

576.8
А-355

189648
Ғ.Р. АЗИЗОВ, Ғ.М. КУБЛАНОВСКАЯ



Қишлоқ хўжалиги микробиологиясидан қўлланма

Ғ. Р. АЗИЗОВ,
Г. М. КУБЛАНОВСКАЯ

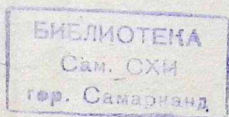
576.8

A. 355

ҚИШЛОҚ ХЎЖАЛИГИ
МИКРОБИОЛОГИЯСИДАН
АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР
ЎТКАЗИШ ҚЎЛЛАНМАСИ

849581

*Ўзбекистон ССР Қишлоқ хўжалиги ми-
нистрлиги қишлоқ хўжалиги институтлари-
нинг сиртқи бўлими студентлари учун ўқув
қўлланмаси сифатида тасдиқлаган*



«УЎҚИТУВЧИ» НАШРИЕТИ
ТОШКЕНТ — 1969

4—3—1

Уқит. 260. 69.

СУЗ БОШИ

Бу қўлланма қишлоқ хўжалиги институтларининг сиртқи бўлими студентлари учун мўлжалланган бўлиб, марҳум доцент Г. М. Кублановскаянинг 1960 йилда нашр қилинган «Қишлоқ хўжалиги микробиологиясидан амалий машғулотлар ўтказиш қўлланмаси» асосида ёзилди. Автор қишлоқ хўжалиги микробиологияси соҳасидаги муҳим янгиликлардан фойдаланиб, мазкур қўлланмага «Силосланган озиқни микробиологик текшириш усуллари», «Ризосфера микроорганизмларини аниқлаш», «Эпифит микроорганизмларни аниқлаш», «Замбуруғларнинг лимон кислота ҳосил қилишини аниқлаш», «Гўнгнинг микрофлорасини аниқлаш», «Ташқи муҳит факторларининг микроорганизмларга таъсири», «Вино тайёрлашда узумнинг микрофлораси»ни ва «Винонинг бузилишига сабабчи бўладиган микробларни аниқлаш» деган бобларни, шунингдек, микроорганизмлар ҳаётида водород ионларининг таъсири ва бактериал ўғитларнинг аҳамиятини ҳар томонлама ёритувчи янги материалларни киритди ҳамда баъзи бир бобларни қайта ишлаб чиқди.

Қўлланма бўлажак мутахассисларнинг назарий курсда ўтилган темаларни амалий машғулотлар билан боғлаб, микробиология фанини яхши ўзлаштиришига ёрдам беради. Студентларнинг микробиология фанини ўзлаштиришини осонлаштириш мақсадида лаборатория ишлари ва амалий машғулотлар назарий курснинг тематик планига мослаштирилди. Ўқитувчи студентларнинг амалий машғулотларни яхши бажариши учун машғулотнинг қисқача мазмуни, ишлаш тартиби ва асбобларни ишлатиш усуллари тушунтириб бериши, машғулот охирида эса навбатдаги машғулот темасининг номини, фойдаланиладиган адабиётни маълум қилиши зарур. Студентлар ўтилган темаларни янада пухтароқ ва чуқуроқ билиб олиши учун уларни сут комбинатларига, ачитқи, нон, вино ва ҳар хил антибиотиклар ишлаб чиқарила-

диган корхоналарга ҳамда тупроқлар структураси текшириладиган лабораторияларга экскурсияга олиб бориш тавсия этилади.

Қўлланма Тошкент қишлоқ хўжалиги институтининг ўсимликлар физиологияси ва қишлоқ хўжалиги микро-биологияси кафедрасида муҳокама қилинди. Бунда ўқитувчиларнинг танқидий мулоҳаза ва маслаҳатлари эътиборга олинди. Ушбу қўлланмани ёзишда қимматли таклиф ва маслаҳатлари учун биология фанлари доктори, профессор Х. Х. Енилеев, биология фанлари кандидatlари, доцентлар Ф. Ю. Ржевская, А. С. Сулаймонов ва бошқа ўртоқларга автор миннатдорчилик билдиради.

Доцент Ғ. Азизов

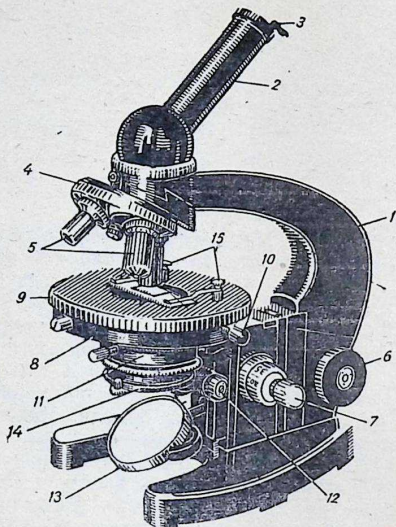
I. КИРИШ

Микробиология текширадиган тирик мавжудот — микроорганизмлар ғоятда майда бўлиб, асбобсиз кўринмайди. Шу сабабли улар микроскопда текшириб ўрганилади.

Микробларни текшириш учун ҳозирги вақтда ишлатилаётган микроскоплар ботаника ёки зоологияда қўлланиладиган микроскопларга қараганда мураккаброқ, чунки микроб ҳужайралари ўсимлик ва ҳайвон ҳужайраларига қараганда майдароқ бўлади. Микроб ҳужайралари микроскопда жуда катта қилиб қаралгандагина кўринади. Кўзга кўринмайдиган майда тирик организмлар мавжудлигини XVII асрда Антон Левенгук биринчи бўлиб кашф этди. Левенгук фойдаланган дастлабки микроскоплар 160 марта ва ундан сал кўпроқ катта қилиб кўрсатадиган лупалардан иборат эди. Левенгук кашфиётидан кейин микроскопларнинг тузилиши тобора мураккаблашиб ва такомиллашиб борди. Эндиликда оптик микроскоплар нарсаларни 2 минг мартагача катта қилиб кўрсата олади. Ҳозирги оптик микроскопда кўринадиган энг майда микробларнинг катталиги 0,2 микрон келади.

Нарсаларни 2 минг марта ва ундан ҳам кўпроқ катта қилиб кўрсатадиган оптик микроскоплар яшаш мумкин. Аммо уларнинг ҳаммаси ҳам жуда майда микробларни кўрсатиб беролмайди. Ҳар қандай нарсани кўра олишимиз сабаби шуки, ёруғлик тўлқини нарсага тушиб, тарқалади ва шу нарсанинг соясини ҳосил қилади. Аммо

ёруғлик тўлқини ўз узунлигининг камида учдан бир қисмича узунликдаги нарсага тушгандагина тарқалади. Акс ҳолда (нарсанинг узунлиги ёруғлик тўлқинининг узунлигига барабар ёки шу тўлқин узунлигининг $\frac{1}{3}$ қис-

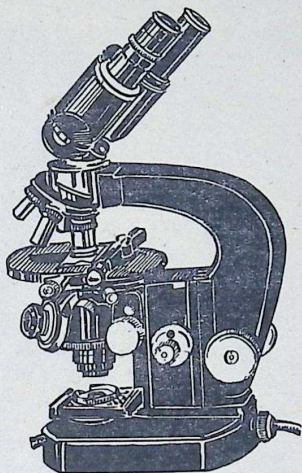


1- расм. Биологик микроскоп — МБИ-1:

1—штатив, 2—тубус, 3—окуляр, 4—револьвер, 5—объектив, 6—макроевент, 7—микроэвент, 8—икки қаватли столчанинг остки қавати, 9—буём столчасининг устки қавати, 10—столчани суриш эвентлари, 11—Абба кондесори, 12—кондесорни ҳаракатга келтирувчи эвент, 13—кўзгу, 14—диафрагма, 15—қисқич.

мидан кичикроқ бўлса), ёруғлик тўлқини нарсани айла-ниб ўтади, натижада у кўринмайди. Кўзимизга кўринадиган кундузги ёруғлик тўлқинларининг узунлиги ўрта ҳисобда 0,55 микрондир. Бинобарин, одам кўзи микроскоп ёрдамида кўра оладиган энг кичик заррачанинг кат-

талиги 0,2 микрондан кичик бўлмаслиги керак. Шунинг учун бу миқдордан бир неча марта кичик бўлган вируслар ва бактериофагларни оптик микроскопда кўриб бўлмайди. Уларни текшириш учун электрон микроскоплардан фойдаланилади. Ҳозирги замон электрон микроскоплари оддий микроскоплар билан кўриб бўлмайдиган вирус ва бактериофагларни 100 минг ва 120 минг марта катталаштириб кўрсатиш имкониятини беради.



2- расм. Биологик микроскоп — МБИ-2.

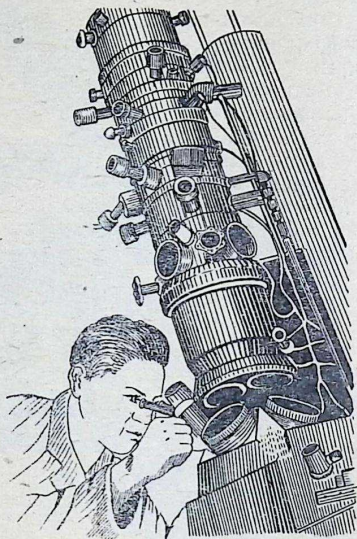
II. МИКРОСКОП-НИНГ ТУЗИЛИШИ

Микробларни фақат микроскопда кўриш ва текшириш мумкин. Модомики шундай экан, аввало, биологик микроскопнинг тузилиши билан танишиш ва ундан фойдаланиш қоидаларини билиб олиш керак (1-расм).

Механик қисми. Биологик микроскопнинг механик ва оптик қисмлари бор. Механик қисми ўз навбатида қуйидаги қисмлардан иборат. *Штатив* — бунга микроскопнинг айрим қисмлари ўрнатилган бўлади. Штативга микроскопнинг асосий қисмлари ҳисобланган макровинт ва микровинтлар ўрнатилади. *Микроскоп труба*си ёки *тубуси* — бу қисм микроскопнинг штативига ўрнатилган. Тубуснинг юқоридаги тешигига окуляр тиқиб қўйилади, пастда эса револьвер деган махсус мослама бор, объектлар шу мосламага бураб киргизилади.

Труба винтлар ёрдамида юқорига ва пастга сурилади; макровинт фокусни тахминан тўғрилаш учун, микровинт эса фокусни аниқ тўғрилаш учун хизмат

қилади. Макровинт бир марта тўла айлантилганда труба 0,1 мм сурилади. Микровинт микроскопнинг муҳим қисмларидан бири бўлиб, эҳтиётлик билан айлантилиши керак, чунки унинг жуда нозик кертйги бор.



3- расм. Электрон микроскоп.

Буюм столчаси — унга препарат қўйилади. Буюм столчаси штативнинг юқори қисмига — труба тутқичга бириктирилган. Буюм столчаси ҳаракатланмайдиган ва ҳаракатланадиган бўлиши мумкин. Ҳаракатланадиган столча препаратни турли томонга қараб суриш учун керак, шу мақсадда столчанинг ён томонидаги иккита винт буралади. Препаратни винтлар ёрдами билан суриш бармоқ билан суришга қараганда қулайроқ; бундан ташқари, препаратни винт билан аниқ суриш мумкин. Юқорида таърифланган ҳаракатчан оддий столчадан ташқари, крестсимон махсус столчалар ҳам бўлади, микробиоло-

гиядан аниқ ишлар ўтказишда шундай столчалардан фойдаланилади.

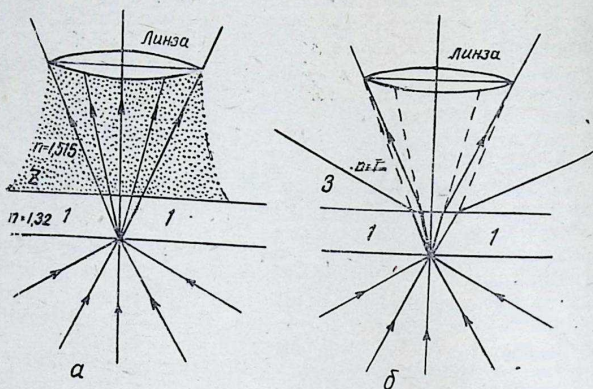
Оптик қисми. Бу қисм окуляр, объектив, ёритгич ёки конденсор ва кўзгудан иборат.

Окуляр — иккита линзадан тузилган: биринчиси йиғувчи линза бўлиб, объективга қараган, иккинчиси — асосий линза эса кўзга қарагандир. Окуляр микроскоп тубусининг юқори тешигига тиқиб қўйилади. Окулярнинг неча марта катта қилиб кўрсатиши гардишига ёзиб қўйилган бўлади ($7\times$, $10\times$, $15\times$). Бактерияларни текширганда кўпинча $15\times$ белгиси қўйилган окулардан фойдаланилади.

Объективлар. Биологик микроскопнинг учта объективи бор: 8-объектив камроқ катта қилиб кўрсатади; 40-объектив ўртача катта қилиб кўрсатади; 90-иммерсион объектив жуда катта қилиб кўрсатади. Объективнинг гардишига ёзиб қўйилган 8, 40, 90 рақамлари шу объективнинг неча марта катта қилиб кўрсатишини билдиради. Иммерсион ёки ботиб турадиган объектив дейилишининг сабаби бу объективдан фойдаланганда препаратга бир томчи кедр мойи («иммерсион мой») томизилади ва объектив линзаси шу мой томчисига ботирилади. Объектив иммерсион мойга ботиб турганлигидан унга ёруғлик нурлари кўпроқ тушади. Бунинг сабаби шуки, конденсордан буюм ойнасига келувчи ёруғлик нурлари шу ойнада синади. Ойнада кедр мойи бўлса, объектив шу жойга ботиб туради, мойнинг нур синдириш коэффициенти буюм ойнасининг ёруғлик нур синдириш коэффициенти билан бир-бирига яқин бўлгани учун ёруғлик нурлари бир жинсли муҳитдан ўтиб кетади ва синмайди, буюм ойнасидан кедр мойи орқали тўғридан-тўғри объектив линзасига боради. Натижада текширилаётган микроорганизмлар аниқ ва равшан кўринади. Демак, ёруғлик нурлари фақат бир марта синади. Буюм ойнаси билан линза орасида мой ўрнига ҳаво бўлса (ҳаво нурни мойга қараганда камроқ синдиради), ҳавода ёруғлик нурлари иккинчи марта синади, шунга кўра объектив линзасига камроқ нур боради (4-расм). Буюм ойнасининг ёруғлик синдириш коэффициенти қараганда ($n=1,32$) ҳавонинг ёруғлик синдириш коэффициенти ($n=1,0$) камроқ бўлади.

Микроорганизмларни ҳар хил объективлар билан текшириш мумкин. Объективлар икки хил — қуруқ ва им-

мерсион системада бўлади. Микробиология практикасида асосан иммерсион объективлар қўлланилади ($90\times$ ёки $120\times$). Қуруқ системага 8 ва 40- объективлар кира-



4- расм. Иммерсион (а) ва қуруқ (б) системада нурларнинг йўналиши:

1—буюм ойнаси, 2—мой, 3—ҳаво.

ди; қуруқ объективлардан фойдаланилганда иммерсион мой ишлатилмайди. 8- объективдан фойдаланилганда конденсор пастга туширилади. 40- объектив ишлатилганда конденсор бир оз кўтарилади. Қуруқ объективлар билан тирик бактериялар кўрилса, иммерсион объективлар билан ўлик ва бўялган микроорганизмлар кўрилади. Микроскопнинг микроорганизмларни умуман неча марта катта қилиб кўрсатишини билиш учун объектив билан окулярнинг кўрсаткичлари бир-бирига кўпайтирилади. Масалан, объектив $90\times$ бўлиб, окуляр $15\times$ га тенг бўлса, уларнинг кўпайтмаси 1350 га тенг, яъни микроорганизмлар микроскопда 1350 марта катта қилиб кўрсатилган бўлади.

Кўзгу. Бу бир гардишга ўрнатилган ботиқ ва ясси кўзгулардан иборат. Ёритгич билан ишлаганда ясси кўз-

1-жадвал

МБИ-1 маркали микроскоп объективининг оптик таърифи

Объективлар	Объектив- нинг катта- лаштириш қобилияти	Сонли опертура	Фокус масофаси (мм)	Эркин иш масофаси (мм)	Кўрув май- дони (оку- ляр билан)
Қуруқ системалар					
8×0,20	8	0,20	18,2	8,91	1,75
40×0,65	40	0,65	4,35	0,60	0,35
Иммерсион системалар					
90×1,25	90	1,25	1,96	0,15	0,15

2-жадвал

МБИ-1 маркали микроскоп окулярларининг оптик таърифи

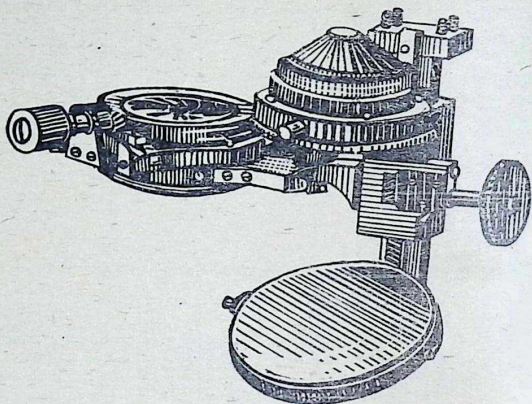
Окулярлар	Фокус масо- фаси (мм)	Узунлик кўрув май- дони (мм)	Окулярнинг катталашти- риш қобилияти	Объективлар билан умумий катталаштириш		
				8×	40×	90×
Гюйгенс окулярлари						
7×	36	18	7	56	280	630
10×	25	14	10	80	400	900
15×	17	8	15	120	600	1350

гудан фойдаланилади, чунки бу кўзгу ёруғлик нурларини параллел тутам қилиб беради. Ёруғ кам бўлгандагина ботиқ кўзгудан фойдаланилади.

Ёритгич ёки *Аббе конденсори*. Бунга микроскоп столчасининг остидаги *и р и с* *д и а ф р а г м а* бириктирилган бўлади.

Конденсор линзаларнинг мураккаб системасидан иборат бўлиб, микроскопнинг кўрув майдонини бир текис

яхши ёритиш учун керак. Кўзгудан ёритгичга тушадиган нурлар тутами шу ерда йиғилади, ёритгичдан янада равшанроқ параллел нурлар тутами чиқиб, объектив линзасига тушади. Шу сабабли кўзгудан ва ёритгичдан фойдаланганда микроскопнинг кўрув майдони кўзгунинг ёлғиз ўзидан фойдаланишга қараганда яхшироқ ёриydi (5-расм).



5-расм. Конденсор ва унинг ирис диафрагмаси.

Нарсаларни камроқ ва ўртача катта қилиб кўрсатадиган объективлардан фойдаланганда ёритгични тушириб қўйиш керак, чунки бундай объективларнинг линзалари каттароқ бўлади, ёритгич тушириб қўйилганда ҳам уларга етарли ёруғлик тушаверади, ёруғлик ҳаддан ташқари равшан бўлса, микробларни кўриш қийинлашади. Иммерсион объективдан фойдаланганда ёритгич букм столнинг томонига тегизилади, чунки иммерсион объектив линзаси жуда кичик бўлади, ёритгич шу линзага қанча яқинроқ бўлса, унга ўшанча кўпроқ нур тушади. Тушадиган ёруғлик нурларини ирис диафрагма ёрдами билан ҳам ўзгартиш мумкин. Иммерсион объектив билан ишлаганда диафрагмани тамомила очиб қўйиш керак.

III. МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ МИКРОСКОПДА ТЕКШИРИШ УСУЛИ

Бактерия препаратларини микроскопда текширганда қуйидагича иш қилинади.

1. Препарат микроскопнинг буюм столчасига қўйилади.

2. Конденсор пастга туширилганда 8-объективдан фойдаланиб, кўзгу микроскопнинг кўрув майдонини равшан ёритадиган қилиб тўғриланади.

3. 40 ёки 90-объектив билан катта қилиб қаралади. 40-объективдан фойдаланганда конденсор кўтарилмайди. 90-объективдан фойдаланилганда эса конденсор буюм столчасига кўтарилади.

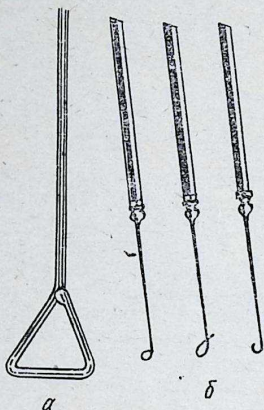
4. Буюм ойнасига бир томчи иммерсион мой томизилади, мойга иммерсион объектив туширилади, сўнгра объектив макровинт ёрдамида авайлаб туширилаверади, пировардида микроскопнинг кўрув майдонида объект (текшириладиган нарса) кўринади. Шундан кейин макровинт билан фокус аниқ тўғриланади, натижада равшан, очиқ тасвир вужудга келади. Объективни макровинт билан жуда секин ва авайлаб тушириш керак, акс ҳолда объектив линзаси буюм столчасига тақалиб, бузилиб қолади.

Иммерсион 90-объектив ишлатилгандан кейин уни дарҳол тозалаш, яъни бензинга ҳўлланган латта билан иммерсион мойни артиш керак. Объективларни спирт билан артиш асло ярамайди, сабаби спирт объектив линзаларини ёпиштириб турадиган моддани эритиб, микроскопнинг энг асосий ва муҳим қисми бўлган объективни ишдан чиқариб қўйиши мумкин.

IV. ПРЕПАРАТЛАР ТАЙЁРЛАШ ВА БУЯШ УСУЛИ

Микроорганизм препаратларини тайёрлаш учун буюм ойнаси билан қоплагич ойналар ишлатилади. Препарат тайёрлашдан олдин буюм ойнасидаги мойни кетказиш учун у спиртга ҳўлланган латта, сўнгра тоза латта билан артиб қуригилади. Сув ойна устида томчилар ҳосил қилмасдан ёйилиб кетса, бундай ойна тоза ҳисобланади.

Микробларни буюм ойнасига суриш учун бактериологик сиртмоқдан (6-расм) фойдаланилади. Эгилган шиша таёқча (шпатель) тутқич ва унга би-



6-расм. а — шпатель; б — бактериологик сиртмоқлар.

риктирилган ингичка симдан иборат. Бу сим платинадан ёки қизитилганда ҳаво кислороди билан оксидланмайдиган ва тез қизиб (чўғ бўлиб) тез совийдиган бошқа бирор металлдан ясалади.

Микробларни микроскопда тирик ёки ўлик ҳолда кўриш мумкин. Ўлик микроблар бўялган препаратлардагина кўрилади. Тирик микробларни эса «эзилган» ва «осилган» томчиларда — препаратларда кўриш мумкин.

«ЭЗИЛГАН» ТОМЧИ ТАЙЕРЛАШ

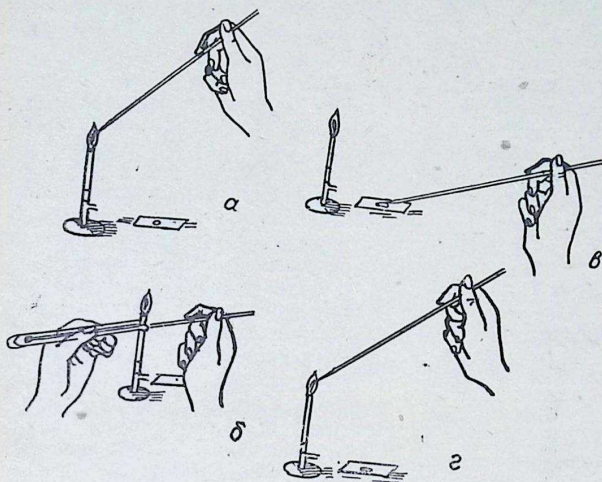
Тоза буюм ойнасига пипетка билан тоза сувдан бир томчи томизилади. Кейин спирт лампаси алангасида чўғ бўлгунча қиздирилган бактериологик сиртмоқ билан зарур бактериялар олиниб, сув томчисига қўшиб аралаштирилади. Шундан кейин сиртмоқ қиздирилиб, унда қолган микроблар йўқ қилинади. Микроблар аралаштирилган сув томчиси қоплағич ойна билан ёпилади, томчи шу тариқа «эзилиб», микроскопда ўртача катта қилиб қаралади (7-расм).

Қоплағич ойнани томчи четига қирраси билан қўйиб, кейин секин-аста бутун томчини ёпиш керак.

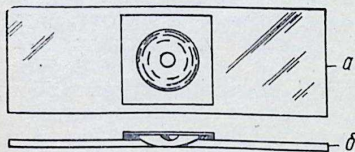
«ОСИЛГАН» ТОМЧИ ТАЙЕРЛАШ

«Осилган» томчи тайёрлаш учун ўртасида думалоқ чуқурчаси бўлган махсус буюм ойналаридан фойдаланилади. Чуқурчанинг ташқи четларига вазелин суртилади,

сўнгра тоза қоплағич ойнанинг ўртасига бактериологик сиртмоқ билан юқорида айтилган усулда бактериялар аралашган кичик сув томчиси суртилади. Шундан кейин қоплағич ойна томчили томони билан шундай ағдариб



7-расм. Микроскопик препаратлар тайёрлаш схемаси.



8-расм. «Осилган» томчи препарати.

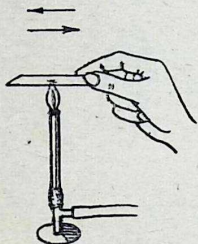
қўйиладики, ундаги томчи буюм ойнасидаги чуқурчанинг ўртаси устидан осилиб туради, қоплағич ойнанинг четлари чуқурча четларига суртилган вазелинга ёпишади. Вазелин суртилганлиги учун чуқурчага ҳаво

кирмайди ва томчи қуриб қолмайди (8-расм).

«Эзилган» ва «осилган» томчи препаратлари бактерияларнинг ҳаракатини текширишга имкон беради.

ҚУРУҚ ПРЕПАРАТ — МАЗОҚ ТАЙЕРЛАШ ВА ОДДИЙ УСУЛДА БЎЯШ

Бактерияларни иммерсион объектив билан катта қилиб кўриш учун ўлдирилган бактериялардан қуруқ препаратлар тайёрланади. Шу мақсадда мойи кетказилган буюм ойнасига бактериологик сиртмоқ билан бир томчи тоза сув суртиб, унга бактериялар аралаштирилади. Бактериялар аралашган шу томчи буюм ойнасига юпқа қилиб ёйилиб, ҳавода қуриштилади. Шундай қуруқ препарат мазок дейилади. Шу тариқа тайёрланган мазок фиксация қилинади (қотирилади), яъни спирт горелкаси алангасига уч марта тутиб олинади (9-расм). Умуман препаратларни фиксация қилиш учун спирт горелкаси алангаси, спирт билан эфир ва кислота билан формалин аралашмалари ишлатилади.



9- расм. Препаратни алангада фиксация қилиш.

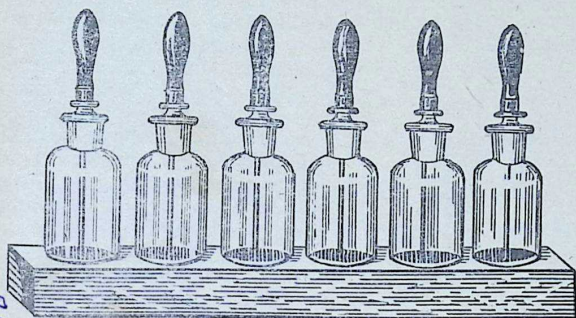
Мазокни бир неча минут давомида эритмага солиб ҳам фиксация қилиш мумкин. Мазок фиксация қилинганда буюм ойнасидаги микроблар ўлиб, ойнага ёпишади ва яхши бўялади, бунинг сабаби шуки, бўёқ тирик протоплазмага кўра, ўлик протоплазмага яхшироқ ўтади. Мазок фиксация қилингандан кейин қандай бўлмасин махсус бўёқ билан бўялади, чунки ўлик микроблар бўялмаса, катта қилиб қаралганда кўринмайди. Шундай бўлгач, фиксация қилинган мазокка бўёқ қуйилади¹, орадан 1—3 минут вақт ўтказиб, сув билан ювилади. Бўялган ва ойнага ёпишган бактериялар ювилиб кетмасдан ойнада қолаверади. Сўнгра мазок ҳавода қуриштилади, унга иммерсион мойдан бир томчи томизиб, иммерсион объектив билан кўрилади.

Бактериология техникасида микробларни бўяш учун қуйидаги анилин бўёқлари ишлатилади: қизил бўёқлардан асосий фуксин, эритрозин; кўк бўёқлардан метилен кўки, тионин; бинафша бўёқлардан генциан-виолет, ме-

¹ Мазокни бўяган вақтда бўёқ бутун мазокни қоплаб туришни керак.

тил-виолет ва бошқа бўёқлар ишлатилади. Микроблар қуйидаги усулларда бўёлади.

1. Оддий усул. Бунда фиксация қилинган препаратлар фақат бир хил фуксин, метилен кўки, генциан-виолет каби бўёқлар билан бўёлади.



10- расм. Бўёқ солинадиган флаконлар.

2. Мураккаб усул. Бунда фиксация қилинган препарат бир неча хил бўёқ билан бўёлади. Масалан, Грамм ва Циль-Нильсен усулида.

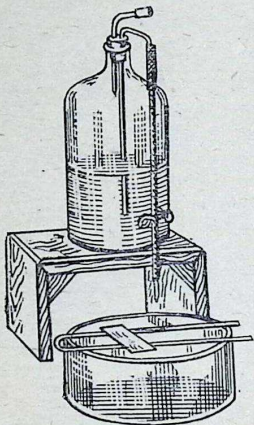
Бактерияларни Грамм усулида бўёш

Бактериялар Грамм усулида бўёлиш-бўялмаслигига қараб икки гурппага бўлинади: 1) Грамм усулида мусбат бўялувчи (грамм-мусбат) ва 2) Грамм усулида манфий бўялувчи (грамм-манфий) бактериялар.

Грамм усулида бўёш бактерияларнинг турини аниқлаш учун асосий белги бўлиб, у қуйидагидан иборат.

Қуритилган ва фиксация қилинган мазокка генциан-виолет бўёғидан қуйилиб, 1—2 минут сақланади. Сўнгра бўёқ сув билан ювиб ташланади ва мазокка Люголь эритмаси (Кj даги j эритмаси) томизилиб, 1—2 минут турғизиб қўйилади. Бу эритма ҳам сув билан ювиб ташланиб, мазок спиртга 0,5—1 минут солиб қўйилади. Сўнгра препарат яна сув билан ювилади ва унга фуксин бўёғидан қуйилади, 3—4 минутдан кейин бўёқ сув билан

ювилиб, мазок ҳавода қуритилгач, унга бир томчи иммерсион мой томизилади ва микроскопда иммерсион объектив билан қаралади. Грамм-мусбат усулида бўяладиган бактериялар протоплазмасида генциан-виолет билан йод эритмаси бирикмаси вужудга келади, бу эритма



11- расм. Препаратлар ювиладиган ўрнатма.

спиртда эримайди; бунда бактериялар спиртга боттирилганда рангини йўқотмай, тўқ бинафшалигича қолаверади. Грамм-мусбат усулида бўялмайдиган бактерияларнинг протоплазмасида генциан-виолет билан йод бирикмаси ҳосил бўлади-ю, спиртда эриб кетади, шунга кўра бактериялар рангини йўқотади. Рангсизланган бактериялар фуксин билан бўялганда қизил тусга ки-ради. Грамм-мусбат бакте-риялар микроскопда тўқ би-нафша, грамм-манфий бак-териялар эса қизил бўлиб кўринади.

Намуна учун препарат тиш киридан тайёрланади. Бунда грамм-мусбат бакте-риялар ва грамм-манфий бактериялар ҳам бўлади.

Грамм-мусбат бактериялар бўялиш жиҳатидангина эмас, бир қанча биологик хоссалари билан ҳам грамм-манфий бактерияларидан фарқ қилади. Жумладан, антибиотиклар грамм-манфий бактериялардан кўра грамм-мусбат бактерияларга тезроқ таъсир этади. Демак, бирон микробнинг Грамм усулида қандай бўялишига қараб, унга турли антибиотикларнинг қандай таъсир этишини олдиндан била оламиз.

Спораларни циль-нильсен усулида бўяш

Спораларнинг қобиғи ва протоплазмаси ҳужайра протоплазмасига нисбатан қийинроқ бўялади, шу са-бабли спораларни бўяш учун кучли бўёқ эритмаларини

ишлатиш ва мазокни қиздиришга тўғри келади. Споралар ҳужайра протоплазмасига нисбатан рангини секин, қийинлик билан йўқотади. Шунинг учун споралар қуйидагича бўялади.

1. Фиксация қилинган қуруқ мазок тайёрланади.

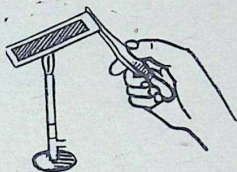
2. Мазокка фильтр қоғоз қўйилади, шу қоғоз устидан Циль фуксини қўйилади. Сўнгра буюм ойнасини пинцет билан бир учидан ушлаб, қайнагунча эмас, балки буғ пайдо бўлгунча горелка алангасида қиздирилади (12-расм). Шундай қизитиш 5 минут давом эттирилади. Бўёқ қиздирилганда қуриб қолмаслиги учун буюм ойнасига ҳаммиша Циль фуксинини томизиб қўшиб турилади.

3. Фильтр қоғоз пинцет билан авайлаб олинади.

4. Буюм ойнаси 1% ли сульфат кислота эритмасига 2 минут солиб қўйилади. Айни вақтда протоплазма ҳужайралари рангсизланади-ю, споралар қизиллигича қолаверади.

5. Препарат сув билан ювилади.

6. Препарат метилен кўки билан 1—2 минут давомида бўялади ва сув билан ювилади. Айни вақтда рангсизланган бациллалар кўк тусга киради, споралар эса қизиллигича қолаверади.



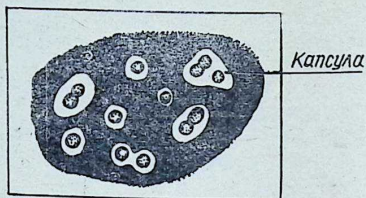
12- расм. Препаратни қиздириб бўяш.

Капсулаларни бўяш

Капсулаларни Жон, Гисс ва Омелянский усуллари каби бир неча хил усулда бўяш мумкин, булардан асосан Омелянский усулидан кўпроқ фойдаланилади.

Баъзи бактерия ҳужайралари шилимшиқ капсулалар билан ўралган. Бундай капсула бактерияларни қуриб қолишдан ва бошқа ноқулай шароитдан сақлайди. Капсулалар ёруғлик нурларини кам синдиради ва препарат махсус усулда бўялгандагина яхши кўринади. Негатив қилинган капсулалар Омелянский усулида қуйидагича бўялади: буюм ойнасига ярмича сув қўшиб суюлтирилган Циль фуксинидан бир томчи томизиб, текширила-

диган бактериялар бактериологик сиртмоқ билан ара-лаштирилади. 2—3 минутдан кейин фуксин томчисига суяқ тушъ томчиси қўшилади ва ойнага яхшилаб ёйи-лади. Препарат ҳавода қуририлиб, микроскопда иммерсион объектив билан текширилади. Айни вақтда буюм ойнаси



13- расм. Капсулаларни негатив усулида бўяш.

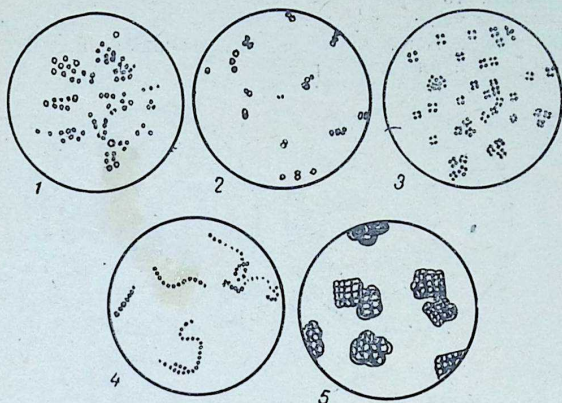
тушъ билан бўялиб, қора тусда кўринади, бактериялар-нинг ҳужайралари қизил бўлиб кўринади, капсулалар эса рангсиз бўлади (13- расм).

V. МИКРОБЛАРНИНГ ШАҚЛИ

Микроорганизмлар шаклига қараб бир неча группа-га: бактериялар, замбуруғлар, спирохеталар, вирусларга бўлинади.

Микроблар орасида табиатда бактериялар кўп тар-қалган бўлади. Бактериялар ҳужайраларининг тузили-шига қараб бир неча хил шаклда бўлади. Бактериялар ҳужайрасининг катталиги 0,2 микрондан 70—100 мик-ронгача бўлади. Танасининг эни эса 0,1 микрондан 1 микронгача бўлади.

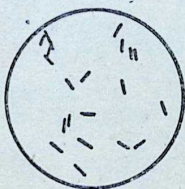
Шарсимон бактериялар ёки кокклар. Микрококк-лар — якка-якка бўлиб туради (14- расм, 1); дипло-кокклар — иккитадан бўлиб туради (10- расм, 2); тет-ракокклар — тўрттадан бўлиб туради (14- расм, 3); стрептококклар — мунчоққа ўхшаб тизилиб туради (14- расм, 4); сарциналар — тўп-тўп бўлиб куб шаклида жойлашган бўлади (14- расм, 5).



14- расм. Шарсимон бактериялар (кокклар):

1—микрококклар, 2—диплококклар, 3—тетракокклар, 4—стрептококклар, 5—сарциналар.

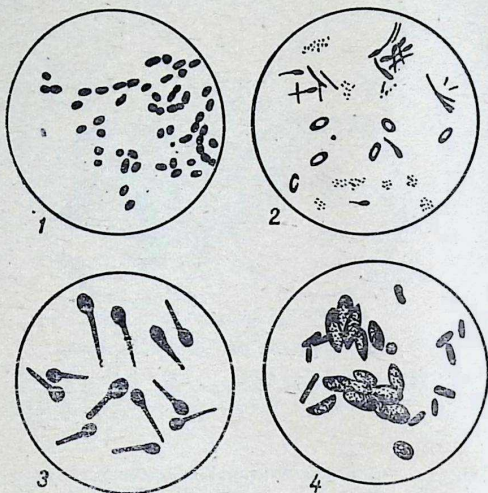
Таёқчасимон бактериялар: бактериялар — спора ҳосил қилмайдиган таёқчалар (15- расм); бациллалар — спора ҳосил қиладиган таёқчалар. Ҳар бир бацилла ҳужайрасида фақат битта спора ҳосил бўлади. Аксари бациллалар спора ҳосил қилиш пайтида шаклини ўзгартирмайди (16- расм, 1 ва 2).



15- расм. Бактериялар.

Баъзи бациллалар спора ҳосил қилганда таёқча шакли ўзгаради, чунки таёқчанинг спора ҳосил бўлган жойи кенгаяди. Агар спора таёқчанинг ўртасида ҳосил бўлса, таёқчанинг ўрта қисми кенгайиб, лимон ёки урчуқ шаклига киради. Бациллаларнинг бундай шакли кластридий дейилади (16- расм, 4).

Спора таёқчанинг бир учида ҳосил бўлса, таёқча фақат шу учидан кенгайиб, барабан таёқчасининг шакли олади. Бациллаларнинг бундай шакли плентридий деб аталади (16-расм, 3).



16-расм. Бациллалар:

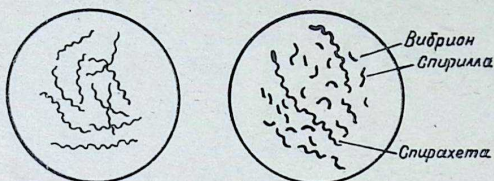
1 ва 2—ҳар бир ҳужайранинг марказида спораси бор таёқчалар. Таёқчалар спора ҳосил қилганда шакли ўзгармаган, 3—плентридийлар (барабан таёқчалари), 4—клостридийлар (урчуқсимон таёқчалар).

Бурамали бактериялар: вибрионлар — вергулга ўхшаш бир бурамали таёқчалар; спириллалар — латинча S ҳарфига ўхшайдиган, икки-уч бурамали таёқчалар; спирохеталар — спираль ёки штопорга ўхшайдиган сербурамали таёқчалар (17-расм).

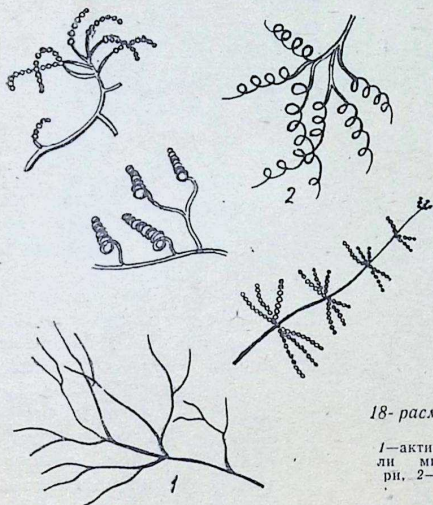
АКТИНОМИЦЕТЛАР

Актиномицетларда жуда ингичка ипсимон бир ҳужайрали мицелий бор. Уларда чинакам ядро йўқ. Мицелийнинг бир қисми субстратга ботиб турса, бир қисми субстрат устида жойлашиб, ҳаволи мицелийни

ҳосил қилади. Актиномицетлар ҳаволи мицелий иплари-
нинг эркин учларида спора ёки конидий ҳосил қилиш
йўли билан кўпаяди. Актиномицетлар мицелияси ту-
зилиш жиҳатидан содда моғорларга ва баъзи бир ху-
сусиятларига кўра бактерияларга ҳам ўхшайди (18- расм).



17- расм. Бурамали бактериялар.



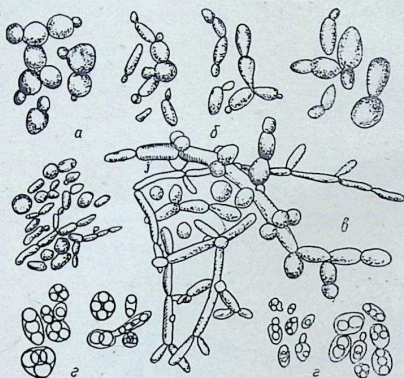
18- расм. Актиномицетлар:

1—актиномицетларнинг ҳаво-
ли мицелийи ва спорала-
ри, 2—актиномицетларнинг
колониялари.

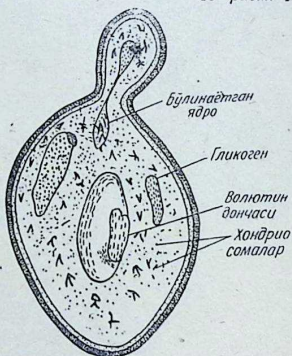
ЗАМБУРУҒЛАР

Замбуруғ ва ачитқилар тана тузилишига кўра бакте-
риялардан фарқ қилади. Улар уч хил усулда кўпаяди.
Вегетатив, жинсий ва жинсиз.

Бир ҳужайрали замбуруғлар. Ачитқи (дрожжи) замбуруғлари. Ачитқилар халтали замбуруғлар синфига киради. Ачитқи ҳужайралари думалоқ ёки чўзинчоқ, баъзан чўзиқ бўлади. Ачитқи ҳужайраларида



19- расм. Ачитқилар.

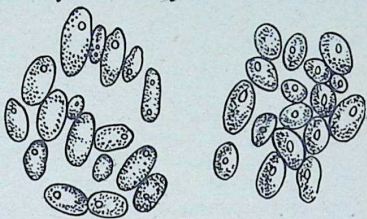


20- расм. Ачитқилар ҳужайрасининг тузилиши.

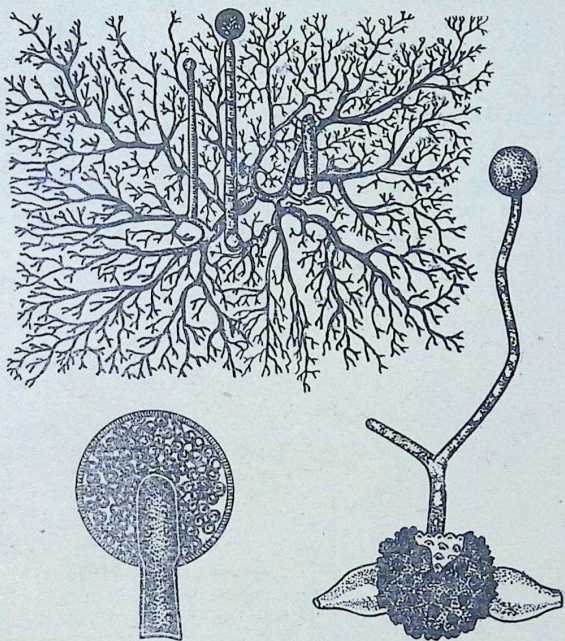
ҳайвон крахмали — гликоген тўпланади. Гликоген дурда ёки дона шаклида учрайди, булар йод билан бўялганда қизғиш-қўнғир тусга киради. Замбуруғлар ва ачитқилар Грамм усулида ҳам яхши бўялади. Ачитқи ҳужайралари бактерияларга қараганда хийла йирик бўлиб, куртакланиш йўли билан кўпаяди. Оч қолганда ва кислород тегиб турганда спорали халталар ҳосил қилади. Бу спорали халталар қулай шароит бўлиши билан

униб, ачитқи ҳужайраларига айланади, булар эса яна куртакланиш йўли билан кўпая бошлайди (19- расм).

Мукор замбуруғлари. Фикомицетлар синфи-
га киради. Мукор замбуруғларида йўғон бир ҳужайрали
мицелий бор. Улар жинсий йўл билан кўпайганда зигоспо-
ралар ҳосил қилади. Жинсиз кўпайган-
да эндоспоралар (спорангий) ҳосил
қилади. Спорангий
мицелийнинг махсус (спорангийли) шох-
чаларида вужудга
келади (22- расм).



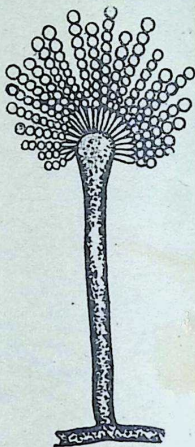
21- расм. Микодерма.



22- расм. Мукор.

Кўп ҳужайрали замбуруғлар. Кўп ҳужайрали замбуруғларга аспергиллсимонлар оиласи киради, буларда кўп ҳужайрали мицелий бор. Аспергиллсимонлар оиласи халтали замбуруғлар синфига киради, жинсий йўл билан кўпайганда спорали халталар ҳосил қилади. Бу оила икки авлодга бўлинади: аспергилл авлоди ёки лейкасимон моғор. Жинссиз кўпайганда споралар ёки конидийлар ҳосил қилади. Булар конидийли шохчаларда вужудга келиб, лейка шаклида жойлашади (экзоген споралар, 23-расм).

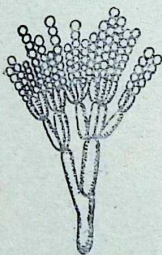
Пеницилла авлоди ёки шингилсимон моғор. Жинссиз кўпайганда споралар ёки конидийлар ҳосил қилади, булар конидийли шохчаларда вужудга келади ва шингилга ўхшаб жойлашади (экзоген споралар, 24-расм).



23-расм. Аспергилл ёки лейкасимон моғор.

МИКСОБАКТЕРИЯЛАР

Миксобактериялар ташқи кўринишидан бактерия ҳужайраларига ўхшаш бўлиб, танасининг учи ўткир ва қайрилгандир. Миксобактериялар асосан тупроқда, гўнгда ва ўсимлик қолдиқларида кўп учрайди. Миксобактериялар нейтрал муҳитда яхши ривожланади. Улар 25° дан 30° иссиқ температурада яхши ўсади. Миксобактерияларнинг катталиги 1—2 микрондон 10 микронгача бўлади. Миксобактериялар замбуруғ ва бактерияларга қараганда камроқ тарқалган бўлса ҳам уларга нисбатан антагонистик хусусиятга эгадир.



24-расм. Пеницилла ёки шингилсимон моғор.

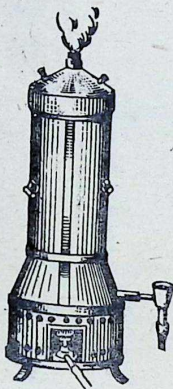
бўлади. Такомиллашмаган миксобактериялар ҳам бошлар меваги таналарни ҳосил қилмайди.

6. Миксобактерияларнинг деярли ҳаммаси пигмент чиқарди. Эндоген спора ҳосил қилмайди.

VI. ОЗИҚЛИ МУҲИТЛАРНИ ВА ИДИШЛАРНИ СТЕРИЛЛАШ УСУЛЛАРИ

Ҳар хил озиқли муҳит, идиш ва озиқ-овқат маҳсулотларида микроблар бўлади. Озиқли муҳитларни бузилишдан сақлаш учун микроблар турли усуллар билан йўқотилади. Микробларни юқори температурада йўқ қилиш процесси стерилизация дейилади.

Нам стериллаш. Нам стерилизация, яъни буғ ёрдами билан стериллаш учун Кох аппарати ва автоклав ишлатилади. Кох аппарати $70-100^{\circ}$ да стериллайди. Кох аппарати металл қозондан иборат бўлиб, унга сув қуйиладди. Сув устига тешик таглик қўйиладди (тешигидан буғ ўтиб туради), тагликнинг устига эса стерилизация қилинадиган нарсалар қўйилган таги тўрсимон челакича солинади. Қозон қўш тешикли қопқоқ билан ёпилади, унинг бир тешигидан буғ чиқиб кетади, иккинчи тешигига термометр қўйиладди. Сув электр элементи ёки газ горелкаси билан иситилади (26-расм).

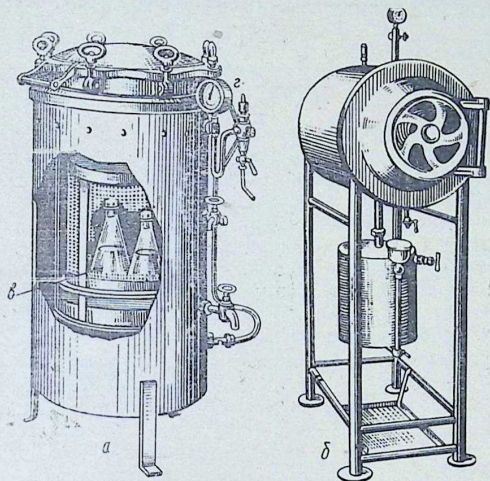


26-расм. Кох аппарати.

Автоклав $100-154^{\circ}$ температурада босим остидаги буғ билан стериллайди. Автоклав қўш деворли қозондан иборат бўлиб, винт билан жипс ёпиладиган қопқоғи, ҳаво ва буғ чиқарадиган жўмраги бор. Бундан ташқари, қозонга манометр ўрнатилган, у автоклав ичидаги буғ босимини кўрсатиб беради. Автоклавнинг эҳтиёт клапани ҳам бўлади. Автоклавга сув қуйиладди, сувнинг устида таглик туради, бу тагликда буғ ўтадиган тешиклар бор. Стерилизация қилинадиган материал ўша тагликнинг устига жойлана-

ди. Автоклавда ҳам сув электр элементи ёки газ горелка-
лари билан иситилади.

Автоклав қопқоғи жипс ёпилади, ичидаги сув қайна-
гунча иситилади. Автоклав ичидаги бутун ҳавони сув
буғлари қисиб чиқаргунча жўмраги очиб қўйилади. Ҳаво
чиқиб бўлгандан кейин жўмрак ёпилади, автоклав ичида



27- расм. Автоклав турлари:

а—вертикал, б—горизонтал шаклдаги автоклав, в—стерил-
лаш учун қўйилган нарсалар.

тўпланган буғ эса босимни оширади, натижада сувнинг
қайнаш температураси кўтарилади. Босим бир атмосфе-
рага етгач (манометрдан билинади), сувнинг қайнаш
температураси 120° га тенг бўлади. Босим остида 23—
30 минутгача шу даражада тутилади, сўнгра сувни иси-
тиш тўхтатилади. Автоклав манометрининг кўрсатган
босими билан қозон ичидаги иссиқликнинг тўғри экан-
лигини контрол қилиб туриш лозим.

Автоклавда буғ босими билан стериллаш тамом бўл-
гандан сўнг унинг қопқоғини бирдан очиш хатарлидир.

Автоклав совиб, манометр стрелкаси нолга тушгач,
қолдиқ буғни чиқариб юбориш учун жўмрак очилади.

Шундан кейингина автоклав қопқоғи очилиб, ичида стерилланган материал олинади. Нам стерилизация чала тўлиқ бўлиши мумкин.

3-жадвал

Манометрнинг кўрсатиши

Автоклав ичида ҳосил бўладиган температура	0 атм	1/2 атм	1 атм	2 атм	3 атм	4 атм
	100°	112°	120°	134°	144°	154°

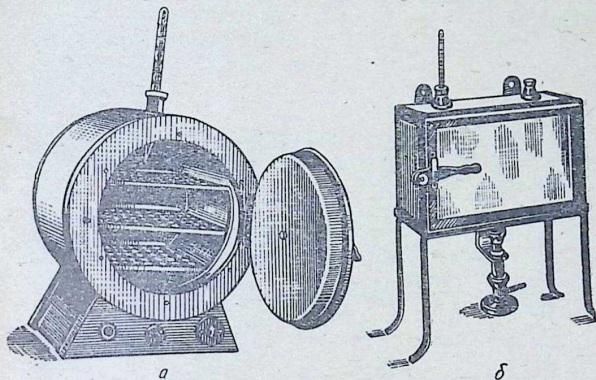
Чала стериллаш. Чала стерилизация ёки пастеризация нарсаларни бир марта 70—100° иссиқ температурада 10—30 минут қизитиб олиш демакдир. Бунда спорасиз бактериялар ўлади, холос. Спорали бактериялар эса тирик қолаверади. Пастеризация учун Кох аппаратида фойдаланилади.

Тўлиқ стериллаш. Тўлиқ стерилизация икки хил бўлади: тиндализация — қаторасига уч кун, кунига бир марта 30 минутдан Кох аппаратида 70—100° температурага қизитиш демакдир. Тиндализацияда спорали микроблар қирилади, чунки биринчи марта 100° гача қиздирилгандан кейин ўлмай тирик қолган споралар кейинги 24 соат ичида униб, таёқчаларга айланади, таёқчалар эса шу даврда яна спора ҳосил қилиб улгурмайди. Модомики шундай экан, биринчи қиздиришдан 24 соат кейин иккинчи марта 100° гача қиздирилса, споралардан ҳосил бўлган таёқчалар ўлади. Дастлабки қиздириш билан иккинчи марта қиздириш орасида ўтадиган вақт ичида қандай бўлмасин спора таёқчага айланиб улгурган бўлиши эҳтимол, деб учинчи марта 100° гача қиздирилади.

Автоклавда 120—130° температурада босим билан 20 минут давомида стерилланади. Бу температурада микробларнинг ҳаммаси — спорали ва спорасиз микроблар қирилади.

Қуруқ иссиқда стериллаш. Қуруқ иссиқ билан стерилизация қилиш учун қуриштиш шкафидан фойдаланилади, бу шкафда нарсалар 160—170° температурада икки соат сақланади. Асосан шиша идишлар (Петриликоччалари, пипеткалар ва ҳоказо) қоғозга ўраб қуруқ иссиқ билан стерилланади, шундай қилинса уларнинг

сиртига ҳаводан микроблар юқмайди. Барча микробларни қуруқ иссиқ билан ўлдириш учун температура нам стерилизациядагига қараганда юқорироқ бўлиши ва узоқроқ сақланиши керак. Бунинг сабаби шуки, қуруқ иссиқ билан стерилланганда микроб ҳужайраларидаги сув секин-аста буғланиб чиқади. Микроб ҳужайрасида сув қанча кам бўлса, уни нобуд қилиш учун ўшанча юқорироқ температура керак (28-расм).



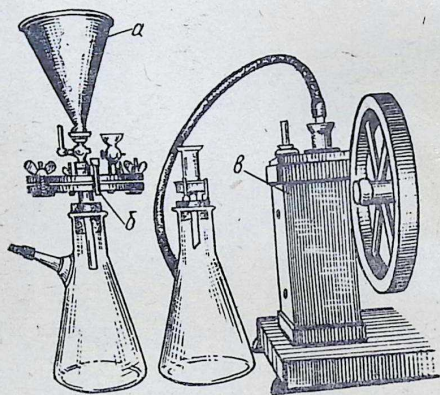
28- расм. Қуруқ иссиқ билан стериллаш учун қуритиш шкафлари.

Стериллашнинг бошқа усуллари. Микробларни юқори температурадан ташқари, ультрабинафша нурлар билан ҳам йўқ қилиш мумкин. Бунинг учун талайгина ультрабинафша нурларни сочадиган махсус лампалардан фойдаланилади. Ҳаво (бино ичидаги), сув ва бошқа жойлардаги микроблар ультрабинафша нурлар билан нуқотилади.

Фильтрлаб стериллаш усули ҳам қўлланилади. Қиздириб ёки заҳар воситасида стериллаш мумкин бўлмаган суюқликлар фильтрлаб стерилланади. Фильтрлаб стериллаш учун ғовак чинни, асбест филтрлар (29-расм) ёки коллодий филтрлар ишлатилади. Бу филтрларнинг тешиги жуда майда бўлгани учун бактерия ҳужайраларини ўтказмайди. Аммо бу филтрлар ультрамикробларни (вируслар, бактериофагларни) ўтказиб юборади.

Сууюқликларни пастроқ босимда фильтрлаш керак, босимни пасайтириш учун насослардан фойдаланилади.

Микробларни заҳарлар билан ҳам йўқ қилиш мумкин. Бу усул дезинфекция дейилади. Қиздириб стериллаш мумкин бўлмаган нарсалар (биноларда, уруғлик дориланганда ва шу кабиларда) дезинфекцияланади, яъни дориланади. Дезинфекция қилиш учун химиявий моддалар — сулема 1:1000, 1:10000 эритмаси, карбол кислота 2—5%, лизол 3%, формалин 3—4%, хлорамин 1—2%, оҳак 4—10 % ва бошқалар ишлатилади.



29- расм. Зейтчининг бактериал фильтри ва ҳавони тортадиган Камовский насоси.

Қишлоқ хўжалигига зарар келтирадиган ҳашаротларга қарши кураш дезинсекция дейилади. Қишлоқ хўжалигига зарар етказадиган кемирувчиларга қарши кураш дератизация дейилади.

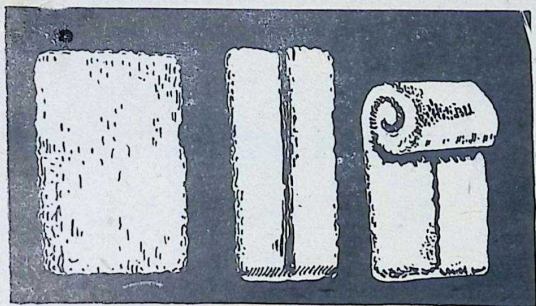
VII. ОЗИҚЛИ МУҲИТЛАР ТАЙЁРЛАШ

Микроорганизмларнинг хусусиятларини ўрганиш учун улар турли озиқ муҳитларида ундирилади. Микробларнинг яхши ривожланиши озиқ муҳити таркибида азот,

углерод ва минерал тузларнинг бўлишига боғлиқ. Бундан ташқари, муҳитнинг реакцияси микробнинг талабига жавоб бериши лозим.

Микроблар ундириладиган озиқ муҳитлари табиий, сунъий, оддий, мураккаб, суяқ ва зич бўлади. Табиий озиқларга сут, тухум, картошка ва бошқалар киради. Сунъий озиқларга эса азот, углевод ва турли минерал тузлар қўшиб тайёрланган гўшт бульони — ГПБ, ГПА, ГПЖ (гўшт-пептон бульони, гўшт-пептон ағари, гўшт-пептон желатина)лар киради.

Гўшт-пептон бульони тайёрлаш. Ёғсиз, суяксиз ва пайсиз гўшtdан 500 г олиб, мясорубкада қийма килина-



30- расм. Пахта пробкалар тайёрлаш.

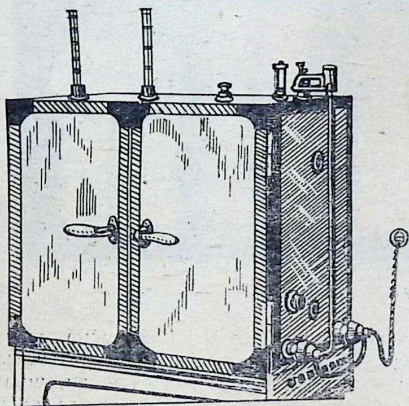
ди, устига водопровод сувидан 1000 мл қўйиб, совуққа 12 соат қўйилади. Кейин сурп латтадан ўтказилиб қайнатилади. Оқсиллар қайнаганда ивиб қолади, шунинг учун улар аввал сурп латтада сузилади, сўнгра букланган қоғоз филтрдан ўтказилади. Шу тариқа гўшт бульони (шўрваси) ҳосил бўлади. Шу бульонга 1% пептон ва 0,5% NaCl қўшилади. Пептон эригунча иситилади. Сўнгра махсус компаратор ёрдамида муҳитнинг реакцияси аниқланади. Натижада гўшт-пептон бульони ҳосил бўлади. Гўшт-пептон бульони яна қайнатилади ва букланган қоғоз филтрдан ўтказилади. Бульон пробиркаларга қўйилиб, оғзи пробка билан ёпилади ва автоклавда бир атмосфера босимида 20 минут стерилланади.

Озиқли муҳит қўйилган пробиркалар пахта пробка

билан ёпилади. Бунинг қулайлиги шундаки, пахта пробиркалар пробиркаларнинг ичида унаётган аксари микробларнинг нафас олиши учун зарур ҳавони ўтказди-ҳаводаги микробларни тутиб қолади (30-расм).

ЗИЧ ОЗУҚ МУҲИТЛАРИ ТАЙЁРЛАШ

Гўшт-пептон желатини тайёрлаш. Гўшт-пептон желатини тайёрлаш учун совуқ гўшт-пептон бульонига 10—15 % желатини қўшилиб, у плитка устида, сув ҳаммомида ёки Кох аппаратида эригунча иситилади. Шундан тарихи гўшт-пептон желатини тайёрланиб, пробиркаларга қуйилади ва булар Кох аппаратида 100° да қаторасинан уч кун 30 минутдан стерилланади. Автоклавда 100° да юқори температурада стериллаш ярамайди, чунки ж



31-расм.
Термостат.

латин қотмайдиган бўлиб қолади. Желатиннинг суюлиш температураси 24—27° атрофида бўлади. Желатиннинг қотиш температураси 18—20°. Желатин суякдан тайёрланади.

Гўшт-пептон агар-агар тайёрлаш. Совуқ гўшт-пептон бульонига 1,5—2 % агар-агар қўшиб, уни бўктириш мақсадида 5—10 минут шу ҳолда қўйилади, сўнгра сув ҳаммомида агар эриб бўлгунча қиздирилади. Шу тариқа

тайёрланган гўшт-пептон агар-агар пробиркаларга қуйилиб, автоклавда 120° да 20 минут стерилланади. Агар-агар муҳитларнинг суюлиш температураси 100° чама-сида; қотиш температураси эса $40-45^{\circ}$.

Ҳозирги вақтда зич озиқ муҳитлари тайёрлаш учун асосан агар-агар ишлатилади, чунки агар-агар желатинга қараганда кўп афзалликларга эга. Биринчидан, агар-агарни $1,5-2\%$ қўшиш кифоя, желатинни эса $10-15\%$ қўшиш керак. Иккинчидан, агар-агарнинг суюлиш температураси желатиннинг суюлиш температурасига қараганда юқорироқ, шунга кўра микробларни $40-50^{\circ}$ температурада ундирганда ҳам агар-агарли муҳитлар зич тураверади. Учинчидан, желатинни кўп микроблар суюлтириб юборади, агар-агарни эса микроблар суюлтира олмайди. Агар-агар денгиз сув ўтларидан олинади.

Ҳар хил микробларни ундириш учун табиий озиқ муҳитлари — стерилланган сут, сабзавот (картошка, сабзи) ва муайян химиявий моддалардан тайёрланган ҳар хил синтетик озиқ муҳитлари ишлатилади.

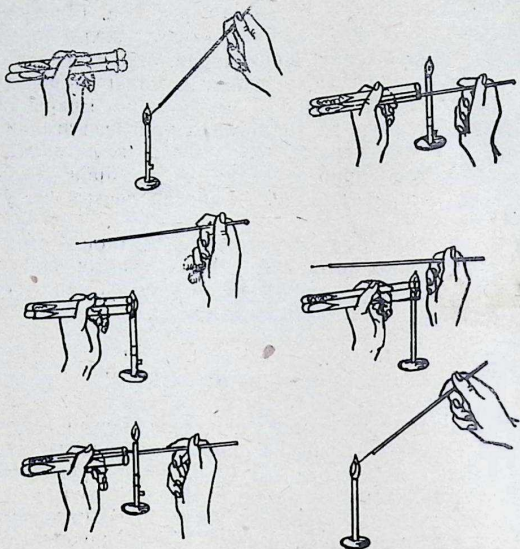
VIII. МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ЭКИШ

Микробларни ундириш учун стерилланган озиқ муҳитлари тайёрланади. Таркибида микроорганизмлар бўлган бирор материални (тупроқ, сув, озиқ-овқат) стерилланган озиқ муҳити юзасига тушириш экиш дейилади. Унган микробларни озиқ муҳити солинган бир идишдан (пробирка, колба, Петри ликобчасидан) янги стерилланган озиқ муҳити солинган иккинчи идишга кўчириш ҳам экиш ёки қайта экиш дейилади. Микробларни озиқ муҳитига экканда ҳаводан ёки теварак-атрофдаги нарсалардан ёт микробларнинг тушишига йўл қўймаслик учун қуйидаги ишлар қилинади.

1. Спирт лампаси ёқилади.

2. Чап қўлга иккита — биринчиси, униб чиққан ва қайта экиладиган бактериялар жойланган; иккинчиси, стерилланган озиқ муҳити солинган пробиркалар олинади. Бактериялар униб чиққан пробиркадан иккинчи пробиркага микроблар олиб экилади. Пробиркалар горизонтал ушланади (32-расм, а).

3. Бактериологик сиртмоқ тикка ушланиб, спирт лампасининг алангасида қизаргунча қиздирилади. Сўнгра сиртмоқ аланга устидан ётиқ ҳолда ўтказилади, сиртмоқнинг симинигина эмас, дастасини ҳам микроблар нобуд бўлиши учун алангадан ўтказиш керак (32- расм, а).



32- расм. Микроорганизмларни пробиркадан пробиркага экиш схемаси.

4. Иккала пахта пробка ўнг қўлнинг жимжилоғи билан кафти орасида ушланиб, пробиркалар очилади (32- расм, б).

5. Иккала пробирканинг четлари спирт лампасининг алангасига тутиб қиздирилади (32- расм, б).

6. Сиртмоқ микробли пробиркага тиқилиб, аввал микробсиз жойига тегизилади, бундан мақсад, сиртмоқнинг ҳаддан ташқари қизиб кетмаганлигини текшириб кўришдир, сўнгра сиртмоқ билан микроблар ёки микроблар аралашган суюқликдан бир оз олинади

(32-расм, в), бунда сиртмоқни пробирканинг деворларига тегизмасдан янги стерилланган озиқ муҳити солинган иккинчи пробирканинг ичига тиқилади (32-расм, г) ва сиртмоқ қаттиқ озиқ муҳити устига суркалади ёки озиқ муҳити суёқ бўлса, суёқликка ботириб олинади.

7. Пахта пробкаларнинг пастки учлари ва пробиркаларнинг четлари алангага тутиб куйдирилади ва иккала пробирканинг оғзи ёпилади (32-расм, д).

8. Сиртмоқни спирт лампасининг алангасига тутиб қизаргунча қиздирилади (32-расм, е).

Анаэроб микробларни экиш учун улар зич озиқ муҳитининг (гўшт-пептон агар, гўшт-пептон желатина) орасига киритилади, бунда у санчиб экилади. Бунинг учун бактериологик нина ишлатилади. Бундай нина симининг учи сиртмоққа ўхшаб қайрилган эмас, балки ўткирлангандир. Юқорида айтилган қондаларга амал қилиб, бундай нина билан бир оз микроб олинади-да, қаттиқ озиқ муҳити устунча шаклида қотган пробирканинг тагигача санчилади (33-расм).



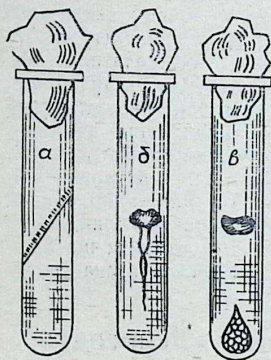
33-расм.
Санчиб экиш.

IX. МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ КИСЛОРОДГА БЎЛГАН МУНОСАБАТЛАРИ

Табиатда учрайдиган микроорганизмлар ҳаво кислотасига бўлган муносабатларига қараб иккига бўлинади: 1) ҳаво кислотасидан фойдаланадиган микроорганизмлар, яни аэроблар; 2) ҳаво кислотасидан фойдаланмайдиган микроорганизмлар — анаэробларга бўлинади.

Анаэроб гурпуага кирувчи микроорганизмлар ҳаёт фаолиятида, гарчи ҳаводаги эркин кислотадан фойдаланмаса ҳам, уларнинг яшаши учун оз миқдорда бўлса-да кислотадан керак. Анаэроблар керакли кислотадан ҳар хил озиқ муҳитларини парчалаш йўли билан олади. Кислотасиз яшаш усули анаэробнинг дейилади. Микроорганизмларнинг анаэробнинг усулда ривожлани-

шини биринчи бўлиб француз олими Пастер аниқлаган. Демак, анаэробларнинг нафас олиши уларнинг озикла- нишига боғлиқ. Табиатда учрайдиган микроорганизмлар орасида шундай микроблар ҳам борки, улар кислородли ва кислородсиз шароитда ривожланишга мослашган. Бундай микроблар факультатив ёки шартли анаэроб ва аэроблар дейилади. Демак, табиатда учрайдиган микроорганизмлар нафас олиш усулига қа- раб, уч группага: аэроб, анаэроб ва факультатив аэроб микробларга бўлинади. Анаэроблар облигат, яъни қатъий анаэроблардир, чунки кислород улар- га нисбатан заҳарли ҳисобланади.



34-расм. Микроорганизмларнинг кислородга бўлган муносабатла- ри:

а—аэроб, б—факультатив анаэроб,
в—ҳақиқий анаэроб.

Микроорганизмларнинг кислородга нисбатан муно- сабатларини ўрганиш наза- рий ва амалий аҳамиятга эга. Озик муҳитларини про- бирка ёки колбаларга қуй- ганда турли микробларнинг ҳаво кислородига турлича муносабатда бўлишини ҳам назарда тутмоқ керак.

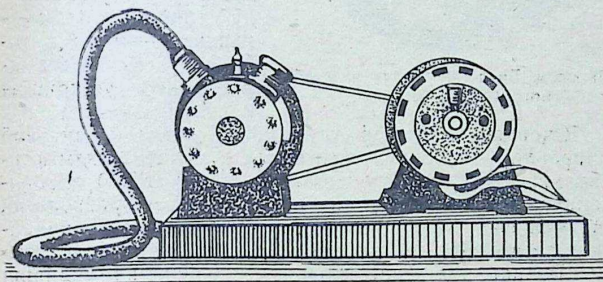
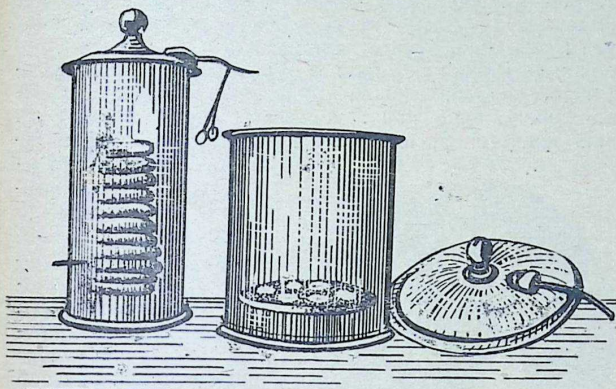
Аэробларни ундириш учун озик муҳити юпқа қат- лам қилиб қуйилади, бунда унинг юзасига ҳаво мумкин қадар кўпроқ тегиб туради- ган бўлиши керак. Шу мақ- садда қаттиқ озик муҳит- лари пробирка баландлиги- нинг фақат 1/3 қисмигача қуйилади ва фиксация қи- лиш учун қийшайтириб қў- йилади, натижада озик му- ҳитининг ҳаво тегиб туради-

ган юзаси жуда ҳам катталашади (қийшиқ гўшт-пеп- тон агари).

Облигат анаэробларни ундириш аэроб микроорга- низмларни ундиришга нисбатан мураккаброқ бўлади. Қатъий анаэроблар физик, химиявий ва биологик усул- лар билан ундирилади.

Физик усул. Бу усулда анаэроб микроорганизм- ларни ўстириш учун махсус идишлардан (эквикатор)

фойдаланилади. Микроорганизмлар экилган ликобчалар ва пробиркалар эксикаторлар ичига жойлаштирилиб, унинг ичидаги ҳаво насос билан тортиб олинади. Сўнгра эксикаторлар термостатга жойланади.

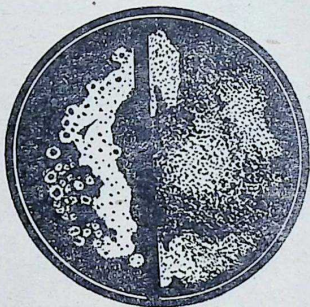


35- расм. Эксикатор ва ҳавони тортадиган насос.

Химиявий усул. Бу усул анаэроб микроорганизмларни ўстиришда ишлатиладиган идишлар ичидаги кислородни химиявий моддалар билан реакцияга киришиб йўқ қилишга асослангандир. Бунинг учун эксикатор ичига шиша идишда натрий карбонат ва натрий

гидросульфит солиб, ҳар иккаласига оз-оздан сув қўшиб аралаштирилиб, эксикаторга қўйилади, сўнг унинг четига вазелин суртилиб термостатга қўйилади.

Биологик ёки Фортнер усули. Бу усулда анаэроб микробларни ўстириш микроорганизмларнинг ҳамкорлик (симбиоз) хусусиятига асосланади. Бунинг учун Петри ликобчасига қалин қилиб озик муҳити қўйилади, у қотгандан сўнг иккига бўлинади. Биринчи қисмига аэроб микроб, иккинчи қисмига эса анаэроб микроблар экилиб, ликобчанинг ичига ҳаво кирмаслиги учун унинг қопқоғи орасига юпқа қоғоз тиқиб парафин қўйилади, сўнггра у термостатга қўйилади. Биринчи, иккинчи суткада ликобчада аэроб микроорганизмлар униб чиқиб, улар ликобча ичидаги молекуляр кислород тамом қилганларидан сўнг учинчи, тўртинчи кунлари анаэроб микроблар униб чиқади. Фортнер усули жуда қулай ва осон бўлганлиги учун лабораторияларда анаэроб микробларни ўстиришда кўп қўлланилади.



36- расм. Биологик усулда анаэроб микробларни ундириш.

Юқорида айtilган усуллардан ташқари, анаэроб микробларни ундириш учун бошқа усуллардан ҳам фойдаланиш мумкин. Масалан, озик муҳити (ГПА) пробирканинг 2/3 қисмигача қўйилиб, унга микробиологик сиртмоқ ёрдамида санчилиб экилади. Сўнггра пробирканинг оғзи пробка билан ёпилиб устига парафин қўйилади. Бундан ташқари, анаэроб микробларни ундириш учун гўшт-пептон ва жигар бульонидан фойдаланиш мумкин, бу Китт-Тароцци муҳити дейилади.

Микроорганизмлар нафас олганда турли органик бирикмалар оксидланади, натижада маълум миқдорда иссиқлик ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган иссиқликнинг оз-кўплиги микроорганизмларнинг нафас олиш турига боғлиқ.

Китт-Тароцци муҳити қуйидагича тайёрланади: қорамол ёки от жигари 2—3 г дан қилиб тўғралиб колбага

солинади, колбадаги жигарнинг оғирлигига нисбатан уч баробар кўп реакцияси нейтрал бўлган гўшт-пептон бульонидан қўшиб, 30 минут давомида қайнатилади. Сўнгра бульони филтрланиб, жигар бўлакчалари элакчада сув билан ювилади. Филтрланган бульон 7—8 мл дан бир неча пробиркага қуйилиб, уларнинг ҳар қайсисига 4—5 донадан ювилган жигар бўлакчалари солинади ва устига вазелин ёғи қуйилиб 0,7 атм (115°C да) да 30 минут стерилланади.

Х. МИКРОБЛАРНИНГ ТУРИНИ АНИҚЛАШ

Бактерияларнинг турини аниқлаш ўсимлик ва ҳайвон турини аниқлашга қараганда мураккаброқ, чунки бунинг учун морфологик белгиларнинг ўзини билиш кифоя қилмайди. Бунинг икки сабаби бор: биринчидан, бактериялар шакли жуда ҳам содда, иккинчидан, уларнинг физиологик хоссалари ғоятда хилма-хил бўлади.

Микроб колонияларининг катта, кичик, қуруқ ва ҳўл, усти силлиқ ёки бурушган, четлари текис ёки арра тишига ўхшаш ғадир-будур бўлиши ва ранг ҳосил қилиши уларнинг зоти ва турига боғлиқ.

Микроблар озиқ муҳотида ўсиш даврида турли ранг ҳосил қилади, бу пигмент дейилади. Пигментлар оқ, сариқ, қизил ва бошқа рангда бўлади. Озиқ муҳотидаги микроб колониялари ўрганилгандан сўнг, улардан тайёрланган препарат оддий ёки Грамм усулида бўялиб, микроскоп билан микробларнинг шакли ҳам ўрганилса, мукамал ва атрофлича тушунчага эга бўлинади.

Шунга кўра бактерияларнинг тури морфологик, физиологик ва культурал (ўсиш) хоссаларига қараб аниқланади. Шу билан бирга бактерияларнинг морфологик хоссалари — уларнинг оила ва авлодларини таърифлаш учун, физиологик ва культурал хоссалари эса бактерияларнинг турларини аниқлаш учун асос қилиб олинади.

МОРФОЛОГИК БЕЛГИЛАРИ

Морфологик белгиларига бактерияларнинг шакли (коклар, таёқчалар ва ҳоказо); бактериянинг катталиги; спора ҳосил қила олиши; ҳаракатчанлиги; Грамм усулида бўялиши киради.

ЎСИШ БЕЛГИЛАРИ

Ўсиш белгилари — микробнинг ҳар хил озиқ муҳитларида ўсиш хусусиятлари демакдир. Чунончи: гўшт-пептон бульонида ўсиш хусусиятлари —



37- расм. Картошка паррасида микробларнинг ўсиши.

парда ҳосил қилиши, шу парданинг хили (силлиқ, бурушган), лойқа ҳосил қилиши, чўкма ҳосил қилиши; гўшт-пептон агарида ўсиш хусусиятлари — Петри ликобчасидаги колонияларнинг шакли ва ранги, пробиркада қия, гўшт-пептон агаридagi колонияларнинг шакли ва ранги; картошкада ўсиш хусусиятлари — бир бўлак картошка юзасидаги колонияларнинг шакли ва ранги. Ликобча ва картошкада кўрилган микроб тўплamlари ҳамда шакллари куйидаги жадвалга ёзинг.

4- жадвал

Тўпламнинг ташқи кўриниши					Бактерияларнинг шакли			Грамм усулида бўялиши	
шакли	ранги	катта ва кичиклиги	четининг кўриниши	устки кўриниши	шарсимон	таёқчасимон	бурилгансимон	граммманфий	грамммусбат

ФИЗИОЛОГИК БЕЛГИЛАРИ

Асосий физиологик белгилар куйидагилардан иборат: **Озиқланиш характери.** Углерод манбаларидан (моносахаридлар, дисахаридлар, полисахаридлар, спирт,

лар, мойлар ва ҳоказолар); азот манбаларидан (оқсил, пептон, аминокислоталар, минерал азот тузлари, эркин азотдан) фойдаланилади; углеводларда ўсганда газ, кислота ва спирт ҳосил қилади; аммиак ҳосил қилади, желатинни суюлтириш (38-расм). Нафас олиш хараكتери. Ҳаво кислородига муносабати (аэроблар, анаэроблар, факультатив анаэроблар).

ХІ. МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ КУЛЬТУРАСИНИ ТАЙЁРЛАШ

Соф культура ҳақида тушунча. Озиқли муҳитда бошқа микроблардан ажралган ҳолда бир ҳужайранинг кўпайишидан ҳосил бўлган микроб ҳужайраларининг макроскопик (кўзга кўринарли) тўплами шу микроб турининг соф культураси дейилади.

Микробнинг соф культурасини олиш учун бир неча усул бор, жумладан зич озиқли муҳитлар ёрдами билан соф культура олиш усули кўпроқ расм бўлиб кетган (39-расм).

Бу усуллар қуйидагилардан иборат.

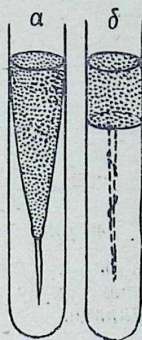
Микроблар аралашмаси бўлган бир озгина материаллар (сув, тупроқ, озиқ-овқат ва ҳоказолар) пробиркада стерил сув билан бир марта суюлтирилади ёки аввал стерил сув билан суюлтирилади, кейин пробиркада эритилиб 40—50° гача совитилган агарли муҳит билан суюлтирилади ва яхшилаб чайқатилади. Сўнгра агарли муҳитда суюлтирилган



39-расм. Петри ликобчаси.

микробли пробирка стерил Петри ликобчасига ағдарилди ва агарли муҳит фиксация қилинади. Шундан кейин Петри ликобчаси термостатга қўйилади.

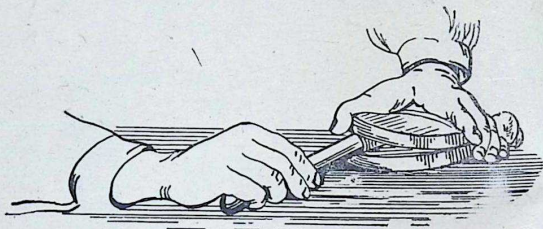
Петри ликобчасидаги фиксация қилинган зич озиқли муҳитда айрим микроб ҳужайраси бир жойдан иккинчи



38-расм. Желатиннинг суюлиши:

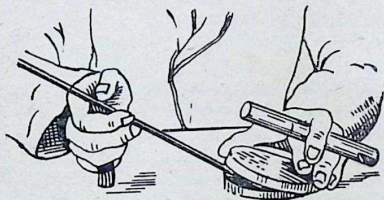
а—«пайпоқ шаклида»,
б—қават-қават бўлиб суюлиши.

жойга сурила олмайди (суюқ муҳитда эса сурилиши мумкин), бундай ҳужайра қаерга тушган бўлса, ўша жойда ўсиб кўпаяди. Шу бир ҳужайранинг кўпайиши-



40- расм. Озиқли муҳитни Петри ликобчасига қуйиш.

дан бир турнинг бир талай ҳужайралари ҳосил бўлиб тўпланади, бу эса кўзга асбобсиз кўринади ва колония дейилади.



41- расм. Петри ликобчасидаги колонияларни пробиркага экиш.

Одатда бундай колония соф культура ҳисобланади. Унга Петри ликобчасидаги бошқа микробларнинг колонияларидан ҳаво орқали ёки бошқа йўл билан микроблар тушмаслиги учун униб чиққан колониядан стерил озиқли муҳит солинган айрим пробиркага бактериологик сиртмоқ билан микроб олиб экилади. Пробиркада униб чиққан бир тур бактериялар соф культура ҳисобланади.

Электив ва кўпайтирувчи культура ҳақида тушунча.

С. Н. Виноградский электив (сайланма) муҳитлар ва микробларнинг электив культуралари деган таълимотни ишлаб чиққан. Бу таълимот экологик принципларга

асосланади. Турли микроблар учун турлича озиқланиш, аэрация шароити, муҳитдаги водород ионлари концентрацияси (рН) ва шу кабилар керак. Шу сабабли турли микробларнинг аралашмасини фақат бир турли ёки бир группа микробларнинг ривожланиши учун қулай келадиган махсус муҳитда, яъни электив муҳитда ундирганда шу муҳит қайси микроб учун қулай бўлса, фақат ўша микроб турини кўпайтирамиз, бошқача айтганда; шу микробнинг электив культурасини оламиз. Бу электив муҳитда бошқа микроблар ё бутунлай ривожлана олмайди ёки жуда кам ривожланади. Шундай электив культурадан шунга ўхшаш электив муҳитга кетма-кет микроб олиб экилаверса, мазкур муҳитда ривожландиган бир турли ёки бир группа микробларгина секин-аста кўпайиб қолади. Бундай культура кўпайтирувчи (ёки бойитилган) культура дейилади. Кўпайтирувчи культуранинг соф культурадан фарқи шуки, ундаги микроблар асосан бир турли микроблардан иборат бўлса-да, унда бошқа микроблар ҳам бир озгина миқдорда бўлади, бу микроблар шу шароитда гарчи кўпаймаса ҳам, тирик сақлана олади. Соф культура эса фақат бир турли микроб хужайраларидан иборатдир. Масалан, табиий углерод манбаи бўлган клетчаткали муҳит целлюлоза микроблари учун электив муҳит ҳисобланади. Таркибида боғланган азот бўлмаган муҳит фақат ҳаво азотини фиксация қиладиган микробларнинг ривожланиши учун яроқли (электив) ҳисобланади.

Ҳаво азотининг киришига йўл қўймайдиган озиқли муҳитлар анаэроб микроблар учун электив муҳит ҳисобланади.

Кислоталар кўпроқ муҳитда фақат кислотани хоҳлайдиган микроблар ривожлана олади ва ҳоказо.

ХII. ТАШҚИ МУҲИТ ФАКТОРЛАРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМЛАРГА ТАЪСИРИ

Микроорганизмлар истеъмол қиладиган озиқлар муҳитининг кислотали, ишқорий ёки нейтрал бўлиши уларнинг ҳаёт фаолиятида катта аҳамиятга эга. Микроблар яшайдиган муҳитнинг кислотали, нейтрал ёки ишқорий бўлиши муҳитнинг таркибидаги водород ионлари концентрациясига боғлиқ. Муҳитдаги водород ионларининг

концентрацияси учун шартли белги қилиб рН олинган. Агарда микроб яшайдиган муҳит (рН) унинг талабига мос бўлса микроблар тез ривожланади.

Микроблар ташқи муҳитда яшаш жараёнида ҳар хил реакцияга дуч келади ва унда яшашга мослашади. Чунинчи: замбуруғ ва ачитқилар кам кислотали муҳитда яхши ривожланади ($\text{pH}=3,0-6,0$), баъзи бир бактериялар аксинча нейтрал ёки кам ишқорий муҳитда яхши ўсади ($\text{pH}=7,7-8,0$).

Сут, мой, сирка ва лимон кислоталар ҳосил қилувчи бактериялар кислотали муҳитда яшашга мослашган, сабаби улар ўз ҳаёт-фаолиятларида турли кислоталар ишлаб чиқаради. Озиқлар муҳитидаги рН ни аниқлаш учун икки хил усулдан фойдаланилади.

1. Оддий ва осон усул — лакмус қоғози билан рН аниқланади. Бунда муҳитдаги водород ионлари тўғрисида аниқ маълумот бўлмайди, шу сабабдан тахминий маълумотга эга бўламиз.

2. Калориметрик усул. Бунда водород ионларининг концентрациясини аниқлаш учун компаратор аппаратлари ва ҳар хил рангдаги стандарт индикаторлардан фойдаланилади.

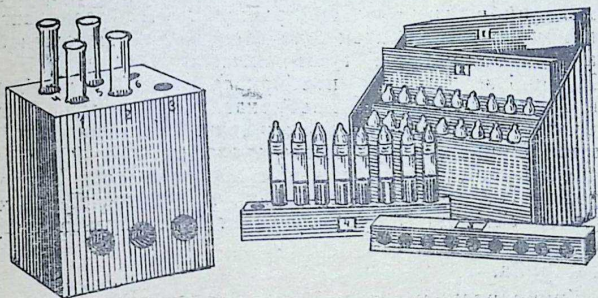
Калорометрик усулда аниқланганда Вальполь компаратори ва Михаэлиснинг рангли стандарт пробиркаларидан фойдаланиш мумкин. Бу усулда муҳитдаги рН тўғри аниқланади.

ВАЛЬПОЛЬ КОМПАРАТОРИ БИЛАН МУҲИТДАГИ ВОДОРОД ИОНЛАРИ КОНЦЕНТРАЦИЯСИНИ АНИҚЛАШ

Пробиркадаги муҳит Вальполь компараторига қўйилиб, Михаэлис шкаласи стандарт пробиркасининг ранги билан солиштирилади. Компараторнинг юқоридан тешиклари тўғри ва ёнидан қарайдиган тешиклари бўлади. Юқоридаги тешиклари бир неча бўлиб, улар нумерланган. Компараторнинг юқоридан тўғри тушган тешиклари стандарт ва муҳит солинган пробиркалар қўйилади, сўнг ён тешиклари орқали ундаги суюқликнинг ранги кўрилади. Масалан, 1- тешикка 2 мл аниқланадиган муҳит 4 мл дистилланган сув ва 0,3% метанитрофенолдан 1 мл қўйилган пробирка қўйилади. 2- тешикка эса 2 мл аниқланадиган муҳит ва 5 мл дистилланган сув солинган пробирка қўйилади. 4- тешикка 7 мл дистилланган сув солинган пробирка қўйилади. 5- тешикка Михаэлис шкала-

сидаги рангли стандарт пробиркалардан бири қўйилиб, сўнгра унинг ён тешигидан қараб муҳит индикатор пробиркасининг рангига мосланади. Шундай қилиб, иккала пробирканинг ранги бир-бирига ўхшаса стандарт пробиркада кўрсатилган рН нинг миқдори аниқланаётган муҳитни билдиради.

Сунъий ёруғликда рН аниқланганда компараторнинг кўк ойнасидан фойдаланилади. Компаратор ёрдамида микробларга мос рН ни аниқлаш мумкин. Масалан, рН 8,0 бўлиши учун Михаэлис шкаласидаги рН 8,0 ёзилган стандарт пробирка 5-тешикка қўйилади. Биринчи тешикка эса муҳит текшириладиган пробирка қўйилади. Муҳитнинг рангини 5-тешикдаги стандартга мослаш учун 1-тешикдаги рН аниқланаётган пробиркага пипетка билан 0,1 н. Na_2CO_3 эритмаси қўйилади ва компараторнинг ён тешикларига қараб, иккала пробирканинг ранги бир хил қилинади. Сўнгра 1-пробиркадаги текширилатган муҳитнинг рН и 8,0 бўлиши учун сарфланган эритма 1 л муҳитга бараварланади. Масалан, 2 мл муҳитнинг



42- расм. Вольполь компаратори ва Михаэлис индикаторлари.

рН ини 8,0 қилиш учун 0,3 мл 0,1 н. Na_2CO_3 эритмаси кетган бўлса, 1 л муҳитга бу эритмадан қанча кетади?

2 мл — 0,3 мл 0,1 н. эритма
1000 мл — x — „ —

$$X = \frac{1000 \cdot 0,3}{2} = 150 \text{ мл.}$$

Микроорганизмларнинг ҳаёт-фаолияти ташқи муҳит факторлари билан чамбарчас боғланган бўлиб, улар

микроорганизмларга ижобий ёки салбий таъсир қилиши мумкин. Микроорганизмларнинг ҳаёт-фаолиятига ташқи муҳит факторларининг таъсирини қуйидаги тажрибаларни қилиб аниқлаш мумкин.

1- тажриба.

Микробларнинг кўпайишига иссиқ ёки совуқнинг таъсирини билиш учун иккита стерилланган Петри ликобчасига суюлтирилган ва $40-50^{\circ}$ гача совитилган гўшт-пептон ағари қўйилади. Ликобчалардаги муҳит фиксация қилингандан сўнг унга микробларнинг соф культураси экилиб, 5 минут очиб қўйилади, сўнгра уларга ёрлиқлар ёпиштирилиб, биринчи ликобча 0°C холодильникка, иккинчиси эса $+25^{\circ}\text{C}$ термостатга қўйилади. Бир неча кундан сўнг ликобчалар кўздан кечирилади. Шунда холодильникка қўйилган ликобчада микроб тўплами бўлмайди. Термостатга қўйилган ликобчада эса микроблар пайдо бўлади.

2- тажриба.

Микроорганизмларнинг ҳаёт-фаолиятига муҳит реакциясининг таъсирини аниқлаш учун учта стерилланган пробиркага гўшт-пептон бульони қўйилиб, масалан: биринчи пробиркадаги гўшт-пептон бульонига 10% ли HCl дан 1 мл, иккинчи пробиркага 1 мл 10% ли NaOH дан 1 мл, сўнгра учала пробиркага бир хил микроб ёки ачитқининг соф культураси экилади. Пробиркаларга ёрлиқлар ёпиштириб, уй температурасида ($18-20^{\circ}\text{C}$) бир неча кун сақлангандан кейин пробиркаларда микробларнинг ўсган-ўсмаганлиги маълум бўлади. Пробиркалардаги ГПБ да микроблар ўсган бўлса бульон лойқа ланади.

3- тажриба.

Микроорганизмлар ҳаёт-фаолиятига заҳарли моддаларнинг таъсирини аниқлаш учун иккита пробиркадаги ГПА суюлтирилиб, $35-40^{\circ}\text{C}$ гача совитилади, сўнгра пробиркаларга бактериал сиртмоқ ёрдамида микробнинг соф культураси юқтирилгандан кейин уларни кафт орасига олиб яхшилаб аралаштирилади ва Петри ликобчасига қўйилади, ликобчалар эса эҳтиётлик билан ниша қилиниб, улардаги ағар бир текис қилинади. Биринчи ликобчадаги ағар фиксация қилингандан сўнг унинг қопқоғини қия очиб стерилланган пинцет билан бир бўлакча мис купороси (CuSO_4) ағар устига қўйилади.

Иккинчи ликобча эса контрол ҳисобланади. Ликобчалар 72 соат давомида 25°C термостатга қўйилади. Агар-агар устидаги мис купороси атрофида микроб ўсмайди, контрол ликобчада микроб ўсади.

4- тажриба.

Микробларнинг ўсишига фитонцидларнинг таъсирини аниқлаш учун иккита стерилланган Петри ликобчасига 10—15 мл дан суюлтирилган ГПА солинади. Ликобчалардаги ГПА қотгандан сўнг улар 5 минут давомида очиб қўйилади, сўнгра ликобчалардан биттасининг қопқоқчасига черемуха ё рябина куртагидан қилинган бўтқа ёки саримсоқ пиёздан тайёрланган бўтқа солиниб, улар бир неча кун 25°C иссиқ термостатга қўйилади. Сўнгра ликобчаларда микробларнинг ўсган-ўсмаганлиги аниқланади.

Юқоридаги ўтказилган тажрибаларнинг натижалари қуйидаги жадвалга ёзилади.

5- ж а д в а л

Тажриба хиллари	Иссиқ ва совуқ		Муҳит реакциясининг таъсири					Фитонцид- лар таъсири	
	0°	25°	кисло- тали	ней- трал	ишқо- рий	крис- талл атро- фида ўзга- риш	кон- трол ликоб- чада- ги мик- роб- лар- нинг ўси- ши	таж- риба ли- кобча	кон- трол ли- кобча

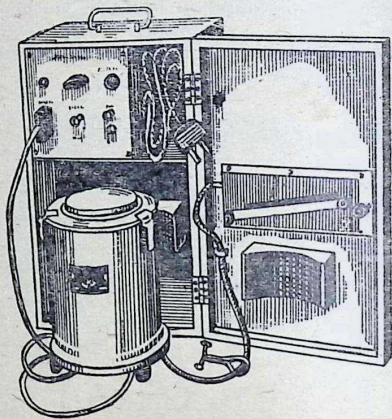
ХIII. ҲАВОДАГИ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНИҚЛАШ УСУЛИ

Ҳавода микроблар учун озиқли моддалар йўқлигидан кўп микроблар яшай олмайди. Микробларнинг ҳавода узоқ яшай олмаслигининг яна бир сабаби шуки, ҳавода етарли даражада намлик бўлмайди ва қуёш нури микробларга зарарли таъсир этиб туради. Шу сабабли

кўпчилик микроблар ҳавода узоқ вақт яшай олмайди. Фақат спора ҳосил қилувчи бациллаларгина ҳавода узоқ вақт яшайди.

Кўпчилик микроорганизмлар ҳавога шамол билан ердан кўтарилади. Ҳаводаги микроорганизмларнинг миқдори йил фаслига ва жойнинг иқлимига боғлиқ. Ҳаводаги микроорганизмларнинг миқдори икки хил усулда: 1) Кратов аппарати билан, 2) Кох усулида текширилади.

Кратов аппаратида ҳавонинг микрофлорасини аниқлаш. Бу аппарат маълум вақт ичида керакли ҳавони микроб ўсадиган Петри ликобчасидаги озиқли муҳитга йўналтириб беради. Сўнгра ликобчалар аппаратдан олиниб 25° иссиқ термостатга 4—5 кун қўйилади. Кратов

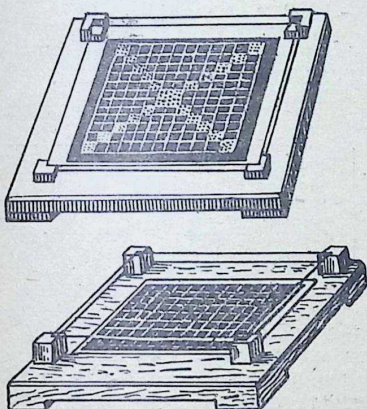


43- расм. Кратов аппаратишнинг кўриниши.

аппарати 127 в ёки 220 в электр энергияси билан ҳар қандай келадиган. Ҳавонинг микрофлорасини аниқлашда Кратов аппаратишнинг афзаллиги шундан иборатки, ҳаводаги микроорганизмларнинг маълум қисмини бир тиккисда Петри ликобчасидаги муҳитга экади. Ликобчада унган микроблар умумий қабул қилинган усул билан аниқланади. Ҳаводаги бактерияларни аниқлаш билан бир қаторда, замбуруғларни ҳам аниқлаш мумкин. Ба

терияларни аниқлашда ГПА муҳити ишлатилса, ҳаводаги замбуруғлар учун сусло-агардан фойдаланилади.

Ҳаводаги микроорганизмларни Кох усулида аниқлаш. Бу усул билан ҳаводаги микроорганизмларнинг сони ва турларини тахминан аниқлаш учун стерилланган Петри ликобчасига сув ҳаммомида иситилиб суюлтирилган ГПА муҳити қўйилиб, спирт горелкаси ёнига қўйилади; муҳит ликобчада қотгандан сўнг ҳаво текшириладиган жойга олиб бориб, маълум вақтгача (5—10 минут) қопқоғи очиб қўйилади. Шу вақтда ҳаводаги микроорганизмлар ликобчадаги муҳитга чўкади. Сўнггра ликобчанинг қопқоғини ёпиб, тагига ҳаво экилган кунни, неча минут очиқ қолдирилганлиги, студентнинг фамилияси ва группаси ёзилиб, тўнтарилган ҳолида термостатга қўйилади. Шунинг учун ҳам бу усулни ҳавони чўктириб экиш усули дейилади.



44- расм. Санаш тахтаси.

Ликобча маълум вақтдан кейин термостатдан олиниб муҳит юзасида униб чиққан микроорганизм колониялари санаш тахтаси ёрдамида саналиб, 1 м^3 ҳаводаги микроорганизмларнинг умумий сони аниқланади. 1) ликобчадаги муҳитнинг сатҳи $\Pi\text{г}^2$ ($\Pi=3,14$, г — ликобчанинг радиуси) формуласи билан аниқланади; 2) 1 дм^2 сатҳдаги

колониялар сони аниқланади; 3) 1 м³ ҳаводаги бактериялар сони ҳисоб қилинади. Масалан, Петри ликобчасининг диаметри 9 см бўлиб, унда 28 микроб колонияс униб чиққан.

1) Петри ликобчасининг сатҳи аниқланади ($3,14 \times 4,5^2$ ёки $3,14 \times 20,25 = 63,6 \text{ см}^2$);

2) 1 дм = 1 сатҳидаги колониялар сони аниқланади (1 дм² = 100 см² ёки 10 л ҳавога тенгдир), бунда қуйидаги тенглама тузилади: 28 тўплам — 63,6 см².

X тўплам — 100 см².

$$X = \frac{28 \cdot 100}{63,6} = 44 \text{ тўплам};$$

3) 1 м³ (1 м³ = 1000 л га тенг) ҳаводаги бактериялар сонини билиш учун қуйидаги тенглама тузилади:

$$\frac{44 - 10 \text{ л}}{X - 1000 \text{ л}} = \frac{44 \cdot 1000}{10} = 4400.$$

Демак, 1 м³ ҳавода 4400 бактерия борлиги аниқланиб қуйидаги жадвалга ёзилади:

6-жадвал

Текширилган жой	Униб чиққан колонияларнинг сони	Ликобча-нинг сатҳи	Микроблар сони	
			10 л ҳавода	1 м ³ ҳавода
Аудитория № 32	28	63,6	44	4400

Бактериялар сони аниқлангандан сўнг, ликобчадаги униб чиққан бактериялар тўпламининг сифати аниқланади. Бунинг учун ҳар бир студент 2—3 колонияни танлаб олиб, унинг культурал ва морфологик хусусиятини текшириб, натижасини дафтарига ёзади.

XIV. ТУПРОҚДАГИ БАКТЕРИЯ ВА ЗАМБУРУҒЛАРНИНГ МИҚДОРНИ АНИҚЛАШ

Тупроқда микробларнинг яшаб кўпайиши учун қулай — керакли бўлган турли органик ва минерал моддалар ҳамда етарли даражада намлик бўлади. Бунинг ус-

тига тупроқнинг ишқорли ёки кислоталилиги (рН) микробларга мос келиши ва тупроқнинг устки қатламида яшовчи микроблар учун аэроб шароит бўлиши микро-организмларнинг яшаб кўпайишига янада қулайлик яра-тади. Тупроқда яшайдиган микроблар миқдори ҳамма ерда бир хил эмас, яъни гўнг билан ўғитланган, экин экилган ерларда, аҳоли яшайдиган жойларнинг тупроғи-да ва қора тупроқли ерларда микроб жуда кўп, қир, дала ва ўсимлик кам ўсадиган қумлик ерларда кам учрайди.

Тупроқдаги микроорганизмларнинг сони ҳар хил усул билан аниқланади. Шулардан тупроқдан эритма тайёр-лаб, зич муҳитга экиб, микробларнинг сонини аниқлаш энг қулай усул ҳисобланади. Тупроқнинг микрофлора-сини аниқлашда асосан ГПА ёки БПА муҳитларидан фойдаланилади. Тупроқ микрофлораси сонини аниқлаш учун 10—20 см чуқурликдан намуна олиб, 1 г тупроқ тарозида тартиб олиниб, эритманинг охириги даражаси 1:1 000 000 бўлгунча стерилланган сувга аралаштири-лади. Бунинг учун ажратиб олинган 1 г тупроқ стерил-ланган колбага солиниб, устига 99 мл стерилланган сув қуйилади. Сўнгра 3 минут давомида чайқати-либ аралаштирилади. Ҳосил бўлган аралашмадан стерилланган пипетка билан 1 мл олиб, 9 мл стериллан-ган сув солинган биринчи пробиркага қуйилади. У ях-шилаб аралаштирилгандан сўнг 1 минут давомида биринчи пробиркадан пипетка билан 1 мл аралашмани олиб, 9 мл стерилланган сув қуйилган иккинчи пробир-кага солинади. Худди шу тартибда иккинчи пробиркадан 1 мл аралашма олиб, учинчи пробиркага солинади, учин-чи пробиркадан 1 мл олиб тўртинчи пробиркага солина-ди, тўртинчи пробиркадан 1 мл олиб бешинчи пробиркага солинади. Натижада охириги эритманинг концентрацияси 1:1 000 000 бўлади.

Микробни экиш. Ҳосил бўлган охириги эритмадан сте-рилланган пипетка билан 1 мл дан учта Петри ликобча-сига солинади, сўнгра ликобчаларга эритилган ва 40—45°C гача БГА (дуккакли ўсимликдан тайёрланган агар) ёки ГПА қуйилади ва уни секин чайқаб эритма муҳитга аралаштирилади. Ликобчадаги муҳит қотган-дан сўнг 3 кун давомида 25° иссиқ термостатга қўйилади.

Микроблар миқдорини аниқлаш. Учала ликобчадаги униб чиққан микроблар колонияларининг ўртача сони аниқланади. Микроб колониялари саналганда ликобча-

нинг қопқоғи очилмаслиги керак. Масалан, биринчи ликобчада 40 та, иккинчисида 30 та, учинчисида эса 50 та микроб колонияси борлиги аниқланди, бунда чиққан сонларнинг ҳаммасини қўшиб, 3 га бўлиб, эритма даражасига кўпайтирилади: $\frac{40 + 30 + 50}{3} \cdot 1000000 = 4000000$

Шундай қилиб 1 г тупроқда 40 000 000 бактерия борлиги аниқланди. Бу усул жуда қулай ва осон ҳисобланади. Агар ликобчада микроб тўпламлари кўп ўсиб чиққан бўлса махсус санаш тахтаси ёрдамида микроблар санаб 1 г тупроқ ҳисобига айланттирилади.

Тупроқдаги микробларнинг сонини аниқлаш билангина чегараланиб қолмасдан, балки униб чиққан микроорганизмларнинг культурал ва морфологик белгиларини ҳам ўрганиш керак. Бу қишлоқ хўжалиги микробиологиясида катта аҳамиятга эгадир. Микробларнинг культурал белгилари ўрганилганда колониянинг ранги, катта-кичиклиги ва шаклига аҳамият бериш лозим. Морфологик хусусиятлари эса микроб колониясидан препарат тайёрлаб микроскопда кўриш билан аниқланади. Студент, тупроқ микроорганизмларининг хусусиятларини ўрганиши учун ликобчада ўсиб чиққан микроблар колониясидан 3—4 тасини олиб, микроскопда кўриши ва унинг кўзга кўринган белгиларини дафтарига ёзиши керак.

Тупроқдаги замбуруғларнинг миқдорини аниқлаш. Тупроқдаги замбуруғларнинг сонини аниқлаш учун олдин тайёрланган эритмадан бактерияни экиш усулида, сусло-агарли учта ликобчага 1 мл дан экилади, сўнгра ликобчалар 5 кун давомида 25° иссиқ термостатда сақланади. Униб чиққан замбуруғлар ҳам 1 г тупроқдаги бактериялар саналгани каби ҳисоб қилинган усулда санаб чиқилади.

Униб чиққан замбуруғлар сони маълум бўлгандан сўнг уларнинг турлари ва оиласи аниқланади. Тупроқдаги замбуруғлар сонини С. Н. Виноградский ва О. Г. Шульгина усулида ҳам аниқлаш мумкин. Бунинг учун тупроқдан 5 г намуна олиб колбада 50 мл стерилланган сув билан 5 минут давомида аралаштирилиб эмульсия тайёрланади, кейин 1—2 секунд давомида тиндирилгандан сўнг ундан стерилланган пипетка билан 0,01 мл олиб 4 см² буюм ойнасига текис ёйиб қуритилгандан кейин алангада қиздирилади ва карбол эритрозин билан 30 минут бўялади. Эритрозин фақат препаратдаги микроб

хужайраларинигина бўййди, тупроқ заррачалари бўялмасдан ажралиб қолади. Бўялган препарат сув билан ювилиб қуритилади ва микроскопда иммерсион объектив билан қаралади. Микроскопнинг кўриш майдонидаги микроблар сони аниқланади. Кўриш майдонидаги микробларнинг ўртача сони қуйидаги формулага кўра ҳисоблаб топилади:

$$e = \frac{b \cdot v}{a}, \quad X = \frac{b \cdot v \cdot e}{r},$$

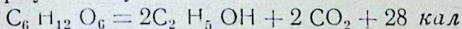
бунда a — кўриш майдонининг сатҳи. Уни аниқлаш учун радиуси окуляр линейка билан ўлчанади ва сатҳи πR^2 формуласига мувофиқ ҳисоблаб топилади; b — кўриш майдонидаги микробларнинг ўртача сони; v — препарат сатҳи ($4 \text{ см}^2 - 400 \text{ мм}^2$); r — препаратга сурилган тупроқ миқдори ($0,001 \text{ г}$); e — 4 см^2 сатҳидаги, яъни $0,001 \text{ г}$ тупроқдаги бактериялар сони. X — 1 г тупроқдаги бактериялар сони.

1 г тупроқдаги бактериялар бу усулда аниқланганда жуда катта сон чиқади, чунки ҳисобга ўлик бактериялар ҳам киради. Ўлик ва тирик бактерияларни фарқ қилмасдан ҳисобга олиш бу усулнинг камчилиги ҳисобланади.

ХV. БИЖҒИШ

СПИРТЛИ БИЖҒИШ

Спиртли бижғишда қанд парчаланиб, этил спирти ва CO_2 вужудга келади. Бу бижғишга ачитқи замбуруғлари ёки ачитқилар сабаб бўлади. Спиртли бижғиш — ачитқиларнинг анаэроб нафас олиши демакдир. Спиртли бижғиш формуласи шундай:

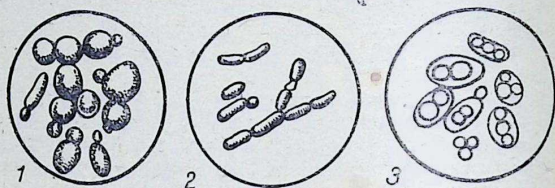


Ачитқилар — факультатив анаэроблар. Улар аэроб шароитда ҳам, анаэроб шароитда ҳам яшайверади. Ачитқилар чин ачитқилар ва сохта ачитқилар деган икки оиллага бўлинади.

А. Чин ачитқилар оиласи икки гурппага бўлинади: маданий ачитқилар ва ёввойи ачитқилар. Маданий ачитқилар нон ёпиш, пиво, вино тайёрлаш корхоналарида ишлатиладиган ачитқилардан иборат бўлиб, *Saccharomyces* туркумига киради. Улар йирик, юмалоқ ёки чўзинчоқ бўлиб, куртакланиш йўли билан кўпаяди (45-расм, 1). Хужайраларда запас озиқ модда — гли-

коген (ҳайвон крахмали) бор. Ачитқи ҳужайралардаги гликогенни аниқлаш учун «эзилган» томчи препарат қуйидагича тайёрланади: буюм ойнасига сув ўрнига Люголь эритмасидан бир томчи томизилади, унга ачитқиларни аралаштириб, қоплағич ойна ёпилади. Ачитқи ҳужайраларидаги гликоген доналари қизғиш-қўнғир тусга киради. Пиво ёки хамир ачитқилари (*Saccharomyces cerevisiae*) билан танишиш учун қуруқ мазок тайёрланади. Препарат метилен кўки билан бўялади.

Ёввойи ачитқилар табиатда кенг тарқалган. Кўпинча корхона зараркунандалари ҳисобланади. Ёввойи ачитқилар чўзиқ бўлиб, куртакланиш ёки бўлиниш йўли билан кўпаяди (45-расм, 2). Бойитилмаган муҳит



45-расм. Чин ачитқилар:

1—маданий ачитқилар; 2—ёввойи ачитқилар; 3—ачитқиларнинг спора ҳосил қилиши.

ларда ҳаво кислороди бўлганда ҳамма чин ачитқилар спорали халтачалар ҳосил қилади (45-расм, 3).

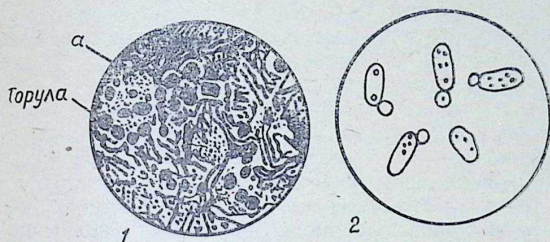
Б. Сохта ачитқилар оиласи спорали халтачалар ҳосил қилмайди, фақат куртакланиш йўли билан кўпаяди. Қандни салгина ачитади ёки бутунлай ачитмайди. Сохта ачитқилар оиласи икки туркумга бўлинади:

1. **Торула туркуми** — юмалоқ ачитқилар бўлиб, қандни бижғитади, натижада бир озгина спирт ҳосил қилади (46-расм, 1). Улар табиатда кенг тарқалган. Ачиган сут маҳсулотлари, силос ва тузланган сабзавотларда доимо бўлади.

2. **Микодерма туркуми** — чўзиқ ҳужайралар парда ҳосил қилувчи ачитқилардир (46-расм, 2). Улар қандни бижғитмай, CO_2 ва H_2O га қадар оксидлайди. Аэроблар суюқлик юзасида парда ҳосил қилади. Кўпинча озиқ-овқат корхоналарининг (масалан, сирка тайёрлаганда, сабзавот тузлаганда ва ҳоказо) зараркунандалари ҳисобланади.

Спиртли бижғишда ачитқилар қандни парчалайди, амалда 50% CO_2 ва 50% этил спирти ҳосил бўлади.

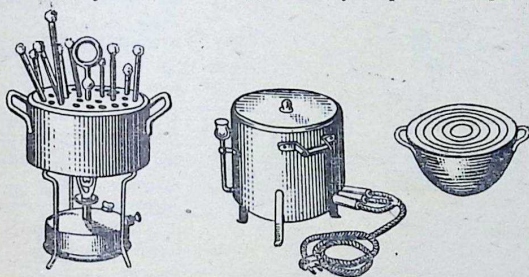
Ачитқи бир минутда қанча кўп қандни парчалаб, спирт ва CO_2 ҳосил қилса, уларнинг бижғитиш энергияси ўшанча кўпроқ бўлади. Бижғиш энергиясини аниқламоқ учун глюкозанинг 10% ли эритмасидан 50 мл олиб кол-



46- расм. Сохта ачитқилар:

1—торула (қимиздан тайёрланган препарат); 2—микодерма, а—ачи-
ган сут таёқчалари.

бага қўйилади ва унга прессланган ачитқилардан 1—2 г дан солинади. Бижғиш жараёнини тезлаштириш учун колба 30—35°C сув ҳаммомига 1-соат қўйилади, сўнгра колбанинг оғзи эгри шиша най ўрнатилган каучук проб-ка билан маҳкам бекитилади, найнинг иккинчи учига сув тўлатилиб, сувли шиша идишга тўнтарилган пробирка



47- расм. Сув ҳаммомлари.

ичига киритилади. 30—40 минут ўтгандан сўнг, колбада ажралаётган карбонат ангидрид эгри шиша най орқали тўнтарилган пробиркага боради, пробиркада ҳаво пу-

тари ҳосил бўлганини кўрамиз. Қолбадаги биж-
н суюқликда спирт ҳосил бўлади. Спиртли бижғиш
нини кузатишда махсус асбобдан фойдаланилади
(асм).

нд бижғиганда 50% CO_2 ва 50% спирт ҳосил бўл-
гидан, эритмадаги спиртнинг оғирлиги ҳавога учиб
ни CO_2 нинг оғирлигига тенгдир, яъни $g=e$. Бижғи-
данд оғирлиги $\text{CO}_2 + \text{спирт}$ оғирлигига тенг, яъни
 $g+e$. Бинобарин, бижғиган қанд процентини билмоқ
қуйидагича ҳисоб қиламиз:

$$e = a - b, \quad g = e, \quad d = g + e,$$

$$X = \frac{d \cdot 100}{g};$$

қанд бижғигунча қолбадаги оғирлигини,
қанд бижғигач қолбадаги оғирлигини,
қолбадаги қанднинг оғирлигини,
ҳавога учиб кетган CO_2 нинг оғирлигини,
 g —эритмадаги спиртнинг оғирлигини,
 d —бижғиган қанднинг оғирлигини,
 x —бижғиган қанднинг процентини ифода қилувчи.
С

ислотали
сут кисло-
бактериялари са-
бўлади. Сут
лота бактер
факт
ағ

арнин
афас оли
кдир. Су
ияларнин
и учун қу
дир, чунк
бактери
аёт фа

лияти учун зарур қанд ва бошқа моддалар бор. Сут кислота бактериялари сутни бижғитар экан, бир талай сут кислотани ҳосил қилади. Бу кислота сутда бошқа микробларнинг кўпайишига тўсқинлик қилади. Шу сабабли қатикда асосан сут кислота бактериялари ва бир озгина ачитқилар бўлади. Булар учун ҳам муҳитнинг кислотали реакцияси қулайдир. Ҳом сут 30—35° температурада сақланса, сут кислота бактериялари сут кислотани ҳосил қилиши туфайли 10—12 соатдан кейин ачийди.

Сут кислота бактериялари икки гурппага бўлинади:
А. Типик сут кислота бактериялари — спорасиз, ҳаракатсиз, грамм-мусбат, факультатив анаэроб кокклар ва таёқчалардан иборат бўлиб, бир талай сут кислота ҳосил қилади. Сут маҳсулотларида ва ачитилган сабзавотларда кўп бўладиган асосий вакиллари: Сут кислота стрептококк (*Streptococcus lactis* (48-расм, 1—2) сутда бўлади. Таёқчалар.

ри —
б
д
бодр
ғитади.
— Бу ба
дан ҳамда

факчалари ҳосил бўлганини кўрамиз. Колбадаги бижғиётган суюқликда спирт ҳосил бўлади. Спиртли бижғиш жараёнини кузатишда махсус асбобдан фойдаланилади (47-расм).

Қанд бижғиганда 50% CO_2 ва 50% спирт ҳосил бўлганлигидан, эритмадаги спиртнинг оғирлиги ҳавога учиб кетувчи CO_2 нинг оғирлигига тенгдир, яъни $г = е$. Бижғиган қанд оғирлиги $\text{CO}_2 +$ спирт оғирлигига тенг, яъни $д = г + е$. Бинобарин, бижғиган қанд процентини билмоқ учун қуйидагича ҳисоб қиламиз:

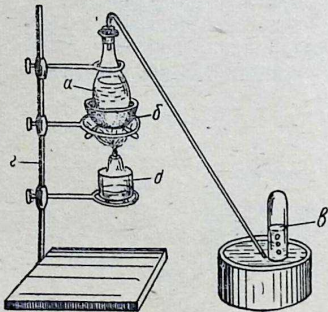
$$е = а - б, \quad г = е, \quad д = г + е,$$

$$X = \frac{д \cdot 100}{в};$$

бунда $а$ —қанд бижғигунча колбанинг оғирлигини,
 $б$ —қанд бижғигач колбанинг оғирлигини,
 $в$ —колбадаги қанднинг дастлабки оғирлигини,
 $е$ —ҳавога учиб кетган CO_2 нинг оғирлигини,
 $г$ —эритмадаги спиртнинг оғирлигини,
 $д$ —бижғиган қанд оғирлигини,
 $х$ —бижғиган қанд процентини ифодалайди.

Сут кислотали бижғиш

Сут кислотали бижғишга сут кислота бактериялари сабаб бўлади. Сут кислота бактериялари—факультатив анаэроблар, аммо улар анаэроб шароитни яхши кўради, шундай бўлгач, сут кислота ҳосил қилиб бижғиш — уларнинг анаэроб нафас олиши демакдир. Сут шу бактерияларнинг озиқланиши учун қулай муҳитдир, чунки сутда шу бактерияларнинг ҳаёт фао-



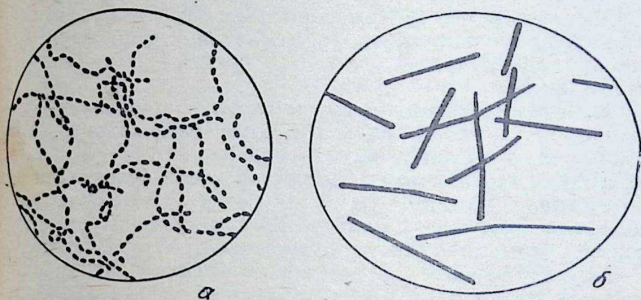
48-расм. Спиртли бижғиш жараёнини кузатиш асбоби:

$а$ —шакар билан ачитқи аралаш эритма солинган колба; $б$ —сув ҳаммоми; $в$ —спиртли бижғиш вақтида ажралиб чиққан CO_2 газни тўплаб олиш учун қўйилган пробирка; $г$ —штатив; $д$ —спирт лампаси.

лияти учун зарур қанд ва бошқа моддалар бор. Сут кислота бактериялари сутни бижғитар экан, бир талай сут кислотани ҳосил қилади. Бу кислота сутда бошқа микробларнинг кўпайишига тўсқинлик қилади. Шу сабабли қатиқда асосан сут кислота бактериялари ва бир озгина ачитқилар бўлади. Булар учун ҳам муҳитнинг кислотали реакцияси қулайдир. Ҳом сут 30—35° температурада сақланса, сут кислота бактериялари сут кислотани ҳосил қилиши туфайли 10—12 соатдан кейин ачийди.

Сут кислота бактериялари икки гурппага бўлинади:

А. Типик сут кислота бактериялари — спорасиз, ҳаракатсиз, грамм-мусбат, факультатив анаэроб кокклар ва таёқчалардан иборат бўлиб, бир талай сут кислота ҳосил қилади. Сут маҳсулотларида ва ачитилган сабзавотларда кўп бўлади. Асосий вакиллари: Сут кислота стрептококки—*Streptococcus lactis* (48-расм, 1—2) сутда бўлади; йирик сут кислота таёқчала-



49-расм. Сут кислота бактериялари:
а—сут кислота стрептококки; б—болгар таёқчаси.

ри—*Bact. Bulgaricum* (болгар таёқчаси 49-расм, 3) булар ҳам сутда учрайди; сут кислотанинг майда таёқчалари—*Bact. cucumeris fermentati*—бодрингни ачитади ва *Bact. Brassicae*—карамни бижғитади.

Бу бактериялар билан танишмоқ учун қатиқ ва сутдан ҳамда музлаган сабзавотлар сувидан препарат тай-

ёрлаб қуритилиб спирт алангасида ёки Никифоров аралашмасида қотирилиб, метилен кўки ёки карбол фуз сини билан бўялиб, микроскоп остида иммерсион объектив билан кўрилади. Спирт ва эфир микробларни ўлдиради, уларни ойнага ёпиштиради ва препаратни бўяш халал берадиган сут мойини эритиб юборади. Микроскопда кўрилган сут кислота бактерияларининг расмларига дафтарга солинади. Муҳитда сут кислота борлигини аниқлашда асосан қуйидаги усуллардан фойдаланилади:

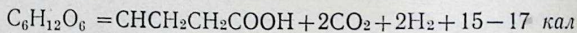
- 1) қатикда сут кислота борлигини билмоқ учун Уффельман реакцияси ўтказилади. Бунинг учун бир процентли фенол эритмасидан 5 мл олиб, кучсиз FeCl_2 эритмасидан бир неча томчи қўшилса, сут кислотанинг темирли туз ҳосил бўлиши туфайли эритма сарғаяди.
- 2) сабзавотни ҳисобга оlish ачитадиغان сут кислота бактерияларини аниқлаш учун тузланган бодринг ёки карам сувидан 1—2 мл олиб, филтрлаб, ҳосил бўлган филтратга 5 мл сульфат кислота ва 10 томчи тўйинтирилган мис купороси эритмасидан қўшиб яхшилаб аралаштириб, 100° иссиқ сув ҳаммомида 5 минут сақлаб, сўнгга совитилади ва 1—2 томчи 0,2% тиофеннинг спиртдаги эритмасидан қўшилади. Агар филтратда сут кислота бўлса, филтрат тўқ-қизил ранга ҳосил қилади.

Б. Типик бўлмаган сут кислота бактериялари — споронос, ҳаракатчан грамм-манфий таёқчалардир. Улар қандни бижғитганда бир озгина сут кислота, сирка кислота CO_2 , H_2 ва бошқа моддалар ҳосил бўлади. Энг кўп учрайдиган вакили — ичак таёқчаси (*Bact. coli*). Табиатда кенг тарқалган бўлиб сув, тупроқ, гўнгда, ҳайвон ва одам ичагида ва бошқа субстратларда учрайди.

Типик бўлмаган сут кислота бактерияларининг бошқаларига хиллари ҳам кўп. Уларнинг баъзи хиллари жавдар унидан нон пиширганда ишлатилади.

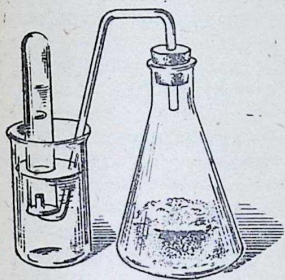
Мой кислотали бижғиш

Мой кислотали бижғиш — қанднинг анаэроб шаронтида парчаланишидан мой кислота, CO_2 ва H_2 ҳосил бўлиши демақдир:



¹ Спирт билан эфирнинг баравар аралашмасига Никифоров аралашмаси дейилади (1 : 1).

Мой кислотали бижғиш — мой кислота бактерияларнинг анаэроб нафас олиши демакдир. Мой кислота бактерияларнинг ҳаммаси қатъий анаэроблар бўлиб, ҳаракатчан, спорали таёқчалардир.



50-расм. Мой кислотали бижғишни кузатадиган асбоб.

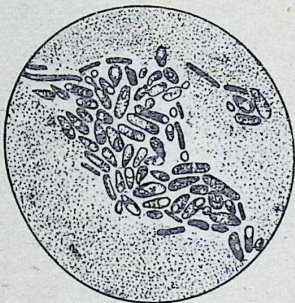
Мой кислота бактерияларнинг электив култура сини олишда бир неча хил муҳитдан фойдаланилади. 1) хом картошка тўғраб пробиркага солинади. Пробиркада анаэроб шароит тўғдириш учун устидан анчагина сув қўйилади, ишқорий реакция ҳосил қилиш учун бир оз бўр қўшилади, пробирканинг оғзи ёпилиб, спорасиз барча бактерияларни ўлдириш учун сув ҳаммомида $8-100^{\circ}$

да 10 минут қизитилади. Сўнгра пробиркалар термостатга қўйилади. 2) 100 мл нўхат бульонига 2 г сахароза ёки крахмал, 0,5 г пептон, 0,5 г ош тузи, 2 г бўр қўшиб муҳит тайёрлаб, мой кислота бактерияларининг электив култураси олинади. Бунинг учун 150—200 мл ли стерилланган колбага ярим чой қошиқда тупроқ солинади. Тупроқ устига 40—50 мл юқоридаги озиқли муҳитдан солиб, колбани электроплиткага 1—2 минут қўйиб спорасиз бактерияларни ўлдириш учун қайнатилади, сўнгра колбадаги муҳит 100 мл гача етказилади. Колбанинг оғзи расмда кўрсатилганидек, эгри най ўрнатилган каучук пробка билан бекитилади, сўнгра колбага ёрлиқ ёпиштириб 6—7 кун давомида $27-30^{\circ}\text{C}$ термостатга қўйилади.

Мой кислота бактерияларининг электив културасини текшириш. Термостатдаги картошка тўғраб солинган пробиркада ва колбадаги нўхат бульонида мой кислота ҳосил бўлади. Мой кислота ҳосил бўлганини газ ажралиб чиққанидан биламиз. Пробиркадаги ва колбадаги бижғиган суюқликдан «эзилган» томчи усули билан тайёрланган препаратда дуг ёки «кlostридий» шаклидаги ёки барабан таёқ-

часи ёки «плектиридий» шаклидаги йирик ҳаракатчан спорали таёқчалар кўринади. Булар мой кислота бактерияларидир. Уларда запас озиқ модда гранулёза бор. Бу модда крахмалга ўхшайди.

Гранулёзани аниқламоқ учун бижғиётган суюқликдан буюм ойнасига бир томчи томизиб, Люголь эритмаси



51- расм. Мой кислотали бижғитувчи бактериялар.

дан бир томчи қўшилади ва қоплагич ойна билан ёпилади. Мой кислота бактерияларининг протоплазмасидаги гранулёза йод таъсирида тўқ кўк тусга киради ва бутун таёқча кўк бўлиб кўринади, спораси эса таёқчанинг ўртасида ёки бир учида рангсиз бўлиб туради (51- расм).

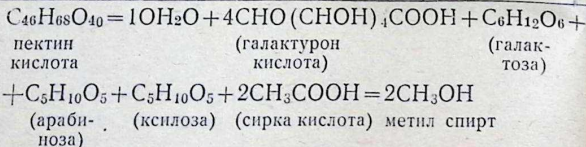
Бижғиётган суюқликдаги мой кислотани аниқлаш. Пробиркага бижғиётган суюқлик

дан 5 мл ва 5 процентли темир III хлориддан 2 мл қўйилади. Суюқлик қизитилганда мой кислотанинг темирли тузи ҳосил бўлиши туфайли жигар ранг тусга киради.

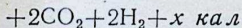
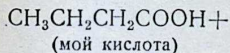
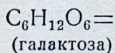
Пектинли бижғиш

Пектинли бижғиш — ўсимлик ҳужайраларини бир-бирига ёпиштирадиган модда (пектин)нинг гидролизланиб қанд ва бошқа моддаларни ҳосил қилиши, сўнгра шу қанднинг бижғиб, мой кислота CO_2 ва H_2 га парчаланишидан иборат. Бу процесс қуйидаги схемага мувофиқ боради:

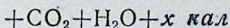
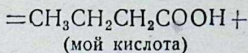
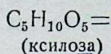
Пектин кислота гидролизи



Қандларнинг мой кислота



ҳосил қилиб бижғиши



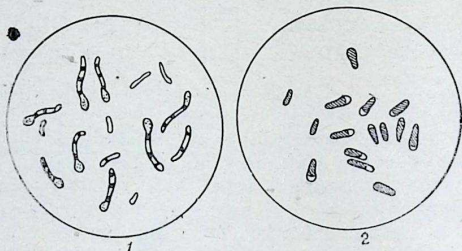
Пектинли бижғиш табиатда учраб туради ва зиғир, каноп, жут каби ўсимликларни ивитиш учун кишилар шу процессдан фойдаланади. Пектинни парчалайдиган бактерияларнинг электив културасини олиш учун зиғир поялари кичик боғ қилиб сувли пробиркага солинади, унда анаэроб шароит туғдириш учун устига кўпроқ сув қуйилади. Шундан кейин пробиркалар термостатда 25—30° температурада 5—6 кун сақланади. Зиғир пояларининг сиртида пектинни парчалайдиган бактериялар бор, улар сувда кўпайиб, поя ҳужайраларини ёпиштирадиган пектинни парчалайди, яъни зиғирни ивитади.

Пектинни парчалайдиган бактерияларнинг электив културасини текшириш. Ивителиётган зиғир парчасидан тайёрланган препаратда пектинли бижғиш сабабчилари — барабан таёқчасига ўхшайдиган йирик таёқчалар кўринади. Бошқа мой кислота таёқчалари каби, улар ҳам йод таъсирида кўк тусга киради (яъни гранулёз реакцияни ҳосил қилади).

Пектин бижғишга сабаб бўладиган бактериялардан асосийлари *clostridium pectinovorum* (52-расм, 1) ва *clostridium felsineum* (52-расм, 2) бўлиб, улар кўпроқ учрайди.

Гранулёзани аниқлаш учун ивителиётган зиғир поядан «эзилган» томчи тайёрлаб, унга худди мой кислота бактерияларини аниқлашдаги каби Люголь эритмаси қўшилади. Бу бактерияларни мукамалроқ текшириш учун қуруқ мазок тайёрлаб, фуксин билан бўялади. Аэроб шароитда пектин моддасини бактериялардан *Bacillus mesentericus* ва замбуруғлардан *Mucor stolonifer* бижғитади. Анаэроб шароитда эса юқорида номлари кўрсатилган типик пектин парчаловчи бактериялар бижғитади. Пектинли бижғишни қўзғатувчи бактериялар

морфологик хусусиятларига қараб, бир-биридан фарқ қилади: *Clostridium pectinovorum* — катталиги 10—12 микрон бўлиб, спора ҳосил қилганда барабан таёқчасига ўхшайди. Танасида гранулёза узук-узук бўлиб жойлаш-



52- расм. Пектин ҳосил қилиб бижғитувчи бактериялар:

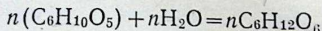
1—*Clostridium pectinovorum*; 2—*Clostridium felsineum*.
Люголь эритмаси билан бўялган.

ган. Бу микробни С. Н. Виноградский 1885 йилда топган. *Clostridium felsineum* катталиги 3—6 микрон бўлиб, сира шаклини эслатади, спораси танасининг охирига жойлашган бўлиб, Грамм усулида манфий бўялади, ҳаракатчан бўлади ва уни 1916 йилда Карбоне топган.

Клетчатканинг бижғиши

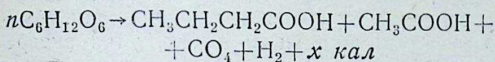
Клетчатканинг бижғиши шундан иборатки, клетчатка қандларга парчаланади. Сўнгра шу қандлар бижғишидан мой кислота, сирка кислота, CO_2 , H_2 ва CH_4 ҳосил бўлади. Барабан таёқчасига ўхшайдиган, спорали анаэроб ҳаракатчан таёқчалар шунга сабаб бўлади. Бу процесс қуйидаги схемага мувофиқ боради:

Клетчатка гидролизи

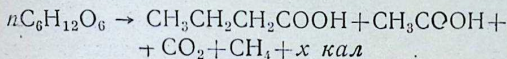


↓
водоросд ҳосил қилиб
бижғиш

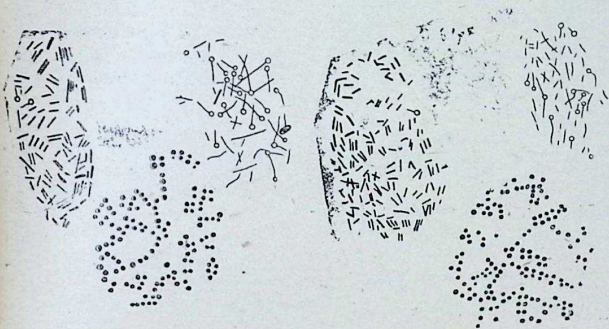
↓
метан ҳосил қилиб бижғиш



Реакция *Bact. cellulosaе hydrogenicus* иштирокида боради.



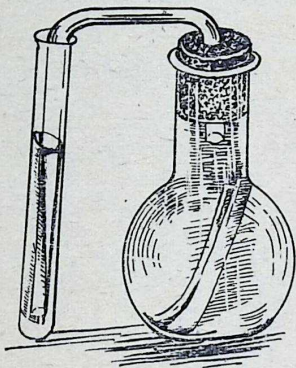
Реакция *Bact. cellulosaе methanicus* иштирокида боради.



53- расм. Клетчаткани бижғитадиган бактериялар.

Клетчаткани бижғитадиган бактерияларнинг электив культурасини олиш. Целлюлозани бижғитадиган анаэроб бактерияларнинг электив культурасини олиш учун колба тубига фильтр қоғозни қўйиб, аэроб шароит туғдириш мақсадида бўғзигача Имшенецкийнинг махсус озиқли муҳити (иловага қаралсин) қўйилади, колбанинг оғзи резина пробка билан бекитилади; бу пробкадан газлар чиқиб туриши учун шиша найча ўтказилган. Колбага бир оз тупроқ, балчиқ ёки гўнг солинади ва термостатга қўйилади. 1—3 ҳафтадан кейин қоғоз шилимшиқ билан қопланиб, парчаланиб

кетаци, яъни тупроқнинг клетчаткани бижғитадиган анаэроб бактериялари қоғозни эритиб юборади. Муҳитнинг электив эканлиги шундан иборатки, унда анаэроб шарионт бор, унда клетчатка (фильтр қоғози) бирдан-бир карбонат ангидрид манбаи ҳисобланади.



54-расм. Клетчатканинг бижғи-
шини кузатадиган асбоб.

Клетчатка сувда эримайди ва фақат целлюлоза бактериялари таъсир этгандагина парчаланади.

Клетчаткани бижғитадиган бактерияларнинг электив-культурасини текшириш. Препарат тайёрлаш учун колбатубидан пипетка билан суюқлик олинади ёки клетчаткадан бир парча олиб, ойнанинг устида эзилади, шундан кейин препарат оддий усул билан фиксация қилиниб бўёлади. Шун-

дай препаратда клетчаткани бижғитувчи бактериялар барабан таёқчасига ўхшаб кўринади.

XVI. СИЛОСЛАНГАН ОЗИҚНИ МИКРОБИОЛОГИК ТЕКШИРИШ УСУЛЛАРИ

Ем-хашакларни силослаш қишлоқ хўжалигида катта аҳамиятга эга. Ем-хашаклар силосланганда озиқ моддалар пичан таркибидагига нисбатан кўпроқ сақланади. Силосланган ем-хашакда ҳар хил микробиологик процесслар содир бўлади. Силоснинг сифатли бўлиши ундаги микробиологик процессларнинг боришига боғлиқ. Микробиологик текшириш усуллари қуйидагича бўлади. 1) микроскопик текширилади; 2) силосдаги микробларнинг умумий сони аниқланади; 3) силосдаги сут кислота бактериялари аниқланади; 4) силосдаги мой кислота бактериялари аниқланади; 5) силосдаги чиритувчи микробларнинг миқдори аниқланади.

1. Силосланган ем-хашакни микроскоп орқали текшириш. Силосдан озгина намуна олиб стерилланган сув билан аралаштириб (тахминан 1:5) эмульсия тайёрланади. Эмульсиядан буюм ойнасига юпқа қилиб суртилиб, мазок тайёрланади ва у қуритилиб спирт горелкаси устида фиксация қилиниб, Грамм усулида бўялади. Тайёр бўлган мазок микроскопда иммерсион объектив билан кўрилади. Микроскоп орқали текшириш натижасида силос таркибидаги микробларнинг морфологик хусусияти ва уларнинг миқдори ҳақида тахминан тушунча ҳосил қилинади.

2. Силос таркибидаги микробларнинг умумий миқдорини аниқлаш. Силосдан озгина намуна олиб стерилланган сув билан аралаштириб (1:100) настой тайёрланиб 30—35 минут тийч қўйилади, сўнгра яхшилаб чайқатиб, турли нисбатда стерилланган сув аралаштириб эритмалар тайёрланади (1:1000, 1:10000 ва 1:100000) ва ҳар бир эритмадан 1 мл дан олиб бир неча Петри ликобчасига қўйилиб, устига суюлтирилган ГПА солинади, ҳамда у эҳтиётлик билан аралаштирилади, сўнгра ликобчаларга ёрлиқлар ёпиштирилиб 48 соат давомида термостатга қўйилади ёки 4—5 кун уй температурасида сақланади, кейин ликобчаларда ўсиб чиққан микроб тўпламлари (колониялари) саналиб, эритмалар миқдорига кўпайтирилади. Натижада 1 г силосдаги микроблар сони аниқланади. Микроорганизмларнинг сонига қараб силосдаги микробиологик процессларнинг интенсивлиги маълум бўлади.

3. Силосдаги сут кислота бактерияларни аниқлаш. Юқорида ўтказилган тажрибалар каби силосдан тайёрланган эритмаларнинг ҳар биридан 1 мл дан олиб Петри ликобчасидаги бўр қўшилган зардобли агарга экамиз. Ликобчаларга ёрлиқлар ёпиштирилиб 30—35° иссиқ термостатга 48—72 соат қўйилади, сўнгра ўсиб чиққан сут кислота бактерияларнинг колонияларини санаб эритма миқдорига кўпайтирилади. Натижада 1 г силосдаги сут кислота бактерияларининг сони аниқланади.

Сут кислота бактериялари муҳитдаги бўрни эритиш қобилиятига эга. Шунинг учун муҳитда ўсиб чиққан сут кислота микроблари колонияларининг атрофида тиниқ доира (зона) ҳосил бўлади. Колония атрофида тиниқ доираларнинг кўп бўлиши сут кислота бактериялари томонидан сут кислотанинг ҳосил бўлиш интенсивлигига боғлиқ.

Бўр қўшилган зардобли агар қуйидагича тайёрланади. Сут зардобига 1% пептон, 0,5% ош тузи, 20% агар қўшилади ва 20 минут давомида 115°C гача стерилизация қилинади, сўнгра агарга 1—2% ли стерилланган бўр аралашмаси қўшилади. Сут кислота бактерияларни ўс-тирганда сут зардобли агардан ташқари, карам агаридан ҳам фойдаланиш мумкин. Карам агари қуйидагича тайёрланади. Янги карам майдаланади ва сиқиб шарбати (сок) олинади, шарбат 1:1 нисбатда сув билан аралаштирилиб, кейин у пахтадан ўтказиб, сўнгра филтрланади. Филтрланган шарбатга 1% бўр, 2% агар қўшилади ва 15 минут давомида 120°C да, яъни 1 атм босимида стерилизация қилинади. Бу муҳитда ҳам сут кислота бактерияларининг колониялари атрофида тиниқ доира ҳосил бўлади.

4. Силосдаги мой кислота бактерияларни аниқлаш. Юқоридаги тажрибалар учун тайёрланган силос эритмаларининг ҳар биридан 1 мл дан олиб пробиркалардаги Рушмон картошка муҳитига экилади ва 2—3 сутка давомида 35° иссиқ термостатга қўйилади. Пробиркаларда газ ҳосил бўлиши ва бижғиш процессининг вужудга келиши мой кислота бактериялари ўсгандан дарак беради. Сўнгра пробиркадаги бижғиган муҳитдан мазок тайёрлаб, Люголь эритмаси билан бўялади. Тайёр бўлган мазок микроскоп орқали қаралганда кўк рангга бўялган таёқчалар кўринади. Рушмон картошка муҳити қуйидагича тайёрланади. Тозалаб ювилган ва пўстлоғи артилган картошка яхши пишгунча қайнатилади ва кейин ундан 300 г олиниб озроқ стерилланган сувда эзилади, сўнгра сувнинг ҳажми 1500 мл га етказилади, шундан кейин бу муҳитга 15 г бўр қўшилади. Муҳит колбага солиниб, 30 минут давомида 1 атм босимда стерилизация қилинади, сўнгра пробиркаларга қўйилади ва яна стерилизация қилинади.

5. Силосдаги чиритувчи микробларнинг миқдорини аниқлаш. Силосдан тайёрланган дастлабки эритмадан 1 мл дан олиб сут агари солинган ликобчага экилади ва бу ликобчалар 48—72 соат давомида 30—35° иссиқ термостатга қўйилади, сўнгра ўсиб чиққан чиритувчи микробларнинг колониялари санаб чиқилиб, 1 г силосда бундай бактериядан қанча борлиги ҳисоблаб чиқилади.

Чиритувчи микроблар казинни пептонга айланти-

риш қобилиятига эга бўлганлиги учун уларнинг колониялари атрофида тиниқ, ёруғ доира (зона) ҳосил бўлади.

Сут агари қуйидагича тайёрланади: 7,5 г агар 100 мл сувда эритилади, бу эритмага 400 мл сут қўшиб қайнатилгандан сўнг филтрланади ва пробиркаларга қуйилиб, 10 минут давомида 120°C гача стерилизация қилинади. Силосдаги чиритувчи микробларнинг миқдорини ГПЖ (гўшт-пептон желатина) га экиб ҳам аниқлаш мумкин. ГПЖ га экилганда ликобчалар термостатга қўйилмасдан 7—8 кун уй температурасида сақланади.

XVII. АЗОТСИЗ ОРГАНИК МОДДАЛАРНИНГ ОКСИДЛАНИШ ПРОЦЕССЛАРИ

ЭТИЛ СПИРТНИНГ СИРКА КИСЛОТА ҲОСИЛ ҚИЛГУНЧА ОКСИДЛАНИШИ

Сирка кислота бактерияларнинг электив културасини олиш. Этил спиртнинг сирка кислотасини ҳосил қилиб, оксидланиши қуйидагича кузатилади ва бу процессга сабаб бўладиган бактерияларнинг электив култураси қуйидагича олинади: 100 мл сифимли Эрленмейер колбачаларига 30 мл дан пиво қўйилиб, усти очиқ қолдирилади. Сирка кислота бактериялари табиатда кенг тарқалган бўлиб, пивода, ҳавода ва шу каби жойларда учрайди. Электив муҳит вужудга келтириш учун: суяқликни юпқа қатлам қилиб қуйиб, аэроб шароит яратилади; пивога анча (4—5%) спирт қўшилади ва унга бир оз сирка кислота аралаштириб, кислоталар миқдори оширилади.

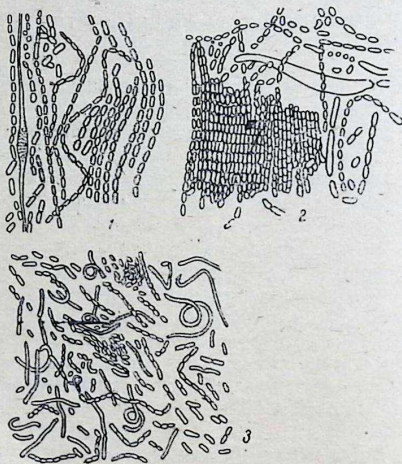
Ҳар хил сирка кислота бактериялари турли миқдордаги кислоталарга чидамли бўлганлигидан уч хил тажриба қилинади: 1) пивога кислота қўшилмайди; 2) пивога сирка кислотадан 10 томчи қўшилади ва 3) сирка кислотадан 20 томчи қўшилади. Сирка кислота қўшилмаган пивода кислота оз бўлганидан сирка кислота бактерияларидан ташқари, сирка ишлаб чиқариш зараркунамдаси — *Mycoderma vini* ачитқилари кўпаяди. Булар пиво юзасида бурма-бурма бўлиб турадиган оқ пардани ҳосил қилади. *Mycoderma vini* нинг чўзиқ йирик ҳужайралари бор.

Бу ачитқилар этил спиртини охиригача оксидлайди, яъни CO_2 ва H_2O га қадар парчалайди ҳамда улар шу тариқа сирка кислота бактериялари таъсирида этил спиртидан қуйидаги формулага мувофиқ ҳосил қилинадиган сирка кислотанинг миқдорини камайтиради:



Пивога сирка кислота қўшилганда фақат сирка кислота бактериялари кўпаяди, кислоталар кўпроқ шароитда улар яхши ривожланади.

Сирка кислота бактерияларининг электив културасини текшириш. Барча сирка кислота бактериялари — спorasиз майда анаэроб таёқчалар бўлиб, суюқликлар юзасида узун занжир ва пардачаларни ҳосил қилади. Пиво юзасида ўсиб чиққан сирка кис-



55- расм. Сирка кислота бактериялари:

1—*Acetobacter pasteurianum*; 2—*Acetobacter aceti*; 3—*Acetobacter xylinum*.

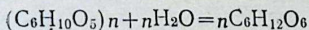
лота бактерияларининг турини аниқламоқ учун пардачанинг характерини тасвир этиш, пардачани Люголь эритмаси ($j + K_j$) билан бўйаш ва микроскопда текшириш керак. Сирка кислота бактерияларининг кўпроқ учрайдиган

турлари ва уларнинг белгилари: 1) *Bact. rancens* — пардаси силлиқ, шилимшиқ бўлиб, идиш деворига юқади ва улар калта таёқчалар бўлиб $j + K_j$ билан бўялганда сариқ тусга киради; 2) *Bact. orleanense* — зич парда ҳосил қилади, йод таъсирида сариқ тусга киради. Француз усулида сирка тайёрлашда ишлатилади; 3) *Bact. acetii* — пардаси силлиқ, шилимшиқ бўлиб, идиш деворига юқмайди. $j + K_j$ билан бўялганда сариқ тусга киради. Сиркани тез тайёрлашда ишлатилади; 4) *Bact. Schutzenbachii* — узун таёқча бўлиб, бўш парда ҳосил қилади. Бук дарахти ёғочининг қипиғида пардаларни яхши ҳосил қилади. Сиркани тез тайёрлашда ишлатилади; 5) *Bact. xylinum* — қалин, шилимшиқ, тоғайсимон парда ҳосил қилади. $j + H_2SO_4$ билан бўялганда кўк тусга киради. Хужайралари йирикроқ бўлиб, шилимшиқ капсул ҳосил қилади. Сирка кислота ҳосил қиладиган бу бактерия турмушда — «чой кваси» тайёрлаш учун ачитқилар билан бирга ишлатилади.

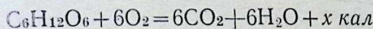
КЛЕТЧАТКАНИНГ ОКСИДЛАНИШИ

Клетчатканинг оксидланиши — клетчатканинг қандларга парчаланиши ва сўнгра қандларнинг CO_2 ва H_2O гача оксидланишидан иборат бўлиб, у қуйидаги схемага мувофиқ содир бўлади:

КЛЕТЧАТКА ГИДРОЛИЗИ



↓
қанднинг оксидланиши



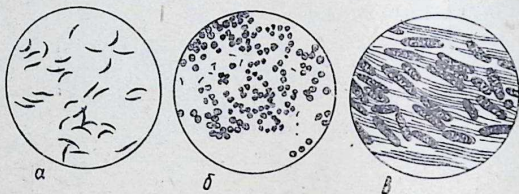
Клетчаткани оксидлайдиган бактерияларнинг электив културасини олиш. Клетчаткани оксидлайдиган бактерияларнинг электив културасини олиш учун асосан икки усул қўлланилади.

Биринчи усул. Катта колбанинг тубига 1—2 см қалинликда тупроқ солиб, сув билан ҳўлланади ва юзасига фильтр қоғозининг парчалари ёпилади. Булар

тоза клетчатканинг ўзгинасидир. Колба 2—3 ҳафтагача термостатда сақланади ва ичидаги тупроқ ҳамиша намлаб турилади. Қоғоз парчаларида аввал зарғалдоқ, сариқ ва яшил доғлар пайдо бўлади, сўнгра қоғоз секин-аста кичрайиб — йўқолиб сарғиш жияк шаклида изи қолади, холос. Қоғоздаги шундай рангли доғлардан тайёрланган препаратларда клетчаткани оксидлайдиган бактерияларни топиш мумкин, уларнинг кўпчилиги миксобактерияларга киради.

Иккинчи усул. Петри ликобчасининг тубига фильтр қоғозини бир неча доира шаклида кесиб ва Имшенецкийнинг минерал муҳити билан ҳўллаб (иловага қаралсин) қўйилади ва автоклавда стерилизация қилинади. Стерилизациядан кейин фильтр қоғозининг юзасига 7—10 та майда тупроқ донаси қўйилади, шундан кейин Петри ликобчалари 25° иссиқ термостатда 3—5 кун сақланади. Тупроқ доналари атрофида қоғознинг сариқ-яшил ёки пушти тусга кирган зоналари пайдо бўлади.

Фильтр қоғозида рангли доғларнинг пайдо бўлиш сабаби шуки, миксобактериялар ўсади. Улар клетчаткани оксидлайдиган актив бактериялар бўлиб, табиатда кенг тарқалгандир. Сариқ доғларни одатда цитофага ҳосил қилади.



56- расм. Миксобактериялар:

а—цитофаганинг ёш культураси; б—цитофаганинг микроцисталлари; в—целлюлоза толасидаги Sorangium миксобактериясининг вегетатив ҳужайралари.

Муҳитнинг элективлиги шундан иборатки, бу муҳитда клетчатка бирдан-бир карбонат ангидрид манбаидир.

Экин экилиб келган, гўнланган бўз тупроқларда цитобага миксобактерияларининг ўроқсимон ҳужайралари кўпроқ учрайди, шунингдек бошқа миксобактерияларнинг ҳужайралари ҳам бўлади.

Клетчаткани оксидлайдиган бактерияларнинг электив културасини текшириш. Миксобактерияларнинг ривожланиш цикли мураккабдир. Шунинг учун бир турдаги ҳужайралар турли ривожланиш стадияларида турли шаклда бўлади. Модомики шундай экан, парчаланаятган клетчаткадан тайёрланган препаратларда миксобактериялар тўппа-теғри ёки эгилган вегетатив ҳужайралари чўзинчоқ ёки юмалоқ микроцисталар шаклида учраши мумкин. Клетчаткани оксидлайдиган бактерияларга ориқ, унумсиз тупроқларда учрайдиган *seifalcicula vascelvivrio* шунингдек, кўпгина замбуруғлар ва актиномицетлар ҳам киради.

ХVIII. ЗАМБУРУҒЛАРНИНГ ЛИМОН КИСЛОТА ҲОСИЛ ҚИЛИШИНИ АНИҚЛАШ

Замбуруғлар углеводларни оксидлаши натижасида турли органик кислоталар йиғилиб, улар кислород таъсирида сув ва карбонат ангидридга парчаланади ва лимон кислота ҳосил бўлади. Лимон кислота ҳосил бўлишида Ас-пергилла группасига кирувчи

57- расм. Клетчаткани парчалайдиган эроб бактериялар.

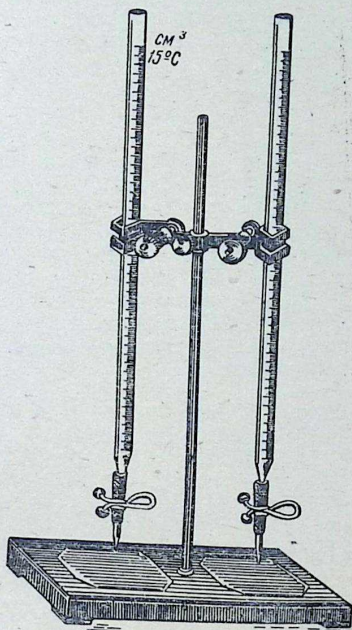
замбуруғларнинг роли катта. Лимон килота ҳосил қилишда Аспергилла группасига кирувчи замбуруғлардан *Aspergillus niger* актив қатнашади. *Aspergillus niger* эса бошқа замбуруғлардан морфологик кўриниши ва кўпайиши билан фарқ қилади. *Aspergillus* группасига кирувчи замбуруғлар ўзларини ҳосил қилган спорасининг рангига қараб ҳам бир неча хилга бўлинади ва шунга қараб ном олган. Масалан: *Aspergillus conidius*—оқ ялтироқ; *Aspergillus niger*—қора; *Aspergillus glaucus*—яшил спорали бўлади. Лимон кислотанинг биологик усулда олиниши *Aspergillus* группасидаги замбуруғлар углеводларни оксидлашига асосланади.

Совет Иттифоқида саноат миқёсида лимон кислота олиш учун замбуруғлардан фойдаланиш 1932 йилдан бошланган. Ҳозирги вақтда махсус заводларда ва қанд заводлари қошида лаборатория ташкил қилиниб, қанд заводлари чиқиндиларидан лимон кислота олинмоқда. Лабораторияларда В. С. Буткевич усулида *Aspergillus niger* кўпайтирилади. Бунинг учун қуйидаги таркибдаги озиқ муҳитидан фойдаланилади:

1. Водопровод суви	керакли миқдорда
2. Глюкоза ($C_6H_{12}O_6$) ёки сахароза ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	5,0
3. Аммоний нитрат (NH_4NO_3)	0,3
4. Калий тидрофосфати (K_2HPO_4)	0,1
5. Магний сульфат ($MgSO_4$)	0,1
6. Темир купороси ($FeSO_4$)	1 % ли
эритмасидан икки томчи.	

Ҳосил қилинган муҳит 50 мл ли колбага солиниб, 5 минут сув ҳаммомида ёки электроплиткада қайнатилади, сўнгра 30—32°C гача совитилиб, стерилланган пипетка ёрдамида *Aspergillus niger* нинг спораси экилади, кейин колба 30—32°C термостатга қўйилиб, колбадаги озиқ муҳити юзасида мицелияси ҳосил бўлгунча сақланади. Сўнгра колба термостатдан олиниб, аста-секин мицелия тагидаги озиқли муҳит тўкилади, унинг ўрнига қайнатилиб уй температурасигача совитилган сув стерилланган пипетка ёрдамида колбага солинади ва секин чайқатилиб мицелия тагига қўшимча 50 мл 20% ли сахароза эритмаси пипетка ёрдамида қўйилади. Колба 30—32°C термостатга яна уч кун қўйилади. Сўнгра колба термос-

татдан олиниб, ичидаги суюқлик 0,1 н. NOH эритмаси билан фенолфталеин иштирокида титрланади. 1) лимон кислотанинг миқдори г билан ўлчанади, 2) 50 мл суюқлик таркибидаги лимон кислота процент билан ҳисобланади.



58- расм. Бюретка билан штатив.

Қолбадаги суюқликни титрлаш учун ундан 10 мл олиб стаканга солинади, унга 2 томчи фенолфталеин қўшилади, сўнгра Бунзен штативига ўрнатилган бюреткаларга суюқлик солиниб 3 марта титрланади. Аввал 1 мл 0,1 н. эритмада лимон кислотанинг миқдори г билан аниқланади. Лимон кислотанинг молекуляр оғирлиги 192. Грамм эквиваленти = $\frac{192}{3} = 64$ г. Демак, 1 н. эритманинг 1 л да

64 г лимон кислотаси бор; 0,1 н. эритманинг 1 л да — 6,4 г, 0,1 н. эритманинг 1 мл — 0,0064 г бўлади. Тахминий ҳисоби: 1) колбадаги 10 мл суюқликни титрлаш учун 0,1 н. NaOH эритмасидан 20 мл сарфланди (фенолфталеин билан титрланганда оч қизил ранг пайдо бўлгунча титрланиши керак, чунки нордон муҳитда фенолфталеин рангсиз бўлади).

Нисбат тузамиз:



$$\begin{array}{l} 10 \text{ мл} - 20 \text{ мл} \\ 50 \text{ мл} - X \text{ мл} \end{array} \quad X = \frac{50 \cdot 20}{10} = 100 \text{ мл.}$$

Моддалар эквимолекуляр миқдорда бирикма ҳосил қилади, демак, 0,1 н. лимон кислотанинг титри 0,0064 г бўлса, 50 мл суюқликда $0,0064 \text{ г} \cdot 100 = 0,64 \text{ г}$ лимон кислота бор. 2) агар колбага 50 мл 20% ли сахароза эритмаси қуйилган бўлса, демак, 50 мл ҳажмдаги қуруқ сахароза миқдори 10 г га тенг бўлади.

$$20 \text{ г} - 100 \text{ мл}$$

$$X \text{ г} - 50 \text{ мл}$$

$$X = \frac{20 \cdot 50}{100} = 10 \text{ г.}$$

59- расм. Замбуруғларнинг муҳитда ҳосил қилган пардаси.

Агар 50 мл лимон кислота эритмасида 10 г лимон кислота бўлса, лимон кислотанинг чиқиши 100% га тенг бўлар эди, бизда эса фақат 0,64 г чиқди:

$$10 \text{ г} - 100\%$$

$$0,64 \text{ г} - X\%$$

$$X = \frac{0,64 \cdot 100}{10} = 6,4 \text{ \%}.$$

ХІХ. РИЗОСФЕРА МИКРООРГАНИЗМЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Усимликларнинг илдизларига яқин жойлашиб ривожланадиган микроорганизмлар ризосфера микроорганизмлари дейилади (rhiza — илдиз, sphaera — шар).

Илдиз атрофида ва илдизда ривожланган ризосфера микроорганизмларининг миқдори тупроқ микроорганизмларига нисбатан бир неча марта кўп бўлади. Илдиздан ҳар хил органик моддалар ажралиб чиққани учун унда ризосфера микроорганизмлари жуда кўпаяди.

Текширувчиларнинг аниқлашича, ўсимлик микроорганизмлар истеъмол қиладиган қанд ва органик моддаларни ўзининг вегетация даврида 4—5% миқдорида ажратиб чиқаради. Ризосфера микроорганизмлари фақат ўсимликлар ажратадиган органик моддалар ҳисобига яшамасдан чириётган илдиз эпидермуси ва илдиз туқлари-дан ҳам озиқ сифатида фойдаланади. Текширишлардан маълум бўлишича, ҳар қайси ўсимликларнинг ўзига хос ризосфера микрофлораси бўлади. Масалан, Е. Ф. Берёзова бошоқли ўсимликлар илдизида кўпинча аммонификаторлар, денитрификаторлар бўлишини; маккажўхори илдизида анаэроб азот тўпловчи ва радиобактерлар; картошка илдизида микробактерия, актиномицет ва бошқалар бўлишини аниқлаган. Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар ажратадиган турли органик моддалар ҳисобига яшаши билан бирга ўз навбатида ўсимликларни ўсиши учун зарур бўлган турли элементлар (азот, фосфор, витамин ва бошқалар) билан таъминлайди. Ризосфера микроорганизмлари спора ҳосил қилмайдиган микроблар туркумига кирсалар ҳам, асосан тупроқ микрофлорасига яқин туради. Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар илдизида, илдиз атрофида жойланишларига қараб бир неча гурппага бўлинади. Е. Ф. Берёзова илдизга ёпишган микрофлора ўсимлик учун катта аҳамиятга эга эканлигини, чунки бу микрофлора ўсимлик учун керакли физиологик моддаларни синтез қилиб беришдан ташқари, ўсимликлар илдизини зарарли микроорганизмлар таъсиридан сақлашини аниқлаган. Илдиз атрофига яқин жойлашган микроорганизмлар тупроқдаги ўсимлик ўзлаштира олмайдиган моддаларни енгил ўзлаштира оладиган ҳолга айлантиради; бундан ташқари, ўсимлик илдизидан чиқадиغان баъзи бир зарарли моддаларни парчалайди. Шунинг учун бундай микроорганизмлар ўсимликларнинг ўсишида катта аҳамиятга эга.

Ризосфера бактерияларини Н. А. Красилников усулида аниқланганда аввало, стерилланган пинцет билан ил-

дизга ёпишган тупроқ эҳтиётлик билан олиниб, стерилланган Петри ликобчасига солинади. Сўнгра тупроқдан 1 г тортиб олиб стерилланган колбага солиб, устига 99 мл стерилланган сув қўйиб, бир-икки минут давомида-яшшилаб чайқатилади, кейин стерилланган пипетка ёрдамида стерилланган сувга қўшиб колбада навбатдаги эритмалар ҳосил қилинади. Масалан, 1 : 100000 ёки 1 : 1000000, ундан юқори 1 : 100000000 нисбатда эритма тайёрланади. Тўртинчи-бешинчи ёки бешинчи-олтинчи эритмадан 1 мл дан олиб иккита Петри ликобчасига ДПА га экилади. Экилган ликобчалар 23—25°C термостатга икки-уч кунга қўйилади. Кейин ликобчада ўсиб чиққан колонияларнинг морфологик, физиологик хусусиятлари ўрганилиб, микроблар тўпламининг сони 1 г тупроққа ҳисоб қилиниб, умумий сони аниқланади.

Ризосфера бактериялари Е. С. Теппер усулида аниқланганда ўсимликлар илдизини кесак бўлакчаларидан тозалаб тахминан 1 г илдиз тортиб олиб, 50 мл стерилланган сув солинган колбада 2 минут ювилади. Сўнгра илдизлар стерилланган пинцет ёрдамида колбадан сувви силқитиб олиниб, 50 мл сув солинган бошқа колбада яна ювилади. Шундай қилиб 7 марта ювилади. 6 ва 7- марта ювилаётганда колбага 3—5 г стерилланган кварц қуми солиниб ювилади.

Биринчи, иккинчи ювилганда ювиндида тупроқ микрофлораси қолади; тўртинчи, бешинчи, олтинчи ва еттинчи марта ювилганда ювиндида илдизга ёпишган ризосфера микроблари қолади. Бу ювиндилар керакли даражагача стерилланган сувда эритилиб, ГПА ёки ДПА муҳитлари юзасига шпатель ёрдамида экилади. Петри ликобчасидаги ГПА ёки ДПА юзасига стерилланган пипетка ёрдамида 0,05 мл (1 томчи) эритма қўйилади ва шпатель билан муҳитнинг юзасига қуригунча суртилади, сўнгра икки-уч кун давомида 25°C термостатга қўйилади, сўнгра ликобча юзасида ўсиб чиққан бактериялар тўпламининг сони 1 мл эритмага ҳисоб қилиниб, 1 г илдизда қанча ризосфера микроби борлиги аниқланади. Масалан,

$$0,05 - 500$$

$$1 - X$$

$$X = \frac{1 \cdot 500}{0,05} = 10000.$$

XX. ЭПИФИТ МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ АНИҚЛАШ

Ризосфера микроорганизмлари ўсимликлар ўсиш даврида илдизидан танасига ҳам кўтарилади ва ўсимлик танасига ташқи муҳитдан чанг, ҳашаротлар орқали ҳар хил микроорганизмлар юқади. Ўсимлик танасида учрайдиган микроорганизмлар эпифит микроблари дейилади. Эпифит микроорганизмлари асосан сапрофитлар туркумига кириб, улар ўсимлик тўқималаридан ажралиб чиқадиган ҳар хил чиқиндилар ва ўсимлик танасидаги турли органик моддалардан озиқ сифатида фойдаланади.

Эпифит микроблар фақат ўсимлик танасида, баргида ва гулида эмас, балки дони, турли меваларида, шунингдек, сабзавотларнинг ер усти қисмида ҳам кўплаб учраши мумкин. Текширувчиларнинг маълумотларига кўра, 1 г сифатли донда бир неча миллион эпифит микробларни учратиш мумкин.

Е. И. Квасников, М. Г. Сумневич ва Ю. М. Возняковскаяларнинг маълумотларига кўра, эпифит микроблар туркумига псевдомонас *Pseudomonas* группасига кирувчи микроблардан ташқари, ҳар хил замбуруғлар, шарсимон микроблар, таёқчасимон микроблар ва сут кислота ҳосил қилувчи бактериялар ҳам киради. Ўсимлик танасида учрайдиган микроблар ўсимликнинг ўсишига зарар етказмайди, эпифит группасига кирувчи баъзи бир зарарли замбуруғлар эса ўсимлик танасидан илдизига ўтиб ўсимликнинг ҳосилдорлигига таъсир қилиши мумкин.

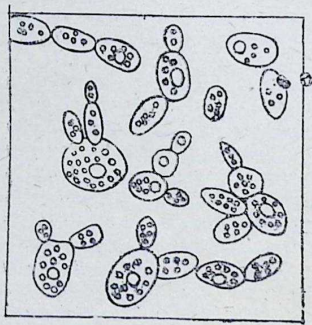
Ўсимлик танасида учрайдиган эпифит микробларни аниқлаш учун стерилланган пинцет билан бошоқдан олинган дондан 10 г тарозида тортиб олиниб, 90 мл стерилланган сув қуйилган колбага солинади ва 5 г стерилланган қум қўшиб, 10 минут давомида яхшилаб чайқатилади. Ҳосил бўлган ювиндидан 1 мл олиб, 1 : 10000 гача эритма ҳосил қилиниб, эритмадан 1 мл олиб иккита Петри ликобчасига экилади. Бактерия аниқланиши керак бўлса, эритма ДПА га экилади, агар эритмадан замбуруғларни аниқлаш керак бўлса, сусло-агарга экилади.

Сабзавотлар уруғидаги эпифит микробларни аниқлаш учун уруғдан 1 г олиб, 9 мл стерилланган сув қуйилган колбага солиб, устидан 1 г стерилланган қум қўшиб, 10 минут давомида яхшилаб чайқатилади, ҳосил бўлган ювиндидан 1 : 10, 1 : 100 ва 1 : 1000 нисбатда эритма тайёрлаб сусло-агарга экилади. Экилган ликобчалар

икки-уч сутка давомиди 23—25°C термостатда сақланади, сўнгра озик муҳити юзасида униб чиққан микроб тўпламларининг хусусиятлари ўрганилади.

XXI. ВИНО ТАЙЁРЛАШДА УЗУМ МИКРОФЛОРАСИНИ ВА ВИНОНИНГ БУЗИЛИШИГА САБАБЧИ БУЛАДИГАН МИКРОБЛАРНИ АНИҚЛАШ

Узум ва бошқа мевалардан вино тайёрлаш улар шарбатларининг вино ачитқилари таъсирида ачишига асосланади. Винонинг сифатли бўлиши ачиш процессининг тўғри олиб борилишига боғлиқ. Агар ачиш процесси тўғри олиб борилса, узумга ёки узум шарбатига тушган бегона микроорганизмларнинг ривожланиши учун шароит бўлмайди. Айниқса, узум ва бошқа мевалар пишиб етилганда, йиғиштирилганда ва яшикларга жойланганда улар турли микроорганизмлар билан ифлосланиши мумкин. Булар орасида замбуруғларнинг ҳамма турини: бактериялар, ачитқи, ачитқисмон, ҳавода ва ерда учрайдиган микроорганизмларни учратиш мумкин. Узум ва меваларда микроорганизмларнинг оз-кўп ва турли хил бўлиши уларнинг ўсиш шароити ҳамда ўсаётган иқлимга боғлиқ.



60-расм. Вино ачитқилар.

1. Узумни микробиологик текшириш учун яшикдаги вино учун ажратилган узумдан стерилланган пинцет билан 50 дона, мевалардан 3—5 донадан (олма, олхўри ва бошқалар) олиб стерилланган колбада 100 мл стерилланган, дистилланган сув билан ювинлади, ҳосил бўлган ювиндидан 5 мл олиб центрифуга пробиркаларига солиб, 5—10 минут центрифугада айлантрилади. Ҳосил бўлган чўкма микроскоп орқали кўрилади. Микроскопда қаралганда ювиндида турли

микроорганизмларнинг борлиги аниқланса (ёввойи ачитқилар, ҳар хил замбуруғлар ва бактериялар), ювинди зич муҳитга (сусло-агарга) экилади, муҳитда ўсиб чиққан микроб тўпламлари умумий қабул қилинган усул билан саналади.

Вино солинадиган идишларни микробиологик текшириш. Винонинг узоқ вақт сақланиши, сифатли бўлиши ва бузилиб кетмаслигида вино тайёрлайдиган ва солинадиган идишларнинг тоза бўлиши катта аҳамиятга эга. Шунинг учун ҳам вино заводларида вино сақлайдиган бочкалар ва шиша бутилкалар микробиологик текширишдан ўтказилади.

Шишаларни микробиологик текшириш. Вино қуйишга мўлжалланган бутилкага 10 мл стерилланган вино солиб, оғзини стерилланган пробка билан беркитиб 1—2 минут чайқатилади, бутилка ичидаги винодан пипетка билан 0,5 мл олиб сусло-агар солинган Петри ликобчасига экилади, қолган вино стерилланган пробиркага солиниб, ликобча билан 25°C термостатга 1—2 сутка қўйилади. Ликобчада ўсиб чиққан микроб тўпламлари саналиб, шишанинг ҳажми — 100 см³ га ҳисоб қилинади. Бунда S — шишанинг ҳажмини, r — ички радиус, h — бутилканинг баландлиги ва π — 3,14 деб олинади, яъни $S = \pi r^2 + 2 \pi r h$ га тенг бўлади. Масалан, текширилаётган бутилканинг ҳажми 0,75 л бўлса, унинг ички сатҳи 500·см² га тенгдир.

Ликобчага экилган 0,5 мл чайқатилган винодан ликобчада 8 микроб тўплами ўсиб чиққан бўлса, буни 10 мл чайқатилган винога ҳисоб қилганда:

$$0,5 - 8$$

$$10 - X$$

$$X = \frac{10 \cdot 8}{0,5} = 160 \text{ микроб тўплами бўлади.}$$

500 см² ҳажмли бутилкада 160 микроб тўплами бўлса, бутилканинг 100 см² ички ҳажмида неча микроб тўплами бўлади?

$$500 - 160$$

$$100 - X$$

$$X = \frac{100 \cdot 160}{500} = 32$$

Агар термостатга қўйиладиган пробиркадаги вино лойқаланса, ундан препарат тайёрланиб, микроскопик текшириш ўтказилиб, микробларнинг турлари аниқланади.

Бутилкалар ювилганда тозалигини аниқлайдиган шкала

Бутилкаларнинг ювилиш сифати	Чайқатилган винодаги микроорганизмларнинг ривожланиш вақти (сутка ҳисобида)	Бутилкаларнинг ички ҳажмининг 100 см ² сатҳи ҳисобига ўсган микробларнинг сони
Яхши	4 — 5	50 гача
(тоза) ўрта	4 — 5	100 гача
ёмон	1	10 ва ундан ортиқ

Винодаги микроорганизмларнинг умумий сонини аниқлаш. Бу бевосита микроскоп орқали санаб ёки винодан олинган ўртача намунали зич озиқ муҳитида ундириб олиш усули билан аниқланади. Винодаги ачиткиларнинг миқдори эса Горяев, Том ва Тюркларнинг ҳисоблаш камераси ёрдамида аниқланади. Бунинг учун винодан текшириш учун олинган 5 мл ўртача намунага 5 мл 10% ли сўльфат кислота қўшиб 3 минут давомида чайқатилади. Кислотани қўшишдан мақсад, биринчидан, синалмадаги микроб ҳужайраси тўпламларини ажратиш бўлса, иккинчидан, намунада микробларнинг кўпайишини тўхтатиш, учинчидан, синалмани чайқатганда кўпик пайдо қилмасликдан иборат.

Намунадаги микробнинг сонини аниқлаш учун намунадан шиша таёқча ёрдамида 1 томчи олиб Горяев, Том ёки Тюрк шиша ҳисоблаш камерасига томизилади, сўнгра томчи устига эҳтиётлик билан қоплагич ойна ёпилади. Қоплагич ойна ёпилганда остида ҳаво пуфакчалари ҳосил бўлмаслиги керак. Қоплагич ойна ҳисоблаш камерасига эҳтиётлик билан бармоқлар ёрдамида ишқаланади. Қоплагич ойна тагида Ньютон ҳалқаси ҳосил бўлса, бу қоплагич ойнанинг ҳисоблаш камерасига зич ёпишган белгиси ҳисобланади; сўнгра микроскоп орқали кичкина

ёки ўрта объектив ёрдамида микробларнинг сони аниқланади.

Винодаги ачитқиларни Том камерасида ҳисоблаш усули. Том камераси қалин буюм ойна бўлиб, ўртасига санаш ойнаси ёпиштирилган. Санаш ойнасининг сатҳи 1 мм^2 бўлиб, 400 та майда катакларга бўлинган. Демак, ҳар бир катакнинг сатҳи $\frac{1}{400} \text{ мм}^2$ га тенг, ёки $0,0025 \text{ мм}^2$ бўлади; шу бир кичик катакдаги суюқликнинг ҳажми $0,0025 \cdot 0,1 = 0,00025 \text{ мм}^3$ ёки $\frac{1}{400} \text{ мм}^3$ дир.

Камерада текшириладиган суюқликдаги ачитқиларнинг сонини аниқлаш учун микроскоп орқали санаш камерасидаги микроб ҳужайраларини камеранинг беш жойидаги йигирмата катакдан санаш керак. Санаганда куртаклана бошлаган ачитқилар биттага ҳисобланади. Йигирмата катакдаги саналган ачитқиларнинг ўртача ҳисоби чиқарилади. Масалан, 20 та катакдан чиққан ачитқиларнинг сони аниқланиб йигирмага бўлинади, сўнгра 1 мл суюқликка қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланади: $X = a \cdot C \cdot 200000$; бунда a — йигирмата катакдаги ачитқиларнинг ўртача сони, c — эритиш даражасини билдиради. 200000 — 1 мл суюқликдаги ачитқиларнинг сонини топиш учун кўпайтириладиган коэффициент. Масалан, 20 та катакдаги ачитқи ҳужайраларнинг ўртача сони 25; текшириладиган суюқлик 5 марта эритилган. 1 мл текшириладиган вино шарбатидаги ачитқилар сони: $25 \cdot 5 \cdot 200000 = 25000000$ бўлади.

Винодаги бактерияларни Том камерасида санаш усули. Том камерасидан винодаги бактерияларни санашда ҳам фойдаланилади. Винонинг бузилишига кўпинча сут кислота, сирка кислота бактериялари сабабчи бўлади. Винодаги ачитқилар қандай ҳисобланса бактериялар ҳам худди шундай саналади. Буларнинг фарқи қуйидагилардан иборат: 1) Том ҳисоблаш камерасига текшириш учун солинадиган вино 10—15 минут тиндириб қўйилади, 2) микроскопда санаш вақтида объектив 40, окуляр 15 бўлиши керак, 3) бактерияларнинг сони 5 жойидаги 5 та катакдан олиб саналади, сўнгра қуйидаги формула бўйича 1 мл суюқлик ҳисобига айлантирилади:

$$X = v \cdot C \cdot 800000, \text{ бунда}$$

v — 5 катакдаги бактерияларнинг ўртача сони; c — эритиш даражаси; 800000 — 1 мл суюқликдаги бакте-

рияларнинг сонини топиш учун кўпайтирадиган коэффициентни билдиради.

Бутилкалардаги винони микробиологик текшириш усули. Бунинг учун ҳар қайси партия винодан икки бутилкадан (агар партия 500 бутилкадан ортиқ бўлса, 3—4 бутилка олинади) олиб оғзи очилади ва бошқатдан резина ёки пўкак пробкалар билан оғзини яхшилаб ёпиб чайқатилади, сўнгра ҳар қайси бутилкадан 5 мл дан 2 марта ўртача намуна олиб, улар бир-бирига аралаштирилади. Ҳар қайси бутилкадан олинган намуна қондага кўра тез текширилиши зарур.

Винода учрайдиган микроорганизмларнинг турларини аниқлаш. Вино заводларидаги тайёр маҳсулотлар, ярим фабрикатлар ва қабул қилинган хом ашёларнинг сифатини аниқлашда микробиологнинг роли катта. Микробиолог вино ишлаб чиқариладиган хом ашёларнинг микрофлораси ва умумий сонини аниқлаш билан чегараланмасдан, уларнинг айрим турлари ёки группалари тўғрисида ҳам маълумотга эга бўлиши керак; бу эса вино тайёрлашда ачиш процессининг тўғри бориши, маҳсулотнинг тўғри сақланиши ҳамда винода учраб турадиган микробиологик касалликларнинг олдини олишда муҳим аҳамиятга эга.

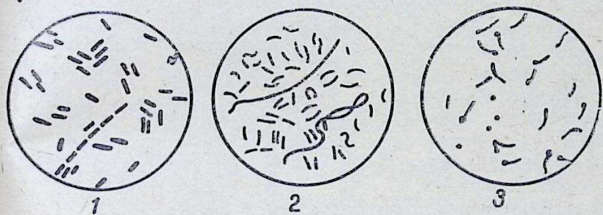
Хом ашёдаги микроорганизмларнинг турини аниқлаш уларнинг сонини аниқлаш билан бир вақтда олиб борилади. Бунда хом ашёдан олинган намунадаги микробларнинг миқдори микроскоп орқали ҳисобга олинса, Петри ликобчасидаги озиқли муҳитга экиш йўли билан уларнинг турлари аниқланади. Табиатда учрайдиган ачитқилар бир неча хил (маданий ва ёввойи ачитқилар) бўлгани учун винодаги ачитқиларнинг турларини аниқлаш катта аҳамиятга эга.

Маданий ачитқиларга сахаромицетлар киради ва улар йирик, юмалоқ ёки элипсид, лимон шаклида бўлади, ҳужайраларида запас озиқли модда — гликоген бўлади; ёввойи ачитқиларга торула ва микодерма турлари киради, булар жуда катта, чўзинчоқ, колбаса шаклида бўлади. Ёввойи ачитқилар фақат морфологик тузилишига кўра маданий ачитқилардан фарқ қилмасдан, физиологик активлиги билан ҳам фарқ қилади. Шунинг учун вино тайёрланадиган хом ашёлардаги микроорганизмларнинг хилларини аниқлаш катта аҳамиятга эга.

XXII. АММОНИФИКАЦИЯ

Аммонификация — оқсиллар ва азотнинг бошқа органик бирикмаларининг аммиак (NH_3) гача парчаланиши демакдир. Баъзи аммонификаторлар оқсилларни парчалаганда NH_3 дан ташқари, H_2S билан индол ҳам ҳосил бўлади. Оқсилларнинг аммонификация қилиниши аммонификаторлар ёки чиритувчи бактериялар ёрдамида боради. Аммонификаторларнинг кўпчилиги аэроб бўлади. Аэроб аммонификаторларнинг спорали ва спориасиз турлари бор. Анаэроб аммонификаторларнинг аксариси спорали таёқчалардир. Аммонификаторлар табиатда кенг тарқалган. Улар ҳавода, сувда, ҳар хил озиқ-овқатда ва органик қолдиқларда учрайди; улар тупроқда айниқса кўп, аэроб турлари ҳам, анаэроб турлари ҳам бўлади.

Аммонификаторларнинг электив культурасини олиш. Аммонификаторларнинг электив культурасини олиш учун 100 мл сиғимли колбаларда 3% ли пептон эритмаси 50 мл дан қуйилади. Пептон — эрийдиган оқсилдир. Колбага аэроб ва анаэроб аммонификаторлар бўлган тупроқдан 0,5 г солиб, оғзи пахта пробка билан беркитилади, шу пробканинг тагига 3 та махсус



61- расм. Аммонификаторлар:

1—*Bact. mycoides*; 2—*Bact. proteus vulgaris*; 3—*Bact. pyritificus* (анаэроб аммонификатор).

қоғозча осиб қўйилади. NH_3 ва H_2S чиқаётганлиги шу қоғозчалардан билинади. NH_3 чиқаётганлигини билиш учун қизил лакмус қоғози осилади. Бу қоғоз NH_3 таъсирида кўкаради. H_2S чиқаётганлигини билиш учун кўрғошин ацетат эритмасига ҳўлланган филътр қоғоз осиб қўйилади. Бу қоғоз H_2S таъсирида қораяди.

Аммонификаторларнинг электив културасини текшириш. Пробка тагига осиб қўйилган қоғозчалар кўздан кечирилиб, NH_3 ва H_2S чиққан-чиқмаганлиги билинади. Сўнгра идишнинг юқори қисмидаги ва тубидаги суюқликдан бўялган мазок тайёрланади. Идишнинг юқори қисмидаги суюқликдан тайёрланган мазокларда асосан аэроб аммонификаторлар, спорали ва турли узунликдаги спорасиз ингичка таёқчалар учрайди.

Идиш тубидаги суюқликдан тайёрланган мазокларда кўпинча барабан таёқчаси шаклидаги анаэроб аммонификаторларнинг спорали таёқчалари *Bact. putrificus* учрайди.

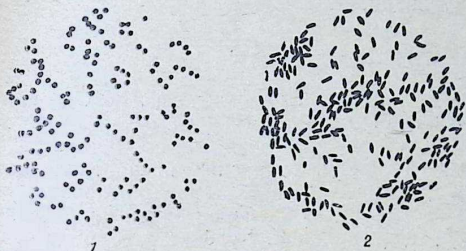
XXIII. НИТРИФИКАЦИЯ

Нитрификация — бактериялар таъсирида аммиак (NH_3) нинг оксидланиб, нитрит ва нитрат кислоталарни ҳосил қилиши демакдир. Нитрификацияга сабаб бўладиган бактериялар нитрификаторлар дейилади. Нитрификация икки фазага бўлинади. Биринчи фазаси — NH_3 нинг оксидланиб, нитрит кислота (HNO_2) ҳосил қилиши: $2\text{NH}_3 + 3\text{O}_2 = 2\text{HNO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 148 \text{ кал.}$ Бу процесс нитроз бактериялар ёрдамида боради. Нитрификациянинг иккинчи фазаси — нитрит кислотанинг оксидланиб, нитрат кислота (HNO_3)га айланиши: $2\text{HNO}_2 + \text{O}_2 = 2\text{HNO}_3 + 48 \text{ кал.}$ Иккинчи фазада нитрат бактериялар иштирок этади.

Нитроз бактерияларнинг вакили — *Nitrosomonas* чўзинчоқ, спорасиз ва ҳаракатчан микробдир. Нитрат бактерияларнинг вакили — *Nitrobacter* калта, спорасиз, ҳаракатчан таёқчадир. Нитроз бактериялар билан нитрат бактериялар қатъий аэроб ва қатъий прототроф микроблардир, чунки улар фақат минерал моддалар билан озиқланади. Улар углеродни CO_2 дан олади ва хемосинтез ёрдамида озиқланади, яъни озиқланиш учун зарур энергияни аорганик моддалар — аммиак ёки нитрит кислотани оксидлаш йўли билан олади.

Нитрификаторларнинг электив култураларини олиш учун зарур минерал тузлардан синтетик озиқли муҳит тайёрланади. Нитроз бактерияларнинг электив културасини олиш учун Виноградский ва Омелянский муҳитига (иловага қарал-

син) аммоний сульфат $[(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4]$ қўшилади. Аммоний сульфат—азот билан озикланиш ва кислород билан нафас олиш манбаидир. Нитрат бактерияларнинг электив културасини олиш учун минерал озикли муҳитга $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ўрнига нат-



62- расм. Нитроз ва нитрат бактериялар:

1—Nitrosomonas; 2—Nitrobacter.

рий нитрит (NaNO_2) қўшилади. Натрий нитрит азот билан озикланиш ва кислород билан нафас олиш манбаидир. Аэроб шаронт яратиш учун иккала муҳит айрим-айрим Эрленмейер колбаларига (сигими 100 мл дан) юпқа қатлам қилиб 30 мл дан қўйилади, ишқорий реакция вужудга келтириш учун бир оз бўр қўшилади, сўнг-ра нитрификаторлар бўлган тупроқ бўлакчалари ташланади. Нитроз бактериялар билан нитрат бактериялар углеродни ҳаводаги CO_2 дан олади. Электив муҳитлар қўйилган ва тупроқ бўлакчалари ташланган колбалар термостатга қўйилади.

Нитроз бактерияларнинг электив културасини текшириш. Нитроз бактериялар таъсирида аммоний сульфат $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ дан ҳосил бўлган нитрит кислота (HNO_2) бор-йўқлиги аниқланади. Нитрит кислота бор-йўқлиги Грисс реактиви билан билинади (иловага қаралсин). Нитрит кислотали озикли муҳит томчисига шу реактивдан қўшилганда пушти тусга киради. Озикли муҳитдан тайёрлаб бўялган мазокда чўзинчоқ *Nitrosomonas* ҳужайралари кўринади.

Нитрат бактерияларнинг электив културасини текшириш. Нитрат бактериялар таъсирида нитрит кислотадан ҳосил бўлган нитрат кислота

(HNO_3) бор-йўқлиги аниқланади. Нитрат кислота бор-йўқлигини билиш учун озиқли муҳит томчисига H_2SO_4 + дифениламин томчиси қўшилади. Нитрат кислота (HNO_3) бўлса, суюқлик кўк тусга киради. Озиқли муҳитдан тайёрланган препаратда кичкина *Nitrobacter* таёқчалари кўринади.

XXIV. ДЕНИТРИФИКАЦИЯ

Денитрификация нитрат кислота (HNO_3) нинг қайтарилиб, нитрит кислота (HNO_2) ва эркин азот (N_2) ҳосил қилиши демакдир. Бу процесс фақат анаэроб шароитда юзага чиқади. Улар анаэроб шароитда ҳаводаги кислород ўрнига нитрат кислотадаги кислороддан нафас олади, айни вақтда шу кислород билан қанд ва органик кислоталарни оксидлайди. Бу бактериялар денитрификаторлар дейилади.

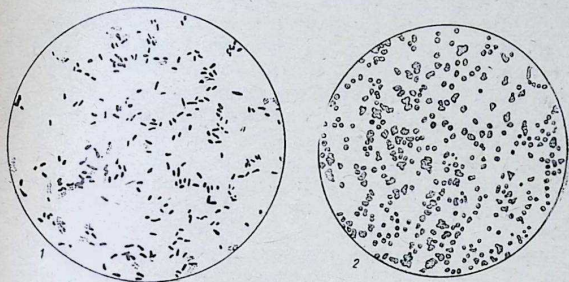
Денитрификаторларнинг электив културасини олиш учун Гильтайнинг озиқли муҳити (иловага қаралсин) ишлатилади. Унинг таркибида кислород манбаи — калий нитрат (KNO_3) ва нафас олиш учун қанд бор. Анаэроб шароит яратиш учун шу муҳит қолбага тўлатиб қўйилади, сўнгра 1 г тупроқ солиниб, оғзи резинка пробка билан беркитилади ва пробкага газ ўтадиган найча тиқиб қўйилади.

Денитрификаторларнинг электив културасини текшириш. Денитрификацияда нитрат кислота қайтарилиб, нитрит кислота ва эркин азот (N_2) ҳосил бўлади. Шу сабабли денитрификацияда эритмадан нитрат кислота йўқолиб, нитрит кислота вужудга келади ва газ ҳосил бўлади. Бу қуйидаги реакциялардан маълум бўлади: қолбадан олинган суюқлик томчисига H_2SO_4 билан дифениламин аралашмасидан иборат реактив қўйилади. Нитрат кислота (HNO_3) бўлса — суюқлик кўк тусга киради, бўлмаса — суюқлик ранги ўзгармайди.

Нитрат кислота (HNO_3) ўрнига нитрит кислота (HNO_2) пайдо бўлганлиги Грисс реактиви билан билинади. Озиқли муҳитда нитрит кислота бўлса, шу муҳит томчисига Грисс реактивидан бир томчи қўшилганда пушти тусга киради.

Препарат тайёрлаш учун қолба тагидаги суюқликдан пипетка билан бир томчи олинади. Денитрификаторлар културасидан тайёрланган препаратда денитрификация

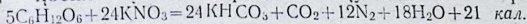
бактерияларни майда ингичка таёқчалар шаклида кўриш мумкин. Табиатда учрайдиган денитрификация бактериялари бир неча хил бўлиб, улар тупроқда, айниқсанам, органик парчаланмаган қолдиқларга бой бўлган тупроқда ва балчиқда кўп учрайди. Буларга *Bact. denit-*



63- расм. Денитрификаторлар:

1—*Bact. denitrificans*; 2—*Ashromobacter*.

ificans спора ҳосил қилмайдиган факультатив анаэроб, ҳаракатчан, катталиги 0,3 микронгача бўлган майда таёқчалар киради. *Achromobacter stutzeri* ҳам майда таёқча бўлиб, препаратда занжирга ўхшаб тузилган ҳолда кўринади. Тупроқда учрайдиган денитрификация бактерияларининг баъзи бирлари бир-бирларидан пигмент ҳосил қилиш хусусиятларига қараб фарқланади. Денитрификация бактерияларининг нитратни қайтариб эркин азот ҳосил қилиш процесси қуйидагича боради:



XXV. АЗОТ ТУПЛАШ (Азотфиксация)

Ҳаводаги молекуляр азотнинг биологик усулда тупроққа йиғилиши қишлоқ хўжалигида катта аҳамиятга эга. Атмосфера ҳавосининг 70% и эркин азотдан иборат. Атмосферадаги азот запасидан ўсимлик тўла фойдалана олмайди. Ҳаводаги азотни ўзлаштириб, уни ўсимлик озиқлана оладиган ҳолга келтирадиган алоҳида микроб-

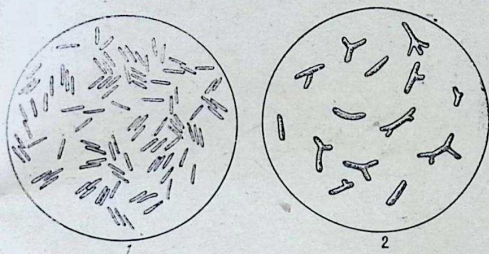
лар бор. Азотнинг микроблар томонидан йиғилиши табиатдаги азотнинг айланишида ҳал қилувчи звено ҳисобланади. Бундай микроблар азотфиксаторлар дейилади.

Проф. Е. Н. Мишустиннинг маълумотларига кўра, азотфиксаторлар йил давомида ер куррасидаги экин экиладиган ерларда, барча мамлакатлардаги химия заводларининг етказиб берадиган азотидан 7 баробар кўп азот тўплайди. Агар Совет Иттифоқининг экин экиладиган ерларига ҳисоб қилганда азотфиксаторлар бир йил мобайнида 1—1,5 млн тоннага яқин азот тўплайди. Демак, қишлоқ хўжалиги мутахассислари микроорганизмларнинг физиологик хусусиятлари ва ривожланиш қонуниятларини синчиклаб ўрганишлари деҳқончиликда ҳосилдорликни оширишдаги омиллардан бири ҳисобланади. Азотфиксаторлар икки биологик гурпуга бўлинади.

Симбиотик азотфиксаторлар. Булар тугунак бактериялар бўлиб, дуккакли ўсимликлар билан симбиоз ҳолатда яшайди ва ҳаводаги азотнинг тупроққа йиғилишига ёрдам беради. Тугунак бактериялар дуккакли ўсимликларнинг илдизида яшашга ва ривожланишга мослашган. Ҳозирги вақтда олимлар тугунак бактерияларнинг 16 хилини аниқлаган. Булар бир-бирларидан морфологик, физиологик ва культураль хусусиятларига қараб фарқланади. Ҳар қайси тугунак бактерия ҳар хил дуккакли ўсимликлар илдизида яшашга мослашган. Ҳозирги вақтда улардан нўхат, мош, беда, левия, себарга, нут, люпина ва бошқа дуккакли ўсимликлар илдизида яшовчи 10 хили яхши ўрганилган. Тугунак бактериялари дуккакли ўсимликлар илдизида ривожланиб, ҳаводаги азотни ўзлаштиради, натижада дуккакли ўсимликлар экилган ернинг ҳар бир гектарига 200—300 кг дан азот тўплайди. Тугунак бактериялари ўсимликлар билан симбиоз ҳолатида азот тўплайди. Акс ҳолда тупроқда эркин ҳолда яшаса ҳам ҳаводаги молекуляр азотни ерга тўплай олмайди. Тугунак бактериялар ўзининг активлиги ва тупроқда азот тўплаш қобилиятига қараб ҳам бир неча хилга бўлинади. Тугунак бактерияларнинг актив формаси дуккакли ўсимликлар илдизида ҳосил қилган тугунаклари одатда катта, усти текис, пушти рангли бўлади. Актив бўлмаган тугунак бактерияларининг дуккакли ўсимликлар илдизидаги ту-

гунаклари одатда майда, бурушган, тарқоқ, ранги сариқ бўлади. Тугунак бактерияларнинг ривожланиш процесси жуда мураккаб бўлади. Ривожланишнинг бошланғич даврида улар ҳаракатчан, майда таёқча шаклида бўлиб, сўнгра ўзларининг шакллари ўзгартириб, белбоғли йирик таёқча бактерионидларга айланади, яъни ўзларининг таналарида шохчалар ҳосил қилади. Тугунак бактериялар ҳужайрасининг катталиги 1 микрондан 4—5 микронгача, оптимал яшаш иссиқлиги 25—28°C бўлиб, 60—70°C да ўлади, 15—19° совуқда ривожланишдан тўхтамайди. Мўҳитнинг реакцияси бетараф бўлса, тугунак бактериялар яхши ривожланади. Ўсимликлар гуллаганда дуккакли ўсимлик илдизидаги тугунакларнинг активлиги ошади. Тугунак бактериялари тупроқдан дуккакли ўсимликлар илдизига илдиз тукчалари орқали ўтиб илдизда тугунаклар ҳосил қилади.

Тугунак бактерияларини аниқлаш. Бунинг учун бир неча хил усулдан фойдаланилади. 1. Тугунак бактерияларининг морфологиясини аниқлаш учун дуккакли ўсим-



64- расм. Тугунак бактериялари:

1—ёш тугунак бактериялари; 2—қари тугунак бактериялари.

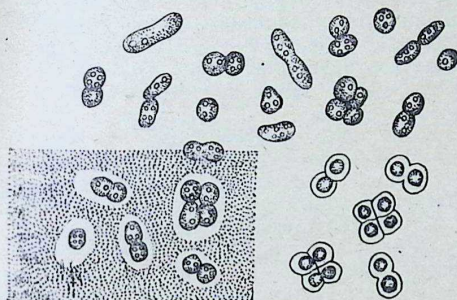
ликлар илдизидан тугунак олиб, у стерилланган сувда ювилиб, буюм ойнаси устида эзилади, ҳосил бўлган ширадан препарат тайёрлаб фуксин ёки метилен кўки билан бўяб микроскоп остида кўрилади. Агарда тугунак бак-

терияларининг ҳаракатини аниқлаш керак бўлса, буюм ойнаси устига бир томчи стерилланган сув томизилиб, тугунак эзилади, ҳосил бўлган шира устига қоплағич сйна ёпилиб, микроскоп орқали қаралса, ҳаракатчан майда таёқчалар борлиги аниқланади. 2. Тугунак бактерияларининг тоза культурасини ажратиб олиш учун қуйидаги озикли муҳитдан фойдаланилади. Тугунак бактерияларини ундириш учун нўхат ёки ловиядан тайёрланган бульон озик муҳити сифатида олинади. Бульон қуйидаги усулда тайёрланади: 100 мл сувга 10 г нўхат ёки ловия солиниб, дуккаклари ёрилгунча (30—40 минут) қайнатилади ва стерилланган колбага филтрдан ўтказиб қўйилди. Филтрланган суюқликнинг ҳажми камайдган бўлса, яна 100 мл гача етгунча стерилланган сув қўшилади, сўнгра реакцияси аниқланади. Одатда реакцияси нейтрал бўлиши керак. Ҳосил бўлган нўхат бульонига шакар ва 2 г агар-агар қўшилиб эритилади. Тайёрланган муҳит Петри ликобчаларига қуйилиб қотирилади. Сўнгра дуккакли ўсимликлар тугунакларидан сиқиб олинган шира экилади. Ликобчалар бир неча кун давомида 25—30°C термостатда сақланади. Сўнгра озик муҳит юзасидаги униб чиққан колониялардан препарат тайёрлаб синька, фуксин ёки Грамм усулида бўялиб, микроскопда кўрилади. Муҳит устида униб чиққан тўпламлар оқиш, майда, шилимшиқ бўлади.

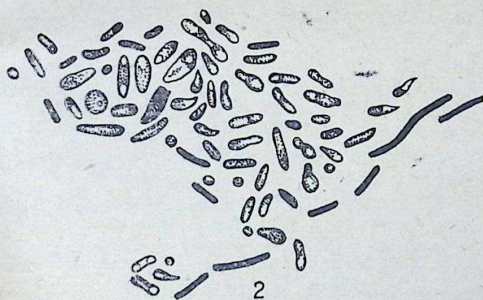
Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторлар. Эркин ҳолда яшовчи азотфиксаторларнинг электив культурасини олиш. Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксаторлар икки гурппага бўлинади: аэроб азотфиксаторлар, вакили *Azotobacter chroococcum* ва анаэроб азотфиксаторлар, вакили — Пастер клостридийи — *clostridium Pasterianum*. Азотобактерлар тупроқда эркин яшаб, ҳар гектар ерга 15—30 кг азот тўплашдан ташқари, яна бошқа хусусиятлари бор. Масалан, ўсимликлар ўсиши учун ауксин типидagi ўсиш факторини ҳосил қилиб, резосфера микробларининг яхши ривожланишига ёрдам беради.

Иккала азотфиксатор азот тўплаш учун энергияга муҳтож бўлади. Улар қандни ё оксидлаб, ёки бижғитиб шундай энергия олади. Азотобактер — аэроб бўлади, шунинг учун қандни ҳабо кислороди билан оксидлайди. Пастер клостридийи — анаэробдир, шунинг учун у қандни мой кислота ҳосил қилиб бижғитади. Азотобактер-

нинг тупроқдаги электив культурасини олиш учун тупроққа 2% ли маннит қўшиб аралаштирилади, лой қуюқ хамир ҳолига келгунча сув қўшиб қорилади, шу лой Петри ликобчасига солиниб, ҳўл шпатель билан ёйилади ва термостатга қўйилади. Маннит энергия манбандир. Маннит борлиги туфайли азотобактер ялтироқ, тиниқ шилимшиқ колониялар шаклида ўсиб чиқади. Пастер кластридийининг электив культурасини олиш учун тупроққа 1% ли глюкоза ва сув қўшиб, атала қилинади. Шу тупроқ аталаси Петри ликобчасига солиниб, термостатга қўйи-



1



2

65- расм. Эркин яшайдиган азотфиксаторлар.

лади. Пастер кlostридийи учун тупроққа азотобактер-
дагига нисбатан кўпроқ сув қўшамиз, чунки тупроқда
сув қанча кўп бўлса, ҳаво шунча кам бўлади, яъни ана-
эроб шароит вужудга келади. Пастер кlostридийи ана-
эроб бўлиб, тупроқ ичида ўсади. У қандии бижғитиб газ
ҳосил қилади, шу сабабли унинг ривожланаётганлиги газ
пуфакчалари пайдо бўлганлигидан билинади, газ пуфак-
лари тупроқни кўтариб, дўмбоқчалар пайдо қилади.

Эркин ҳолда яшайдиган азотфиксатор-
ларнинг тупроқдаги электив культурала-
рини текшириш. Маннитли тупроқ пластинкаларида
азотобактернинг тиниқ шилимшиқ колониялари кўринади.
Шу колониялардан қуруқ мазок-препарат тайёрланади.
Препаратда азотобактернинг шилимшиқ капсу-
ласи билан ўралган йирик диплококклар ва тетракокк-
лар кўринади.

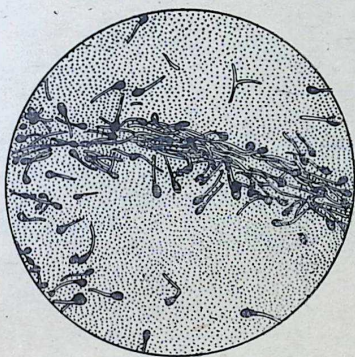
Глюкозали тупроқ пластинкалари қаппайиб чиқади.
Пластинканинг қаварган жойидаги тупроқнинг юза қа-
ватини бактериологик сиртмоқ билан кўтариб, ости бўш
бўлиб қолганини аниқлаймиз. Глюкозанинг ачишидан
ҳосил бўлган газлар шундай бўшлиқни вужудга келти-
ради. Шу жойдан сиртмоқ билан тупроқ донасини олиб,
қуруқ мазок-препарат тайёрлаймиз. Препаратни эритро-
зин билан бўяймиз. Пластинкаларнинг қаварган жойидан
тайёрланган препаратда Пастер кlostридийининг лимон-
га ўхшаш йирик спорали ҳужайралари кўринади.

XXVI. ГҲНГ МИКРОФЛОРАСИНИ АНИҚЛАШ

Маълумки, гўнг қишлоқ хўжалигида ўғит сифатида
катта аҳамиятга эга. Қишлоқ хўжалигида кўпинча бир-
мунча вақт сақланган гўнг ишлатилади. Узоқ вақт сақ-
ланган гўнгда мураккаб биохимиявий процесслар содир
бўлади. Гўнгнинг сифатли бўлиши унинг сақланишига
боғлиқдир.

Гўнг таркибида ҳар турли органик моддалар (оқ-
сил, лептон, мочевина (сийдикчил), клетчатка, пектин ва
лигнин) бўлади, бу эса микроорганизмларнинг ривож-
ланиши учун қулай муҳит ҳисобланади. Гўнг таркибида
микроорганизмларнинг кўп-оз бўлиши унинг сақланиш
усулига боғлиқ. Степанованинг маълумотига қараган-
да, ёпиқ гўнг хонада сақланганда унинг 1 г да 17,5 млрд

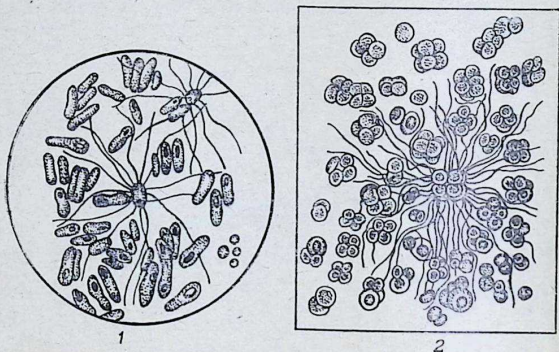
гача микроб бўлади. Зич қилиб уйиб совуқ жойда сақланганда гўнгнинг 1 г да 32,7 млрд гача микроорганизм бўлади. Уйиб зич қилинмасдан сақланган гўнгнинг 1 г да 90,6 млрд гача микроорганизм бўлади. Олимларнинг аниқлашича, гўнг сақлана бошлаганда мезофиль микроорганизмлар кўпаяди, гўнгда иссиқликнинг ошиб бориши билан мезофиллар камайиб, термофиль микроорганизмлар кўпаяди. Шунинг учун ҳам гўнгнинг қизишида термофиль микроорганизмларнинг аҳамияти катта. Термофиль микроблар группасига, асосан, спора ҳосил қилувчи бактериялар ва баъзи бир замбуруғ актеномицидлар киради.



66- расм. *Bac. cellulosae dissolvens*.

Гўнгдаги мезофиль, термофиль ва уробактерияларни аниқлаш. Бунинг учун гўнгнинг уч-тўрт жойини 50—60 см чуқурликда ковлаб намуна олиниб, у тоза қоғоз устида яхшилаб аралаштирилади. Кейин спирт билан тозалаб артилган чинни ховончага солиб яхшилаб эзилади, сўнг ховончадаги гўнгдан 1 г олиб 99 мл стерилланган сув қуйилган қолбага солинади. Қолба 5 минут давомида яхшилаб чайқатилиб ичидаги гўнг сувга аралаштирилади. Ҳосил бўлган эмульсиядан 1 мл олиб, 1 : 100 000 000 гача стерилланган сувда эритилади. Гўнгдаги мезофиль микробларни аниқлаш учун 7, 8- эритма-

дан 1 мл олиниб, иккита Петри ликобчасига қўйилади. Ликобчага 6—7 мл суюлтирилган, 40—50° гача совитилган ГПА ёки ДПА муҳити қўйилади. Термофилъ микроорганизмни аниқлаш учун 5—6-эритмадан 1 мл дан олиб иккита Петри ликобчасига қўйилади. Устидан 6—7 мл ГПА ёки ДПА қўйилади. Ликобчаларни секин-аста қимирлатиб эритма муҳити аралаштирилади. Ликобчадаги муҳитлар қотгандан сўнг ликобчанинг тагига экилган куни, эритманинг даражаси ёзилиб термостатга қўйилади.



67- расм. Уробактериялар:
1—*Urobacillus pasteurii*; 2—*planosarcina urea*.

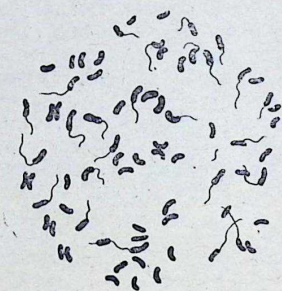
Гўнгдаги уробактерияларни аниқлаш учун иккинчи эритмадан суюқ муҳит солинган колбага 2 мл экилади. Колбанинг пробкасига қизил лакмус қоғоз қистирилиб, кейин у 3—4 сутка давомида термостатга қўйилади. Термостатнинг иссиқлиги мезофилъ ва уробактериялар учун 27—30°C, термофилъ бактериялар учун эса 54—55°C бўлиши керак. Ликобчаларда униб чиққан колонияларнинг сони умумий қабул қилинган усул билан 1 г гўннга ҳисоб қилинади. Гўнгда уробактериялар борлиги экилган колбада аммиак ҳосил бўлиши билан аниқланади. Агарда колбанинг пробкасига қистириб қўйилган қизил лакмус қоғозининг ранги ўзгариб, кўкариб қолса, аммиак ҳосил бўлганлигидан дарак беради. Колбадаги суюқликдан 2 томчи олиб, кичкина чинни ликобчага солиб,

унга икки томчи Несслер реактивидан қўшилса, чинни ликобчадаги суюқликнинг ранги тезда ўзгаради, бу колбада аммиак ҳосил бўлишини аниқлашнинг иккинчи усули ҳисобланади.

XXVII. ОЛТИНГУГУРТ ВА ТЕМИР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Олтингургурт бактериялари табиатда жуда кўп тарқалган бўлиб, уларни тупроқда, ботқоқлик жойларда, кўл сувларида учратиш мумкин. Улар тупроққа ўсимлик ва ҳайвонларнинг турли хил қолдиқлари билан тушади. Бу қолдиқларнинг тупроқда парчаланиши натижасида H_2S ажралиб чиқади. H_2S нинг ажралиб чиқиши тупроқдаги оқсилнинг парчаланишига боғлиқ. Бунинг сабаби оқсил таркибида ҳар турли аминокислоталар (цистин, метионин) бўлади. Тупроқдаги оқсилларни чири-тувчи бактериялар парчалаб водород сульфид ҳосил қилади. Ҳосил бўлган H_2S олтингургурт бактериялари таъсирида оксидланиб, пировардида олтингургурт, сульфат кислота ва сув ҳосил бўлади. Табиатда олтингургурт бактерияларининг аҳамияти катта. Масалан, олтингургурт бактериялари сувда тўпланган заҳарли водород сульфидни оксидлаб сувни ва атроф муҳитни тозалайди ва, шунингдек, қишлоқ хўжалигида тупроқдаги ўсимлик ўзлаштира олмайдиган олтингургуртни оксидлаб, ўсимлик ўзлаштира оладиган ҳолга келтиради. Олтингургурт бактериялари асосан икки гурппага бўлинади. 1) рангсиз, 2) рангли олтингургурт бактериялари. Рангсиз олтингургурт бактерияларининг диаметри 50 микронча бўлади, улар бир ва кўп ҳужайрали бўлиб тирон бактериялари дейилади. Улар ипсимон бўлиб, махсус шилимшиқ ёстиқчалар ёрдамида сув остидаги ҳар хил нарсаларга ёпишиб ётади. Рангли олтингургурт бактериялари пигмент ҳосил қилувчи олтингургурт бактериялари дейилади. Уларнинг ҳужайраларида махсус пигментлар бўлади, шунинг учун ҳам улар бактериопурпурин номини олган. Таркибидаги қизил пигмент уларнинг товланиб кўринишига сабаб бўлади. Пурпур бактериялари водород сульфидни сульфат кислотасигача оксидлайди. Қизил пигментли олтингургурт бактериялари икки усулда органик моддаларни синтез қилади. Хемосинтез

ба фотосинтез. Олтингугурт бактерияларининг шакли бошқа бактериялардан бир оз фарқ қилади. Улар сув ўтларининг шаклини эслатади. Олтингугурт бактериялари катталигига қараб ҳам бир-биридан фарқ қилади. Рангсиз олтингугурт бактериялари рангли олтингугурт бактерияларига нисбатан бир неча барабар катта бўлади. Олтингугурт бактерияларининг шакллари ҳам ҳар турли бўлиб, улар орасида майда таёқчасимон, вибрионга ўхшаш ва спиралсимон бактериялар кўп учрайди. Бактериялар танасида олтингугурт томчи шаклида тўпланади. Уларнинг танасидаги томчи шаклида йиғилган олтингугурт бошқа бактериялардан фарқ қиладиган белгиси ҳисобланади. Олтингугурт бактериялари қуйидаги усуллар билан аниқланади.



68- расм. Олтингугурт бактериялари.

1. С. Н. Виноградский усули билан аниқлаганда шиша цилиндрга сув ўти илдизи ёки беда солиниб, устига бир озгина балчиқ қўшилади ва цилиндр сув билан тўлатилади. Сўнгра цилиндр 25—30 кун давомида термостатда сақланади. Шу вақтнинг ичида цилиндрдаги сувнинг устки қисмида олтингугурт бактериялари йиғилиб, парда ҳосил қилади. Ҳосил бўлган пардадан препарат тайёрлаб, микроскоп остида кўрилади.

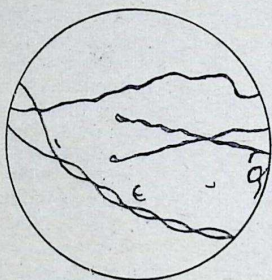
2. Олтингугурт бактерияларининг соф культурасини озиқли муҳитда ундириб ҳам аниқлаш мумкин. Бунинг учун асосан қуйидаги озиқли муҳитлардан кўп фойдаланилади. Масалан: 1. Сут кислотанинг натрийли тузи ёки қаҳрабо тузидан 0,5 г; 2. Аспарагин 0,2 г; 3. Магний сульфат 0,1—0,2 г; 4. Калий гидрофосфат 0,1 г; 5. Темир сульфат (FeSO_4) жуда оз миқдорда; 6. Водопровод суви 100 мл олинади. Ҳосил бўлган муҳит колбага солиниб, устига тупроқ ёки балчиқ қўшилади. Колбанинг оғзи пробка билан беркитилиб, 8—10 кун давомида 25—30°C термостатда сақланади. Муҳитда олтингугурт бактерия-

ларининг унганини ҳосил бўлган ҳиддан ва муҳит ичига кучсиз темир хлорид эритмаси билан аммиак эритмасида намланган кичкинагина тошча боғлаб туширилган ипнинг тез вақтда қорайишидан билиш мумкин. Қолбанинг пастки қисмида ҳосил бўлган темир сульфиднинг таъсири натижасида ип қораяди. Қолбанинг юқори қисмидаги ипнинг ранги ўзгармайди. Бунга қолбанинг юзасида водород сульфидни оксидловчи олтингугурт бактериялари сабаб бўлади.

Темир бактерияларини аниқлаш. Темир бактериялар асосан сув ҳавзаларида, ботқоқ ерларда, қисман тупроқда учрайди. Темир бактериялари табиатда учрайдиган икки валентли темир ва марганец тузларини оксидлаб, уни уч валентли бирикмаларга айлантиришда иштирок қилади. Шунинг учун ҳам қишлоқ хўжалигида темир бактериялари муҳим аҳамиятга эгадир. Тупроқда темир ва марганец моддаси етишмаса ўсимликнинг ривожланиши ва ҳосилдорлигига салбий таъсир қилади. Темир бактериялари узунчоқ, шилимшиқ қин билан ўралган ипсимон шаклда бўлади. Уларнинг шилимшиқ қинларида темир гидроксиди тўпланган бўлади. Темир бактериялари ўзларининг катталиги, таналарида доначаларнинг мавжудлиги ва шохланиш хусусиятлари, спиралга ўхшаб буралган лента ҳосил қилишига қараб бошқа бактериялардан фарқ қилади. Одатда уларнинг узунлиги 1 см гача бўлиб, йўғонлиги 2—3 микрон келади.

Сув ҳавзасидаги темир бактериялар қуйидаги усул билан аниқланади. Темир таёқчалар арқонга боғланиб, текшириладиган сувга туширилади, арқоннинг сув юзасидаги учига эса пўкак боғланади. Пўкакнинг турган жойи белгилаб қўйилади. Бир неча ойдан кейин сув ичидаги темир таёқчаларга темир бактериялар ёпишиб, тугунчалар ҳосил қилади. Ҳосил бўлган тугунчалар ичида темир оксиди бўлади. Темир таёқча устида ҳосил бўлган тугунчалардан препарат тайёрланиб, у 10% ли HCl ва спирт билан фиксация қилинади ва генициан-фиолет бўёғи билан бўялиб микроскопда кўрилади. Юқорида эслатиб ўтилган усулдан ташқари, темир бактерияларини аниқлашда С. Н. Виноградский ва Лиске усулларидан ҳам фойдаланилади. С. Н. Виноградский усулида аниқлаганда шиша цилиндрга қайнатиб олинган беда чўпи солинади, унга бир озгина янги чўктирилган темир

гидроксиддан қўйилади ва цилиндр сув ҳавзасидан олинган текшириладиган сув билан тўлдирилади. Цилиндрдаги органик қолдиқларнинг анаэроб усулда парчаланиши натижасида қуйидаги моддалар (H_2 , H_2S ва бошқалар) ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган бу моддалар сув таркибидаги уч валентли темир оксидини икки валентли темир оксидига айлантиради. Сувда эриган икки валентли темир карбонат ($FeCO_3$) сувнинг юзасига чиқиб, темир бактериялари томонидан оксидланади. Натижада сув юзасида темир бактериялари йиғилиб, маълум вақт ўтгандан сўнг темир бактериялар йиғиндисини оддий кўз билан ҳам кўриш мумкин. Лиске усулида аниқлаганда колбага 0,05% ли беда эритмаси ёки тўкилган барглarning эритилган экстракти солиниб, устига бир оз темир қириндиси қўйилади ва уларга яна балчиқ ёки сув ҳавзасидан олинган сув қуйилади.



69- расм. Темир бактериялари.

Юқорида айтиб ўтилган усуллардан ташқари, темир бактерияларини аниқлашда темир бактерияларининг ўзига хос синтетик муҳитларидан ҳам фойдаланиш мумкин.

С. Н. Виноградский муҳити:

1. NH_4NO_3 , $NaNO_3$, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,5 г;
2. $CaCl_2$ — 0,2 г;
3. Лимон кислотанинг темир аммиак тузи — 10 г;
4. 1000 мл сув.

Лиске муҳити:

1. Агар-агар.
2. Сирка кислотанинг магний тузи — 0,1.
3. 100 мл сув.

Молиш темир бактерияларини қидиришда қуйидаги муҳитдан фойдаланган. Бу муҳит 0,25% ли марганец-пептонга 10% ли желатинна эритмаси қўшиб тайёрлаган.

XXVIII. МИКРООРГАНИЗМЛАРНИНГ АНТАГОНИСТИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Табиатда тарқалган микроорганизмлар якка-якка ривожланмай, балки бир-бири билан аралашиб яшайди. Шунинг учун ҳам уларнинг ўртасида антагонистик ва ҳамкорлик муносабатлар пайдо бўлади. Микроблар ўртасидаги ҳамкорлик симбиоз дейилади, бунда бир хил микроблар иккинчи хил микробларга уларнинг яшаши ва ривожланиши учун қулай шароит яратади. Микроблар яшаш ва ривожланиш процессида муҳитга мосланиш натижасида бир-бирларига нисбатан қарама-қарши муносабатда бўлади, бундай муносабат микроблар антагонизми дейилади. Пастер биринчи бўлиб куйдирги касалининг микроби билан кўк йиринг ҳосил қилувчи бактериялар ўртасидаги муносабатларни кузатиб микроорганизмлар ўртасидаги антагонистик хусусиятларини аниқлаган бўлса, Мечников сут кислота ҳосил қиладиган бактерияларнинг чиритувчи бактерияларга нисбатан бўлган антагонистик муносабатини аниқлаган. Шунинг учун ҳам Пастер билан Мечниковлар антагонизм назариясининг асосчилари ҳисобланади.

Антагонистик муносабат фақат бактериялар орасидагина эмас, балки замбуруғлар ва актиномицетлар орасида ҳам учрайди. Олимларнинг аниқлашича, тупроқ микроблари орасида, айниқса, гўнг солиниб ўғитланган тупроқда патоген ва фитопатоген микробларига нисбатан антагонистлар кўп учрайди. Бир хил микроб иккинчи хил микробга нисбатан антагонист бўлса, у ҳосил қилган маҳсулоти билан иккинчи микробни ривожланишдан тўхтатади, яъни уни ўлдиради. Антагонист микробларнинг ҳосил қилган маҳсулотлари антибиотик дейилади. Антибиотикларни асосан тупроқда учрайдиган замбуруғлар, актиномицетлар ва ҳар турли спорали, спорасиз бактериялар ҳосил қиладди. Антибиотикларни фақат микробларгина эмас, ўсимлик ва ҳайвонлар ҳам ҳосил қиладилар.

Ҳозирги вақтда антибиотиклар фақат медицинадагина қўлланилмасдан, қишлоқ хўжалигида ҳам ўсимлик касалликларининг олдини олиш ва ҳар турли фитопатоген микроорганизмларга қарши кенг кўламда фойдаланилмоқда.

Совет олимлари сўнгги йилларда, антагонист микроорганизмларнинг хусусиятларини синчиклаб ўрганишлари туфайли, замбуруғ, бактерия ва айниқса, актиномицетлардан бир неча хил янги антибиотик топдилар. Бактериялардан олинган антибиотикларга нисбатан актиномицетлардан олинган антибиотиклар актив бўлади. Микроорганизмларнинг антагонистик хусусиятлари лабораторияда бир неча хил усул билан қуйидагича аниқланади.

1. Зич озиқ муҳитида аниқлаш. Бунинг учун суюлтирилган ГПА олиниб, стерилланган Петри ликобчасига қуйилади, муҳит қотгандан сўнг унинг юзасига кенг йўл қилиб ҳар турли микроорганизмлар *Bacillus plesentericus* микробиологик сиртмоқ билан экилади, унга тик чизиқлар қилиб *Bac. Mycoides* ва *Sarcina* нинг соф культураси экилади. Микроорганизмлар экилган ликобчалар 26—28° С термостатга 1—2 сутка қўйилади, сўнг-ра тажриба натижаси текширилганда микробларнинг бир-бирига яқинлашган жойларида юз берган ўзгаришларига аҳамият берилади. Агар микроблар бир-бирларига тўқнашган жойда ўсиш суст, ёки бутунлай ўсмаган бўлса, бу ҳолат микроблар ўртасида антагонизм борлигидан далолат беради. Микробларнинг бир-бирларига нисбатан антагонистик муносабатда бўлишлари уларнинг ўсишига таъсир қилибгина қолмасдан, балки морфологик ва бошқа хусусиятларига ҳам таъсир қилиши мумкин. Бунинг аниқлаш учун муҳит юзасида нормал ўсган микроб тўплами билан микроблар бир-бири билан тўқнашган жойда заиф ўсган микроб колонияларидан препарат тайёрлаб бир-бирига солиштирилади.

2. Тупроқдаги антагонист микробларни аниқлаш. Бунинг учун Петри ликобчасига ГПА муҳити суюлтирилиб қуйилади, ликобчадаги муҳит қотгандан кейин унинг юзасига бактерия ёки замбуруғларнинг соф культураси шпатель билан экилиб, 25—30° С термостатга 1—2 сутка давомида қўйилади. Сўнг-ра ликобчадаги муҳит юзасида униб чиққан бактерия ёки замбуруғ колонияларининг устига бир неча жойига янги тупроқ бўлакчаларидан стерилланган пинцет билан қўйилади ва яна бир неча кун термостатда сақланади. Агар тупроқ бўлакчалари таркибида антагонист микроблар бўлса, тупроқ заррачаси атрофида оқ доира ҳосил бўлади, чунки тупроқдаги антагонист микроблар муҳит юзасидаги

микробларнинг ривожланишига йўл қўймайди, яъни уларни ўлдиради. Антибиотикларнинг активлигини аниқлашда асосан А. Флеминг ва диффузия усулларидадан фойдаланилади.

XXIX. БАКТЕРИАЛ УЎГИТЛАР

Қишлоқ хўжалиги экинлардан юқори ҳосил олиш учун фойдаланадиган ўғитлар бир неча хил бўлади. Органик, минерал ва бактериал ўғитлар. Бактериал ўғитларнинг минерал ва органик ўғитлардан фарқи шуки, бактериал ўғитнинг таркибида ўсимлик учун озиқли моддалар бўлмайди. Шунга қарамасдан, бактериал ўғитлар ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланиши учун таъсир кўрсатади, чунки бактериал ўғитлар тупроқни фойдали микроблар билан бойитиш мақсадида экиладиган уруғларга аралаштириб ишлатилади. Ҳозирги вақтда қишлоқ хўжалигида азотобактерин, нитроген, фосфобактерин ва торф оҳакли, силикат каби бактерияларидан тайёрланган ўғитлар кўп ишлатилмоқда.

Азотобактерин — азотобактердан тайёрланади. Даслаб 1911 йили ишлатилган азотобактерин, асосан, 1957 йилдан бошлаб ишлаб чиқарила бошланди. Ҳозирги вақтда азотобактерин қишлоқ хўжалигида кўплаб ишлатилади. Азотобактеринни ишлатиш усули: уруғ салқин ва тоза ерга ёки полга тўкилиб намланади ва унга маълум миқдорда азотобактерин қўшиб яхшилаб аралаштирилгандан кейин уруғ экилади. Азотобактерин ишлатилганда ҳосил 10 % дан 15 % гача кўпаяди. Айниқса, шўрланган ўтлоқ ва ўтлоқ-тўқай ерларда пахтанинг ҳосили ошади. Ҳозирги вақтда азотобактериннинг агарли препарати тайёрланади. 1 г азотобактерин препаратида 800 млн микроб ҳужайраси бўлади.

Нитроген — тугунак бактерияларидан тайёрланади. Тугунак бактериялари бир неча хил бўлади. Ҳар қайси тугунак бактериянинг ўзига хос нитрогени бўлади. Россияда нитроген 1912 йилдан бошлаб ишлатилган бўлса ҳам, қишлоқ хўжалигида асосан Октябрь революциясидан кейин кенг кўламда қўлланилди. Нитроген қуйидагича ишлатилади. Бир гектар ерга солинадиган нормани уруғ экиладиган куни ҳар 10 кг майда уруғга (беда, себарга) ёки 20 кг йирик уруғга (нўхат, ловия ва бошқалар) 200 мл ҳисобидан сув билан аралаштириб

уруғга пуркалади, сўнгра уруғ бир оз қуригандан кейин экилади. Нитроген ишлатилган ерларда ҳосилдорлик 2,1 ц дан 11,8 ц гача ортади. Нитроген препарати стерилланган тупроққа аралаштирилиб тайёрланади. Ҳар бир г препаратда 100 млн бактерия бўлади.

Фосфоробактерин — тупроқ таркибидаги фосфор сақловчи органик моддаларни парчалаб, тупроқда фосфат кислота ҳосил қиладиган бактериялардан тайёрланади. Бир гектар ерга 200—250 г фосфоробактерин солинади. Олимларнинг аниқлашларига кўра, фосфорнинг ҳар турли органик бирикмаларининг минерал шаклига айланиши фосфор бактерияларининг ҳаёт-фаолиятига боғлиқдир. Фосфор бактерияларининг активлиги натижасида 50% га яқин фосфорни лецитиндан ва 86% фосфорни нуклеин кислотадан ажратади. Органик бирикмалардан фосфорни ажратиб оладиган бактерия *Bacillus megatherium* дейилади. Бу микроб спора ҳосил қиладиган таёқчасимон бактериядир.

Фосфоробактерин қуйидаги усулда ишлатилади: 250 г фосфоробактерин сувда эритилиб экишга тайёрланган уруғга пуркалади, сўнгра уруғ салқин ерга ёйиб қуририлиб экилади. Фосфоробактерин ишлатилганда додли экинларнинг ҳосили 1 ц дан 2—3 ц гача ошади. Фосфоробактерин каолин кукунига аралаштириб порошок ҳолида тайёрланади. 1 г фосфоробактеринда 8 млрд бактерия бўлади.

Торф оҳак бактериял ўғит — тупроқдаги автохтон микробларидан тайёрланади. Улар асосан икки гурӯҳга бўлинса ҳам, бир-бири билан ҳамкорликда яшаб, тупроқнинг унумдорлигини оширишда роли каттадир. Биринчи гурӯҳга кирувчи микроблар тупроқдаги ўсимлик қолдиқларига таъсир қилиб, чиринди ҳосил қиладди. Бу гурӯҳга замбуруғлар, аэроб, анаэроб бактериялар ва актиномицетлар киради. Биринчи гурӯҳга кирувчи микроблар автохтони «А» микроблар дейилади.

Иккинчи гурӯҳга кирувчи микроблар тупроқдаги автохтони «А» микроблари ҳосил қилган чириндини ўзгартириб, ўсимликлар учун зарур бўлган минерал озиқ ҳосил қиладди. Бу гурӯҳга аэроб аммонификаторлар, целлюлозани парчалайдиган олтингугурт ва бошқа бактериялар киради. Иккинчи гурӯҳдаги микроблар автохтони «В» дейилади. Автохтони «В» гурӯҳасига кирувчи микроблардан бактериял ўғит тайёрланади.

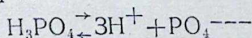
Бунга АМБ бактериал ўғити дейилади. АМБ ўғити ишлатилганда дон экинларининг ҳосили 3—4 ц, картошка 25—30 ц, сабзавот 30—35 ц ошади. АМБ бактериал ўғити асосан эланган торфга аралаштириб тайёрланади. 1 гектар ерга 250—500 кг АМБ бактериал ўғит ишлатилади.

Силикат бактериал ўғит. Тупроқдаги силикатни парчалаб калийни ажратадиган микроблар силикат бактериялар дейилади. Силикат бактериал ўғит силикат бактерияларидан тайёрланади. Силикат бактериал ўғит қуруқ порошок ҳолида тайёрланади. Қишлоқ хўжалиги микробиология илмий-текшириш институтининг маълумотиغا қараганда силикат бактериялари силикатни парчалаб калийни ажратишдан ташқари, ҳаводаги молекуляр азотни қисман ерга тўплайди ва ўсимликларнинг ўсишини активлаштирадиган моддани синтез қилади. Силикат бактериал ўғит ишлатилганда ҳосилдорлик 10—11% га ошади. Бактериал ўғитлар ернинг унумдорлигини оширибгина қолмасдан, балки ўсимликларни ҳар турли касалликлардан ҳам сақлайди. Бактериал ўғитлар ишлатилганда тупроқнинг реакциясига аҳамият бериш тавсия қилинади. Шунинг учун ҳам қишлоқ хўжалигида бактериал ўғитларнинг аҳамияти каттадир.

XXX. ФОСФОР БАКТЕРИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Қишлоқ хўжалиги экинларининг ҳосилдорлигини оширишда фосфор бирикмалари катта аҳамиятга эга. Фосфор олтингугурт каби тупроқда ҳар хил органик ва минерал бирикмалар ҳолида учрайди. Тупроқдаги қийин эрийдиган фосфор бирикмалари физик-химиявий ва биологик факторлар таъсирида сувда яхши эрийдиган бўлиб қолади, яъни фосфат кислота ҳосил бўлади, шундагина фосфорни ўсимликлар осон ўзлаштиради. Умуман тупроқда 0,05% дан 0,2% гача, Урта Осиё тупроқларида эса 0,134% дан 0,195% гача фосфор модда бўлади.

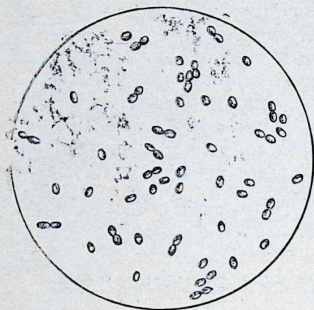
Ўсимликнинг танаси ва илдизидида ҳар хил фосфор бирикмалари бўлганлиги учун тупроққа ўсимлик қолдиқлари билан тушади ва тупроқ микроорганизмлари томонидан парчаланиб фосфат кислотаси ҳолига ўтади. Ўсимликлар фосфорни асосан фосфор кислота аниони шаклида ўзлаштиради.



Тупроқдаги фосфор бирикмаларини эритишда фосфор бактерияларидан ташқари, кислота ҳосил қилувчи спорали ва спорасиз микроорганизмлар (аммонификаторлар, нитрификаторлар, олтингугурт бактериялари ва бошқалар) катта аҳамиятга эга.

Р. А. Менкинанинг маълумотига қараганда, фосфор бактериялари 50% фосфорни лецитиндан ва 86% фосфорни нуклеин кислотадан қуйидаги схема бўйича ажратиб, тупроқни фосфор билан бойитади.

1) нуклеопротеид → нуклеин → нуклеин кислота →
→ нуклеотидлар → H_3PO_4 ;



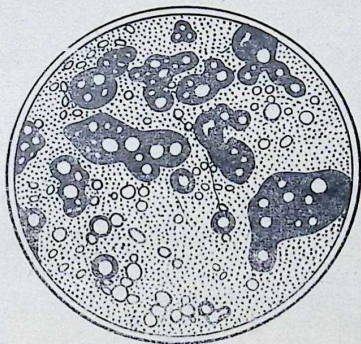
70- расм. Фосфор бактериялари (*Bac. megatherium* var. *phosphaticum*).

2) лецитин → глицерофосфор эфирлар →
→ H_3PO_4 . Типик спора ҳосил қиладиган фосфор бактерияларга мисол қилиб *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* олинади; бу микроб таёқчасимон, чети қайрилган, катталиги 3 микрондан 6 микронгача спора ҳосил қилувчи грамм манфий аэроб бўлиб, ҳар хил қанд эритмаларида (глюкоза, сахароза, маннит, галактоза) газ ҳосил қилмасдан кислота ҳосил қилади.

Картошкадан ва фосфорнинг органик бирикмалари қўшилиб тайёрланган муҳит юзасида шилимшиқ, қўнғир рангли колониялар атрофида ялтироқ доира ҳосил бўлади. Колониялардан препарат тайёрлаб микроскопда кўрилганда уларнинг жуфт бўлиб жойлашганини кўрамиз.

Спора ҳосил қилмайдиган фосфор бактериялари майда таёқчасимон, катталиги 1,5-2 микрон, грамм манфий ва факультатив анаэробдир. Зич озиқли муҳит юзасида пушти ранг колония ҳосил қилади, колония атрофида ялтироқ доира бўлмайди. Бу микроб сутда ишқор ҳосил қилибгина қолмасдан, қисман нуклеин кислотани ҳам парчалайди.

Тупроқдаги фосфор бактерияларини аниқлаш усули. Бунинг учун тупроқ намунасида аналитик тарозида 1 г ўлчаб олиб, уни стерилланган сув билан аралаштириб, эритма тайёрланади ва унинг охириги даражаси 1 : 100 000 га етказилади, сўнгра эритмадан стерилланган пипетка билан олиб, учта Петри ликобчасига солинади, устига суюлтирилган, 40—45°С гача совирилган муҳит қўйилади. Эритма билан муҳитни аралаштириш учун ликобча аста-секин чайқатилади. Ликобчадаги муҳит қотгандан сўнг, ликобчага ёрлиқ ёпиштириб 6—7 кун давомида термостатга қўйиладди. Ёрлиққа эритманинг даражаси, студентнинг фамилияси, группаси ва ишни бажарган кунни ёзилади.



71-расм. Фосфор бактериялари колонияларининг атрофидаги ялтироқ доңралар.

Фосфор бактерияларини ундириб ва уларни ўрганиш учун бир неча хил озиқли муҳитлардан фойдаланилади. Масалан, Р. И. Пиковская муҳитининг таркиби қуйидагича бўлади:

Са ₃ (PO ₄) ₂ (кальций фосфат)	5,0 г,
NaCl (ош тузи)	0,2 г,
Mg SO ₄ · 7H ₂ O (магний сульфат)	0,1 г,
Mn SO ₄ (марганец сульфат)	жуда оз миқдорда,
Fe SO ₄ (темир сульфат)	жуда оз миқдорда,
глюкоза	20,0 г,
агар-агар	20,0 г,
сув	1000 мл.

Р. И. Пиковская муҳитидан ташқари, фосфор бактерияларини ундириб ўрганиш учун Р. А. Менкинанинг муҳитидан ва картошка-хамиртуруш агаридан ҳам фойда-

ланилади. Униб чиққан фосфор бактерияларининг сонини аниқлаш учун учта ликобчадаги микроб колонияларини санаб, уларнинг ўртача сони аниқланади. Масалан: биринчи ликобчада 10 та, иккинчи ликобчада 8 та, учинчи ликобчада 6 та микроб колонияси бўлса, буларнинг йиғиндиси учга бўлинади, чиққан сон эритма даражасига кўпайтирилади, яъни $8 \cdot 100\,000 = 800\,000$.

1 г тупроқдаги фосфор бактерияларининг сони аниқлангандан сўнг муҳит юзасидаги колониялардан препарат тайёрлаб микроскопда кўрилади, шундан кейин кўзга кўринган микробларнинг расми дафтарга чизиб олинади.

Тупроқдаги фосфат кислотани аниқлаш. Тупроқ микроорганизмлари учун фосфорнинг аҳамияти катта бўлиб, тупроқдаги фосфат кислотанинг миқдори тупроқ микробларининг ҳаёт фаолияти билан чамбарчас боғлангандир. Кўпгина олимларнинг маълумотларига кўра, микроблар ҳужайрасининг маълум қисмини фосфат кислота ташкил қилади. Масалан: *Azotobacter chroococcum* қуруқ моддада 5,2 % гача, *Vac. mycoides* ← 4,07 % гача, ачитқиларнинг кулида эса 60 % гача бўлади. Шунинг учун ҳам тупроқ таркибидаги фосфат кислотани аниқлаш қишлоқ хўжалигида амалий ва назарий аҳамиятга эгадир.

Тупроқдаги фосфат кислота бир неча усул билан аниқланади, булардан А. Г. Кирсанов усулига Я. П. Пейве ўзгартириш киритиб таклиф қилган усули энг қулай ҳисобланади. Бу усул аниқланаётган эритманинг рангини ўз таркибида фосфорномолибден комплексини ($M_0O_2 \cdot 4M_0O_3 = \leftarrow \rightarrow . H_3PO_4 \cdot 4H_2O$) сақлайдиган стандарт эритмалар билан солиштиришга асослангандир. Бунинг учун текшириляётган тупроқ намунасида 5 г аналитик тарозида тортиб олиниб колбага солинади, устига 25 мл 0,2 н. HCl қуйиб 1 минут чайқатилади, сўнгга эритма тиндирилиб филтрланади. Ҳосил бўлган филтратдан 5 мл дан олиб иккита пробиркага солинади, устига 5 мл дан 5 марта сувда суюлтирилган молибден реактиви қўйилади (1 қисм реактив + 4 қисм сув). Тажриба ўтказилган пробиркаларни стандарт пробиркаларга солиштириш туфайли 1 г тупроқ, сўнгга 100 г тупроқ таркибидаги P_2O_5 миқдори аниқланади.

ЭНГ МУҲИМ РЕАКТИВЛАР ВА БАЪЗИ ОЗИҚЛИ МУҲИТЛАРНИНГ РЕЦЕПТИ

1. Люголь эритмаси. Бу йоднинг калий йоддаги эритмасидир (йод сувда эримайди).

Эритма тайёрлаш: 2 г калий йодид 5 л сувда эритилади ва бу эритмага 1 г йод қўшилади. Аралашмани чинни ҳовончада эзиб-янчиб, унга 300 мл гача сув қуйилади. Тайёрланган Люголь эритмаси бактерияларни Грамм усулида бўяш учун ишлатилади. Микроб ҳужайраларида гликоген ёки гранулёза борлигини билиш учун қуюқроқ Люголь эритмаси ишлатилади: йод — 72 г, калий йодид — 20 г, сув — 100 мл.

2. Нитрит кислота борлигини аниқлаш мақсадида реакция қилиш учун ишлатиладиган Грисс реактиви икки хил эритмадан тайёрланади. Биринчи эритмани тайёрлаш учун 0,5 л сульфонил кислота суюлтирилган 150 мл сирка кислотада эритилади. Иккинчи эритмани тайёрлаш учун дистилланган 20 мл сувда 0,1 г нафтиламин қайнатилади, сўнгра суюлтирилган сирка кислотадан 150 мл қўшилади. Грисс реактивининг биринчи ва иккинчи эритмаларини ишлатиш олдидан аралаштириш керак.

3. Нитрат кислота борлигини аниқлаш мақсадида реакция қилиш учун ишлатиладиган реактив қуйидагича тайёрланади: чинни ҳовончага дифениламиннинг бир неча кристаллини солиб, унга қуюқ сульфат кислотадан 3—4 томчи томизилади, сўнгра текшириладиган суюқлик томчиси қўшилади.

4. Целлюлозани парчалайдиган анаэроб микробларнинг электив културасини олиш учун Имшенецкий муҳити.

Таркиби:

гўшт-пептон бульони — 300 мл,

сув — 700 мл,

CaCO_3 — 2 г,

парча-парча филътр қоғоз — 15 г.

5. Целлюлозани парчалайдиган анаэроб микробларнинг электив културасини олиш учун Имшенецкий муҳити (синтетик муҳит).

Т а р к и б и: K_2HPO_4 — 1,0 г,
 $CaCl_2$ — 0,1 г,
 $MgSO_4$ — 0,3 г,
 $NaCl$ — 0,1 г,
 Fe_2Cl_6 — 0,01 г,
 $NaNO_3$ — 2,5 г,

дистилланган H_2O — 1000 мл.

Петри ликобчаларидаги фильтр қоғози шу эритма билан ҳўлланади.

6. Нитроза бактерияларининг электив культурасини олиш учун ишлатиладиган Омелянский ва Виноградский муҳити (синтетик муҳит).

Т а р к и б и: $(NH_4)_2SO_4$ — 2,0 г,
 K_2HPO_4 — 1,0 г,
 $MgSO_4$ — 0,5 г,
 $NaCl$ — 2,0 г,
 $FeSO_4$ — 0,4 г,
 $CaCO_3$ — 5,0 г,

дистилланган H_2O — 1000 мл.

7. Нитрат бактерияларининг электив культурасини олиш учун ишлатиладиган муҳит (синтетик муҳит).

Т а р к и б и: $NaNO_3$ — 1,0 г,
 Na_2CO_3 (сувсиз) — 1,0 г,
 $NaCl$ — 0,5 г,
 K_2HPO_4 — 0,5 г,
 $MgSO_4$ — 0,3 г,
 $FeSO_4$ — 0,4 г,

дистилланган H_2O — 1000 мл.

8. Денитрификаторларнинг электив культурасини олиш учун ишлатиладиган Гильтай муҳити (синтетик муҳит).

Биринчи эритманинг таркиби:

KNO_3 2,1 г,
аспарагин 1,0 г,
дистилланган сув 250 мл.

Иккинчи эритманинг таркиби:

натрий нитрат — 5,0 г,
 K_2HPO_4 — 2,0 г,
 $MgSO_4$ — 2,0 г,
 $CaCl_2$ — 0,2 г,
 $FeCl_3$ — юқи,

дистилланган сув — 500 мл.

Иккала эритма бир-бири билан аралаштирилади ва унга 1000 мл ча сув қўшилади.

М У Н Д А Р И Ж А

Сўзбоши	3
I. Кириш	5
II. Микроскопнинг тузилиши	7
III. Микроорганизмларни микроскопда текшириш усули	13
IV. Препарат тайёрлаш ва бўяш усули	13
«Эзилган» томчи тайёрлаш	13
«Осилган» томчи тайёрлаш	14
Қуруқ препарат — мазок тайёрлаш ва оддий усулда бўяш	16
Бактерияларни Грамм усулида бўяш	17
Спораларни Циль-Нилсон усулида бўяш	18
Капсулаларни бўяш	19
V. Микробларнинг шакли	20
Актиномицетлар	22
Замбуруғлар	23
Миксобактериялар	26
VI. Озиқли муҳитларни ва идишларни стериллаш усуллари	28
VII. Озиқли муҳитлар тайёрлаш	32
Зич озиқ муҳитлари тайёрлаш	34
VIII. Микроорганизмларни экиш	35
IX. Микроорганизмларнинг кислородга бўлган муносабатлари	37
X. Микробларнинг турини аниқлаш	41
Морфологик белгилари	41
Усиш белгилари	42
Физиологик белгилари	42
XI. Микроорганизмларнинг культурасини тайёрлаш	43
XII. Ташқи муҳит факторларининг микроорганизмларга таъсири	45
Вольполь компаратори билан муҳитдаги водород ионлари концентрациясини аниқлаш	46
XIII. Ҳаводаги микроорганизмларни аниқлаш усули	49
XIV. Тупроқдаги бактерия ва замбуруғларнинг миқдорини аниқлаш	52
XV. Бижғиш	55
Спиртли бижғиш	55
Сут кислотали бижғиш	58
Мой кислотали бижғиш	60

Пектинли бижғиш	62
Клетчатканинг бижғиш	64
XVI. Силосланган озиқни микробиологик текшириш усул- лари	66
XVII. Азотсиз органик моддаларнинг оксидланиш процесс- лари	69
Этил спиртнинг сирка кислота ҳосил қилғунча оксид- ланиши	69
Клетчатканинг оксидланиши	71
XVIII. Замбуруғларнинг лимон кислота ҳосил қилишнинг аниқлаш	73
XIX. Ризосфера микроорганизмларини аниқлаш	76
XX. Эпифит микроорганизмларни аниқлаш	79
XXI. Вино тайёрлашда узум микрофлорасини ва вино- нинг бузилишига сабабчи бўладиган микробларни аниқлаш	80
XXII. Аммонификация	85
XXIII. Нитрификация	86
XXIV. Денитрификация	88
XXV. Азот тўплаш (азотфиксация)	89
XXVI. Гўнг микрофлорасини аниқлаш	94
XXVII. Олтингургурт ва темир бактерияларини аниқлаш	97
XXVIII. Микроорганизмларнинг антагонистик хусусият- ларини аниқлаш	101
XXIX. Бактериал ўғитлар	103
XXX. Фосфор бактерияларини аниқлаш	105
Илова. Энг муҳим реактивлар ва баъзи озиқли муҳит- ларнинг рецепти	109

На узбекском языке

Г. Р. АЗИЗОВ,

Г. М. КУБЛАНОВСКАЯ

РУКОВОДСТВО ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ ПО СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

«Ўқитувчи» — 1969 — Ташкент

Редактор А. Еқубов

Техредактор Т. Скиба

Корректор О. Хўжаев.

Теришга берилди 6/VI-1969 йил. Босишга рухсат этилди 30/X-1969 йил.
Қогози 84X108¹/₃₂. Физик л. 3,5. Шартли босма л. 5,88. Нашр. л. 5,63.
Тиражи 3000. P16093.

«Ўқитувчи» нашриёти. Тошкент, Навоий кўчаси, 30. Шартнома № 72-69.
Баҳоси 18 т.

ЎзССР. Министрлар Совети Матбуот Давлат комитетининг 2-босмаҳонаси.
Янгийўл шаҳри, Чехов кўчаси, 3. 1969 й. Заказ 41.

Типография № 2. Государственного Комитета Совета Министров УзССР
по печати. г. Янгиюль, Чехова, 3.

Баҳоси 18 т.

«ЎҚИТУВЧИ»