

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

BUXORO DAVLAT UNIVERSITETI

TABIIY FANLAR FAKULTETI

BIOLOGIYA KAFEDRASI

SHOMURODOVA OYSARA DILMUROD QIZI

**“Tabiatda azotning aylanishida  
mikroorganizmlarni roli”**

5140100-Biologiya ta'lim yo'nalishi bo'yicha bakalavr  
kvalifikatsiyasini olish uchun

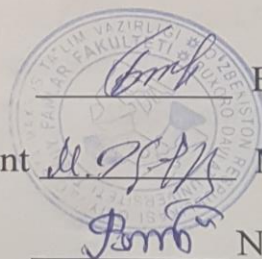
**BITIRUV MALAKAVIY ISHI**

BMI kafedraning № 9 sonli qarori  
29 may 2018 yil bilan himoyaga ruxsat etilgan

Kafedra mudiri, dotsent

Fakultet dekani v.v.b., dotsent

Ilmiy rahbar, dotsent



B.B.Toxirov

M.Hamidov

N.Rashidov

BUXORO – 2018

## MUNDARIJA

<b>Kirish.....</b>	<b>3</b>
<b>1- Bob. Mikroorganizmlar ishtirokida azotli birikmalarning o'zgarishi.....</b>	<b>5</b>
<b>2- Bob. Ammonifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar.....</b>	<b>12</b>
<b>3- Bob. Nitrifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar.....</b>	<b>16</b>
<b>4- Bob. Denitrifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1. Bevosita denitrifikatsiya jarayonlari va ularda ishtirok qiluvchi bakteriyalar.....</b>	<b>36</b>
<b>4.2. Bilvosita denitrifikatsiya jarayonlari va ularda ishtirok qiluvchi bakteriyalar.....</b>	<b>40</b>
<b>Xulosalar.....</b>	<b>60</b>
<b>Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.....</b>	<b>61</b>

## KIRISH

**Mavzuning dolzarbligi:** Azot o'simliklar hayoti uchun eng kerakli elementdir. U hayotiy muhim birikmalar – oqsillar, fermentlar, nuklein kislotalar va boshqa bir qator birikmalar tarkibiga kiradi. Tirik organizmlarning rivojlanishi uchun azot elementi muhim ahamiyatga ega. Molekulyar holatdagi azotning miqdori 78% ni tashkil qiladi. Lekin uni bironta o'simlik o'zlashtirish qobiliyatiga ega emas. Lekin molekulyar holatdagi azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar tabiatda mavjud, ular azotni o'zlashtirib, tuproq va o'simliklarga yetkazib beradi. Atmosferadan o'zlashtirilgan azot, yana o'z navbatida atmosferaga qaytarilishi zarur. Bu jarayonning sodir bo'lishida amonifikatsiya, nitrifikatsiya va denitrifikatsiya uslublari kuzatiladi. Organik moddalar tarkibidagi azotli birikmalar amonifikatorlar ta'sirida parchalanib ammiakni hosil qiladi. Ammiak o'z navbatida nitrifikatorlar ta'sirida nitrat kislotagacha aylanish jarayonida ikki xil bakteriyalar-nitrozomonas va nitrobakterlar ishtirok qilib, birinchi bosqichda nitritlar va ikkinchi bosqichda nitratlar hosil bo'ladi.

Nitrifikatsiya jarayonida ammiakning oksidlanib, ulardan nitratlarning hosil bo'lishi natijasida ko'proq azotli birikmalar bilan boyib, o'simliklarning hosildorligini oshirishda muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Nitrat jarayoni sodir bo'lgan nitrat kislotasi o'z navbatida denitrifikatorlar ta'sirida parchalanib molekulyar xolatdagi azotga aylanadi. Nitrifikatsiya va denitrifikatsiya jarayonida ishtirok etuvchi bakteriyalar tabiatda azotning almashinuvida muhim ahamiyatga ega.

**Ishning maqsadi va vazifasi:** Bitiruv malakaviy ishini bajarishdan maqsad o'simliklar atmosferadagi erkin azotni o'zlashtira olmaydi, ular faqat mineral holdagina foydalanadi. Azotning tabiatda doimiy ravishda

aylanishida ammonifikatsiya, nitrifikatsiya denitrifikatsiya va azotifikatsiya jarayonlarni organishni rejalashtirdik.

- Mikroorganizmlar ishtirokida azotli birikmalarning o'zgarishi;
- Ammonifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar;
- Nitrifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar;
- Denitrifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar;
- Bevosita va bilvosita denitrifikatsiya jarayonlari va ularda ishtirok qiluvchi bakteriyalar;
- Azotifikatsiya jarayonlari va ularda ishtirok qiluvchi bakteriyalar.

## **1 Bob. Mikroorganizmlar ishtirokida azotli birikmalarning o'zgarishi**

Azot o'simliklar hayoti uchun eng kerakli elementdir. U hayotiy muhim birikmalar – oqsillar, fermentlar, nuklein kislotalar va boshqa bir qator birikmalar tarkibiga kiradi.

Azot o'simliklar quruq og'irligining 1-3%ini tashkil etadi. Tabiatdagi asosiy azot manbai atmosfera tarkibida bo'lib, uning umumiy miqdori 75,6%ni tashkil etadi. Bir kvadrat metr yer ustida 8 tonnagacha azot bor. Lekin yashil o'simliklar atmosfera tarkibidagi molekulyar azotni bevosita o'zlashtira olmaydi. Chunki molekulyar azot o'ta turg'un bo'lib, uni faol holga o'tkazish uchun juda katta energiya sarflash kerak.

Turg'un holatdagi atmosfera azotini asosan 2 yo'l bilan faol holatga o'tkazish mumkin:

- 1) Kimyoviy
- 2) Biologik

Kimyoviy yo'l juda yuqori harorat (500) va bosim (35MPa) ostida boradi.

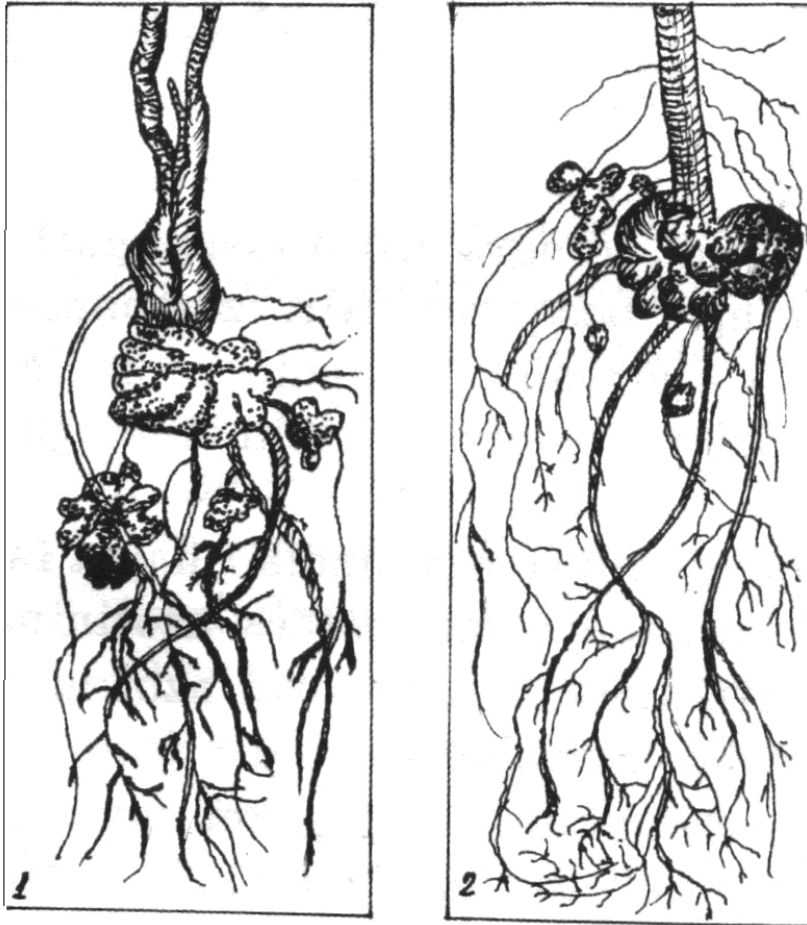
Biologik yo'l bilan tabiatda molekulyar azotni ammiakgacha qaytaruvchi ko'pgina organizmlar (mikroorganizmlar va ayrim suv o'tlari) mavjud. Bular azot o'zlashtiruvchi yoki azotofiksatorlar deb ataladi. Azot o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar 2 guruhga bo'linadi:

- 1) erkin yashovchi azotofiksatorlar;
- 2) o'simliklar bilan simbioz holida yashovchi azotofiksatorlar.

Erkin yashovchi azotofiksatorlar ham o'z navbatida 2 guruhga bo'linadi:

- 1) anaerob azotofiksatorlar;
- 2) aerob azotofiksatorlar.

Anaerob azotofiksatorlarga (ya'ni kislorodsiz sharoitda yashov-chi)sporali bakteriya Klostridium pasterianum (Clostridium pasterianum), aerob mikroorganizmlarga esa Azotobakter (Azotobacter chroococcum) misol bo'lishi mumkin.

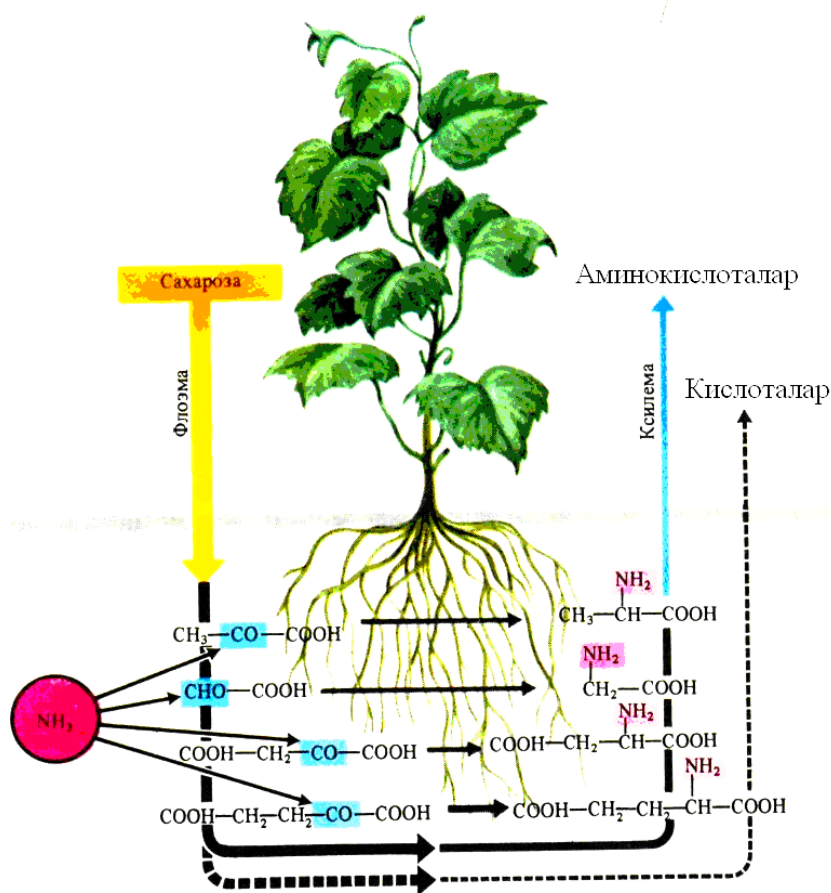


**1-rasm. Dukkaklilar ildizida tunganaklar hosil bo'lishi**

**1-xushbo'y no'xat; 2-soya.**

Bu ikkala mikroorganizm ham molekulyar azotni o'zlashtirish uchun fermentlar ishtirokida energiya sarflaydi. Buning uchun glyukoza yoki boshqa organik moddalarning oksidlanishi natijasida ajralib chiqqan energiyadan foydalanadilar. Har bir gramm sarflangan glyukoza energiyasi hisobiga Azotobakterlar 15mg. gacha va Klostridium esa 2-3mg azot to'playdi (1-rasm).

Bundan tashqari erkin yashovchi azotofiksatorlarga ayrim ko'k-yashil suvo'tlari (Nostoc, Phormidium) ham kiradi. Ular, ayniqsa chuchuk suv havzalarda katta ahamiyatga ega (ayniqsa sholikorlikda). Bu organizmlar bir ga yerda 10-40 kg gacha bog`langan (o'zlashtirilgan) azot to'plashi mumkin.



**2-рasm. O'simliklar tomonidan ammiakning o'zlashtirilishi va o'zgarishi**

O'simliklar bilan simbioz holida yashovchi mikroorganizmlarga tuganak bakteriyalarini (*Bact.radicicola*) ko'rsatish mumkin. Ularning mavjudligi 1866 yilda M. S. Voronin tomonidan aniqlangan edi. Bu bakteriyalar dukkakli o'simliklarning ildiz to'qimalariga kirib hayot kechiradi va natijada tuganaklar hosil bo'ladi. Tuganak bakteriyalar ko'p miqdorda azot, jumladan, erda ko'p organik azotni ham to'playdi.

Masalan, yaxshi rivojlangan yo'ng'ichqa ildizlaridagi tuganak bakteriyalar bir yilda gektariga 300kg. gacha azot to'plashi mumkin. Umuman, 200 turga yaqin o'simliklarning ildizida maxsus tuganak bakteriyalari hayot kechirishi aniqlangan.

Azotofiksatorlar planetamizda yiliga bir necha million tonna erkin azotni qaytarib, ammiakka aylantiradi. Odatda ammiak o'simliklar tanasida aminokislotalar hosil bo'lishida ishtirok etadi (2-rasm).

Barcha yashil o'simliklar mineral azotni o'zlashtirish qobiliyatiga ega. Bu asosan tuproq hisobiga sodir bo'ladi. Tuproq tarkibidagi azot asosan ikki holda uchraydi: organik moddalar tarkibidagi azot; mineral tuzlar tarkibidagi azot.

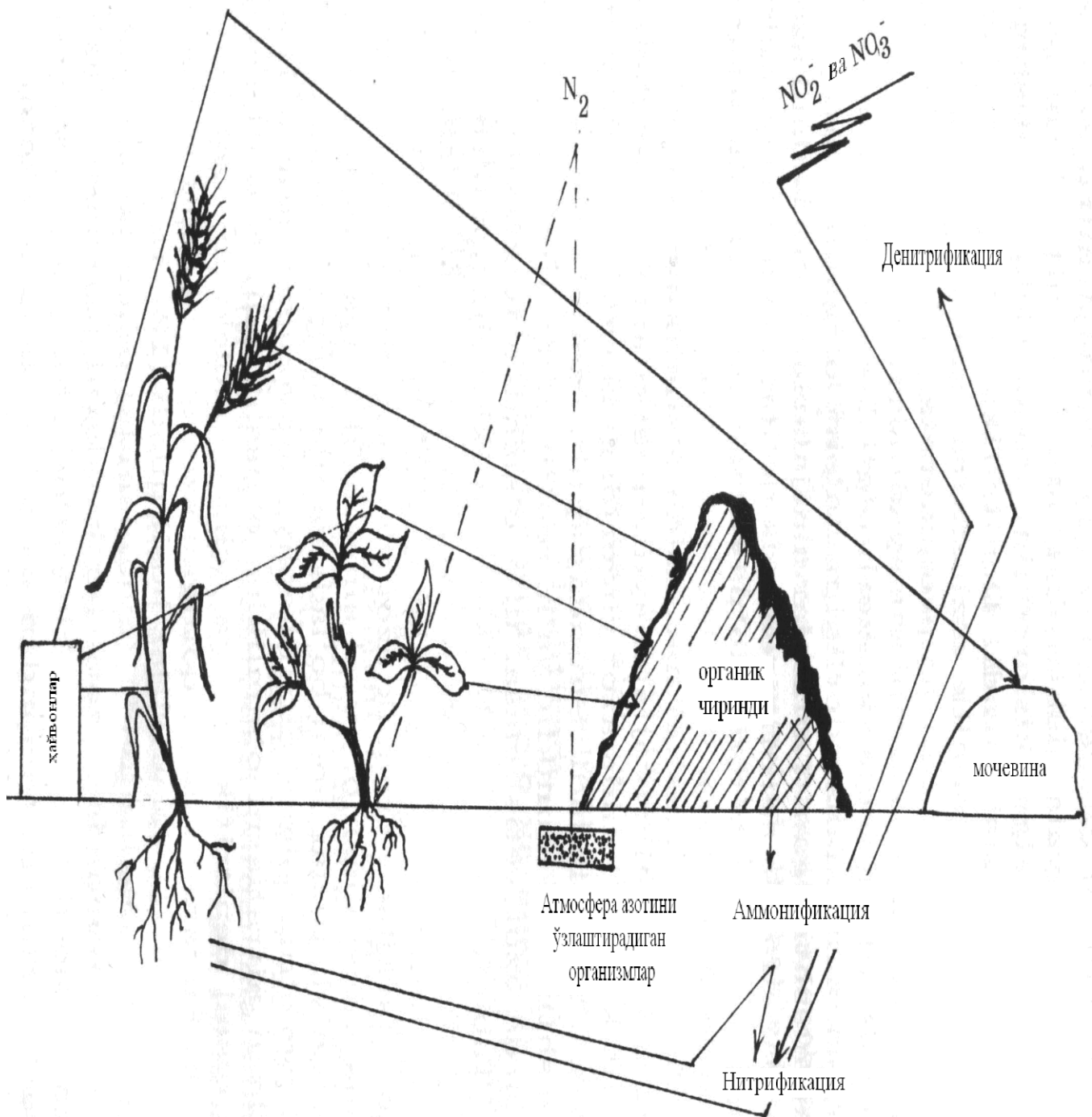
Organik moddalar asosan o'simlik va hayvon qoldiqlaridan iborat bo'lib, ular tarkibidagi azot mikroorganizmlar ishtirokida ammonifikatsiya va nitrifikatsiya jarayonlari natijasida o'zlashtiriladigan holatga o'tadi (3-rasm).

Tuproq tarkibidagi azotning mineral formasi ammoniy tuzlari ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  va boshqalar) va nitrat tuzlari ( $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  va boshqalar) holida bo'ladi. Bu mineral tuzlar ionlanish xususiyatiga ega ekanligi uchun ham oson o'zlashtiruvchi azot manbasini tashkil etadi. Chunki o'simliklar azotni tuproqdan kation –  $\text{NH}_4^+$  yoki  $\text{NO}_3^-$  holatida o'zlashtiradi. Bunday erkin azot tuproqlarda uncha ko'p emas. Masalan, eng unumdor qora tuproqlarning bir gektarida 200kg. ga yaqin o'zlashtiriladigan azot mavjud. Podzol tuproqlarda esa bu ko'rsatkich 3-4 marta kam.

Nitrat anioni- $\text{NO}_3^-$  tuproq zarrachalari bilan mustahkam birlashmaydi. Shuning uchun tez yuvilib ketishi mumkin va ko'p to'planib ham qolmaydi. Nitratlar miqdori tuproqda ayniqsa, yoz fasllarida, mikroorganizmlar faollashgan vaqtlarda ko'p bo'lishi mumkin. Umuman ionlarning ( $\text{NO}_3^-$ ) tuproqdagi miqdori o'simliklarning o'zlashtirish tezligiga, mikrobiologik jarayonlarning jadalligiga va yuvilish jarayonlariga bog'liq. Bu reaktsiyalar natijasida hosil bo'lgan ammiak o'simliklarda to'planmay, aminokislotalar hosil bo'lishida ishtirok etadi.

Tuproq tarkibidagi kation- $\text{NH}_4^+$  boshqa manfiy zaryadlangan zarralarga tez adsorbtsiyalanadi va shuning uchun ham harakatchanligi juda sust bo'ladi. Ular juda kam yuviladi va natijada tuproqda to'planadi. Bu kationlarni o'simliklar osonlik bilan o'zlashtiradi. Chunki ular tezlik bilan organik moddalar tarkibiga o'tishi mumkin.





**3-рasm. Azotning tabiatda aylanishi**

Bu jarayonni Pryanishnikov (1892) oqsil birikmalarining parchalanishi natijasida hosil bo'lgan azot formalarini hisobga olish bilan kuzatgan.

Umuman, ammoniy tuzlari holatida o'zlashtirilgan yoki nitratlarning qaytarilishi natijasida hosil bo'lgan ammiak ketokislotalar bilan reakstiyaga kirishib, aminokislotalar hosil qiladi.

Pirouzum kislota bilan ammiak o'zaro reakstiyaga kirishib, alanin aminokislota hosil bo'ladi.

Fumarat kislota bilan ammiakning birikishidan aspartat aminokislota hosil bo'ladi.



4-rasm. O'simliklarda azotli moddalarning qayta o'zgarish shakli

Shunday qilib, tuproqdagi ammoniy tuzlaridan yoki nitratlarning qaytarilishi natijasida olingan ammiakning ishtirokida faqat uchta aminokislota: aspartat, alanin va

glutamat hosil bo'ladi. O'simliklardagi qolgan aminokislotalar shu uchta aminokislotalardan qayta aminlanish natijasida hosil bo'ladi. Qayta aminlanish reakstiyalari 1937 yilda A. E. Braunshteyn va M. G. Kristman tomonidan ochilgan edi. Ya'ni, fermentlar ishtirokida aminoguruhlarining bir molekuladan ikkinchi molekulaga o'tkazilishi natijasida yangi aminokislotalar hosil bo'ladi (4-rasm).

Umuman, o'simliklarda qayta aminlanish tirik to'qimalarda aminokislotalar hosil bo'lishining bosh usulidir. O'simliklar faqat ammoniy tuzlari solingan eritmada o'stirilganda  $\text{NH}_4^+$  kationi ildizlardayoq o'zlashtiriladi va amidlarga aylanadi. Hosil bo'lgan amidlar ildiz shirasi tarkibida o'simliklarning er ustki qismlariga tarqaladi. Dastlab D.A.Sabinin va keyinchalik akademik A.L.Kursanovning ko'rsatishicha, ildiz tomonidan qabul qilingan ammoniy kationining tezlik bilan o'zlashtirilishi ildiz tizimining ham faol xususiyatga ega ekanligidan dalolat beradi. Umuman, ildizlarda aminlanish va qayta aminlanish jarayonlari natijasida 25 dan ortiq azot birikmalarining hosil bo'lishi aniqlangan.

Demak, ammoniy kationi glikoliz va Krebs stiklida hosil bo'lgan organik kislotalar bilan ildizlardayoq reakstiyaga kirishadi va aminokislotalar yoki amidlar holida er usti qismlariga tarqaladi. O'simliklar nitratlar bilan oziklanganda esa qabul qilingan anion ( $\text{NO}_3^-$ ) barglarda o'zlashtiriladi. Bu jarayonda akseptorlik vazifasini fotosintez va yorug'likda nafas olishning birlamchi mahsulotlari bajaradi. Umuman, yashil o'simliklarda azot ishtirokida hosil bo'lgan oqsillarning miqdori 80-95%, nuklein kislotalar 10%, aminokislotalar va amidlar 5%ni tashkil etadi. Oqsillarning ko'pi fermentlardan iborat bo'lib, o'simliklardagi metabolitik jarayon reakstiyalarining tavsifini belgilaydi. Oqsillar zahira holda ham to'planadi. Bulardan tashqari azot fosfolipidlar, koenzimlar, xlorofillar, fitogormonlar va boshqa birikmalarning ham tarkibiga kiradi. Shuning uchun azot boshqa mineral elementlarga nisbatan bir necha baravar ko'proq o'zlashtiriladi. Agar tuproqda azot etmasa, o'sish sekinlashadi, barglar maydalashib, sarg'aya boshlaydi, ildiz tizimi jarohatlanadi, gullar va yosh meva tugunlari to'kila boshlaydi. Azot juda kam bo'lsa, o'simliklar qurib qoladi.

## 2- Bob. Ammonifikatsiya jarayoni va bunda Ishtirok qiluvchi bakteriyalar

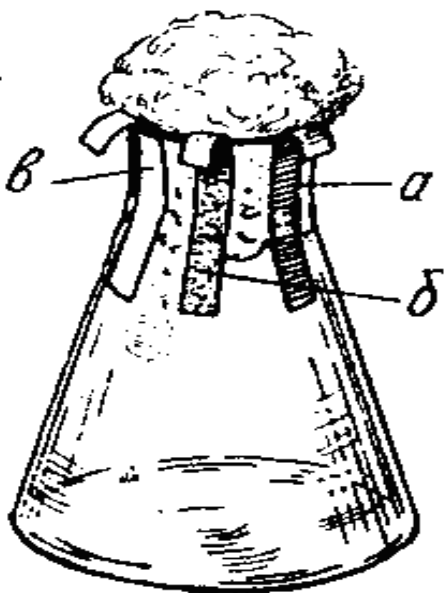
Oqsil va tarkibida azot bo'lgan boshqa organik birikmalar parchalanib, o'zida ammiak hosil qilishi *ammonifikatsiya* deyiladi. Odatda, bu jarayon oqsilning chirishi deb aytiladi. Oqsil chirishi jarayonida ammiakdan tashqari,  $H_2S$ , indol ( $C_8H_7N$ ), metil-merkaptan ( $CH_3CH$ ), fosfat kislota ( $H_3PO_4$ ) va boshqa birikmalar hosil bo'ladi. O'zidan tashqi muhitga proteolitik fermentlar ishlab chiqaradigan tirik organizmlargina bevosita oqsilga ta'sir qila oladi va uni parchalaydi. Boshqa organizmlar pepton va aminokislotalarni ammiakkacha parchalashi mumkin.

Ammonifikatsiya jarayonida bakteriyalardan tashqari aktinomitsetlar va mog'or zamburug'lari ham qatnashadi. Ammonifikatsiya jarayoni tabiatda keng tarqalgan bo'lib, qishloq xo'jaligida juda muhim rol o'ynaydi. Bu jarayonda hayvon va o'simliklar qoldig'i tarkibidagi azotli organik moddalar parchalanib, o'simliklarning oziqlanishi uchun zarur bo'lgai mineral moddalar hosil bo'ladi. Shuni ham aytib o'tish kerakki, agar tabiatda ammonifikatsiya jarayoni yuz berib turmasa yer shari o'simlik va hayvonlar qoldig'i bilan to'lib ketgan bo'lar edi.

Demak, ammonifikatsiya jarayoni tabiatda azotning aylanishida birinchi tartibli jarayon bo'lib hisoblanadi. Bu jarayonda qatnashuvchi bakteriyalar juda xilma-xil bo'lib, ularning ba'zi turlari anaerob, ikkinchi xil turlari aerob sharoitda hayot kechiradi. Bu jarayonda fakultativ anaerob bakteriyalar ham ishtirok etadi.

200 ml hajmli kolbaga uning  $3/4$  qismigacha 3% li pepton eritmasi quyilib, eritma ichiga 0,5 g chamasida tuproq aralashtiriladi. Tuproq tarkibidagi aerob va anaerob bakteriyalar ta'sirida bu aralashmada ammonifikatsiya jarayoni boshlanadi. Kolba og'ziga qo'yilgan paxta

probkaning bir joyiga qizil lakmus qog'oz, ikkinchi joyiga konsentrlangan oksalat kislota ( $H_2C_2O_4$ ) va uchinchi joyiga qo'rg'oshin atsetat [ $Pb(CH_3COO)_2$ ] tuzi eritmasi shimdirilgan qog'oz parchalari osib quyiladi (5-rasm). Bakteriyalarga qulay sharoit yaratish uchun kolba  $30^{\circ}C$  issiq termostatga qo'yiladi. Oradan bir necha kun o'tgach, kolba probkasiga osib quyilgan qog'ozlarning rangi o'zgargan - o'zgarmaganligi tekshiriladi.

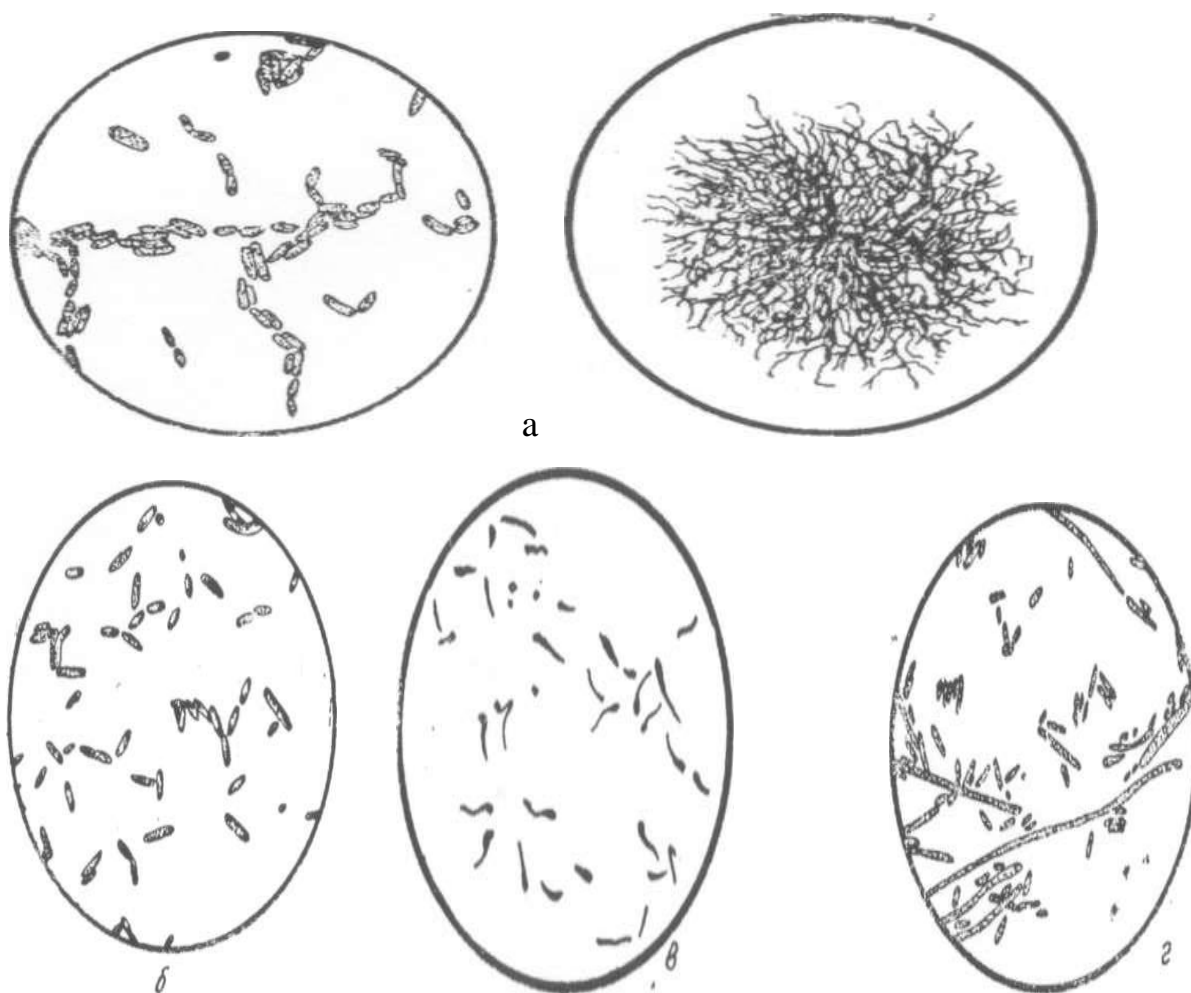


**5-rasm. Ammonitrifikatsiya jarayonini tekshirish uchun tajriba qo'yish:**

- a) qizil lakmus qog'oz;
- b) oksalat kislota;
- c) qo'rg'oshin atsetat tuzi eritmalari shimdirilgan filtr qog'ozlar.

Jumladan, qizil lakmus qog'oz jarayon vaqtida ajralib chiqqan ammiak ta'sirida ko'k rangga kiradi. Qo'rg'oshin atsetat tuzining eritmasi shimdirilgan qog'oz  $H_2S$  ishtirokida qora rangga, oksalat kislota shimdirilgan qog'oz indol ta'sirida pushti rangga bo'yaladi.

Bu reaksiyalarning hammasi ammonifikatorlar ta'sirida peptonning parchalanishi natijasida vujudga kelgan mahsulot borligini isbotlaydi.



**6-rasm. Ammonifikatsiya jarayonida ishtirok etadigan mikroorganizmlar:**

a) *bacillus mikoides* (*Bacillus mycoides*)-chapda spora hosil qilish oldidagi vegetativ hujayralari, o'ngda koloniyalari; b) *bacillus subtilis* (*Bacillus subtilis*); b) *bacillus putrifikus* (*Bacillus putrificus*); z) *proteus vulgaris* (*proteus vulgaris*)

Aerob sharoitda yashab, oqsilning chirishida ishtirok etadigan bakteriyalarni ko'rish uchun kolbadagi suyuqlikning yuza qavatidan sterillangan ilmoq yordamida bir tomchi olib mazok tayyorlanadi. Mazok quritilib, fiksatsiyalangandan va fuksin bilan bo'yalgandan so'ng unga bir tomchi kedr moyi tomizilib, mikroskopning immersion sistemasi orqali

tekshiriladi.

Mikroskopda oval shaklli spora hosil qiladigan kichik tayoqcha-**batsillus mikoides** (*Bacillus mycoides*) borligi ko'rinadi. Bu batsilla peritrix tipda joylashgan xivchinli bo'lib, oqsilni ammiakkacha parchalaydi. Qattiq oziq muhiti betida zamburug' mitsellalari (iplari) ga o'xshash koloniyalar hosil qiladi (6-rasm, a). Oqsilning chirishida **pichan batsillasi** (*Bacillus subtilis*) ham aktiv qatnashadi (6- rasm, b).

Oqsilning anaerob sharoitda parchalanishida qatnashadigan **batsillus putrifikans** (*Bacillus putrificans*) ning bor-yo'ligini aniqlash uchun kolbadagi suvning pastki qatlamidan bir tomchi eritma olib mazok tayyorlanadi. Mazok quritilgandan so'ng bo'yaladi va mikroskopda tekshiriladi. Bo`yalgan mazokda spora hosil qiluvchi, baraban tayoqchasi shaklidagi batsilla borligi ko`rinadi (6- rasm, v).

**Proteus vulgarus** (*Proteus vulgaris*) nomli bakteriya esa ingichka tayoqchalar shaklida ko'rinadi (6- rasm, g). Bu bakteriya spora hosil qilmaydi. Oqsilning parchalanishi natijasida indol va H<sub>2</sub>S hosil bo'ladi. Agar muhitga uglevod berilsa, bu holda karbonat angidrid va vodorod gazlari ham ajraladi. *Proteus vulgaris* fakultativ anaerob bakteriya bo'lib, aerob va anaerob sharoitda hayot kechiradi.

### **3-Bob. Nitrifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar**

Oqsil chirishi natijasida tuproqda to'plangan ammiak va ammoniy tuzlari o'ziga xos mikroorganizmlar tomonidan oksidlanadi. Oksidlanish jarayonida nitrit va nitrat kislota hamda ularning tuzlari hosil bo'ladi. Bu jarayon nitrifikatsiya deb ataladi. Nitrifikatsiya jarayonida ishtirok etadigan mikroorganizmlarni boshqa bakteriyalardan ajratib olish metodikasini 1888-1890 yillarda rus mikrobiologi S.N.Vinogradskiy ishlab chiqqan. Asli bu jarayon o'tgan asrning 70-yillarida kashf etildi va qishloq xo'jaligida muxim ahamiyatga ega bo'lgan, juda keng tarqalgan tuproq jarayonlaridan biri bo'lib chiqdi.

Vinogradskiy o'zining klassik tekshirishlari bilan faqat nitrifikatsiyaning mohiyatini aniqlashdan tashqari, o'zidan oldingi tadqiqotchilarning shu jarayonni qo'zgatuvchi mikroorganizmlar sof kul'turasini ajratib olish yo'lida nima sababdan ishi yurishmaganini ham ko'rsatib berdi. Oltinugurt bakteriyalarining organik moddalarga salbiy munosabatda bo'lishi Vinogradskiyga oldindan ma'lum edi.

U shunga asoslanib, balki muhitdagi ortiqcha organik modda nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning rivojlanishiga to'sqinlik qilar, deb taxmin qildi. Yana u o'zining amoniy tajribalarida nitrifikatsiya jarayonini qo'zg'atuvchi bakteriyalar organik moddali muxitda rivojlana olmasligini aniqlagan.

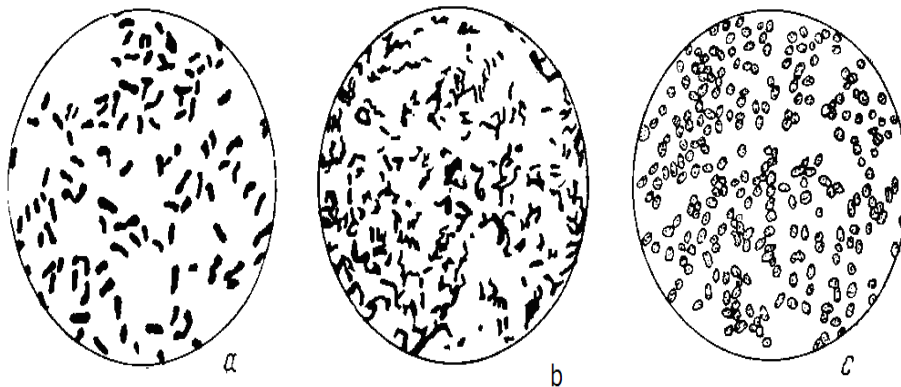
U mana shu taxminga asoslanib, ammiakning sof mineral oziq eritmalarida oksidlanishini tekshira boshladi va bunday sharoitda nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar yaxshi rivojlanishini aniqladi. Muhit juda ham elektiv bo'lganligi tufayli avval o'sha mikroorganizmlarning aralash kul'turasini olish keyin esa ularni sof kul'tura xolida ajratish mumkin bo'ladi.



Vinogradskiy tekshirishlaridan oldin, nitrifikatsiya jarayoniga ammiakli tuzlarni nitrat kislotagacha oksidlovchi mikroorganizm-larning bir turi sabab bo`ladi, deb taxmin qilinardi.

Biroq, Vinogradskiy bu jarayon ikki grupp mikroorganizmlar-ning ketma-ket ta'siri natijasida sodir bo`lib, ikki fazada o'tishini aniq belgilab berdi: oldin ammiakli tuzlar nitrit kislotagacha oksidlanadi, nitrit kislota esa keyin oksidlanib, nitrat kislotaga aylanadi.

S.N.Vinogradskiy ammiakning oksidlanib, nitrit kislotaga aylanishiga bir necha tur bakteriyalar sabab bo`ladi, deb o`ylaydi. U o`sha bakteriyalarni o`rta avlodga: Nitrosomonas, Nitrosocystis va Nitrosospora avlodlariga kiritdi. Nitrosomonas avlodining vakillari oval shakilda bo`lib ayrim hollarda sharchaga o`xshab qoladi va harakatchan bo`ladi, ularning bitta uzun xivchini bor(7-rasm).



*7-rasm. Nitrifikatsiya jarayonining birinchi fazasida ishtirok etadigan nitrozomonas (Nitrosomonas) nomli bakteriyaning a, b, c xillari.*

Nitrozomanis javanensis hujayrasining diametri  $0,6 \mu$  bo`lgani holda, xivchining uzunligi  $30 \mu$  ga etadi. Nitrosomonasning har xil turlari tuproqda juda tarqalgan bo`lib, hujayralarning katta-kichikligi yoki

shakli, shuningdek muhitning aktiv reaksiyasiga munosabati bilan bir-biridan farq qiladi.

Vinogradskiy Nitrosomonasning yumaloq shaklda va bir muncha kichik ( $1,5 \mu$  dan  $3 \mu$  gacha) bo'ladigan beshta tur xilini (a,b,s,d va e) tafovut qiladi. Bo'lingandan keyin hujayralari ahyon-ahyonda juft-juft yoki zanjircha bo'lib birikkan holda qoladi.

*a* tur xili yo'g'on tayoqcha ( $1,5 \mu$  dan  $3 \mu$  gacha) shaklida uchraydi va magniy karbonatdan ko'ra, bor ishtirokida yaxshi rivojlanadi. (optimal  $pH = 7,6$ )

*b* tur xili oldingi turiga o'xshaydi, biroq hujayrasining kichikroq bo'lishi bilan undan farq qiladi va  $pH = 8-9,2$  bo'lganda eng yaxshi rivojlanadi.

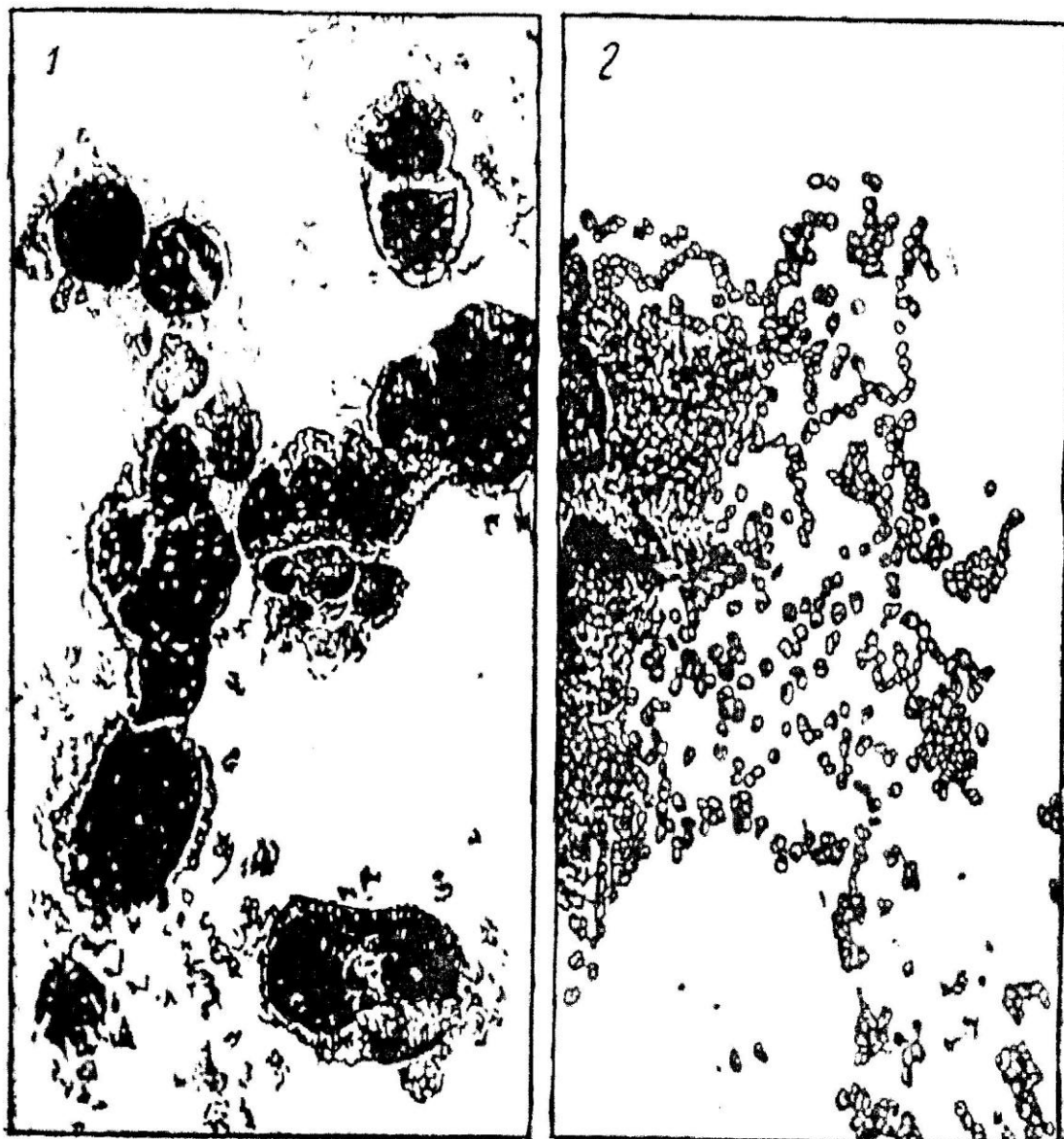
*c* tur xili ingichka tayoqchalardan iborat (eni  $1 \mu$  va bo'yi  $2,5 \mu$ ). Bu tayoqcha  $pH = 7,4-8,8$  bo'lganda yaxshi rivojlanadi.

*d* tur xili shaklan ellipsga o'xshaydi va  $pH = 7,4-8,8$  bo'lganda yaxshi rivojlanadi.

*e* tur xili shaklan hujayralarining diametri  $1,2 \mu$  bo'lgan tipik kokklarga o'xshaydi va  $pH = 8,6-8,8$  bo'lganda eng yaxshi rivojlanadi.

Vinogradskiy Nitrosocystis avlodiga zoogleya hosil qila oladigan mikroorganizmlarni kiritdi. Zoogleyalar umumiy kapsula bilan o'ralgan bo'lib, kapsulaning ichida diametri  $1,5 \mu$  ga yaqin bo'lgan kokklar turadi.

Vinogradskiy ma'lumotlariga ko'ra, bu bakteriyalarning koloniyalari butun bir rivojlanish tsiklini o'tadi. Hujayralar oldin zoogleyalarga aylanadi, bular keyinchalik bir-biriga yopishib, yirik to'plamlar hosil qiladi. Koloniyalar qarigan (eskirgan) sayin birmuncha pishiq parda ajratadi va go'yo tsistaga aylanadi(8-rasm).



2-расм. Nitrozocystis:

1 — хужайраларининг тўплами; 2 — хужайраларининг дисперс ҳолати (1000 марта катталаштириб кўраётилган, Виноградскийдан олинган)

Biroq A.Imshenetskiyning so`ngi tekshirishlari shuni ko`rsatadiki tuproq bo`laklarini atrofidagi chel silikat plastinkalariga ba`zan haqiqatdan ham, tsistalari bor nitrifikatsiya zonalari yuzaga keladi, lekin tsistalarning shakli va tuzilishi miksobakteriyalarning meva tanalariga to`la muvofiq keladi. Shuning uchun Imshenneskiy bu tsistalar nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarga bevosita bog`liq emas, deb hisoblaydi. O`sha joylarda miksobakteriya (*Sorangium sybioticum*) rivojlanishidan

oldin tipik nitrifikator – Nitrosomonas rivojlanadi. Bu bakteriya to'plagan organik modda mikrobakteriyalarning rivojlanishi uchun, aftidan, uglerod manbai bo'ladi.

Chamasi shu formalar o'rtasi bir necha marta qayta o'stirish davomida saqlanib qoladigan o'ziga xos simbioz bor. Imshenetskiynig bu ma'lumotlari tabiatda alohida Nitrosocystis avlodi borligi shuphali ekanini ko'rsatadi.

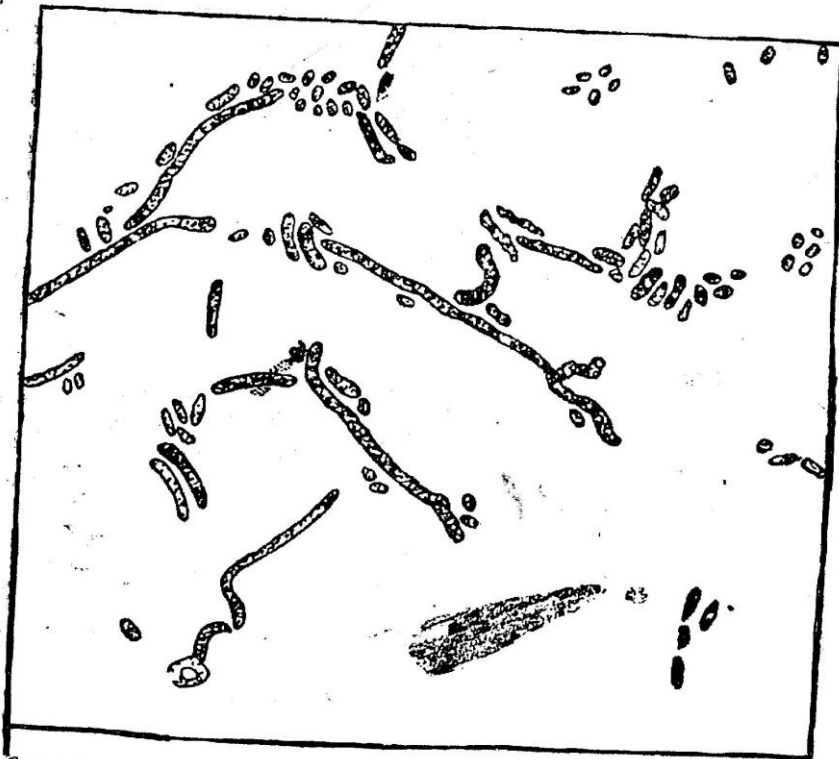
Nitrosospira alohida Vinogradskiy tomonidan Paster instituti parkining ishlanmagan eri tuprog'idan (Nitrozosp brie) va yangi Yer oroli tuprog'idan (Nitrozosp arctila) ajratib olingan ikki turni o'z ichiga oladi. Bu turlarning ikkilasi ham to'g'ri spiral shaklda bo'lib (9-rasm).

Hujayralarning uzunligi har xil ( $15-20\mu$  keladigan uzun tayoqchadan tortib kokklargacha bo'ladi) Spiralga o'xshab buralgan iplar bilan bir qatorda doim kalta tayoqchalar va kokksimon formalari ham uchraydi.

Eski kul'turalarda zoogleyalarning ajralishidan hosil bo'lgan ul'tramikraskopik donachalarni topish mumkin, bular tasbehga o'xshab joylashgan bo'ladi. O'sha donachalar yangi oziq substratiga ko'chirilsa, yangidan tipik kul'turalar hosil qiladi.

Zoogleyalar paydo bo'lishini Vinogradskiy muhit sharoitining o'zgarishi bilan bog'liq, deb hisoblaydi va ular mazkur turning saqlanishi uchun muhim ahamiyatga ega, deb o'ylaydi.

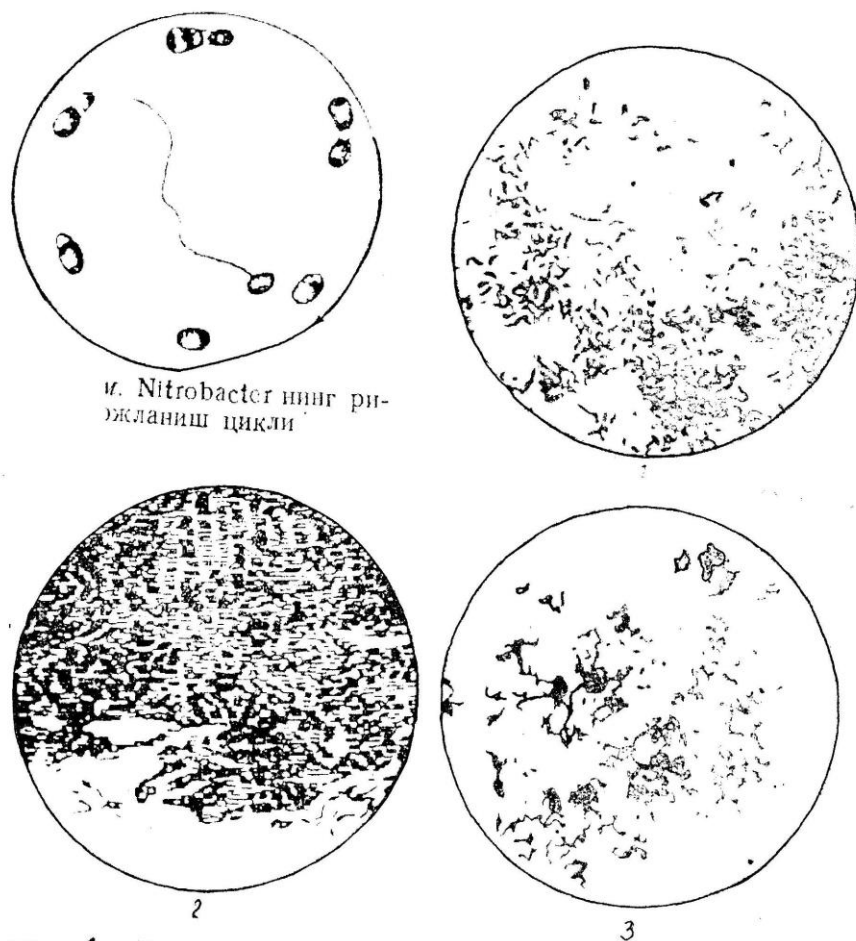
Nitrosospira asosan ishlanmagan erlarda rivojlanadigan va u erda nitrafikatsiya jarayonini amalga oshiradi. Nitrit kislotaning oksidlanib, nitrat kislotaga aylanishiga Vinogradskiy Nitrobakter deb atagan bakteriya hayot faoliyati sabab bo'ladi. Vinogradskiy bu bakteriyani har xil tuproqdan ajratib olgan va har doim ham uni bir xil holda topgan.



Зрасси.—1 Nitrosospira Brie; 2— Nitros. arctica (1000 марта катталаштириб кўрсатилган, Виноградекийдан олинган)

Qirq yilgacha bu bakteriya nitrit kislotani oksidlab, nitrat kislotaga aylantira oladigan birdan bir formadir, deb xisoblanib kelindi, lekin keyinchalik Vinogradskiy e.Vinogradskiy bilan birgalikda bu organizmga yaqin turadigan yana bir necha turni ajratishga muvaffaq bo`ldi.

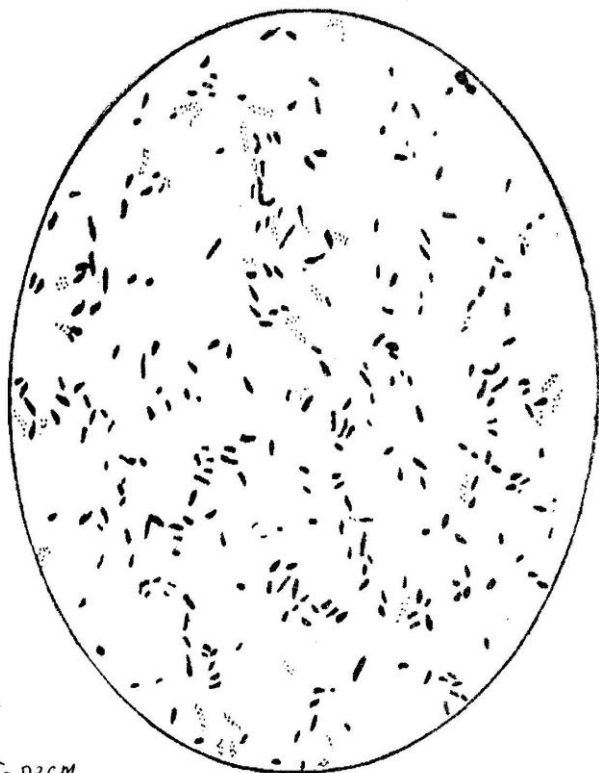
Nitrobacter avlodiga kiradigan bakteriyalar kremniyli gel' bor plastinkalarda sariq dog`lar ko`rinishida rivojlanadi. Ular mayda tayoqchalardan (bo`yi  $1\ \mu$ , eni  $0,5\ \mu$ ); iborat bo`ladi(5-rasm).



и. Nitrobacter ning rivojlanish sikli

4-рasm 1 — Nitrobacter; 2 — Bactoderma; 3 — Microderma (1000 марта катталаштириб кўрсатилган, Виноградскийдан олиingan)

Bular bilan bir qatorda zoogleya va tistalar hosil qiluvchi formalar ham uchrashi mumkin. Bu formalar nitrit plastinkalarda juda sekin rivojlanadi va asta-sekin parda bilan o`ralib boradi. Sidirg`a parda hosil qiladigan tayoqchasimon formalarni Vinogradskiy Bactoderma avlodiga, kokksimon formalarni esa Microderma avlodiga kiritiladi(10-rasm).



5-рaсм

В-2 КТ *Bacillus denitrificans*. Майда таёқчаларни (1000 марта катталаштириб хурсатилган)

Bactoderma va Microderma avlodlari shu vaqtgacha hali etarlicha tekshirilmaganligini aytib o`tish kerak.

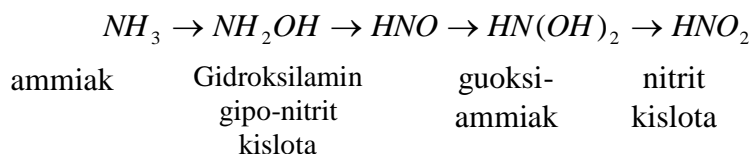
Nitrobacter gruppasiga kiradigan mikroblar ham sof mineral substratlarda yaxshi rivojlanadi va karbonat angidrididan foydalanib o`z tanasining organik moddalarini sintez qila oladi. Bular organik moddalarga nisbatan birmuncha kam sezgir bo`lgani holda, ammiakli tuzlarga nihoyatda sezgirdir. 1 litrda 5mg ammiak bo`lishi ham shu mikroblarning nitrit kislotani oksidlanishini sekinlashtirib qo`yadi.

Yuqoridagilarni nazarda tutib, Vinogradskiy nitrobakteriyalar uchun tarkibi maxsus organik moddalardan iborat bo`lgan oziq muxiti reseptini ishlab chiqqan.

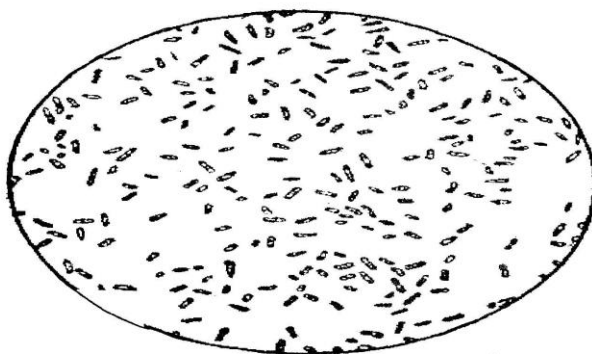
Shu bilan birga, u nitrifikatsiya jarayoni 2 fazadan iborat ekanligini va unda ikki xil bakteriya ishtirok etishini isbotlab bergan. Nitrifikatsiyaning birinchi fazasida ammiak va ammoniy tuzlari nitrit kislotagacha oksidlanadi. Bu reaksiya quydagicha boradi:



Reaksiya oxirida nitrit kislota hosil bo`lguncha bir qancha oraliq reaksiyalar boradi. Bu reaksiyalarni quydagicha ifodalash mumkin.



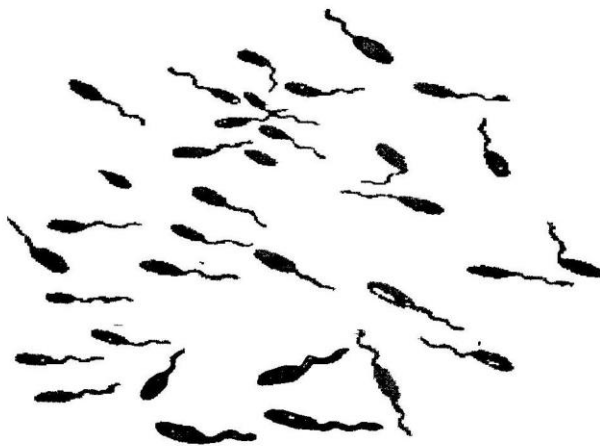
Nitrifikatsiya jarayonining birinchi fazasini oval shakldagi nitrozomonas (Nitrosomonas) bakteriyasi ko`zg`atadi. Bu bakteriya harakatchan, xivchini tanasiga nisbattan 30 baravar uzun bo`ladi. Nitrozomonas hujayrasining yirik-maydaligiga qarab a,b,s tur xillari uchraydi(11-rasm).



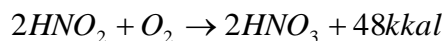
6-рaсм . Achromobacter Stutzeri.  
Қалта таёқчалари (1500 марта  
кaтталаштириб кўрсатилган)



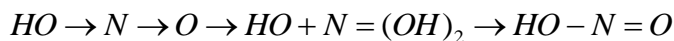
Nitrifikatsiyaning ikkinchi fazasida nitrit kislota nitrat kislota gacha oksidlanadi. Bu fazada uchburchak shaklda mayda tayoqchasimon nitrobakter (Nitrobacter) ishtirok etadi (12-rasm). Reaktsiyani quyidagicha ifodalash mumkin.



7- rasm. Pseudomonas putida (1000 marta kattalashtirib kўrsatilgan)



Nitrit kislota ning nitrat kislota gacha oksidlanishi vaqtida oraliq mahsulot sifatida nitrit kislota ning gidrati hosil bo`lib, oxirida u nitrit kislota ga aylanadi. Bu reaktsiya quyidagicha ifodalanadi:



Нитрит кислота

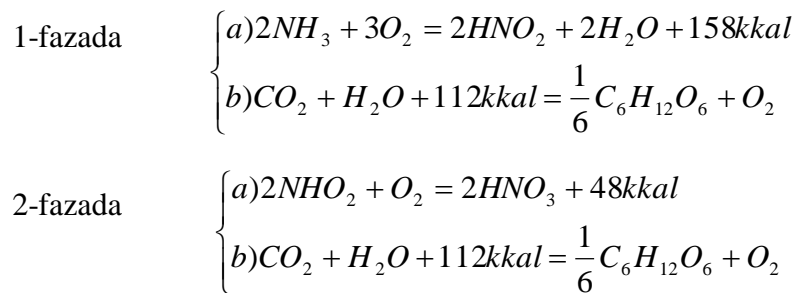
нитрит кислотанинг  
гидрати

нитрат кислота

Nitrifikatsiya jarayonida energiya ajralib chiqadi. Bu energiya xisobiga bakteriyalar karbonat angidrit o`zlashtirib, o`z tanasini tuzish uchun zarur bo`lgan organik moddalarni (jumladan, uglevodlarni) tayyorlaydi. Demak, bu bakteriyalar ham, yashil o`simliklar singari, oziqlanish jarayonida karbonat angidritni o`zlashtiradi.

YAshil o`simliklar karbanat angidrid o`zlashtirishida quyosh (yorug`lik) energiyasidan foydalanib, o`zi organik moddalar sintezlaydi. Bu jarayon fotosintez deb ataladi.

Nitrobakteriyalar karbonat angidritni o`zlashtirib, organik moddalar hosil qilishida ximiyaviy reaksiyalar vaqtida ajralib chiqadigan energiyadan foydalanadi. Shunga ko`ra, bu jarayon xemosintez deb ataladi. Bu reaksiya quyidagicha boradi:



Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar ku`lturalari ammiak yoki nitrit kislotaning oksidlanishi bilan bir qatorda karbanat angidrid qaytarilib ham boradi. Ajralib chiqadigan energiyaning taxminan 7% ana shu bir vaqtda boradigan reaksiyaga sarf bo`ladi. Shuning uchun oksidlangan azot qaytarilgan uglerodlarning o`zaro nisbati protsessining ikkiinchi fazasida 135:1 ga to`g`ri keladi.

Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar organik moddalarga salbiy munosabatga bo`ladi, bu moddalar boshqa bakteriyalarning ko`pchiligi uchun katta oziqlik ahamiyatiga ega bo`lsa, ularning sekinlashtiruvchi ta`siri shu qadar keskin seziladi.

Mineral eritmaga juda kam konsentratsiyaga (0,025%) pepton yoki glyukoza qo`shilganda ham, bu bakteriyalarning rivojlanishi susayadi, o`sha moddalar birmuncha ko`proq konsentratsiya da (0,2%) qo`shilganda esa ular rivojlanishdan tamomila to`xtaydi.

Organik birikmalarning tormozlovchi ta`siri hujayraning o`sishi va nafas olishida bir xilda aks etmaydi. Hujayraning o`sishi glyukoza konsentratsiyasi 0,001 mol bo`lgandayoq, 0,01 molga etganda, tamomila

to`xtab qoladigan bo`lsa, bakteriya hali butunlay normal nafas olishda davom etadi. 0,06 mol (1,08% ga teng) kontsentratsiyagina nafas olish energiyasini 40% kamaytiradi. Amido birikmalarga kelganda, natija boshqacha bo`lib chiqadi. Meneral oziq muhitiga mochevina qo`shish hujayraning o`shigagina emas, balki nafas olishini ham sekinlashtirib qo`yadi. 0,02 molga teng kontsentratsiyada nafas olish 27% 0,1 mol kontsentratsiyada esa hatto 77% susayadi.

Asparagin ham xuddi shunday narijani beradi. eritmada shu moddadan 0,005 mol bo`lganda, nafas olish 34% 0,01 mol bo`lganda esa 70% susayadi.

Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning organik moddalarga salbiy munosabatda bo`lishining sababi birinchi qarashda noma`lumdek ko`rinadi. Biroq nafas olish aktlarida bu bakteriyalar mineral birikmalarni ( $NH_3$  va  $HNO_2$ ) oksidlashga moslashganligi va aftidan, organik moddalarni oksidlashga kam layoqatlanganligi nazarga olinadigan bo`lsa, boyagi noaniqlik osongina barxam topadi.

Organik moddalar esa oksidlanmasdan turib, tirik protoplazmamaning tarkibiy qismlariga aylana olmaydi va protoplazmaning normal ishiga qo`sqinlik qiladi, xolos. Bularning hammasi nitrifikatorlarning juda ham moslashganligidan dalolat beradi.

E.N.Mishustin saprofit bakteriyalar rivojlanganda va oldin ammiakka aylanadigan organik azot birikmalari xisobiga ba`zi hollarda biroz miqdorda nitratlar hosil bo`lishini topdi.

Ammiakning nitrit kislotagacha oksidlanishi jarayoni bu bakteriyalar uchun, aftidan, energiya beruvchi manbaa sifatida ahamiyatga ega bo`lmaydi va karbonat kislotadan uglerodni o`zlashtirishda undan foydalanilmaydi.

Keyingi vaqtlarda ba`zi tadqiqotchilar muxitda xiylagina kontsentratsiyada organik moddalar bo`lganda ham rivojlanib, ammiak

yoki nitrit kislotani oksidlay oladigan nitrifikatorlarni topganliklarini ma'lum qiladilar. Bu hildagilar kuzatishlar hozirgi paytda ancha ko'payib qoldi va ular nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning spetifik xossalarini birmuncha cheklaydigandek bo'lib tuyuldi.

Biroq ana shu ma'lumotlarning hammasi yana aniqlik kiritilishini talab qiladi, chunki, boyagi bakteriyalarning sof ku'lturalarini ancha qiyin. Tadqiqotchining qo'lida Nitrosomonasning ancha toza kul'turalari bo'lar ekan, azotli organik birikmalarning nitrit toki nitrat kislotagacha oksidlanishini kuzatish bilan bir qatorda, muxitga oz miqdorda organik moddalar (uglevodlar, organik kislotalar) qo'shilganda, nitrifikatsiya jarayoning ro'y-rost susayib qolishini ham osongina aniqlash mumkin (O.Ulyanova.1945)

Biroq nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning organik moddalarga nisbatan g'oyatda sezgir bo'lishi faqat suyuq kul'turalar uchun xarakterlidir. Bu bakteriyalar tuproqda rivojlanganda bunday xodisa kuzatilmaydi.

Ko'pchilik xollarda organik modda nitrifikatsiya jarayoninisusaytirish u yoqda tursin, balki sezilarli darajada kuchaytiradi ham. Bu xodisaning sababi shuki, nitrifikatsiya jarayoni faqat suvda eriydigan va nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning hujayrasiga o'ta oladigan organik moddaga bog'liq.

Bu xildagi maddalar tuproqda hech qachon ko'p miqdorda bo'lmaydi. Bundan tashqari tuproqda nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar bilan bir qatorda, organik moddalarni iste'mol qiladigan va shu tariqa yuqoridagi bakteriyalarning rivojlanishi uchun qulay sharoit tug'diradigan ko'pgina boshqa bakteriyalar ham rivojlanadi. Biroq bu masalaning hammasi yana birmuncha batafsil tekshirishlar o'tkazishni talab qiladi.

Nitratlar-tuproqqa bo`ladigan azotli organik moddalarning minerallar aylanishiga hosil bo`ladigan oxirgi mahsulotdir. SHuning uchun tamomila tabiiyki, qaysi tuproqda chirindi moddalar zo`r berib oksidlanadigan bo`lsa yoki go`ng bilan birga tuproqqa tushgan, yo bo`lmasa, ekin ekilgandan keyin tuproqda qolib ketgan organik qoldiqlar sgidatli ravishda minerallarga aylanadigan bo`lsa, o`sha tuproqlarda nitratlar eng ko`p to`planadi.

Biroq bu jarayonning oldin ammiak oksidlanib nitrat kislotaga aylanish proessining tezligini shu sharoit belgilab beradi. Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar suyuq kul'tura rivojlanganda, organik moddalarga juda sezgir bo`lishiga qaramasdan, tuproqdagi shu organik moddalar nitrifikasiya jarayonini tormozlamay, balki kuchaytirish ham mumkin ekanligini eng oldin ko`rsatib o`tish kerak.

Buning sababi shuki, birinchidan nitrifikasiya jarayoni faqat suvda eriydigan organik moddaga bog`liq, bu modda esa tuproqda deyarli hech qachon ko`p miqdorda bo`lmaydi; ikkinchidan, tuproqda nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar bilan bir qatorda organik moddalar iste'mol qiladigan va shu tariqa erning ayrim qismlarini organik moddalarning xiylagina dozasidan tozalaydigan juda ko`p boshqa bakteriyalar bor; uchinchidan, nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning o`sishi va oksidlash aktivligi organik modda ta`sirida bir xilda susaymaydi.

Bundan tashqari, ammiak tirik nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar ta`siridagi oksidlanmasdan, balki o`sha bakteriyalar atrofdagi muhitga ajratib, chiqaradigan oksidlovchi fermentlar ta`sirida ham oksidlana olish ehtimoldan holi emas. A.Imshenetskiy va hamkorlarining o`sha bakteriyalar hujayrasi pereparatlari ustida olib borgan teksirishlari tufayli bu taxminni haqiqatga yaqin, deb o`ylash mumkin bo`lib qoldi.

Tashlandi suvlarni biologik yo`l bilan tozalashda ishlatiladigan “aktiv balchiq” ning ta’siri ustidagi kuzatishlar ham shuni taxmin ekanligini ko`rsatadi. Ammiak aktiv balchiq bilan doim bir xil tezlikda oksidlanib boradi va uning shu tariqa oksidlanishi dastlabki kontsentratsiyasiga bog`liq bo`lmaydi.

Bu ham nitrifikatsiya jarayonida oksidlovchi fermentlarning ishtirok etishi mumkinligini ko`rsatadi. Biroq aktiv balchiqda bir talay nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning bo`shi (ular ko`pincha 1 ml da bir necha milliardgacha yetadi) har holda oksidlovchi fermentlarning kam aktivligidan dalolad beradi.

Shuning uchun tuproq muhitida ham birlamchi nitrifikatsiya tirik nitrifikatsiyalovchi bakteriyalar ajratadigan oksidlovchi fermentlar emas, balkiy asosan shu bakteriyalarning o`zi tufayli amalgam oshadi, deb hisoblash kerak.

Nitrifikatsiyaning ikkinchi fazasiga, organik moddadan tashqari, ammiak kontsentratsiyasi ham katta ta’sir ko`rsatadi, ammiakning tormozlovchi ta’sirini Vinogradskiylar aniqlagan.

Tuproqda ammiak adsorbilangan holatda bo`ladi va susaytiruvchita’sir ko`rsata olmaydi. Shuning uchun Nitrobacter hosil bo`ladigan nitrit kislotani tezda oksidlab, nitrat kislayaga aylantiradi.

Tuproq reaksiyasi ham nitrifikatsiya prasessiga katta ta’sir ko`rsatadi. Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning har xil turlari o`z hayot faoliyatini turlicha  $pH$  da yuzaga chiqaradi va shunga yarasha xilma-xil tipdagi tuproqlarda uchraydi.

Nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning rivojlanishi uchun eng qulay  $pH$  doirasi har qalay 6.2 bilan 9,2 orasida bo`ladi. Ekin bu bakteriyalarning xar xil turlari  $pH$  biror tomonga qarab o`zgartirilgandaham turli darajada aktivlik ko`rsatadi. Kislota muhitli

plastinkalarda ( $pH=6$  bo`lganda) bu bakteriyalar deyarli rivojlanmaydi. Tabiiy sharoitda nitrifikatsiya kislotali tuproqlarning birmuncha neytral reaktsiyali mikrozonalaridagina amalga oshishi ehtimolga juda yaqin.

Nitrifikatsiyaga uchraydigan materialning ximiyaviy tarkibi ham nitrifikatsiya jarayoniga kuchli ta'sir ko`rsatadi. Tuproq tarkibida azot bo`lgan organik birikmalar amonifikatsiyasi nechog`li tez borsa, ammiakning keyin oksidlanib nitrate kislotaga aylanishi ham shu shu qadar shiddat bilan boradi.

Tuproq eritmasida erkin holatda bo`ladigan ammiak bilan birqatorda tuproq seolitlariga yutilgan ammiak ham nitrifikatsiyaga uchraydi. Suvda eriydigan ammiak juda kam, yutilgan ammiak esa ko`p miqdorda bo`ladigan hollarda, tuproqqa yutilgan ammiak ayniqsa tez oksidlanadi.

Har xil turdagi nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning fiziologik xususiyatlari va tashqi muhitning turli faktorlariga munosabati va shu bakteriyalarning tarqalishining ham tuproqdagi azot rejimi belgilab berishi kerak, deb hisoblashga imkon beradi. S.N.Vinogradskiy malumotlariga ko`ra Nitrosomonasning eng aktiv gruppachalari azotga, xususan ammiakli tuzlarga boy tuproqlarda (haydaladigan yerlarda, aktivbalchiq va hokazolarda) keng tarqalgan. Azot kam bo`ladigan tuproqlarda, masalan quruq erlarda esa Nitrosospira uchraydi.

Ammiakni oksidlanib, nitrit kislotaga, keyin esa nitrit kislotaga aylanishi molekular kislorod ishtirokida borganidan, muhit aeratsiyasi muhim ahamiyatga ega, lekin oksidlanish tezligi kislorodning partial bosimiga bog`liq bo`lmaydi ham. Kislorod konsentatsiyasi har xil bo`lganida, har bir kilogramm tuproqda hosil bo`ladigan nitrat kislotasi farqi arziyas darajada bo`lishidek qadimdan ma'lum faqat shunga bog`liq.

Tuproq havosida 6% kislorod bo`lganida, 1 kg tuproqda ma'lum vaqt oralig`ida 199 kg nitrat kislotasi paydo bo`ladi. Nitrifikatsiyaning tuproq

yuza qatlami bilan cheklanib qolmasdan, ma'lum chuqurlikka ham tarqala olishining ham sababi shu.

O`simliklar bilan band bo`lgan erlarda tuproq aeratsiyasining ta`siri kuchliroq bo`ladi, chunki bunday erlarda kislorodni mikroorganizmi bilan emas, balki o`simliklarning ildiz sistemasi ham istemol qiladi. Shunday hollarda tuproqning fizik strukturasi, demak, uni ishlash usullari ham nitrifikatsiyaning aktivligi uchun juda muhim bo`lib qoladi.

Shuning uchun chirindi-karbonatli tuproqlarni hisobga olmaganda, chimlipodzal tuproqli zonalarda nitrifikatsiya aktivligi, xususan tabiiy sharoitda yerga ishlov berilmagan paytda juda kam bo`ladi.

Ishlanadigan erlarda esa mazkur jarayonning aktivligi odatda juda ortadi. Chimli-padzol tuproqlarning bu xususiyati oson ajralib chiqadigan azotning kamchiligini ham, nitrifikatsiya jarayonining shiddatiga ham ta`sir ko`rsatuvchi bir qancha boshqa sharoitga bog`liq.

Xususan nitrifikatorlar ko`pincha kislotali tuproqlarda topiladigan eruvchan alyuminiy tuzlariga nisbatan juda sezgir bo`ladi. Ishlangan erlarga ohak solinganda nitrifikatsiya aktivligi ayniqsa ortadi.

Qora tuproqli yerlarda nitrifikatsiya ustki qatlamlarida ham eng kuchli borada ham chuqurlik ortgan sari asta-sekin susayadi, lekin kuchli qora tuproqli erlarda nitrifikatsiya 50 sm va undan chuqurroq joyga etadi. Aftidan nitrifikatsiya materiali kamchil bo`lganligi uchungina bunday erlar tuprog`ida nitratlar to`planishi cheklanadi, Chunki nitrifikatlovchi bakteriyalar bunday tuproqlarda etarli miqdorda bo`ladi, shunga ko`ra ular tuproqda hosil bo`ladigan ammiakdan ancha ko`p ammiakni oksidlay olishi mumkin edi.

Shuning uchun bunday tuproqli yerlarda ammiak amonifikatsiyaning kuchayishida nitrifikatsiyaning kuchayishiga ham olib keladi.

Sho`rtop va sho`xhok yerlarning nitrifikatsiyasi aktivligi, bir qancha tekshirishlarga ko`ra, ancha past bo`ladi. Ularni ishlash milaratsiya va



nitrifikatsiya aktivligini ko`p darajada oshiradi. Sahro-dasht zonadagi tuproqlarda esa asosan nam yo`qligi tufayli nitrifikatsiya susayib qoladi.

Shuning uchun bunday tuproqli yerlar sug`orilganda tuproqdagi jarayonlar juda aktivlashib ketadi. Ularni ishlash va sug`orish mikrobiologik aktivlikni, jumladan nitrifikatsiya jarayonini ham ko`p darajada kuchaytiradi.

Tuproqni yumshatish nitrifikatsiya jarayoni shiddatiga kattagina ta`sir ko`rsatishini nitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning kislorodni ancha ko`p iste`mol qilishi bilan tushuntirish mumkin. Ko`pchilik hollarda, tuproq yumshatilgandan keyin unda nitratlar miqdori 5-10 baravar ko`payadi.

Tuproqni ishlab, uzoq vaqt yumshoq holda saqlanadigan qilish unda talay miqdorda nitrat kislota tuzlari to`planishini ta`minlab berishi ko`p yillik tekshirishlarda aniqlangan va amalda isbotlangan.

Namlik sharoiti (umumiy nam sig`imining 40-70%) tuproq reaksiyasi (neytral yoki kuchsiz ishqoriy reaksiyasi), temperature (25-35<sup>0</sup>C) sharoiti qulay bo`lganda, nitrifikatsiya jarayoni shu qadar shiddatli boradiki, tuproqdagi mineral azotning asosiy qismi nitratlar shaklida bo`ladi. Azot rejimi aktiv bo`ladigan tuproqlarda bir yilda hosil bo`ladigan nitratlar har 1 kg tuproqda 100 mg ga yoki nitrate kislotaga aylantirib hisoblanadigan bo`lsa, gektariga 0,3 tonnaga yetishi mumkin (Lebedentsev ma`lumotiga ko`ra) Shuncha miqdordagi nitrat kislota o`simliklarni azotli oziq bilan ta`minlabgina qolmasdan, balki qiyin eriydigan mineral tuzlarga (xususan  $CaPO_4$  larga) ham katta ta`sir ko`rsatadi va ularni ancha eriydigan holatga keltirib, ko`proq singadigan qilib qo`ydi.

Nitrifikatsiyaning shu xususiyati uni xo`jalikda juda qimmatli qilib qo`yadi, biroq ba`zi kamchiliklari ham bor. Bu kamchiliklar shunga bog`liqki, nitratlar yaxshi eriydigan bo`lganidan tuproqda siljiy boshlaydi

va ma`lum sharoitda tuproq suvlariga duch kelganda yuvilib ketishi mumkin.

Bundan tashqari, aeratsiya yetarli bo`lmasa, denitrifikatsiya-lovchi bakteriyalar ta`sirida ular yana qaytarilib, molekulyar azot hosil qilishi ham mumkin. Mana shu jarayonlarning hammasi tuproqda anchagina azotning yo`qolib ketishiga sabab bo`ladi, quyidagi jadval ma`lumotlaridan bunga ishonch hosil qilish mumkin.

Rotamsted tajriba stantsiyasida (Angiliyada) o`tkazilgan ko`p yillik tajriba materiallari keltirilgan(1-jadval).

Bu ma`lumotlar, tuproqdagi azotli moddalar nechog`li tez o`zgarsa, tuproqda azot shuncha ko`p yo`qolib ketishini ko`rsatib turibdi.

1-jadval

Denitrifikatsiya va nitratlarning yuvilib ketishi natijasida tuproqdan azot yo`qolishi

<b>Tuproqdagi azot</b>	<b>Azot ko`p va go`ng solingan (har yili 14 t. dan er)</b>	<b>Azotli kam va kam o`g`itlangan er</b>
Tajriba boshida tuproqdagi azot	4340	2720
50 yil ichida o`g`it bilan solinsa №...	10140	340
50 yildan keyin kutiladigan №...	14480	3060
50 yildan keyin tajriba oxirida topilgan azot...	5950	2590
Tuproqda yo`qolgan azot...	8530	470
50 yil ichida yo`qolgan azot...	6030	+280
50 yil ichida hosil bilan olingan azot...	2500	750
Har yil yo`qotiladigan azot	-123	+6

Bu nobudgarlik go`yo intgsiv ishlab chiqarishga sarflangandek bo`lib ko`rinadi, chunki bunday yerlarda qishloq xo`jaligi ekinlarining hosili ham bir necha baravar ortadi.

Ayni vaqtda o`simliklarning o`sinh sharoiti nechog`li qulay bo`lsa, azot shuncha kam nobud bo`lishini, lekin azot nobudgarchiligi, chamasi hech qachon barham topmasligini esda tutish mumkin. Shudgor yerlarda nitratlar kuzda ko`pincha yo`qolib ketadi. Buni rivojlanayotgan kuzgi ekinlar sarf qilib qo`yadi, deb tushuntirib bo`lmaydi.

Bunda biologik jarayonlar borayotgan bo`lishi ham mumkin, turli tadqiqotchilar buni ko`p marta aniqlaganlar. Bunday hollarda mineral azotning organik shaklga o`tishi, o`simliklar vegitatsiyasi davrida nitratlar yo`qolib ketsagina hosilga sezilarli zarar yetkazishi mumkin. Bordi-yu, shudgor erlarda tuproq mikroorganizmlari nitratlar azotni kuzda organik shaklga aylantirsa, bunda ularni yuvilib ketishdan saqlab qoladi xolos, mikroorganizmlar nobud bo`lgandan keyin, ularga yutilgan azot qaytadan minerallarga aylanadi va ekiladigan ekinlar uchun yana oziq bo`lib xizmatqila oladi.

Nitratlar har xil tuproqlarda bir xilda yuvilib ketmaydi. Masalan, azot zapaslari ko`p boladigan qora tuproqli yerlarni ishlash, nitrifikatsiyani juda kuchaytiradigan va o`simliklarni azotli oziq bilan, talaygina azot yo`qolishiga olib kela olmaydi, chunki tuproq kam namlangandan nitritlarning yuvilib ketishi juda qiyin bo`lib qoladi. Chirindi zapasi kam bo`ladigan va kuchli yog`ingarchiliklar natijasida oson yuvilib ketadigan podzol va yengil qum tuproqli yerlarda nitratlarning yuvilib ketish havfi ancha ko`p bo`ladi. Nitrifikatsiya kuchayganda azot nobudgarchiligini kamaytirish uchun yerga organik o`g`itlar solish kerak.

## **4 Bob. Denitrifikatsiya jarayoni va bunda ishtirok qiluvchi bakteriyalar**

Nitratlarning birmuncha qaytarilgan birikmalar (nitritlar, giponitrit kislota ammiak, tarkibida azot bo`lgan organik birikmalar va hokazolar) hosil bo`lishiga olib keladigan har qanday qaytarilishi jarayonlari, keng ma`noda, denitrifikatsiya deb ataladi. Tor ma`noda denitrifikatsiya deganda nitratlarning oxirgi mahsulot sifatida molekulyar azot hosil qiladigan qaytarilish jarayonlari tushuniladi. Mikrobiologik ma`noda denitrifikatsiya nitratlarning so`nggi tipga qaytarilishidan iborat. Bu tip, o`z navbatida, bevosita va bilvosita denitrifikatsiyaga bo`linadi, chunki nixoyatda xilma-xil jarayonlar natijasida nitratlardan molekulyar azot hosil bo`lishi mumkin. Bevosita denitrifikatsiyada nitratlar denitrifikatsiyalovchi alohida bakteriyalar gruppasining hayot faoliyati tufayli qaytarilsa, bilvosita denitrifikatsiyada faqat amino kislotalar bilan nitrit kislota o`zaro ta`sir etadi, buning natijasida ham molekulyar azot hosil bo`ladi.

### **4.1. Bevosita denitrifikatsiya jarayonlari va ularda ishtirok qiluvchi bakteriyalar**

Bevosita denitrifikatsiya tuproq, go`ng va suv havzalarida juda ko`p tarqalgan denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar hayot faoliyati tufayli sodir bo`ladi. Bu bakteriyalar asosan quyidagilardan iborat.

1. *Bact denitrificans* xivchinlilari peritrixial ravishda joylashgan, spora hosil qilmaydigan mayday tayoqchalar. U fakul'tativ anaeroblar jumlasiga kiradi va nitritlarni molekulyar azotgacha qaytaradi. Boshqa bakteriyalar *Bact, coli* bilan birga rivojlanda nitratlarni ham molekulyar azotgacha qaytara oladi.

2. *Achromobacter Stutzeri* ham mayda (bo'yi  $0.3\ \mu$  va eni  $0,5\ \mu$ ) tayoqcha holida bo'lib, ko'pincha zanjir hosil qiladi (14-rasm). Gramm usulida bo'yalmaydi, agarli muhitlarda tipik koloniyalar vujudga keltiradi, sutni ivitadi va shakarni bishg'itib, gazlar hosil qiladi. Peptonli muhitlarda o'sganda, vodorod sul'fit hosil qiladi. Anaerob sharoitda nitratlarni qaytaradi.

3. *Pseudomonas fluorescens* hujayralari tayoqchasimon bo'ladigan bakteriyalardir. U harakatchan bo'ladi va atrofdagi muxitga ajralib chiqib, o'sha muhitni sarg'ish-yashil rangga bo'yaydigan yashil pigment hosil qiladi. Gramm usulida bo'yalmaydi va faqat temperatura past bo'lganda yoki muhitda fosfatlar etishmaganda pigmentlarni yashil chiqaradi. Nitratlarni juda tez qaytarib, molekulyar azot hosil qiladi.

4. *Pseudomonas pyocyaned* yuqoridagi formadagiga juda yaqin turadi, nitratlar bilan nitritlarni molekulyar azotgacha qaytaradi. Ko'k tusli pigmentlar hosil qiladi va muhitni ko'k-yashil rangga bo'yaydi...

Bu bakteriyalarning hammasi tuproqqa juda keng tarqalgan, biroq boshqa tabiiy substratlarda, masalan go'ngda, turli suv havzalarida, o'simliklarning yuzasiva ildizlarida ham uchrashi mumkin. Ularning ko'pchiligi faqat nitratlarni nitritlar bilan ammiakgacha qaytaribgina qolmasdan, balki ularni molekulyar azotgacha qaytaradi. Ular uglerod manbai sifatida, uglevodlar, turli organik kislotalarning tuzlari va ba'zi spirtlardan yaxshi foydalanadi.

Denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar ishqoriy muhitda eng yaxshi rivojlanadi. Ular hujayrasining protoplazmasida nafas olish fermentlarining to'la sistemasi va bundan tashqari, nitratlar kislorodini aktivlashtiruvchi fermentlar bor.

Ular anaerob sharoitda rivojlanganda, nitratlar kislorodidan vodorod aktseptori sifatida foydalanadi. Shuning uchun ham bu bakteriyalarning kul'turalarida, qaytarilgan nitratlar miqdori o'rtasida qonuniy nisbat

bo`ladi. M.Korsakova ma`lumotlariga ko`ra, oksidlangan har 100 mg glyukoza hisobiga 300 mg ga yaqin kaliy nitrat qaytariladi. Nitratlar asta-sekin qaytarilib bogani tufayli muhitda qisman qaytarilish mahsulotlari to`planadi(2-jadval).

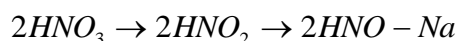
2-jadval

### Oksidlangan nitratlarning atmosferaga qaytarilishi

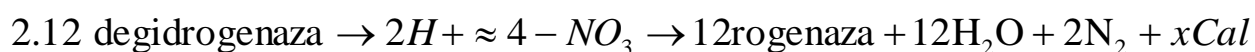
Tajriba tartib nomeri	Tajriba ning davom etish muddati	Eritma <i>pH</i>	Nitritlar azoti (mg xisobiga)	Nitratlar azoti (mg xisobiga)	Molekulyar azot (mg xisobiga)	Xisobga olingan jami azot (mg xisobiga)
1	-	7.2	132	0.1	0.0	13.3
2	24	7.4	10.5	1.7	0.0	12.2
3	28	7.4	8.5	2.5	0.0	11.8
4	32	7.4	6.8	3.3	0.0	71.8
5	36	7.4	0.0	5.0	0.0	7.8
6	48	7.8	0.0	6.6	1.2	3.1
7	56	8.6	0.0	0.7	2.4	
8	72	8.6	0.0	0.0	1.5	11.5

Denitrifikatsiya jarayonida nitratlar qaytqirilishining organink mahsulotlari yuzaga kelishi jadvaldan ko`rinib turibdi, bu mahsulotlar substratda xiyla miqdorda to`planadi. Oldin nitrit kislota, so`ngra

giponitrit kislota va pirovard natija molekulyar azot hosil bo`ladi. Bu jarayonning ketma-ket borishini quyidagi sxema bilan ifodalash mumkin.



Biroq bu ketma-ketlik nitratlar qaytarilishining bevosita mexanizmini yoritib bermaydi. Juda ko`p ma`lumotlarga asoslanib, bu jarayon oksidlanayotgan substratdan vodorodning chiqib ketish va keyin quyidagi tenglamaga muvofiq, uning nitrat kislorodi bilan birikishiga bog`liq, deb taxmin qilish kerak:



Bu oksidlanish jarayoni davomida denitrifikatsiyalovchi bakteriyalarning anaerob sharoitdagi butun hayot faoliyati uchun oson bo`lib xizmat qiladi. Nitratlarning shu bakteriya ta`sirida qaytarilishini quyidagi umumiy tenglama bilan ifodalash mumkin:



Bu jarayon davomida ajralib chiqadigan talay miqdordagi energiya Thiob denitrificans karbonat kislotadan uglerodni tipik avtotroflar jumlasiga kiritishga asos bo`ladi, bu bakteriyaning tuproq va suv xavzalarida keng tarqalganligi tabiatdagi xususan suv muhitidagi denitrifikatsiya jarayonlarida uning ishtirok etishini ko`rsatadi.

Nitratlarning molekulyar azotgacha qaytarilishi anaerob sharoitda ayniqsa oson amalga oshadi. Shuning uchun aerasiya yomon va nam ko`p yo`qolib ketadi. Tuproq to`la nam sig`imigacha to`yinganda denitrifikatsiya doim sezilarli darajada kuchayadi. Aerasiyadan tashqari, tuproq reaksiyasi ham denitrifikatsiyaga katta ta`sir ko`rsatadi. Zaxarovaning tekshirishlariga ko`ra, masalan  $pH = 7 - 8.2$  bo`lganda Achromob Stutleri nitratlarni eng tez qaytaradi  $pH = 6.1$  dan ortiq

bo'lgandagi kislotali reaksiyalar denitrifikatsiyani esa bu jarayonni kuchaytirsada, ammo ma'lum chegaragacha kuchaytiradi.  $pH = 8.2$  bo'lganda esa tamomila to'xtaydi.

Denitrifikatsiya jarayoni uchun nitratlardan tashqari, azotsiz organik moddalar ham zarur ekanligi yuqorida keltirilgan misollardan ko'rinib turibdi. Ko'p tadqiqotchilar shunga asoslanib, kam chirigan organik qoldiqlar erga solinganda kuchli kuchli denitrifikatsiya jarayoni kuzatiladi, deb taxmin qilganlar.

Biroq bunday fikr etarli darajada asoslangan, deb bo'lmaydi. Erga shunday qoldiqlar solinganda, nitratlar haqiqatdan ham yo'qolib ketadi, lekin ulardagi azot molekulyar shaklga o'tmasdan, mikroorganizmlar tomonidan hujayra moddasi sintezi uchun ishlatiladi va faqat vaqtincha o'simliklar foydalana bo'lib qoladi.

O'simliklar o'zlashtira oladigan organik birikmalarning denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar uchun qanday ahamiyatga ega ekanligi qora tuproqli erlar misolida oson aniqlanadi.

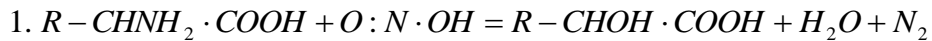
Tuproq organik moddalarga boy hamda denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar keng tarqalgan bo'lishiga qaramasdan bunday erlarda, odatda nitratlar ko'p to'planadi. Bunday axvolning sababi shuki, qora tuproqli yerlardagi organik moddalarning asosiy qismi tuproq chirindisidan iborat bo'ladi, bu chirindini denitrifikatsiyalovchi bakteriyalar energiya beruvchi modda o'rnida ishlata olmaydi.

#### **4.2. Bilvosita denitrifikatsiya jarayonlari va ularda ishtirok qiluvchi bakteriyalar**

Bilvosita denitrifikatsiya natijasida ham tuproqdan azot yo'qolishi mumkin. Bu holda nitrit kislota bilan aminli yoki amidli birikmalar



o`rtasida sof ximiyaviy reaksiya sodir bo`ladi. Bu reaksiya quyidagi tenglamalar bilan ifodalanadi.



Mikroorganizmlarning bu jarayondagi roli, haqiqatdan ham bilvosita bo`lib, nitritlak (ko`pincha nitratlardan) va aminli birikmalar (asosan oqsil moddalarni parchalab, aminokislotalar va amidokislotalar) hosil qiladigan xilma-xil bakteriyalarning juda ko`p turlari bilvosita denitrifikatsiyaga sabab bo`ladi. Ularning bir-biri bilan o`zaro ta`siri esa sof ximiyaviy yo`l bilan boradi va shu bakteriyalarning hayot faoliyati uchun hech qanday ahamiyati bo`lmaydi.

Tuproqdagi azotli moddalar o`zgarganda doim aminli birikmalar (ammiak ham bu reaksiyaga uchraydi, lekin bunda reaksiya ancha sekin boradi) va nitrit kislota hosil bo`lganidan, bilvosita denitrifikatsiya talaygina azotning yo`qolishiga sabab bo`lganidek ko`rinar edi. Biroq, aslida bunday emas.

Bu-reaktsiyaning kislotali sharoitda borishi tenglamasidan ham ko`rinib turibdi; modomiki shunday ekan, kamdan-kam holda kislotali reaksiyaga ega bo`ladigan o`zlashtirilgan yerlarda bilvosita denitrifikatsiya uncha avj ololmaydi.

Bakteriyalarning laboratoriya sharoitida o`sishi Bakteriyalar laboratoriya sharoitida sun`iy oziq muhitlarida o`stiriladi. Bakteriyalar o`sishi va ko`payishi uchun temperatura muhim ahamiyatga ega. Barcha mikroorganizmlar temperaturaga ko`ra uch guruhga bulinadi. Psixrofil-sovuq sevuvchilar (0-20°S), mezofil (o`rtacha haroratda yashovchilar 20-48°S), termofil (issiq sevuvchilar 45-70°S).

Bakteriyalar 0 dan 90°S bo`lgan haroratda ko`payishi mumkin. Kungi na patogen mikroblar 3 7 S li oziq muhitlarida 1-2 kun ichida

kupayadi. Ayrim bakteriyalar (masalan, sil mikrob bakteriyasi) esa 3-4 xaftada o`sadi.

Bakteriyalarning hayot faoliyatida oziq muhiti pH muhim ahamiyatga ega. Mikroorganizmlarning har bir turi evolyutsiya jarayonida Ph ning ma`lum chegarasida o`shishga moslashgan. Ph fermentlarniig faolligiga ta`sir etadi.

Saprophytlar pH<sub>2</sub> Dan 8,5 gacha, patogen bakteriyalarning turlari pH 6-8 bulgan sharoitda yaxshi usadi. Oziq muhitlar oson o`zlashtiradigan muayyan azot hamda uglevod, vitaminlar, kerakli kontsentratsiyada tuzlar izatonik, steril, buferlik xususiyatiga ega bo`lishi zarur. Ozik muxitlarda mo``tadil yopishkoklik va ma`lum darajada oksidlanish-qaytarilish imkoniyati bo`lishi lozim. Kontsentratsiyasi yuqori tuzlarda yashovchi mikroorganizmlar galofillar, deb ataladi. Bularda odamlarga nisbatan patogen turlaridan Vibrio parahaemolyticus kiradi.

Mikrobiologiya tarixida oziq muhitlar asta-sekin takomillashtirilib boriladi. Pastergacha bo`lgan davrda mikroorganizmlarni o`shishi uchun damlanmalar ishlatilgan. Lui Paster va K.Negalli mikroorganizmlarni o`stirish uchun oqsilsiz muhitni tavsiya etgan.

R.Kox va F.Lefflar mikroblarni o`stirish uchun go`sht seli, pepton, natriy xloridlardan foydalansak. Bu muhit go`shtli peptonli bul'on (GPB), bunga 1 %li agar qo`shib go`sht peptonli agar (GPL) tayyorlanadi.

Agar (jele) qattiq, tolali material bo`lib, ayrim suvo`tlaridan olinadi, suvda eritilganda qattiq gel' hosil qiladi. U 70-75% polisaxarid, 2-3% oqsil va boshqa azotli moddalardan, 2- 4% qo`ldan iborat. Agar tarkibidagi yuqori molekulali modda-agoroza va agar pepton asosiy komponent hisoblanadi.

Agar qizdirilganda suvda yaxshi eriydi, uy haroratida qotadi. U asosan rangsiz kukun (poroshok) sifatida qaraladi. Agar oziq mahsulotlarning qotirish bilan birga mikroorganizmlar fermentlari

ta`siriga chidamlilik xususiyatiga ega. SHu sababli u yarim suyuq qattiq va quruq oziq muhitlarni tayyorlashda keng qo`llaniladi. Hozir tabiiy agar etishmaganligi uchun qattiq oziq muhitlarni tayyorlash maqsadida sun`iy polimerdan tayyorlangan material ishlab chikilgan.

Oziq muhitlar asosan 4 ta, ya`ni universal, maxsus tanlangan (elektiv) va differentsial diagnostik muhitga bo`linadi.

I.Universal muxitlar (GPM) (GPA) tarkibida zarur ozik moddalar bor. Shuning uchun patogen va nopatogen bakterialarning kuintinatlari yaxshi usadi.

II. Maxsus muhitlardan universal muhitda o`smagan bakterialarni o`stirishda foydalaniladi. Ularga qonli agar, zardobli agar, zardobli bul`on va boshqalar kiradi.

III.Tanlangan elektiv muhitlar. Bularda bakteriyalarning ma`lum turlari usadi. masalan, ishqoriy-peptonli agar vabo vibrionlariga elektiv muhit hisoblanadi.

#### IV.Differentsialdiagnostik muhitlar

a)mikroorganizmlarning proteologik xususiyatlari aniqlashda ishlatiladigan muhitlar (go`shtli-peptonli jelatinli (GPJ) va b.q);

b) uglevodlarning parchalanish xususiyatlarini aniqlaganda foydalaniladigan muhitlar (Giss, Ol`keniykiy muhiti va b.q); bakteriyalarning laktozalarni parchalashi va parchalamasligiga ko`ra farq qiladigan muhitlar (Endo, Levin, Ploskirov muhitlari b.q):

v) bakteriyalarning gemologik xususiyatini aniqlashda ishlatiladigan muhitlar (qonli agar). Hozir oziq muhitlar fabrikalarda asosan kukun (poroshok) holida ishlab chiqariladi. Bunday muhitlarni har xil sharoitda uzoq saqlash mumkin. Ular o`z xususiyatlarini deyarli o`zgartirmaydi, ishlatish uchun yaroqliligicha qolaveradi.

Bakteriyalarni o`stirishda oqsilsiz oziq muhitlar ham keng qo`llaniladi. Bularda organotrof va patogen bakteriyalar yaxshi o`sadi. Bu

muhitlar tarkibi murakkab bo`lib, ko`p komponentlardan tashkil topgan. Protrof bakteriyalarni auksotroflardan ajratish uchun selektiv muhitlardan foydalaniladi. Prototroflar tarkibida faqat tuz va uglevod bulgan (och) muhitlarda o`sadi. Ular o`zlariga zarur metabolitlarni sintez qila oladi.

Auksotroflar zsa bunday muhitlarda o`smaydi, shu sababli muhitga aminokislota, vitamin va boshqa zarur moddalar kushiladi. Oziq muhitlar qattiq (GPA, GPJ, ivitilgan zardob, (pishirilgan tuxum oqi), yarim suyuq (GPA) va suyuq (peptonli suv, GPB, qandli bul'on va boshqalar) bo`ladi.

Qattiq oziq muhitlarda bakteriyalar turli shakl va kattaligida koloniyalar hosil qiladi. Koloniyalar bir turdagi miroorganizmlarning to`plami bo`lib, bitta yoki bir nechta bakteriya hujayrasining ko`payishidan hosil bo`ladi. Ular yassi, bo`rtgan, gumbazsimon, botiq, yaltiroq chetlari tekis (S-simon) va aksincha g`adir-budur, chetlari notekis, xira (R-simon) duxobaga o`xshash, dumaloq yulduzsimon, rozetka shaklida bo`ladi.

Koloniyalar hajmi yirik (4-5 mm), o`rtacha (2-4 mm), mayda (1-2 mm) va juda ham mayda (I mm dan kichik) bo`ladi. Ular qattiq va yumshoqligi, zichligi, rangi bilan farq qilib, yaltiroq va xira, bo`yalgan, rangsiz, nam, quruq va shilliqsimon bo`lishi mumkin. Suyuq oziq muhitlarda bakteriyalar qo`yka, parda cho`kmalar hosil qilib ko`payadi.

Laboratoriyalarda bakteriyalar proverka, Petri kosachasi va flakonlarda ko`paytiriladi. Oziq mahsulot ishlab chiqaradigan institutlar laboratoriyalarida miroorganizmlar ko`p hajmda oziq muhitlar qo`yilgan reaktorlarda o`stiriladi. Bu usul ko`p miqdorda bakteriya massasini olish va oziq muhitidan unumli foydalanish imkonini beradi. Oziq muhitga havo yuborilib doimiy ravishda aeratsiya qilinadi, natijada bakteriyaning o`sishi va ko`payishi tezlashadi.

Anaerob bakteriyalar laboratoriya sharoitida turg`un yoki ko`tarib yuradigan anaerostatlarda havosini surib olib ko`paytiriladi va ularni

vakuum-eksikatorlarda ham o`stirish mumkin. Anaeroblarni o`stirish uchun kislorod atmosfera azotli yoki boshqa inert gaz bilan almashtiriladi. Anaeroblar asosan Qitta - Tarotstsi va Vil'son Bler muhitlarida o`stiriladi.

Patogen speiroxetlar tarkibida maxsus oqsil bo`lgan muhitlarda (zardob, qon), a`zo va to`qimalar kesmasida (quyon buyragi, tovuqning miya to`qimasi), ma`lum aminokislotalar to`plamida tuzilgan sintetik oziq muhitlarda ko`paytiriladi.

Ko`payish bakteriyalar sonining ma`lum hajmda ortib ketishi, o`sishi esa hujayra materiallarining sintez qilinishi natijasida bakteriya massasining kattalashishidir. Turli sifatdagi mikroblar har xil usul bilan ko`payadi. Masalan, bakteriyalar oddiy bo`linish yo`li bilan ko`payadi, buni vegetativ ko`payish, deb ham ataladi. Bakteriyalarniig bo`linishi turli tekislikda va har xil ko`rinishda (masalan, uzum gujumi, zanjir, juft-juft, tok alohida va boshqalar) sodir bo`lishi mumkin. Ular kurtaklanib, bo`g`inchalaridan ipchalar uzilib va spora hosil qilib (masalan aktinomitsetlar) ko`payadi.

Bakteriyalarniig ikkiga bo`linib ko`payish jarayonida DNK ham ikkiga bo`linadi. Bunda vodorod bog`lovchisi uziladi va DNKniig ikkita ipi sintez qilinadi. Keyinchalik bir ipli DNK vodorod bog`i bilan birikadi va qaytadan ikki ipli DNK hosil bo`ladi. Bu o`z navbatida bakteriyaning irsiy axborotlarini saqlaydi. Yangi hosil bo`lgan ikki ipli DNKdan bir ipi eski, ikkinchisi esa yangiligi komplementar ip hisoblanadi.

DNK replikatsiyasining tezligi oziq muhitni 1 g haroratiga bog`liq. Masalan, T.coli DNK simning replikatsiyasi 37°S oddiy muhitda 40 minutda sodir bo`lsa, maxsus muhitda 20 minutda hujayra ikkiga bo`linadi.

Bakteriya uch xil bo`ladi. Hujayraniig bo`linishi uning ajralishidan tez bo`ladi, hujayralar sinxron bo`linadi, bunda nukleotidning bo`linishi

va ajralishi natijasida bir hujayrali organizm hosil bo`ladi. Nukleoidning bo`linishi hujayraning bo`linishidan oldin bo`lib, ko`p nukleoidli bakteriyalar hosil qiladi.

Bakteriya yuzasining tarangligini kamaytiruvchi moddalar (sovun, o`t kislotalarining tuzlari), glyukoza, sazzaroza, ayrim aminokislotalar, penitsellin va boshqa moddalar ta`sirida bakteriyalar o`sadi, ammo bo`linish to`xtaydi, natijada uzun ipchalar hosil bo`ladi.

Papulyatsiyada bakteriyaning ko`payish tezligi har xil. U bakteriyaning-turi, kul`turaning yoshi, oziq muhit, harorat, SO<sub>2</sub> konsentratsiyasi va ko`pgina boshqa omillarga bog`liq.

Generatsiya vaqti ham turli mikroblarda turlicha. Masalan, Clostridium perfringens Str iactis larda u 15 minut, lekin sutemizuvchilar hujayra kul`turalarining hujayrasi bir sutkada ikkiga ko`payadi, ya`ni generatsiya vaqti uzun. Binobarin, bakteriyalar hujayra kul`turasi 100 marta tez ko`payadi.

Hujayraning soni quyidagicha ko`payadi: 1-2-4-8-16-32-N-hujayra soni, 0-1 -2-3-4-5-p-generatsiya soni.

Bakteriyaning umumiy soni. (N) (p) generatsiyadan so`ng har bir ekilgan materialga  $2^n$  ni tashkil qiladi. Agar suyuq muhitga dastlab bir dona bakteriya ekilgan bo`lsa va u 30 minutda ikkiga bo`linsa, u holda bir sutkada bakteriyaning umumiy soni  $N \cdot 2^{48}$  bo`ladi. Lekin tabiiy sharoitda bunday holat sodir bo`lmaydi, chunki sun`iy sharoitda turli omillar ta`sirida bakteriyalarning ko`payishi juda sekin kechadi.

Bakteriyalarning ko`payishi muayyan qonuniyatlarga asoslanadi (bosqichma-bosqich, to`xtovsiz va sinxron). Ularni suyuq oziq muhitda o`stirilganda populyatsiyaning o`sishi va ko`payishi ma`lum qonunlar asosida sodir bo`ladi.

***Bosqichma-bosqich ko`payishnint asosiy 8 bosqichi rim raqami bilan belgilanadi.***

I. Boshlang`ich turg`un bosqich. Bu bosqichga bakteriyani ekan vaqtdan o`shigacha bo`lgan muddat kiradi (1-2 soat davom etadi), bunda bakteriyalar soni deyarli o`zgarmaydi, qisman ko`payishi mumkin.

II. Ko`payishning to`xtab turgan bosqichi. Bu bosqichda kattalashish (o`shish) tezligi oshadi, lekin ko`payish tezligi past bo`ladi. I va II bosqichlar lag faza, deb ataladi va bosqich ikki soat davom etadi.

III. Ekspanentsial (logarifmik) bosqich. Bunda bakteriya hujayrasining soni logarifmik ravishda oshib boradi. Hujayralar juda yuqori tezlikda, geometrik progress tarzida bo`linadi. Bu bosqichda bakteriyalar biokimyoviy va biologik jihatdan fayl buladi va 5- 6 soat davom etadi.

IV. Bakteriyalar ko`payishining sekinlashish bosqichi. Bunda bakteriyaning ko`payish tezligi hamda bo`linuvchi hujayralar soni kamayadi. Bu holat oziq muhit tarkibining o`zgarishi, metabolizm mahsulotlarining ko`payishi va kislorodning kamayishi natijasida sodir bo`ladi. Bosqich ikki soat davom etadi.

V. Maksimal turg`un bosqich. Bunda yangi hosil bo`lgan bakteriyalar soni o`lgan bakteriyalar soniga teng bo`ladi. Bosqich 2 soat davom etadi.

VI. Bakteriyalarning nobud bo`lish bosqichi. Bunda bakteriya hujayralarining nobud bo`lishi tezlashadi. Bosqich 3 soat davom etadi.

VII. Logarifmik nobud bo`lish bosqichi. Bunda bakteriya hujayralari muayyan tezlikda nobud bo`ladi. Bosqich 5 soatcha davom etishi mumkin.

VIII. Nobud bo`lish tezligining sekinlashish bosqichi. Bunda hujayralarning nobud bo`lishi kamayadi, tirik qolgan bakteriya hujayralari tinch holatga o`tadi.

Bosqichlarning vaqti shartli bo`lib, u o`zgarib turadi. Har xil turdagi bakteriyalar generatsiyasi turlicha bo`ladi. Masalan, E.coli har 20-30,

patogen mlrd bo`ladi. Bir gektar erdagi mikroorganizmlarning tirik og`irligi bir tonna bo`lishi mumkin.

Tuproqdagi mikroorganizmlar miqdori yilning fasliga ham bog`liq bo`lib, bahorda ularning soni ko`payib borib, yozda eng yuqori darajaga etadi. Yozning eng issiq davrida kamayadi, buning asosiy sababi tik tushayotgan quyosh nurlari bakteriotsidga ta`sir ko`rsatadi. Kuzda mikroorganizmlar miqdori tuproqda yana oshib boradi. Qishda esa sovuq harorat hisobiga kamayadi.

Tuproqda mikroorganizmlar tarqalishi har xil. Bunga quyosh ul`tra binafsha nurlarining mikroorganizmlarni o`ldirishi va tuproqni quritishi sabab bo`ladi.

Mikroorganizmlarning eng ko`p miqdori tuproqning 10-40 sm chuqurligida bo`ladi. Tuproqning bu qatlamida asosan biokimyoviy jarayonlar faol bo`lib, organik moddalarning parchalanishi mikroorganizmlarning hayot faolligini boshqaradi.

Tuproqqa suvdan, havodan, hayvonlardan va o`simliklardan, shuningdek, sanoat korxonalaridan chiqqan jihatdan ko`plab patogen, shartli patogen mikroorganizmlar tushadi. Tabiiy sharoitda tuproqda o`z-o`zini tozalash jarayoni doimo jadal kechadi. Buning natijasida tuproq o`zi uchun xos bo`lmagan zamburug`lar va bakteriyalardan tozalanadi.

Odam uchun patogen bakteriyalarning tuproqda saqlanishi va yashashi tuproqning turiga, o`z-o`zini tozalash xususiyatiga ayniqsa, mikroorganizmlarning turiga bog`liq. Asporogen-patogenli va shartli patogen bakteriyalar tuproqda bir necha kundan, bir necha haftagacha, ayrimlari oylab saqlanib turadi. Kuydirgi, qoqshol, botulizm, gazli gangrena qo`zg`atuvchilarining sporasi esa, bir necha o`n yillab saqlanishi mumkin. Botulizm, aktinomikozlar, chuqur mikozlarni keltirib chiqaradigan zamburug`lar uchun tuproq tabiiy yashash muhiti hisoblanadi.



Tuproqning sanitariya mikrobiologik holati uning tarkibidagi termofil va patogen bakteriyalar miqdorini bir-biriga solishtirish yo`li bilan baholanadi. Tuproqda patogen bakteriyalar asosan najas va peshob orqali tushadi.

Tuproqning najas bilan qachon va qay darajada ifloslanganligini aniqlash uchun bir necha sanitariya ko`rsatkich bakteriyalardan foydalanildi. Tuproqda E.coli va Str.faecalis bo`lishi tuproqning yangi najas bilan ifloslanganligidan darak bersa, Citrobacter va Enterobacter urug`iga mansub bakteriyalar topilishi eski najas bilan Clostridium perfringens bo`lishi tuproqqa najas tushganligiga ancha bo`lganligini ko`rsatadi.

Tuproqning sanitariya holatiga aniqroq baho berishda quyidagi usullar qo`llaniladi: tuproqning koli indeksi 1 g tuproqda topilgan E.coli ning soni, perfringenstitri 1 g tuproqda topilgan Cl perfringens soni, umumiy mikroblar soni esa, 1 g tuproqdagi bakteriyalarning umumiy soni bilan aniqlanadi.

Suv mikroorganizmlarning yashashi uchun tabiiy muhit hisoblanadi. Daryo, ko`l, dengiz va okean suvlarida taksonomik guruhlarining qariyb hamma mikroorganizmlari: ekobakteriyalar, fotobakteriyalar, arxebakteriyalar, batsillalar, zamburug`lar, suvo`tlari uchraydi. Suvni tozalab turishda, mikroelement va organik moddalar bilan boyitishda mikroorganizmlarning ahamiyati juda katta.

Suvning mikroflorasi va gigienik tasnifi turlicha bo`lib, bu asosan suvdan foydalanish darajasiga bog`liq. Suvda organizmlarning ko`payishi uning (ifloslanish darajasiga) saprobligiga bog`liq. Bu tushunchada suvda yashaydigan barcha tirik mavjudotlar ko`zda tutiladi, bunda quyidagi zonalar tafovut qilinadi:

a) polisaprob zona - suvi juda iflos, tarkibida kislorod, organik birikmalar ko`p zona. 1 ml suvdagi mikroblar soni  $10^6$  va undan xam kup

(chirituvchi va bijgish jarayonini keltirib chiqaruvchi esherixiyalar, anaerob bakteriyalar, zamburug`lar va aktinomitsetlar);

b) mezosaprob zona - (suvi o`rtacha ifloslangan zona) organik moddalarning oksidlanishi natijasida mineral holga o`tishi va kuchli nitrifikatsiya kuzatiladi. Bakteriyalar soni 1 ml da 100 mingni tashkil qiladi.

Najas bilan ifloslangan suvlardagi bakteriyalarni tahlil qilish usuli. Najas bilan ifloslangan suvlardagi ayrim gruppada bakteriyalardan biri ichak tayoqcha baktitsidlari - *Bacterium solidir*. Uning gruppachasi *Bacterium coli aerogenes*. Bu bakteriyalarning mavjud bo`lishi suvlarning najas bilan ifloslanganligini bildiradi. Bakteriyalar mavjudligining alohida belgilari quyidagilar: aerobligi, qisqaligi, grammanfiyligi, sporasizligi, glyukoza gaz hosil bo`lishi. Bu jarayon 43- 45<sup>o</sup>da 24 soat davomida yuz beradi. Bu endo muhitida bakteriyalar qizil kologiya, yaltiroq tilla rangda yoki qora-qizil va pushti aralash qora markazi borligi bilan ajralib turadi.

Shuni payqash mumkinki, ichak tayoqcha bakteriyalar organik moddalar zahiralarda yashaydilar. Bu yashash suvo`tlari hisobiga ham bo`lishi mumkin. SHuning uchun ham *Bacterium coli* suvlarning najas bilan ifloslanishiga yagona ko`rsatkich emas. Tahlil qilishdan oldin suvlarning sharoitini va qanday erda joylanishini har tomonlama o`rganish lozim.

Tahlilning natijasi koli-indeksda, 1000 mg suvda yoki koli-titrda aniqlanadi. Toza suv havzasida ul`trafil`tratsiya ta`sirida ham aniqlash mumkin. Bu uchun tahlil endo muhitida olib boriladi.

Aniqlash usuli. (A.S.Razumov, K.K.Borisov tomonidan 1947 yili ishlab chiqilgan.)

1. Ekishga tayyorlash. Fil'trlash apparata spirt bilan tozalanib va yoqilib, ish olib boriladi. Sovutilgandan keyin ish boshlanadi. Bu apparat quyidagicha tavsiflanadi:

- 1-membrana fil'tr orqali iflos suvning fil'trlanishi;
- 2-endo muhitda bakteriyani o`stirish;
- 3-tilla rang bakteriya koloniyasi;
- 3-tilla rangsiz koloniya;
- 4-gramda musbat rang;
- 4-gramda manfiy rang;
- 5- eykman muhitida gaz hosil qiluvchi.

2. ekish. Sterillangan pipetka yordamida mo`ljallangan suv fil'tr varonka orqali stakanga tushiriladi. Qabul qiladigan idishda bo`shliq hosil bo`ladi. Fil'trlash tamom bo`lgandan keyin pribor yig`gishtiriladi. Bakteriyasi bo`lgan membran fil'tr tozalanadi. Fil'tr Petr likopchasiga joylashtiriladi. Fil'tr tagida havo qolmasligi uchun ehtiyotlik talab qilinadi. Daftarga fil'tr nomi, kuni, namuna iomi, fil'trlangan suv qayd etib boriladi. Bitta Petri likopchaga, diametri 3 sm bo`lgan bir nechta fil'tr qo`yish mumkin.

O`stirish. ekilgan Petr likopchaning 3-4 donasshsh termostatga qopqog`ini pastga qaratib, 27° da.24 soat davomida qo`yish mumkin. O`stirish tugagandan keyin natija rasmda ko`rsatilganday tahlil qilinadi. Petr likopchaning qopqog`i olinib, lupa orqali x10 koloniyalar sanaladi. Keyin Gram bilan ranglanadi. Gram manfiy, spora hujayrasiz bo`lsa, najas bilan ifloslanmagan. Gaz hosil bo`lishi, ijobiy va salbiy javoblarga ko`ra najas ifloslangan suv hisoblanadi.

### ***Mikrobiologik tahlil qilish uchun tuproq namunalarini tayyorlash***

Tuproq namunalarini ikki maqsadda olish mumkin. Tuproqdan mikroorganizmlarni ajratish yoki ekologik maqsadda. Bunint uchun tuproq namunasini olishda juda ham ehtiyotkorlik talab qilinadi.

Ma`lumki, ko`pchilik tuproq mikrobiologiyasi sohasida ishlayotgan mutaxassislar tuproq ekologik masalasini echishda asosiy maqsad mikroblarning ishlab chiqaradigan mahsulotlari degan xulosaga kelingan.

Yaxshiroq namunalarini olishda uning landligiga, xususiyatiga, tarkibiga, berilgan holda mikrobiologik, tahlil namunasi maqsadga muvofiqdir. ni olishda tajriba olib boriladigan alohida ajratilib, 100-200 g o`rtacha tajribaga qo`yilgan tuproq namunalarini qarab olish davrlari quyidagicha (0- 0, 40-50 va hokazo). Sterillangan pichoq yoki shpatelda osilib, o`rtacha namuna shu kuni tahlil 1-2 kun saqlash mumkin, ammo buning 1 kg atrofida bo`lishi kerak.

Ko`rsatmalarga asosan aralashtirilgan 1 10 g texnik tarozida tortib olgandan 250 ml kolbaga solinadi va ustiga 100 disterlangan suv quyiladi, 5 daqiqa suspenziyalarni mikrobiologik analizdan tayyorlangan asbob va idishlar haqida berish maqsadga muvofiqdir.

Mikroorganizmlarning umumiy chun kerakli idishlarni tayyorlash yo`llari: Petr likopcha; 100 ml suv sterilizatsiya qilinadi; sterilizatsiya qilingan probirkalar, hajmiga qarab probirkalar tayyorlanadi 10 ta idishlardan oxirgi suyultirilgan suspenziya anchada olinib, Petr likobchaga solinib, qo`llangan pipetka, har bir suyultirilgan olish uchun alohida pipetkalar, bulardan tashqari Petr likopchasiga dan 1 tomchi olinadigan alohida pipetka tomchini Petr likobchasida tekislash uchun alohida sterillangan shpatel tayyorlanadi; suyultirilib tayyorlangan suspenziyadan 11 olov holatida Petr likopchasiga alohida takroriy ravishda olinadi; 1-1,5 litr sterillangan holda tayyorlangan ozuqa muxitdan 2/3 kolbaga solinib, qizitiladi va mikroorganizmlarni aniqlashda ishlatiladigan Petr likopchasiga yupka holda solinadi (bu ishlar boksdan bajariladi). Bu ishning to`liq bajarilishi uchun Petr likopchasiga suv hammomida (idishda) qizdirilgan agarli ozuqaning 20-30 ili solinib, 80° qizdirilgan shkafchaga qo`yilib, suvlari parlanib ketgandan keyin xona

haroratiga Petr likonchalar olinib quritiladi, keyin shu kuni tuproq namunasidan olingan, suyultirilgan, suspenziyadan bir tomchi olinib, likopchadagi agar-agarning ustiga solinadi va shpatelda tekislanib, (boksda) qopqog`i bekitilib, 28<sup>0</sup>S termostatkaga qo`yiladi. Termostatkaga qo`yishdan oldin bajariladigan ishlar sxematik ravishda ko`rsatiladi.

Tuproq namunasidan mikrobiologik tahlil qilish uchun suyultirilib tayyorlangan suspenziyalarning olinish shakli.

Tuproq va suv mikroorganizmlarining umumiy soni tuproq tiplariga, unumdorligiga va hosildorligiga, namligiga, faslning qanday kelishiga bog`liq.

Bakteriyalar, aktinomitsetlar, zamburug`lar 28<sup>0</sup> S ga qo`yiladi, achitqi bakteriyalar drojjalar. 22<sup>0</sup>Sga qo`yiladi. Bu termostatkaga qo`yilganlarni sanash kunlari:

Bakteriyalar 3 kundan keyin sanaladi.

Aktinomitsetlar 7-20 kundan keyin sanaladi.

Zamburug`lar va achitqilar 5-7 kundan keyin sanaladi. ekilgan mikroorganizmlar hujayralarini sanashda tuproq va suvdagi (suvda ml/l hisobida) ishlatiladigan formula: sxematik ravishda ko`rsatiladi.

Masalan, likopchada unib chiqqan hujayralar soni 60 dona.

Tuproqdagi mikroorganizmlarni o`stirishda qo`llaniladigan ozuqalar:

1. Chapeka ozuqa muhiti. Bu muhitda bakteriyalar, zamburug`lar va aktinomitsetlar o`stiriladi.

Ishlatiladigan ozuqalar:

KcL - 0,5; NaNO<sub>3</sub> - 2;

MgSO<sub>4</sub> — 0,5; SaSOz - 3;

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 1; glyukzoa yoki saxaroza - 20;

FeSO<sub>4</sub> - 0,01; agar - 20 (g/l distillangan suvda eritiladi).

2. eshbi ozuqa muhiti. Bu muhitda oligonitrofil mikroorganizmlar o`stiriladi.

Ishlatiladigan oзуqalar:

$K_2NO_3$  - 0,2;

$MgSO_4$  - 0,2;

$NaCl$  - 0,2;

$K_2SO_4$  - 0,1;

$CaSO_4$  - 5;

Saxaroza - 20;

Agar - 20 (g/l: distillangan suvda eritiladi).

3. Kraxmal — ammiakli ozuka muxiti. Bu muxitda aktinomitsetlar va bakteriyalar o`stiriladi.

Ishlatiladigan oзуqalar:

$(NH_4)_2SO_4$  - 2;

$K_2NO_3$  - 1;

$MgSO_4$ -1;

$NaCl$ - i;

$CaCO_3$ -3;

eriydigan kraxmal - 10;

agar - 20 (kraxmal oz miqdordagi suvda aralashtirilib keyin umumiy ozuka muhitga quyiladi). Bu ko`rsatilgan oзуqalar (g/l distillangan suvda eritiladi).

4. Go`sht peptonli agar (GPA) ozuka mux,iti.

Bu oзуqa muhit poroshok hoida tayyorlangan bo`lishi mumkin yoki so`m, go`sht sho`rvasidan tayyorlanadi. Uning litriga 20 g agar qo`shiladi.

5. Nitrifikatorlik mikroorganizmlar avtotrof hamda geterotrof hoida ikki fazada uchraydilar. 1-fazasidagi nitrifikatorlarni (azot kislotasini hosil qiluvchi) aniqlash uchun kerakli oзуqa muhitlari:

$K_2NO_3$ - 1;

$(NH_4)_2SO_4$  - 20;

MgSO<sub>4</sub> - 0,5;

FeSO<sub>4</sub> - 0,4;

SaSO<sub>2</sub> - 5 (g/l distillangan suvda eritiladi)

Azotni hosil qiluvchi nitrifikatorlar 2-fazada. Uni aniqlash uchun kerakli ozuqa muhitlari:

NaNO<sub>2</sub>- 1;

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> - 1;

NaCl - 0,5;

K<sub>2</sub>NRO<sub>4</sub> - 0,5;

MgSO<sub>4</sub> - 0,5;

FeSO<sub>4</sub> - 0,4 (g/l distillangan suvda eritiladi)

#### 6. Denitrifikatorlar.

Denitrifikatorlar bakteriyalar azot birikmalarini to`liq yoki qisman tiklashda qatnashadigan bakteriyalar,

Bu bakteriyalar Gil'tay usulida aniqlanadi. Buning uchun ikkita alohida eritma tayyorlanadi.

Birinchisi uchun ishlatiladigan ozukalar tarkibi:

KNO<sub>3</sub> - 2;

asparagin - 1;

suv -250 ml (g/l suvga etkaziladi)

Ikkinchisi uchun ishlatiladigan ozukalar tarkibi: natriy limoni-5;

KN<sub>2</sub>RO<sub>4</sub> - 2;

MgSO<sub>4</sub> - 2;

SaSl<sub>2</sub> - 0,2;

FeSl<sub>2</sub> - izi; glyukozalar - 10 ml

suv - 500 ml (g/500 ml suvda eritiladi)

Bu tayyorlangan ozuqa muhitlari probirkalarga solinib, 12° da avtoklavda sterilizatsiya qilinadi.

Denitrifikatsiyaning to'liq ketishi gaz holida ajralib chiqayotgan azotdan bilinadi yoki ishqoriy muhitli ozuqadan azot kislotasining yo'qolishi kuzatiladi (bu muhit difenilamin namunasida).

#### 7. Azotfiksatorlar.

Azotfiksator mikroorganizmlarni aniqlash uchun juda ko'p usullar va har xil ozuqa muhitlari mavjud. SHulardan eng ko'p qo'llaniladigai usullarga to'xtalib o'tamiz.

Tuproq plastinka usuli. 50 g tuproq farfor likopchaga solinadi va shunga 0,5 g magnit, 1 g bo'r va 10 mg  $K_2NRO_4$  lar qo'shiladi. Keyin namlanib, qaymok holatida Petr likopchasiga solinadi. Keyinchalik engil namlangan shpatel bilan tekislanib, usti yaltiroq holga keltiriladi.

Petr likopchada aeradiyani yaxshilash uchun likopchaga maydalangan shisha siniqlari yoki yog'och ko'miri solinadi. Likopchaga shisha turubka qo'yiladi. (Gaz almashib turishi uchun) Petr likopchasi termostatda 4-5 kun davomida turadi. SHundan keyin likopchadan loy ustida azotobakter hujayralari ko'rina boshlaydi. Mikroskopda ko'rilgandan keyin haqiqatda uning azotobakter ekanligiga ishonch hosil qilinadi.

Kesakcha usulida azotbakterni aniqlash. Buning uchun 100 mg tuproqni qaymoq holatigacha keltiriladi. SHu tayyorlangan qaymoqdan bakteriyalar ekadigan ilgak bilan olinib, Petr likopchasiga qo'yiladi. Likopchaga agarlangan eshbi va manit ozuqa muhiti solinadi. Har bir likopchaga 50 ta tayyorlangan kesakchalar qo'yiladi. Kesakchalarni yaxshi joylashtirish uchun har bir likopachaga uyachalar teriladi. Uyachalarga kesakchalar joylashtiriladi. Tayyorlangan Petr likopchalari jamlangan kameraga o'rnashtirilib,  $28^{\circ}S$  termotetda 6-10 kun saqlanadi. Keyin kesakchalarda o'sgan azotobakter hujayralari foiz hisobida aniqlanadi.



O`sgan hujayralardagi jigarrang pigment (Az. chroococum) hujayraning morfologik jihatidan kelib chiqadi.

Anaerob sharoitda azotfiksatorlarning ajralib chiqishi (Clostridium). Bu mikroorganizmlar barcha tuproq tiplarida uchraydi. Bularning ajralib chiqish uchun suyuq ozuqa muhiti ishlatiladi. Bu suyuq muhitni Vinogradskiy muhiti deyiladi:

$\text{KN}_2\text{RO}_4$  - 1;

$\text{MgSO}_4$  - 0,5;

$\text{NaS1}$ ,  $\text{FeSO}_4\text{MnSO}_4$  - izlari;

glyukoza - 20 (g/l distillangan suvda eritiladi)

Tayyorlangan ozuqa muhiti, probiokatagiga solingan 100-200mg  $\text{SaSO}_3$  ustiga qalin qilib qo`yiladi. Keyin  $112^0\text{S}$  da sterilizatsiya qilinadi. Tuproq suspenziyasining 1-6 sug`ortirilganidan solinib, probirkaga ekiladi. Klostridium o`ssishi bilan ozuqa muhit ifloslana boshlaydi. Natijada maslya kislotasining hidi keladi va gaz ajralib chiqadi. O`sganligini bilish uchun lyugolya eritmasiga fiolet - siniy rang beriladi.

Tuganak bakteriyalar. Biologik azotniig tuproqda ko`p miqdorda to`planishi dukkakli o`simliklarning o`ziga xos tuganak bakteriyasi bilan hamkorlikda yashash sharoitiga chambarchas bog`liqligi tufaylidir. Tuganak bakteriyalar tabiatda keng tarqalgan bo`lib, deyarli hamma tuproqda uchraydi. Bu turdagi bakteriyalar dukkakli o`simliklarsiz gaz holdagi ammiakni o`zlashtirish qobiliyatiga ega emas. Tuganak bakteriyasining havodagi sof ammiakni o`zlashtirishi o`simlikning shonalash hamda gullash davrida kuchayib, vegetatsiya oxirlariga borib faolligi keskin kamayadi.

Masalan, no`xat ildizi tuganagi tarkibidagi azot miqdori gullash faslida 5,5 foiz, hosil tukkan davrda 4,3 foiz va vegetatsiya oxirida 1,8 foizga kamaygan. SHuningdek loviya o`simligining ildiz tuganagida gullash davrida 3,5 foiz, hosil tukkada 3,7 foiz, vegetatsiya oxirida 3,0

foiz mosh ildizi tujanagida esa 3,7; 3,5 va 3,2 foizgacha a`zo borligi aniqlangan.

Ajratilgan tujanak bakteriyalardan biologik o`ti tayyorlanadi. Masalan, nitragin.

Tujanak bakteriyalarni dukkakli o`simliklar ildizida o`stirib ko`paytirish uchun kerakli ozuqa muhitlari:

50 g oq loviya yoki no`xat;

1 litr vodoprovod suviga solib qaynatiladi;

qaynatilgandan keyin voronkaga paxta quyilib, filtirlanadi va 1 litr hjmiga etkaziladi. Uning ustiga 10 g saxaroza, 0,5 g  $K_2NRO_4$ , 20g agar, Ph-7 solinadi. Tayyor bo`lgan ozuqa muhit 120° avtoklavda sterilizatsiya qilinadi.

#### 8. TSellyulozani parchalovchi mikroorganizmlar.

Shunday mikroorganizmlar borki, tsellyulozani aerob va anaerob sharoitlarda ham parchalaydilar, ushbu jarayon mezofil. termofil sharoitlarda ham davom etadi. Bu har xil sistematik guruh bakteriyalari ishtirokida bajariladi, ya`ni bakteriyalar, mikrobakteriyalar, zamburug`lar, aktinomitsetlar.

Tuproqda tsellyulozaning emirilishi quyidagicha: sterillangan nozik material (l`nyanaya) eniga 10 sm, uzunligi 50 sm. haydaladigan tuproq qatlamiga yoki undan past qatlamga qo`yilishi mo`ljallangan material tuproqqa gorizantal holatda 1 oy yoki 2-3 oy muddatga qo`yiladi. Tuproqqa qo`yish usuli.

#### ***Tuproqqa qo`yish usuli.***

Avitoklavda sterilizatsiya qilingan materialni spirtida sterializatsiya qilingan plyonkaga qizdirilgan utyug bilan yopishtirilib, tuproqning ma`lum bir chuqurligiga gorizantal holda joylashtiriladi. Ma`lum bir vaqt o`tgandan keyin ko`milgan material olinadi, yuvilib tozalanadi. Oldin

materialning og'irligi o'lchanadi. Materialning qanchalik parchalanganligini bilish uchun belgilangan shkalaga solishtiriladi.

Bu shkala foiz hisobida, ya'ni kletchatkaning parchalanishi quyidagicha:

-juda kam < 10

-kam - 10-30

-o'rtacha - 30-50

-yuqori – 50-80

-juda yuqori darajada parchalanishi - > 80

Juda ko'p metodlar (usullar) taklif qilinganki, kletchatkani parchalash har xil guruh mikroorganizmlarni aniqlash uchun quyidagi Getginson va Kleytonlar taklif etgan ozuqa muhitidan foydalanish mumkin.

## XULOSA

1. Azot o'simliklar hayoti uchun eng kerakli elementdir. U hayotiy muhim birikmalar – oqsillar, fermentlar, nuklein kislotalar va boshqa bir qator birikmalar tarkibiga kiradi. Lekin yashil o'simliklar atmosfera tarkibidagi molekulyar azotni bevosita o'zlashtira olmaydi. Chunki molekulyar azot o'ta turg'un bo'lib, uni faol holga o'tkazish uchun juda katta energiya sarflash kerak. Biologik yo'l bilan tabiatda molekulyar azotni ammiakgacha qaytaruvchi ko'pgina organizmlar (mikroorganizmlar va ayrim suv o'tlari) mavjud. Bular azot o'zlashtiruvchi yoki azotofiksatorlar deb ataladi.

2. Amonifikatsiya jarayonida hosil bo'lgan ammiak, nitrifikatorlar tasirida, o'simlik o'zlashtira oladigan nitratlarga qaytariladi.

3. Nitrifikatsiya jarayonida 2 ta bosqichda sodir bo'ladi. Birinchi bosqichda Nitrozomonas bakteriyalari ta'sirida ammiak oksidlanib undan nitritlar hosil bo'ladi. Nitritlar o'z navbatida nitrobakterlar ta'sirida oksidlanib, ulardan nitrat kislotalar hosil bo'ladi. Nitratlar tuproqning unumdorligini va o'simliklarning hosildorligini oshirishda muhim ahamiyatga ega.

4. Nitrifikatsiya jarayonida hosil bo'lgan nitrat kislotalar, denitrifikatorlar ta'sirida parchalanib molekulyar holatdagi azotga aylanadi.

5. Nitrifikatsiya va denitrifikatsiya jarayonlari atmosferadagi molekulyar azotni o'zlashtirishda va uni yanada atmosferaga chiqarib yuborishda ya'ni tabiatda azotning almashinuvida muhim ahamiyatga ega.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:

- 1.Фёдоров В.В. Микробиология. Тошкент. “Ўқитувчи”.1964 й,5-20-бетлар.
- 2.Иноғомова М. Микробиология ва вирусология асослари. Т.1976, 18-25-бетлар.
- 3.Промышленная микробиология. М.1989, Стр. 100-120
- 4.Чуриков В.В., Викторов Д.Т. Основы микробиология и вирусология. Воронеж 1988 г. Стр. 120-140
- 5.Шлегель Г. Общая микробиология. М.Мир. 1987. Стр. 120-140
- 6.Шлегель Г. Общая микробиология. М.Мир. 1972. Стр. 50-80
- 7.Авраменко И.Ф. Микробиология. М. Колос.1979 г. Стр. 70-90.
- 8.Бобохўжаев И., Узоқов П. Тупроқшунослик. Меҳнат. Тошкент-1995, 88-110-бетлар.
- 9.Бранцевич И.Г., Лисенко Л.Н., Овод В.В., Гурбин А.В. Микробиология практикум. Киев. «Высшая школа» 1987 г.Стр.30-50.
10. Генкель П.А. Микробиология с основами вирусологии М. 1974. Стр. 300-400.
- 11.Гермаков Н.И. Микробиология. М. 1969, Стр. 25-48
- 12.Генкель П.А. Физиология растений с основами микробиологии. М. 1965 г. Стр. 15-78.
- 13.[www.Ziyonet.uz](http://www.Ziyonet.uz).
- 14.[www.Biotex.uz](http://www.Biotex.uz).
- 15.[www.Biotex piste.uz](http://www.Biotex.piste.uz).