlash uchun dukakli o'simliklar ildizidan tuganak olib, u sterilangan suvda yuvilib, buyum oynasi ustida eziladi, hosil bolgan shiradan periparat tayorlab fuksin yoki metilen ko'ki bilan bo'yab mikroskop ostida ko'riladi. Agarda tuganak bakteryalarning harakatini aniqlash kerak bo'lsa, buyum oynasi ustiga bir tomch sterillangan suv tomizilib,oyna yopilib, mikroskop orqali qaralsa, harakatchan mayda tayoqchalar borligi aniqlanadi. 2. Tuganak bakteryalarning toza kulturasini ajratib olish uchun quydagi ozuqa muhitdan foydalaniladi. Tuganak bakteryalarni undirish uchun no'hot yoki loviyadan tayyorlangan bulion ozuqa muhiti sifatida olinadi. Bulion quydagi usulda tayyorlanadi: 100 ml suvga 10 g no'hot yoki loviya solinib, dukaklari yorulguncha (30-40 minut) qaynatiladi va sterillangan kolbaga filtirdan o'tkazib quyiladi. Filtirlangan suyuqlikning hajmi kamaygan bo'lsa, yani 100 ml gacha yetguncha sterilangan suv qo'iladi, songra reaksiyasi aniqlanadi. Odatda reaksiyasi neytral bo'lishi kerak. Hosil bo'lgan no'hot buliyonga shaker va 2 g

agar-agar qoshilib eritiladi. Tayyorlanadi. So'ngra dukakli o'simliklar siqib olingan shira ekiladi. Likobchalar bir necha kun davomida 25-30⁰C termostatda saqlanadi. So'ngra oziq muhit yuzasidagi unib chiqqan kollonialardan periparat tayyorlab sinka, fuksin yoki Gram ustida bo'yalib mikroskopda ko'riladi. Muhit ustida unib chiqqan to'plamlar oqish, mayda, shilimshiq bo'ladi.



64-расм. Тутунак бактериялари:

1-қиз тутунак бактериялари; 2-қари тутунак бактериялари.

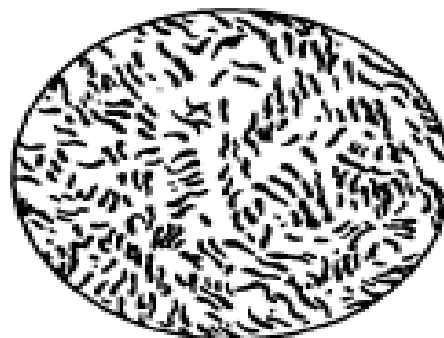


28-расм. Тутунак бактерияларнинг (1) дуккикли ўсимликларнинг илдизига кириши (2) ва "хукумли ил" (3) ва бактериялар (4) ҳосил қилиши

Erkin holda yashaydigan azotafiksatorlar. Erkin holda yashovchi azotafiksatorlarning eliktiv kulturasini olish. Erkin holda yashaydigan azotafiksatorlar ikki guruppga bo'linadi: aerob azotafiksatorlar, vakili *Azotobacter chroococcum* va anaerob azotafiksatorlar, vakili *Paster klostridiyi-clostridium Pasterianum*. Azotabakterlar tuproqda erkin yashab, har gektar yerga 15-30 kg azot to'plashdan tashqari, yana boshqa xususiyatlari bor. Masalan, o'simliklar o'sishi uchun auksin tipidagi o'sish faktorini hosil qilib, rezosfera mikroblarining yaxshi rivojlanishiga.



65-расм. Эркин яшайдиган азотфиксаторлар.



30-расм. *Clostridium pasterianum*.

LABARATORIYA ISHI 15.

MAVZU : Mikroorganizmlarni antogonistik xususyatlarini aniqlash

Tabiatda tarqalgan mikroorganizmlar yakka-yakka rivojlanmay, balki biri bilan aralashib yashaydi. Shuning uchun xam ularning o'rtasida antogonistik va xamkorlik munosabatlar paydo bo'ladi. Mikroblar o'rtasidagi xamkorlik simbioz deyiladi, bunda bir xil mikroblar ikkinchi xil mikroblarga ularning yashashi va rivojlanishiga qulay sharoyit yaratadi. Mikroblar yashash va rivojlanish protsessida muxitga moslanish natijasida bir- birlariga nisbatan qarama-qarshi munosabatda bo'ladi, bunday munosabat mikroblar antogonizimi deyiladi. Paster birinchi bo'lib kuydirgi kasalining mikrobi bilan ko'k yiring xosil qiluvchi bakteriyalar o'rtasidagi munosabatlarni kuzatib mikroorganizmlar o'rtasidagi antogonistik xususyatlarni aniqlagan bo'lsa, Mechinkov sut kislotasi xosil qiladigan bakteriyalarga nisbatan bo'lgan antogonistik munosabatini aniqlagan. Shuning

uchun ham Paster bilan Mechnikovlar antogonizm nazaryasing asoschilari xisoblanadi.

Antogonistik munosabat fsqat bakteriyalar orasidagina emas, balki zamburug`lar va aktinometsitlar orasida xam uchraydi. Olimlarning aytishicha, tuproq mikroblari orasida, ayniqsa, go`ng solib o`g`itlangan tuproqlarda pathogen va fitopatagen mikroblariga nisbatan antoginestlar ko`p uchraydi. Bir xil mikroblar ikkinchi xil mikroblarga nisbatan antogonistik bo`lsa, u xosil qilgan mahsuloti bilan ikkinchi mikroblarni rivojlanishidan to`xtadi, yani uni o`ldiradi. Antogonistik mikroblarni xosil qilgan mahsulotlari antibiotik deyiladi. Antibiotiklarni asosan tuproqda uchraydigan zamburug`lar, aktinomitsitlar va xar turli sporali, sporasiz bakteriyalar xosil qiladi. Antibiotiklarni faqat mikroblargina emas, o`simlik va xayvonlar xam xosil qiladilar.

Xozirgi vaqatda antibiotiklar faqat meditsinadagina qo`llanilmasdan, qishloq xo`jaligida xam o`simlik kasalliklarining oldini olish va xar turli fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi keng ko`lamda foydalanilmoqda. Mikroorganizmlarning antogonistik xususiyatlari laboratoriyada bir necha xil usul bilan quydagicha aniqlanadi.

1. Zich oziq muxitida aniqlash. Buning uchun suyultirilgan GPA olinib, sterillangan Petri likobchasiga qo`yiladi, muhit qotganidan so`ng uning yuzasiga keng yo`l qo`yilib xar turli mikroorganizmlar *Bacillus mesentericus* mikrobiologik sirtmoq bilan ekiladi, unga tik chiziqlar qilib *Bac. Mycoides* va *Sarcina* ning sof kulturasi ekiladi. Mikroorganizmlar ekilgan likobchalar 26-28⁰c termostatga 1-2 sutka qo`yiladi, so`ngra tajriba tekshirilganda mikroblarning bir-biriga yaqinlashgan joylarida yuz bergan o`zgarishlariga ahamiyat beriladi. Agar mikroblar bir-birlariga to`qnashgan joyda o`sish sust, yoki butunlay o`smagan bo`lsa, bu xolat mikroblar o`rtasida antogonizm borligidan dalolat beradi. Mikroblarning bir-birlariga nisbatan antogonistik munosabatda bo`lishlari ularning o`sishiga tasir qilibgina qolmasdan, balki morfologik va boshqa xususiyatlariga xam tasir qilishi mumkin. Buni aniqlash uchun muhit yuzasida normal o`sgan mikroblar to`plami bilan mikroblar bir-biriga koloniyalaridan preparat tayorlab bir-biriga solishtiriladi.

2. Tuproqdagi antagonist mikroblarni aniqlash. Buning uchun Petri likobchasiga GPA muxiti suyultirilib quyiladi, likobchadagi muhit qotganidan keyin uning yuzasiga bakteriya yoki zamburug`larning sof kulturasi shpatel bilan ekilib. 25-30<sup>0</sup>c termostatga 1-2 sutka davomida qo`yiladi. So`ngra likobdagi muxit yuzasida unib chiqqan bakteriya yoki zamburug` koloniyalarining ustiga bir-necha joyga yangi tuproq bo`lakchalaridan sterillangan pinset bilan qoyladi va yana bir-necha kun termostatda saqlanadi. Agar tuproq bo`lakchalari tarkibida antagonist mikroblar bo`lsa tuproq zarrachasi atrofida oq doira xosil bo`ladi chunki tuproqdagi antogonistik mikroblar muhit yuzasidagi yordam beradi.

LABARATORIYA ISHI №16

Mavzu: Bakteriya hujayrasidan plazmid DNK ni ajratish

Bakteriya hujayralaridan plazmid DNK siniajratish.

Bakteriyalarda hujayra hramasoma DNK sida tashqari halqasimon tuzulishga ega bo'lgan DNK molekulalari bo'lib ular plazmidlar deyiladi. Plazmidlar tarkibida zaharli moddalarga, antibiotikla chidamlilik geni mavjud. Ular mustaqil ravishda replikatsialana oladi. Shu hosusiyati tufayli ildizmidlardan gen muhandisligida vector sifatida foydalanish mumkin. Plazmidlarni ajratish asosan 3ta bosqichdan iborat.

1. Bakteriya hujayralarini parchalanish (lizes qilish)

2. Plazmid DNKsini xromasoma DNKsidan ajratish.

3. Plazmid DNKsini hujayra RNKsidan va oqsillardan tozalash.

Material va asbob uskunalar: E. coli bakteriyasi kloid, LB ozuqa muhiti, 1-eritma (50mm saharoza, 25 mm tris HCl , pH 8,0, 10mm EDTA) , 2-eritma (0.2 n Na OH, 1% SDS), 5M kaliy atsetat pH 4.8(60 ml 5M kaliy atsetat tayorlash uchun 11.5 ml sirka kislotasi, 28.5 ml distirlangan suv), 1ml 96 %-li etil sipirti, TE- buferi, muzlatgich, stol tsentrafugasi, 4 ta eppendorf probirkalari, steril shisha tayoqcha, parafilm, filtr qog'ozi, 1ml-li avtomat pipitka.

Ishning borishi.

1. Tanlangan koloniyani mikrobiyologik sirtmoq yordamida 3 ml LV ozuq muhiti va antibiotikli probirkaga solinadi va bir kecha davomida 37° C temperaturada o'stiriladi.
 2. 1,5 ml tungi kulturani eppendorf probirkasiga solinadi va stol sentrofugasida 15 daqiqa 5000 ayl/daq aylantiriladi.
 3. Chokmaga 100 mkl (mikrolitr) 1 – eritma solinadi va aralashtiriladi.
 4. Tezda 200 mkl 2 – eritma solinadi va 5 daqiqa yaxshilab aralashtirilganidan so'ng muz hammomda 15 daqiqa saqlanadi. Bunda suspenziyaning rangi oqarib shilimshiq holiga kelishi kerak.
 5. Ustiga sovutilgan 150 mkl 3 M natriy atsetat (pH 4,8 – 5,0) solinadi va yaxshilab aralashtiriladi, bunda oq cho'kma tusha boshlaydi. (oqsil va xromosoma DNK si). % daqiqa 5000 ayl/daq. Sentrofugalanadi.
 6. Cho'kma steril shisha tayoqcha yordamida olib tashlanadi va suyuq qismiga 1 ml 96 % li etil spirit solinadi va plasmid DNK si cho'kmaga yaxshi tushishi uchun sovutgichga qo'yiladi.
- 2 soatdan so'ng 3 min davomida 3000 ayl/daq sentrofugalanadi. Cho'kma xona haroratida quritilib, 150 mkl TE buferida eritiladi va plasmid DNK si elektroforez yordamida tekshiriladi.

LABARATORIYA ISHI №17

Mavzu: Agarozali gelda DNK elektroforezi

Material va asbob-uskunalar. Elektroforez apparati, gelda chuqurcha xosil qiluvchi taroqcha; doimiy to'k manbai; 120 ml 0.8% li agaroz; 0.5 l elektroforez buferi; antikonveksion eritma (namuna miqdoridan 1/4- 1/5 mg/ml) 300 ml etidiy bromidli bo'yovchi modda (0,5 mg/ml); rezina qo'lqop; xemiskop; fotoapparat; sariq yoki sabzi rangli filtr; obektiv uchun uzunlashtiruvchi xalqa; plenka; foto bochka; standart proyavitel; standart mustaxkamlovchi.

Turli o'lchamdagi DNK molekulalarining (tog'ri shaklli, kovalent tutashgan xalqali) samarali bo'linish uchun ishlatiladigan gelda agarozaning (%) miqdori.

Agarozaning miqdori (%)	DNK molekulalarining o'lchami m.j.n.da
0.3	60-5
0.6	20-1
0.7	10-0.8
0.9	7-0.5
1.2	6-0.4
1.5	4-0.2
2.0	3-0.1

Bir xil kattalikdagi, lekin turli konformatsion xolatdagi DNK molekulalari (bulardan yopiq xalqali va linyali shakllari) agaroz gelida turli tezlikda yuradi. Ularning qiyosli elektroforetik xarakati malum darajada elektroforez qo'yish sharoitlariga-buferning ion kuchiga, to'k kuchiga tok kuchiga va agarozaning miqdoriga bog'liq. Maxsus uslublar yordamida DNK molekulalarning konformatsion xolati bilan ularning gelda joylashgan joyi orasidagi moslikni aniqlash mumkin. Ushbu amalyotda ishlatiladigan elektroforezning standart sharoiti, DNKning kichik molekulyar og'irlikdagi ($30 \cdot 10^6$ daltongacha bo'lgan) bulardan xalqasimon shakli katta bo'lmagan tezlikda xromasoma DNKsidan oldinda yuradi, katta molekulyar og'irlikdagi ($30 \cdot 10^6$ daltongacha yuqori bo'lgan) molekulalari esa kamroq tezlikda yuradi va gelda xromasoma DNKsidan yuqori joylashadi.

Ishning borishi. Elektroforez apparatini yig'ish.

Agarozali gel elektroforez –gorizantal va vertikal qurilmalar yordamida olib borish mumkin. Aniq natijalar olish uchun gorizantal qurilmalar oddiy tuzilishga ega bo'lib va ishlash uchun juda qulaydir. Qurilma organik shishadan yasalgan to'rtburchak idish (kyuveta) bo'lib, ikki chetida doimiy tok manbaiga

ulanadigan platinali elektrodlar joylashgan bo'ladi. Kyuveta tagiga apparatlar quyiladigan buferning xajmini ko'paytirish uchun va gel bilan ishlashga qulayligi uchun organik shisha plastinka – taglik qo'yiladi.

Agarozali gel tayorlash. Kerakli miqdorda agaroz tortib olinadi va kerakli miqdorda buffer eritma solinadi va agar eriguncha (suv xammomida) qaynatiladi. Agaroz batamom erib ketganidan so'ng $50-55^{\circ}\text{C}$ gacha sovitiladi, tezda plastinka taglikka va chuqurlik xosil qilish uchun taroqcha (gerebenka) qo'yiladi.

Taroqchani shunday qo'yish kerakki taroq tishlari gel qo'yilgan bilan plastinka tagigacha 0.5-1 mm oraliq qolsin. Gel qotganidan so'ng (30-40 daqiqa

xonaxaroratida) taroqcha geldan sekin olinadi va elektroforez apparatiga joylab elektroforez buferi gelidan 2-3 mm yuqorigacha to'ldiriladi.

DNK namunalarini gelga solish. DNK namunalari antikonveksion eritma bilan aralashtiriladi, avtomat pipetkalar (20-200 mk,l) yordamida gelga extiyorkorlik bilansolinadi. Antikonveksion eritma tarkibida-bo'yovchi modda (bromidfenolko`k-0.025%) tutib, uning yurishiga qarab elektroforez jarayoning borishini kuzatish mumkin bundan tashqari yana saxaroza (40%) bo'lib u DNK namunasining elektroforez buferi bilan aralashib ketmasligini taminlaydi. Odatda namuna miqdorining 1/4- 1/5 miqdoricha antikonveksion eritma solinadi

Namuna solingandan so'ng aparatni qopqog'i yoplad, doimiy tok manbai yoqiladi va kerakli kuchlanish qo'yiladi (DNK gelga kirguncha 20 B so'ngra 100-120 B). Elektroforez odatda ko`k bo'yoq gel oxiriga (1-2 sm qolguncha) etgunicha olib boriladi. 0.5-0.7 % li agarozali gel elektroforezida kuchlanish 100-120 B bo'lganda 2 soat davom etadi.

Gelni bo'yash. Elektroforez tamom bo'lganidan so'ng qurilma tok tarmog'idan uziladi, gelli idishcha fotografya kyuventasiga olinadi va bromid etidiy (0.5 mkg/ml distillangan suvda) solinadi va 40-60 daqiqa davomida bo'yaladi. So'ng buyog'i to'kiladi (albatta rezina qo'lqop bilan ishlash kerak), gel distillangan suvda chayladi va (shisha ko'zoynak bilan) transillyuminatorda ko'riladi.

Gelni rasimga olish. Zarur bo'lgan xollarda gel rasimga olinadi. Buning uchun ochiq diafragma sariq yoki sabzi rang fitirlarida rasimga olinadi. Ekispozitsiya empirik tanlanadi (odatda 5-10 daq). Gel akslanuvchi yoki o'tuvchi ultrabinafsha nurlarida (254 nm) ultrabinafsha nuri manbai tizimiga bog'liq ravishda yoritiladi.

LABARATORIYA ISHI №18

Mavzu: O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash

O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan ozuqa muhitida o'simliklarga kerakli hamma makroelementlar: azot, fosfor, kaliy, kaltsiy, oltingugurt, magniy, temir va mikroelementlar: bor, rux, mis, kobalt, marganets, yod, molibden, shuningdek vitaminlar, uglevodlar, karben suvlar, fitogarmonlar bo'lishi kerak. Ba'zi bir ozuqa muhitlari tarkibida esa kazein gidrolizati va ayrim aminokislotalar bo'lishi kerak. Bundan tashqari, ozuqa muhiti tarkibiga, hujayralarning temirga bo'lgan ehtiyojini turli pH ko'rsatkichlarda qondirish uchun EDTA (etilendiamin-tetrasirka kislotasi) yoki uning natriyli tuzi kiritilishi kerak. Ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan ozuqa muhitining asosiy tarkibiy qismini uglevodlar tashkil qiladi, chunki hujayra va to'qimalar avtotrof oziqlanish qobiliyatiga ega emas. Ko'pincha uglevod manbai sifatida saxaroza yoki glyukozaning 20-40 g/l eritmasi qo'llaniladi. Uglevodli ozuqa manbai sifatida polisaxaridlar ishlatilmaydi, chunki ba'zi to'qimalar, asosan o'smalar faol gidrolitik fermentlarga (amilaza va boshqalar) ega bo'lib, kraxmal eritmasi bor ozuqa, muhitlarida o'sishi mumkin. O'sish regulyatorlari hujayralar dedefferentsirovkasi va hujayra to'qimalari induktsiyasi uchun zarurdir. SHuning uchun kallusli to'qimalar olishda ozuqa muhitlari tarkibiga auksin (hujayra

dedifferentsirovkasini yuzaga keltiruvchilar) va tsitokinin (dedifferentsiyalangan hujayralarning bo'linishini induktsiyalovchi) kiritish kerak. Poya morfogenezi induktsiyasida ozuqa muhiti tarkibida auksinning miqdori kamroq bo'lishi yoki umuman bo'lmasligi mumkin. Ikkala garmonlarga yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik shu hujayralarning garmon ishlab chiqarish qobiliyatiga bog'liq. Auksin manbai sifatida ozuqa muhitlarda 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D) 1-10 mg/ml; indolilsirka kislota (ISK)-1-30 mg/l, α -naftilsirka kislota (NSK)-0,1-2 mg/l kabilar ishlatiladi. Ko'pincha 2,4-D ishlatiladi. ISK 2,4-D ga nisbatan 30 marta kam faollikka egadir, Kallusning rivojlanishi uchun ko'pincha auksinning yuqori miqdori ishlatiladi, to'qima keyingi qayta ekilganida auksinning miqdori bir necha marta kam bo'lganda ham to'qima o'sishi davom etaveradi. Sun'iy ozuqa muhitlarida tsitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin (0,001-10mg/l) qo'llaniladi. To'qimalarning o'sishida va organogenez induktsiyasida 6-BAP kinetina nisbatan yuqori faollikni namoyon qiladi. Ba'zi ozuqa muhitlari tarkibiga adenin kiradi.

Auksin va tsitokininlardan tashqari ba'zi ozuqa muhitlari tarkibiga gibberal kislota (GK) qo'shiladi. Ozuqa muhitida GKning bo'lishi shart bo'lmasa ham, ba'zi hollarda u izolyatsiyalangan to'qimalarning o'sishini tezlashtiradi. Birlamchi kallus induktsiyasini va uning o'sish faoliyatini tezlashtirish uchun ozuqa muhitiga o'simlik ekstraktlari yoki sharbatlari qo'shiladi. Kokos suti-kokos yong'og'i suyuq endospermi o'sish tezligini oshirish xususiyatiga ega. Qattiq ozuqa muhitni tayyorlashda dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxarid, agar-agardan foydalaniladi. "Vasto agar" nomli bakterial agarda keraksiz qo'shimchalarning miqdori kamroq bo'ladi. Bunday agarlarni qattiq ozuqa muhit tayyorlashda tozalamasdan ishlatish mumkin. Odatda qattiq ozuqa muhiti tayyorlashda 5-7% agardan foydalaniladi. Vaqtdan unumli foydalanish uchun makro- va mikrotuzlar va vitaminlarning eritmaları yuqori miqdordagi boshlang'ich eritma holda tayyorlanib, ularni ko'p marta suyultirib ishlatish mumkin. Kontsentrangan eritmalar muzlatgichda saqlanadi, vitaminli eritmalar minusli haroratda saqlanadi.

Makrotuzlar eritmaları 10-20 marta ko'p miqdorda;

Mikrotuzlar eritmaları 100-1000 marta ko'p miqdorda;

Vitaminlar eritmaları esa 1000 marta ko'p darajali miqdorda tayyorlanadi.

Har-xil turlarga mansub o'simliklar hujayralari, to'qimalari va organlarini o'stirishda turli tarkibdagi ozuqa muhitlaridan foydalaniladi. Ko'pincha Murasige-Skuga, Uayt, Gamborga ozuqa muhitlari ishlatiladi. Murasige-Skuga ozuqa muhitlaridan turlicha modifikatsiyalar bilan apikal meristemalar o'stirishida va o'simliklarni mikroko'paytirishda foydalanilishi mumkin.

Kerakli asbob-uskunalar: 1 l-li kimyoviy stakanlar (4ta), boshlang'ich eritmalarıni saqlash uchun og'zi zich yopishadigan shisha idishlar (11-li 3 dona, 100 ml-li 1 dona), penitsillin idishlari (10 dona), 1-10 ml-li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitkich, turli xil kimyoviy moddalar.

Ishning borishi. Kartoshka va qulupnayning apikal meristemalarini o'stirish uchun moslashtirilgan (modifikatsiyalangan) Murasige-Skuga ozuqa muhitlarini tayyorlash. Ozuqa muhitlari tarkibi 4-5 jadvallarda berilgan. Avvalo makro-, mikrotuzlar va vitaminlarning boshlang'ich eritmalarıni tayyorlash kerak. Odatda, Murasige va Skuga ozuqa muhitlari quyidagi birikmalardan tayyorlanadi:

1. NH_4NO_3 , KNO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (MgSO_4 ni cho'kmaga tushishini oldini olish uchun, qizdirmasdan oxirida solinadi);
 - 2 CaCl_2 eritmasi;
 3. Temir xelati eritmasi (FeSO_4 va Na_2EDTA eritmasi birgalikda qaynagunga qadar qizdirilganda temir xelati hosil bo'ladi);
 4. Mikro-elementlar eritmasi.
- Boshlang'ich eritmalar uchun kerakli tuzlar miqdori va boshlang'ich eritmalarining ozuqa muhiti uchun kerakli miqdorlari 1-jadvalda keltirilgan.
- Jadval 1
- Murasige-Skuga bo'yicha boshlang'ich eritmalar tayyorlash.

Ozuqa muhitining tarkibiy qismlari	Qo'shimchalar
Makrotuzlar, boshlang'ich eritmalar uchun g/l KNO_3 33 NH_4NO_3 33 SaSl_2 (suvsiz) 8,8 yoki $\text{SaSl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 13,8 $\text{MgSO}_4 \cdot (7\text{H}_2\text{O})$ 7,4 yoki suvsiz KH_2PO_4 , 3,6	1l ozuqa muhiti uchun 50 ml boshlang'ich eritma olinadi
Mikrotuzlar, mg/l 100 ml boshlang'ich eritmalar uchun H_3BO_3 620 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2230 ZnSO_4 860 KI 83 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 25 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 2,5 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2,5	1 l ozuqa muhiti uchun 1 ml boshlang'ich eritma olinadi.
100 ml boshlang'ich eritma uchn, mg Fe-xelat 557 EDTA 745	1 l muhiga 5 ml boshlang'ich eritma olinadi.

LABARATORIYA ISHI № 19
Mavzu: Steril o'simtalar o'stirish

O'simlikdan alohida ajratilgan to'qimalarni kulturalashga ancha yillardan buyon harakat qilib kelingan va bu usulning rivojlanish tarixi bir necha bosqichlarni o'z ichiga oladi.

Ajratilgan o'simlik hujayralarining tibbiyot, parfyumeriya (attorlik), kosmetika va sanoatning boshqa tarmoqlari uchun ikkilamchi sintez moddalar: alkaloidlar, steroidlar, glikozidlar, gormonlar efir moylari va boshqa moddalarni sintez qilish xususiyati bilan bog'liq. Ikkilamchi sintez moddalar qattiq (agarli) yoki suyuq (suspensiyali kultura) oziqa muhitlarida o'stirilgan kallus to'qimalaridan olinadi. Hujayralar texnologiyasi asosida foydali o'simliklar hujayralaridan quvvatni oshiruvchi va tetiklashtiruvchi moddalar olinib, ular tibbiyot va attorlikda keng qo'llaniladi.

Ajratilgan to'qimalar kulturasidan ekish materiallarini virusdan holi qilish va ko'paytirishda foydalanish. Bu usul o'simliklarni klonli mikroko'paytirish usuli deb ataladi va bir yilda bitta meristemadan yuz minglab o'simliklar olish imkonini beradi.

Ajratilgan to'qimalar bilan olib boriladigan barcha ishlar (kulturaga o'tkazish, yangi oziqa muhitiga ko'chirish) steril xonalarda, (laminar bokslarda) steril asboblarda yordamida amalga oshiriladi, ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash lozim, chunki harorat pasayganda, yoki namlik yuzaga kelganda idishning nam tiqini orqali probirka ichiga mikroorganizmlar kirishi mumkin.

Eksplant va urug'lar 5-20 min sterillovchi eritmada sterillanib, so'ng bir necha marta steril suvda yuviladi. Sterillash vaqti eksplantni tabiatiga va sterillovchi eritmaning faolligiga bog'liq. Urug'lar 10 –20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 min sterillanadi

Eksplant va urug'lar 5-20 min sterillovchi eritmada sterillanib, so'ng bir necha marta steril suvda yuviladi. Sterillash vaqti eksplantni tabiatiga va sterillovchi eritmaning faolligiga bog'liq. Urug'lar 10 –20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 min sterillanadi (jadval).

Kulturalash uchun olingan o'simlik eksplantlari oldin sovunli suvda ishqalab yuviladi va distillangan suvda chayiladi, so'ng bir necha sekundga 70 % li etanolga solinadi, urug'lar esa 1-2 min.ga spirtga solib qo'yiladi. Spirt to'qimalarni sterillash bilan birga asosiy sterillovchi eritmaning sterillash samarasini ham oshiradi. Spirtidan so'ng to'qimalar steril suvda ham chayiladi.

O'simlik materiallarini sterillash (R.G.Butenko 1990)

Ob`ekt	Sterillash vaqti			
	0,1 % li diatsid	0,1 % li sulema	5-7 % li (Na,Ca) gipoxloridlar	10-12 % li vodorod peroksidi
Urug'lar qurug'i	15-2	10-15	15-20	12-1
Ivutilgani	6 -10	6 – 8	10 – 15	6 –8
Ildiz, tugunaklari-	20-3	15-25	15-20	-

ning to'qimalari				
Yog'ochlangan poyalar	20-4	20-25	20-25	-
Barglar	1-3	1-3	3-6	3-5
Apekslar	1-10	1-7	3-15	2-7

Tashqi sterillash faqat tashqaridagi infektsiyalardan holi qiladi. Agar eksplantida ichki infektsiya mavjud bo'lsa, u holda antibiotiklar bilan ishlov berish zarur. Asosan tropik va subtropik o'simlik to'qimalari ichki infektsiyalarga boy bo'ladi. Zamburug' yoki bakteriyalar bilan zararlangan kulturani ekilganidan 1-14 kundan so'ng aniqlash mumkin. Mikroorganizmlar bilan zararlangan kulturalarni xonaga tarqalib havoni ifloslantirmasdan ularning oldini olish zarur.

Oziqa muhirlari avtoklavda 120⁰S haroratda 0,75 –1 atm bosimda 20 minut davomida sterillanadi. Agar oziqa muhit tarkibiga yuqori haroratda parchalanib ketuvchi moddalar kiritilgan bo'lsa, u holda bu moddalar maxsus bakterial filtrlardan o'tkazib tozalanadi, so'ng avtoklavlangan va 40⁰S ga cha sovutilgan asosiy oziqa muhitga qo'yiladi.

Idishlarni oldindan zar qog'ozga yoki oddiy qog'ozga o'rab, quritish shkaflarida 160⁰S haroratda 2 soat davomida sterillash lozim.

Steril o'simtalar eksplantlar olish maqsadida kallus yoki shish kulturalariga o'tkazish uchun o'stiriladi. Qo'yiladigan tajribaning maqsadiga qarab urug'lar suvga yoki agarli ozuqa muhitiga ekiladi.

Steril o'simtalardan foydalanishning ikki yo'li mavjud:

1.Differentsial to'qimalarni fatogarmonlar tutuvcha ozuqa muhitlariga o'tqazab differentsiyalanuvchi va intensiv poliferatsmya natijasida kallusli to'qimalar hosil qiluvchi eksplantlar olish;

2.Keyinchalik madaniylashtirish maqsadida, o'simtalardan birlamchi kallus olish uchun ularni fotogarmon tutuvchi ozuqa muhitiga steril sharoitda o'tkazish.

O'simtalarda kallusning paydo bo'lishi uchun fotogarmonlar bo'lishi shartdir, shuning uchun ularni auksin na tsitokinin tutuvchi ozuqa muhitlarida o'stirish lozim. Murtagida ozuqa moddalar zahirasi ko'p bo'lgan urug'larni (no'xat, loviya, soya) auksinning suvli eritmasida ham o'stirish mumkin. Kurtaklar, 2,4-D eritmasida o'stirilganida kallusning hosil bo'lish jarayoni tezlashadi.

Material va asbob-uskunalar: soya, loviya, no'xat urug'lari, steril Petri likobchalari, steril suvli probirkalar, steril pintset, doka qopchalar, 0,1%-li sulema eritmasi, 96%-li etil spirti, 2 ta steril kimyoviy stakan, steril suvli kolba, 2-4-D steril eritmasi (10 mg/l).

Ishning borishi. No'xat, loviya, soya o'simliklaridan 20 ta har-xil sog'lom urug'lar saralab olinadi. Ular oldin sovunli eritmada, so'ngra vodoprovod suvida va distillangan suvda yaxshilab yuviladi. Yuvilgan urug'larni doka qopchalarga joylab 25 daqiqaga 96%-li spirtga solinadi, suvda yaxshilab yuvib 0,1%-li sulema eritmasida 10 daqiqaga sterillanadi va oxirida besh marta yaxshilab steril suvda chayiladi. Tajribalar laminar-boksda olib boriladi. steril pintset bilan tagiga fil'tr qog'oz solingan Petri likobchalariga 10 tadan urug' solinadi va 10 ml steril suv

quyiladi. No'xat, loviya, soya urug'lari o'stirishga tayyorlangan probirkadagi suv paxta tiqinlar bilan yopilgan bo'lib, 20 daqiqa 2 atmosfera bosimda avtoklavda sterillangan bo'lishi kerak. Urug'lar solingan Petri likobchalari 250S haroratdagi termostatga qo'yiladi. Ikki kundan so'ng (urug'lar ungandan so'ng) Petri likobchalarning biridagi suv 2,4-Dning steril eritmasiga (10 mg/l) almashtirib qo'yiladi. Bir haftadan so'ng natijalar ko'riladi va chizib olinadi (suvda va 2,4-D eritmasidagi o'simtalar). 2,4-D eritmasidagi o'simtaning qaerida kallus hosil bo'lganligi belgilanadi

LABARATORIYA ISHI № 20

Mavzu: O'simliklarni klonal mikroko'paytirish. Kartoshka apikal meristemasini ajratish va o'stirish

Qulupnay apikal meristemalari tarkibida kinetin (0,5-1 mg/l) miqdori yuqori bo'lgan ozuqa muhitida o'stirilganida, shu garmon ta'sirida yuqori meristemaning apikal dominantligi pasaytirilib, yon meristemallarning faollashuvi yuzaga keladi. Natijada, meristemal qo'pol va 1-2 ta barg primodiylaridan iborat izolyatsiyalangan, yuqorigi qismini ozuqa muhitiga joylashtirilganidan taxminan ikki haftadan so'ng ochilayotgan barg asoslari oqarib kattalasha boshlaydi bu tez orada ularning qo'ltig'idan rivojlanib kelayotgan kurtaklardan barglar ko'rina boshliydi. Yangi barglarning qo'ltigidan yana kurtaklar rivojlana boshlaydi. Eksplantlar 1-2 oydan so'ng turli xil va turli kattalikdagi barglari rivojlangan konglomeratlarga aylanadi. Hosil bo'lgan kurtaklar bir-biridan oson ajraladi, yangi ozuqa muhitiga o'tkazilganida yangi qo'ltiq kurtaklarni yuzaga kelishi davom etadi va shu bilan birga ildiz hosil qilmasdan o'sish nuqtalari sonining ko'payishiga olib keladi. Kurtaklar ildiz hosil qilishi uchun auksin tuguvchi ozuqa muhitiga o'tkazilishi kerak.

Materiallar va asbob-uskunalar: Qulupnay stolonlari, steril ozuqa muhitli probirkalar (5-jadval), steril Petri likobchasi, skalpel, igna, spirtovka, gugurt, 96%-li etil spirti, sulemanii (0,1 % li) suvdagi eritmasi, doka xaltachalar, 1 l steril suvli kolba, 2 ta steril kimyoviy stakan.

Ishning borishi. Qulupnay stolonlari sovunli suvda yuviladi so'ng vodoprovod va distillangan suvda chayiladi. Qulupnay stolonlari barglari asosida joylashgan Qo'ltiq kurtaklari skalpel bilan ajratiladi. Bu ishni laminardan tashqarida bajarish mumkin. Qolgan ishlarning hammasi laminarda olib boriladi. Kurtaklar doka xaltachalarga solinib, 0,1%-li sulema eritmasida 6-10 daqiqa sterillanadi. So'ng xaltachalarni ipi orqali tortib olib 5-6 marta steril distillangan suvda yuviladi. Buning uchun 6 ta steril, suvli stakanlar bo'lishi shart emas, chunki ular laminarda ko'p joy egallaydi. Buning uchun ikkita stakan bo'lishi yetarli, kurtaklar solingan xaltachalar stakandagi suvga tushiriladi va bir necha daqiqa davomida chayiladi so'ng suv ikkinchi stakanga to'kiladi va kolbadan steril suv solinib xaltachalar bir necha marta chayiladi. Sterillangan kurtaklarni xaltachalardan Petri likobchalariga olib, meristemalar ajratiladi. Buning uchun buyum oynasiga qo'yiladi va 9 marta kattalashtiruvchi mikroskop ostida ko'riladi. Kurtakni qoplovchi ko'pgina barg bo'rtiqlaridan ajratish ninasi bilan ushlab turib, skalpel bilan tozalanadi va 1-2 barg primodiylaridan iborat meristemal kupol ajratib olinadi. So'ngra u skalpel bilan probirkadagi ozuqa muhitiga o'tkazishadi (5

jadval). Probirka og'zi va paxta tiqin spirtovka alangasida sterillab yopiladi. Probirkalar tsellofan bilan yopilib 250S haroratdagi klimatik yorug'lik kamerasiga qo'yiladi. To'rt xaftadan so'ng hosil bo'lgan konglomerat kuzatiladi va rasmi chizib olinadi. Hosil bo'lgan kurtaklar soni aniqlanadi. Ulardan qulupnayni mikroklonal ko'payishida ildiz hosil bo'lish induktsiyasi ishida foydalaniladi.

LABARATORIYA ISHI № 21

Mavzu: Kartoshka tugunaklarini tinim holatiga o'tishi va uyg'onishini boshqarish

Fitogarmonlar tutuvchi ozuqa muhitiga o'tkazilgan kartoshka poyasi parenxima to'qimalarm zararlangandan so'ng hujayralar dedifferentsiyaga uchraydi va bo'linishga o'tib nodiffereitsiyalangan to'qima, ya'ni kallus hosil qiladi. Kallusni o'simlikniig turli organlaridan, xususan kartoshkaniig poya to'qimalaridan, bargidan, tuganagidan, ildizidan, changdonidan olish mumkin. Quyida. steril kartoshka o'simligi poyasidan kallus olishni ko'rib chiqamiz.

Material va asbob-uskunalar. Probirkada steril kartoshka o'simligi, steril pintset, skalpel, matrascha yoki Petri likobchasi, spirtovka, stakanda spirt, kartoshka kallusini olish va o'stirish uchun steril ozuqa muhiti (9-jadval) kolba yoki probirka, parafilm varag'i, qaychi va gugurt.

Ishning borishi. Laminar ichki yuzasi spirt bilan artiladi. Steril o'simlik olingan probirkani spirt bilan artib, spirtovka alangasida sterillaymiz. Probirkadagi steril o'simlikni steril pintset bilan steril matraschaga olamiz, o'ng qo'lda skalpel, chap qo'lda pintset bo'lishi kerak. Pintset yordamida o'simlikni ushlab turib, skalpel bilan poya qismlarining bo'g'in oralig'idan 5-10 mm uzunlikda kesamiz. Kallus hosil bo'lishi uchun poya eksplantlarining bir necha joyidan skalpel bilan tilib chikamiz. Ozuqa muhitini agari eriguncha qizdiramiz va 37-40 OS gacha sovutamiz. Kolba og'zini ochib, spirtovka alangasida qizdirib olamiz, ozuqa muhitini Petri likobchalariga solamiz. Har bir likobchaga tahminan 15-30 ml ozuqa muhiti solinadi va 10-15 daqiqa qotiriladi. Bitta Petri likobchasiga 10-20 tacha tirnalgan poya eksplantlari agarli muhit yuzasiga piitset bilan salgina botnirilib joylanadi. Petri likobchasi qopqog'i bilan yopilib, ikki qavat parafilm bilan qoplanadi va harorati 22-250S, namligi 70% bo'lgan yorug'liksiz klimatik kameraga joylanadi. Uch xaftadan so'ng natijasi ko'riladi va hosil bo'lgan kallus rasmi chizib olinadi.

Suspenznya steril sharoitda, maълum tarkibdagi suyuq ozuqa muhitida o'suvchi, yakka hujayralar va agregatlardir, Suspenziyalı kulturadan model sistema sifatida ikkilamchi metabolism jarayonini, fermentlar sintezini va genlar eksprssiyasiga o'rganishda foydalanish mumkin. Hujayra suspenziyasi qimmatli biologik faol moddalar manbai (masalan, dori-darmonlar) hisoblanib, hujayra selektsiyasida boshlang'ich material bo'lib xizmat qiladi. Suspenziyalarni o'stirishning turli xil usullari mavjud: tebratgichda kolbalarda va fermenterlarda. Suspenziya o'sishi uchun asosiy sharoitlardan biri ozuqa muhitining doimiy tebratgichda aralashtirilishi va chayqatilib turilishidir, bu kulturanning aeratsiyasini vujudga keltiradi. Odatda suspenziya to'qimalaridan olinadi.

Material va asbob-uskunalar: Kartoshka kallusi, suyuq ozuqa muhiti kolba, steril pintset, skalpel, Petri likobchasi, spirtovka va gugurt.

Ishning borishi. Kallusli Petri likobchasidagi po'k kallus bo'laklari steril pintset bilan boshqa steril Petri likobchalariga olinadi, och rangdagi qismlari ajratib olinib suspenziya uchun tayyorlangan steril ozuqa muhitli kolbalarga solinadi. Suyuqlikka nisbatan kallusning miqdori quyidagicha: 100 ml suyuq muhitga 3-5 gramm kallus solinadi. Suspenziyaning miqdori kolba hajmining 10-20 % ni tashkil qilishi kerak. Masalan, 500 ml-li kolbaga 50-100 ml suspenziya solinadi. Kolbaning og'zi paxta dokali tiqin, tsellofan va folga bilan yopiladi va 3-4 haftaga tebratgichga qo'yiladi (birinchi ekishning me'yoriy muddati).

LABARATORIYA ISHI №22

Mavzu: Entomopatogen bakteriyalar ajratish va ular asosida entomopatogen bakterial preparat olish

Sanoat asosida ko'plab preparatlar ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda keng qo'llanilmoqda.

Bunday preparatlarni tayyorlash uchun bakteriyalar, zamburug'lar va viruslardan foydalaniladi. Preparatlarni ishlab chiqarish texnologiyalari ham xilma xildir. Ularni ishlab chiqarishda mikroorganizmlarning fiziologiyasi va biokimyoviy xususiyatlari va preparat nima maqsadda qo'llanilishi e'tiborga olinadi. Mikrob preparatlarini ishlab-chiqarish uchun qo'yidagi talablar qo'yiladi:

- ularning spetsifikligi, faqat ma'lum turdagi zarakunandalarga ta'sir qilib, foydali hasharotlarga zarasizligi;
- yuqori samarali ta'sir kuchiga ega bo'lishi;
- ishlab chiqarish va qo'llashning qo'layligi;
- odam va hayvonlar uchun havfsiz bo'lishi;
- preparatning foydali xususiyatlarining uzoq saqlanishi;
- uning yaxshi namlanishi va eritmasining barqarorligi;
- o'simlik bargi va boshqa a'zolariga yopishuvchanligi va u yerda uzoq vaqt saqlanishi va hokazo.

Bakteriyalar - eng katta va keng tarqalgan mikroorganizmlar guruhi hisoblanadi. Bularning ichida ***Bac.thuringiensis*** entomopatogen bakteriyasi katta ahamiyatga egadir. Bu bakteriya birinchi marotaba XIX asrning 60-yillarida ipak qurtining kasallanganida Paster tomonidan ko'zatilgan. U uni odatdagidan boshqa yadro hosil qiluvchi, qurtlarda kasallik qo'zg'atuvchi bakteriya sifatida yozadi va unga ***Bacillus bombicis*** deb nom beradi.

Keyingi vaqtlarda aniqlanishicha u yadro emas, balki oqsil kristalli- endotoksin ekanligi aniqlangan. 1911 yil Berliner bu bakteriya haqida to'liq ma'lumot berdi va uni ***Bacillus thuringiensis Berliner*** deb Tyuring (Germaniyada) viloyatining nomi bilan atadi, chunki u tegirmon kapalagidan (***Ephistia kuchniella***) ajratib olingan edi. Keyinchalik bu bakteriyaning namunaviy shtammlaridan ayrim xususiyatlari bilan farq qiladigan ko'plab shtammlar ajratildi.

Bu batsilla boshqa bir qancha entomopatogen bakteriyalar qatori ***Bacillaceae*** oilasiga kiradi. ***Bacillus*** turkumi tayoqchasimon, spora hosil qiluvchi, grammusbat turlarni birlashtiradi, ko'pchiligi harakatchan (xivchinlari mavjud) fakulgptativ va obligat (haqiqiy) aeroblardir. Ko'pchiligi tuproqda tarqalgan. ***Bacillus thuringiensis*** o'zining ko'pchilik xossasi jihatidan ***Bac.cereus*** ga yaqindir. SHuning uchun ular bir guruhga birlashtiriladi. Sunhiy yaratilgan muhitda va

xashorat ichida yaxshi rivojlanadi.

Bacillus thuringiensis ga qiziqish yildan yilga ortmoqda, chunki bakteriya juda ko'p muhim xususiyatlarga ega: tez ko'payadi; juda ko'plab oziqa muhitlarida spora hosil qiladi; vegetativ o'sishi tugagandan so'ng, faqat spora hosil qilibgina qolmasdan, zararkunanda xashoratlarni nobud qiladigan asosiy qurol–kristall holdagi endotoksin ham sintez qiladi.

Bu bakteriyaning ayrim shtamlari kristall holdagi endotoksindan tashqari o'zining o'sadigan muhitiga yuqori haroratga chidamli β –ekzotoksin va fermentlar chiqaradi. Bular hashoratlar uchun o'ta zararlidir.

Bu bakteriya turli xil texnologik monupulyatsiyalarga chidamli, separatsiyaga, vakuum-bug'latishga, quritishning turli xil usullariga, substrat-tashuvchilar (bakteriyaning o'ziga biriktirib turuvchi vosita) bilan aralashtirishga va boshqalarga qulaydir. Quritilgan holatda tayyor preparat o'zining dastlabki xususiyatini yo'qotmasdan bir necha yillargacha (1–10 yillargacha) yaxshi saqlanadi.

Bacillus thuringiensis ning hamma ko'rsatilgan sifatleri uni o'simliklarni zararli hashoratlardan saqlash vositasi sifatida birinchi o'ringa chiqardi.

Entomopatogen bakteriyalarda virulentlik va ferment faolligining bog'liqligi va shtammning yuqori virulentlikka ega bo'lishida S-fosfalipaza fermenti alohida o'rin tutishi aniqlangan.

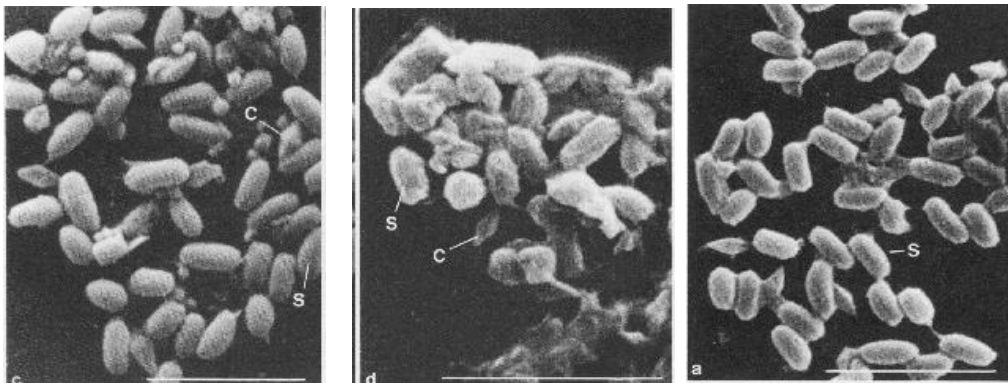
Bac.thuringiensis bakteriyasining maxsus S fosfalipaza bilan patogenlik xususiyati orasidagi bog'liqligi o'rganilgan va S-fosfolipaza **Bac.thuringiensis** bakteriyalarining entomotsid tahsirida asosiy faktor hisoblanadi degan xulosaga kelingan. Bu haqda Bolgariyalik olimlar A.Ivanov va boshqalar (1990) o'z tadqiqotlarida **Bac. thuringiensis** bakteriyalarining S-fosfolipaza ajratishi, uning spetsifik xususiyati va n-nitrofenil-fosforilxolinni gidrolizlashi va entomopatogen xususiyati to'g'risida ma'lumot berishgan.

Y–ekzotoksin- bu toksinning tabiati hozirgacha to'liq aniqlanmagan. Bu toksin **entomocidus** kulgpturasida uchraydi (**Bac.thuringiensis** VI serotip).

Kristall oqsilli δ –endotoksin – yoki juft sporali kristalli endotoksin bakteriyaning spora hosil qilish jarayonida hujayraning bir qismida spora shakllangandan so'ng hosil bo'ladi, hosil bo'lgan kristall to'g'ri sakkiz qirrali ko'rinishga ega bo'ladi. Kristallarni sintez qilish kulgpturaning statsionar fazasida taxminan uch soat davomida kechadi.

Hujayrada turli ko'rinishdagi bir nechta kristallar hosil bo'lishi mumkin (to'g'ri bipiramidal, rombsimon, kubsimondan ovalsimongacha).

Ularning o'lchamlari 0,5×1,3 dan 1×3,5 mkm gacha va hattoki submikroskopik ko'rinishigacha kichrayishi mumkin. Ular organik eritmalarda erimaydi, biroq sporadan ajralishi mumkin, pH ko'rsatkichi yuqori ishqoriy (pH–11,5 dan yuqori) sharoitda yaxshi eriydi va qaytaruvchi ishqoriy bufer ishtirokida (pH 7,9–9,5) ularning erish darajasi ortadi. Kristallar 100⁰S haroratda 30–40 minut qizdirilganda o'zining zaharlilik xususiyatini yo'qotadi.



***Bacillus thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi hosil qiladigan spora (s) - kristallari (c) shakllari**

Preparat eritmasi o'simlikka purkash yo'li bilan qo'llaniladi. Uni 2-5 kg/ga miqdorda 300-1500 l/ga maxsus purkagichli moslamalar yordamida ham, katta maydonlarga samolyot yordamida ham sepilishi mumkin. Entobakterinni qo'llashning mo'tadil harorati 18-32⁰S dir.

LABARATORIYA ISHI №23

Mavzu: Antogonist mikroorganizmlarni ajratib olish

Antogonistik munosabat faqat bakteriyalar orasidagina emas, balki zamburug'lar va aktinometsitlar orasida xam uchraydi. Olimlarning aytishicha, tuproq mikroblari orasida, ayniqsa, go'ng solib o'g'itlangan tuproqlarda patogen va fitopatagen mikroblariga nisbatan antoginestlar ko'p uchraydi. Bir xil mikroblar ikkinchi xil mikroblarga nisbatan antogonistik bo'lsa, u xosil qilgan mahsuloti bilan ikkinchi mikroblarni rivojlanishidan to'xtadi, yani uni o'ldiradi. Antogonist mikroblarni xosil qilgan mahsulotlari antibiotik deyiladi. Antibiotiklarni asosan tuproqda uchraydigan zamburug'lar, aktinometsitlar va xar turli sporali, sporasiz bakteriyalar xosil qiladi. Antibiotiklarni faqat mikroblargina emas, o'simlik va xayvonlar xam xosil qiladilar.

Xozirgi vaqatda antibiotiklar faqat meditsinadagina qo'llanilmasdan, qishloq xo'jaligida xam o'simlik kasalliklarining oldini olish va xar turli fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi keng ko'lamda foydalanilmoqda. Mikroorganizmlarning antogonistik xususiyatlari laboratoriyada bir necha xil usul bilan quydagicha aniqlanadi.

1. Zich oziq muxitida aniqlash. Buning uchun suyultirilgan GPA olinib, sterillangan Petri likobchasiga qo'yiladi, muhit qotganidan so'ng uning yuzasiga keng yo'l qo'yilib xar turli mikroorganizmlar *Bacillus mesentericus* mikrobiologik sirtmoq bilan ekiladi, unga tik chiziqlar qilib *Bac. Mycoides* va *Sarcina* ning sof kulturasi ekladi. Mikroorganizmlar ekilgan likobchalar 26-28⁰C termostatga 1-2 sutka qo'yiladi, so'ngra tajriba tekshirilganda mikroblarning bir-biriga yaqinlashgan joylarida yuz bergan o'zgarishlariga ahamiyat beriladi. Agar mikroblar bir-birlariga to'qnashgan joyda o'sish sust, yoki butunlay o'smagan bo'lsa, bu xolat mikroblar o'rtasida antogonizm borligidan dalolat beradi. Mikroblarning bir-birlariga nisbatan antogonistik munosabatda bo'lishlarining o'sishiga tasir qilibgina qolmasdan, balki morfologik va boshqa xususiyatlariga xam tasir qilishi mumkin. Buni aniqlash uchun muhit yuzasida normal o'sgan

mikrob to'plami bilan mikroblari bir-biriga kolonyalaridan preparat tayorlab bir-biriga solishtirililadi.

2. Tuproqdagi antagonist mikroblarni aniqlash. Buning uchun Petri likobchasiga GPA muxiti suyultirilib quyiladi, likobchadagi muhit qotganidan keyin uning yuzasiga bakteriya yoki zamburug'larning sof kulturasi shpatel bilan ekilib. 25-30⁰c termostatga 1-2 sutka davomida qo'yiladi. So'ngra likobdagi muxit yuzasida unib chiqqan bakteriya yoki zamburug` koloniyalarining ustiga bir-necha joyga yangi tuproq bo'lakchalaridan sterillangan pinset bilan qoyladi va yana bir-necha kun termostatda saqlanadi. Agar tuproq bo'lakchalari tarkibida antagonist mikroblar bo'lsa tuproq zarrachasi atrofida oq doira xosil bo'ladi chunki tuproqdagi antogenistik mikroblar muhit yuzasidagi yordam beradi.

FOYDANILGAN ADABIYOTLAR:

1. Sheveluxa V.S. i dr. Selskoxozyaystvennaya biotexnologiya. M.: Vesshaya shkola. 2003.
2. Artamonov V.I. Biotexnologiya agropromeshlennomu kompleksu. M: Nauka. 1989.
3. Mishustin Ye.N. Yemtsev I.T. Mikrobiologiya. M.: Kolos. 1987.
4. Gariev B.G. Mikrobiologiya. T.: Mehnat, 1990.
5. Davranov Q. Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. T., 2008.
6. Murodova S., Artiqova R. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi. T., 2010.
7. Mustaqimov G.D. O'simliklar fiziologiyasi va mikrobiologiya asoslari. T., 1995
8. Davranov Q.D. va boshqalar. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi. Uslubiy qo'llanma. T., 2000.
9. Davranov Q.D., Xo'jamshukurov N. Umumiy va texnik mikrobiologiya. T., 2004
10. Azizov G.R. va boshqalar. Qishloq ho'jaligi mikrobiologiyasidan qo'llanma. T., 1969.

M U N D A R I J A

№	Laboratoriya mashg'ulotlarining nomi	Beti
1	Mikroskop va uning tuzilishi. Mikroskop bilan ishlash usuli	4
2	Preparat tayyorlash usullari. Preparatlarni bo'yash usullari	8
3	Mikroorganizmlar hujayralarining shakllari	9
4	Sterillash usullari	14
5	Mikroorganizmlarni o'stirish uchun oziqa muhitlari va ularni tayyorlash usullari	15
6	Mikroorganizmlarni ekish usullari	18
7	Mikroorganizmlarni sof kulturasini ajratib olish usullari va ularni turlarini aniqlash usullari	20
8	Suv va havo mikroflorasi	21
9	Tuproq mikroflorasi	23
10	Rizosfera mikroflorasini o'rganish	25
11	Epifit mikroorganizmlarni aniqlash	27
12	Spirтли bijg'ish	28
13	Sut kislotali va moy kislotali bijg'ish	30
14	Tugunak bakteriyalarni sof kulturasini ajratish va ular asosida bakterial preparat tayyorlash	33
15	Mikroorganizmlarni antagonistik xususiyatlarini aniqlash	34
16	Bakteriya hujayrasidan plazmid DNK ni ajratish	36
17	Agarozali gelda DNK elektroforezi	37
18	O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash	38
19	Steril o'simtalar o'stirish	41
20	O'simliklarni klonal mikroko'paytirish. Kartoshka apikal meristemasini ajratish va o'stirish	43
21	Kartoshka tugunaklarini tinim holatiga o'tishi va uyg'onishini boshqarish	44
22	Entomopatogen bakteriyalar ajratish va ular asosida entomopatogen bakterial preparat olish	45
23	Antogonist mikroorganizmlarni ajratib olish	47

