

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O‘RTA MAXSUS
TA‘LIM VAZIRLIGI**

**ISLOM KARIMOV NOMIDAGI TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA
UNIVERSITETI**

SANOAT MIKROBIOLOGIYASI

fanidan laboratoriya ishlarini bajarish uchun

USLUBIY KO‘RSATMALAR

Toshkent 2019

Sanoat mikrobiologiyasi fanidan laboratoriya ishlarini bajarish uchun uslubiy ko'rsatmalar. Sattarov M.E., Parpiyev Z.T., Amanova G.I. – Toshkent.: ToshDTU, 2019. – 48 b.

Sanoat mikrobiologiyasi fanidan laboratoriya ishlarini bajarish uchun tayyorlangan ushbu uslubiy ko'rsatmalar 5320500 – Biotexnologiya (oziq-ovqat, ozuqa, kimyo va qishloq xo'jaligi) yo'nalishida tahsil olayotgan bakalavriat talabalari uchun mo'ljallangan.

Islom Karimov nomidagi Toshkent davlat texnika universiteti ilmiy-uslubiy kengashi qaroriga asosan chop etildi

Taqrizchilar:

Bekmuxamedova N.K. – O'zR FA Mikrobiologiya instituti ilmiy kotibi, biologiya fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim.

Ixtiyarova G.I. – ToshDTU “Umumiy kimyo” kafedrası mudiri, kimyo fanlari doktori, professor.

1-laboratoriya ishi

Mikroorganizmlar bilan ishlashning texnik talablari va shartlari

Ishdan maqsad: Texnik mikrobiologiya laboratoriyasining joylashishi, maxsus xonalarda qanday ishlar bajarilishi va jihozlanishini o'rganish. Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari bilan tanishish.

1. Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash qoidalari

Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlayotganda xavfsizlik texnikasi va qoidalariga rioya qilinishi lozim. Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida faqat oq xalat, shapkacha yoki durrachada ishlash talab etiladi. Laboratoriyaga begona buyumlarni olib kelishga ruxsat etilmaydi. Ish joyida ortiqcha narsa bo'lmazligi kerak. Faqat bitta joyda ishlash, o'ziga birkirilgan asbob uskunalaridan foydalanish va barcha narsalari belgilangan joylarga qo'yish lozim. Ichida mikroorganizmlar kulturasini bo'lgan kolba va probirkaga siyoh bilan aniq qilib yozilishi, reaktivlar va aralashmalar solingan idishlarga esa yorliqlar yopishtirilishi kerak. Spirtovkalar bilan ishlayotganda spirt bug'larining alangalanib ketishidan ehtiyot bo'lish lozim. Spirtovkani yonib turgan boshqa spirtovkadan yondirish mumkin emas. Spirtovkani faqat maxsus qalpoqchalar bilangina o'chirish kerak. Paxtali tiqinlar yona boshlaganda ularni puflab o'chirishga harakat qilmaslik kerak. Bu yonishni kuchaytiradi xolos. Yonayotgan tiqinni probirkaga, kolbaga tiqish yoki ustiga mato yopish kerak. Ishni boshlashdan oldin va ish tugagach, tadqiqot o'tkazilayotgan stol usti yuviladi hamda dezinfeksiya qilinadi. Mikrob biomassasi qo'l, stol va atrofdagi narsalarni ifloslantirmasligi zarur.

Ilmoqlar, ninalar va pinsetlarni mikroorganizmlarga tekkandan so'ng spirtovka yoki gaz gorelkasida kuydirish va maxsus shtativga qo'yish kerak. To'kilib ketgan mikrob suspenziyasini dezinfeksiya vositalari yordamida zararsizlantiriladi. Ish tugagandan keyin mikroblar bilan ifloslangan idishlarni qaynatish yoki avtoklav yo'li bilan sterillab, tirik hujayralarni o'ldirish kerak. Shundan keyingina idishlarni yuvish mumkin. Mikroblar qattiq muhitning yuzasiga dezinfeksiya eritmasi quyiladi. Bir sutka o'tgandan so'ng muhitni tashlab yuborish, idishni yuvish mumkin. Ishlatilgan pipetkalar 3% li xloramin eritmasiga solib

qo'yiladi va shundan keyingina ular yuviladi va sterillanadi. Buyum va qoplama shishalar ham ish tugagandan so'ng dezinfeksiya aralashmasiga solib qo'yiladi va keyin oqar suvda yaxshilab yuviladi. Idishlarni faqat rezina qo'lqoplar yordamida yuvish lozim. Mikroorganizmlar bilan palapartish ishlash natijasida havoda mikrob aerosoli hosil bo'lishi mumkin.

Bakteriosid chiroqlar bilan ishlayotganda oddiy himoya ko'zoynaklari taqib olish kerak. Chiroq nuriga himoyasiz ko'z bilan qarash mumkin emas. Bu ko'rish qobiliyatining yo'qolishiga olib kelishi mumkin. Yuqori bosim kuchlanish ostida yoki yuqori haroratda ishlaydigan apparatlar bilan ishlayotganda xavfsizlik qoidalariga qat'iy rioya qilinishi talab etiladi. Laboratoriyada chekish, ovqatlanish, suv ichish, ko'p yurish ruxsat etilmaydi. Mikrob kulturalarini laboratoriya xonasidan chetga olib chiqish qat'iy man etiladi. Mashg'ulot tugagandan so'ng ish joyi va uskunalarni tartibga keltirish lozim. Kimyoviy reaktivlar bilan ishlash qoidalariga rioya qilish kerak. Shaxsiy gigiyena qoidalariga ham qat'iy rioya qilish lozim. Ish tugagandan so'ng va ovqatlanishdan oldin qo'llarni dezinfeksiya qilish va sovun bilan yaxshilab yuvish kerak. Talabalar va laboratoriya xodimlari instruktaaj o'tkazilganligi va laboratoriyada ishlash tartibi bilan tanishtirilganligi to'g'risida maxsus jurnalda qayd qilinadi.

2. Laboratoriyaning joylashishi va jihozlanishi

Belgilangan maqsadga qarab (o'quv, ilmiy-tadqiqot, ishlab chiqarish) mikrobiologiya laboratoriyasi bir necha xonalardan tashkil topadi: mikroskopda ko'rish ishlari uchun mo'ljallangan xonalar, biokimyo laboratoriyasi, sterillash xonasi, yuvish xonasi, oziq moddali muhitlarni pishirish xonasi va termostat xonasi. Barcha xonalar quruq, yorug', yaxshi shamollatilgan, gaz, sovuq va issiq suv hamda ularni chetga chiqarish qurilmasi bilan ta'minlangan bo'lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriyasida talabalar o'quv va ilmiy-tadqiqot ishlarni amalga oshiradilar. Stollar deraza yaqinida, imkon qadar ko'proq yorug'lik tushishiga mo'ljallab joylashtiriladi. Mikroskopda ko'rish ishlari uchun yorug'lik bir tekisda taqsimlangan bo'lishi kerak. To'g'ri tushayotgan quyosh nurlari ko'zni charchatadi, ko'rish qobiliyatiga, optik asboblarga va mikroorganizmlarga zarar yetkazadi. Xona devorlari och rangli moyli buyoqlar bilan bo'yaladi. Pol esa lenoleum yoki oson yuviladigan plitalar bilan qoplanadi. Stollarning

balandligi 0,7 m dan oshmasligi kerak. Stollarning yuza qismi yuvish va dezinfeksiya qilish oson bo'lishi uchun plastik yoki lenoleum bilan qoplanishi lozim. Ish jarayonida foydalaniladigan stul va taburetkalar vintli bo'lishi kerak.

Mikrobiologiya laboratoriyasi xonasi bir kunda ikki marta nam latta bilan artib chiqiladi. Pol, devorlar va mebel vaqti-vaqti bilan changyutkich bilan ishlanadi va 2-3% li soda aralashmasi (natriy bikarbonat), 3-5% li fenol yoki lizol aralashmasi (yashil sovun qo'shilgan fenol preparati), 0,5-3% li xloramin aralashmasi bilan artib chiqiladi. Bundan tashqari, bir oyda iki-uch marta, ayniqsa mitselial zamburug'lar bilan ishlagandan keyin, laboratoriya xonalarida havodagi va turli yuzalardagi mikroorganizmlarni yo'q qilish uchun ultrabinafsha nurlanishli bakteriosid chiroqlar bilan 30 minutdan bir necha soatgacha ishlov beriladi. Shuni unutmaslik kerakki, ultrabinafsha nurlar ko'z shox pardasining o'tkir yallig'lanishiga olib kelishi mumkin. Bunda, nur ta'sir qilgandan so'ng, ko'p o'tmasdan ko'zdan yosh kelishi va yorug'likdan qo'rqish kabi belgilar yuzaga keladi. Shu boisdan ham himoya ko'zoynaklaridan foydalanish lozim. Bakteriosid chiroq yoqilgan kichik xonalarda o'tirish mumkin emas.

Mutloq sterillikni talab etuvchi ba'zi ishlar (toza kulturalarni qayta ekish, mikroorganizm kulturalarini ajratish, ekish, ilmiy-tadqiqot ishlari) izolyatsiya qilingan maxsus xonalar – bokslarda amalga oshiriladi. Boks oldida maxsus dahliz (tambur) bo'lib, tashqaridan havo va u bilan birga mikroorganizmlar kirmaydigan qilib oynalangan bo'lishi kerak. Boks devorlari plitalar bilan qoplanishi yoki moyli oq bo'yoq bilan bo'yalishi, poli esa lenoleum bilan qoplanishi kerak. Boksda stol, stullar, gaz gorelkalari joylashtiriladi, bakteriosid chiroqlar osib qo'yiladi yoki qo'zg'aluvchan kronshteynga mahkamlanadi. Boks xonalari vaqti-vaqti bilan yuvib turiladi va dezenfeksiya qilinadi. Xona yig'ishtirilgandan keyin, ish boshlashdan oldin, poldan 2 m balandlikda joylashtirilgan bakteriosid chiroqlar bilan nurlantiriladi.

Biokimyo laboratoriyasi kimyo stollari, havosi almashinadigan shkaflar, idish va reaktivlar uchun shkaflar, shuningdek zaruriy asboblari – fotoelektrokolorimetrlar (FEK), spektrofotometr, pH-metr, texnik va analitik tarozilar, sovutqichlar, vakuum-nasoslar va shu kabilar bilan jihozlanadi.

Preparatlar xonasida ish stollari, turli asboblari, idishlar va reaktivlar joylashtiriladigan shkaflar, sentrifuga va boshqa vibratsiya apparatlari, preparat va toza to'plamlarni saqlash uchun sovutqichlar, termostatlar

joylashtiriladi.

Sterillash xonasida oziq muhitini va idishlarni sterillash uchun avtoklavlar, ishlatilgan laboratoriya idishlariga (tirik mikroorganizmlar qolgan kolbalar, probirkalar, pipetkalar) issiqlik bilan ishlov berish uchun alohida avtoklav, Kox qaynatgichi, quritish shkaflari, asboblarni sterilizatori va stol joylashtirilishi kerak. Sterillash xonasi sterilizatorni ochgandan keyin chiqadigan bug‘ qoldiqlarini chiqarib yuborish uchun yaxshi ventilyatsiya moslamasi bilan jihozlangan bo‘lishi lozim. Sterilizatordan chiqayotgan bug‘, bosim ko‘tarilmasdan avval rezina naycha bilan tashqariga yoki suvli chelakka yo‘naltiriladi. Eshik (oynalanmagan) va deraza tashqariga ochilishi kerak.

Yuvish xonasi issiq va sovuq suv o‘tkazilgan qulay rakovina yoki vannalar, idishlarni quritish uchun stellajlar, gaz yoki elektr plitalari, oziq muhitlarini qaynatish uchun idishlar, tarozilar, suv distillyatorlari bilan jihozlanadi. Yuvish xonasida havosi almashiladigan, quritish va boshqa shkaflar bo‘lishi kerak. Havosi almashiladigan shkaflar suv bug‘lari hamda shisha va idishlarni yuvishda ishlatiladigan ba’zi reaktivlarni chiqarib yuborishda kerak bo‘ladi. Pol va devorlar plita bilan qoplangan bo‘lishi kerak.

Termostat xonasida kolba va probirkalar uchun stellajlar qo‘yiladi, maxsus fundamentda rotatsion tebratgichlar o‘rnatiladi. Termostat xonasidagi harorat 30-45°C atrofida bo‘lishi kerak.

O‘quv laboratoriyasida har qaysi talabaga doimiy ish joyi va asboblarni biriktirib qo‘yiladi. Laboratoriya stolida mikroskop uchun yoritgich, spirt yoki gaz gorelkasi, buyoqlar to‘plami, bakteriologik ilmoq va ignalar, probirkalar uchun shtativ, pipetkalar, shisha shpatellar, oddiy va chuqurchali buyum shishalar, qopqoq shishalar, shisha ko‘prikcha va preparatlarni bo‘yash uchun vannacha, doka salfetka, shishaga chizadigan qalam, immersion yog‘, qum soat, buyum shisha o‘lchamida kesilgan filtr qog‘oz, gugurt, dezinfeksiya qilish uchun suyuqlik, paxtali banka bo‘lishi kerak. Mikroskop stolga joylashtiriladi va shisha qalpoq yoki polietilen yopqich bilan berkitib qo‘yiladi. Ish joyi juda toza holda saqlanishi kerak. Stolning usti lizol, 70% li (hajmi bo‘yicha) etanolli xloramin shimdirilgan paxtali tampon bilan artiladi.

Apparat va asboblarni. Termostatlar (1, 2-rasm – havoli, suvli) berilgan doimiy haroratda oziq muhitida mikroorganizmlarni o‘stirish uchun mo‘ljallangan. Laboratoriyada alohida guruh mikroorganizmlarni rivojlantirish uchun talab etiladigan turli haroratli bir nechta termostat: mezofillar uchun – 28-30°C, termofillar uchun – 43-55°C, patogen

turdofillar uchun – 37°C li termostatlar oʻrnatiladi. Termostatlar har xil shaklda, oʻlchamda va tuzilmali boʻladi. Ular unchalik katta boʻlmagan shkaf koʻrinishidan bir nechta boʻlimlardan tashkil topgan politermostat yoki alohida termostat xonasigacha boʻlishi mumkin.

Termoregulyatorli quritish shkafi (4-rasm) laboratoriya idishlarini quritish va sterillash, turli materiallarni doimiy massasigacha quritish uchun moʻljallangan. Quritish shkafi issiqlikka chidamli materiallardan (metall va asbest) tayyorlanadi va ishchi kamerasi 200°C gacha boʻlgan haroratga moʻljallanadi. Shkafning ichi teshikli metall listlardan tayyorlangan polkalar bilan jihozlangan boʻlib, ularning ustiga quritiladigan idishlar yoki materiallar joylashtiriladi.

Sovutkichlar ishlatiladigan yoki muzeyga oid mikroorganizmlar kulturasi, oziq muhitlari, baʼzi bir reaktivlar va aralashmalarni +4°C atrofidagi haroratda saqlash uchun ishlatiladi.

Sentrifuga suspenziya va aralashmalarining suyuq va qattiq fazalarini ajratish uchun xizmat qiladi. Sentrifuga ikkita rotor bilan jihozlangan boʻlib, ular elektr dvigatelining valiga ketma-ket oʻrnatiladi: toʻrtta stakanli rotor-prestavina va shisha yoki polietilen probirkalar uchun uyachalari boʻlgan burchakli rotordan iborat. Rotorlarning aylanish tezligi – 2000 dan 6000 gacha aylanish/minutga teng boʻladi.

Laboratoriya pH-metri vodorod ionlarining (pH) faolligi va oksidlanish-qaytarilish potensialini oʻlchash uchun moʻljallangan.

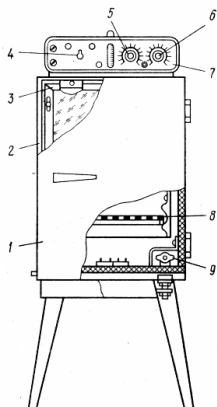
Refraktomer quruq moddalar, shakar, spirt, aminokislotalar, vitaminlar va ekstrativ moddalar miqdorini aniqlash uchun ishlatiladi. Shkala sindirish koʻrsatkichni va quruq moddalar miqdorining massasi foizini koʻrsatadi.

Fotoelektrokolorimetr boʻyalgan va kaloid aralashmalarining optik zichligi hamda oʻtkazuvchanlik koeffitsiyentlarini oʻlchash uchun qoʻllaniladi. Asbob 315-630 nm spektr doirasida ensiz tasmali yorugʻlik filtrlari toʻplami bilan jihozlanadi. Kolorimetr – nefelometr aralashmalarining loyqalanish darajasi boʻyicha mikroorganizm hujayralari konsentratsiyasini baholash imkonini beradi.

Spektrofotometr optik zichligini hamda suyuq va qattiq moddalarining oʻtkazuvchanlik koeffitsiyentlarini oʻlchash uchun ishlatiladi.

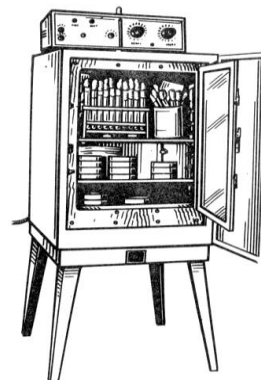
Zeyts filtrlari asbest va sellyuloza aralashmasidan tayyorlangan, qalinligi 3-5 mm va diametri 33-140 mm boʻlgan disklardan tashkil topgan boʻlib, sellyuloza miqdori ortib borgan sari filtrning gʻovakligi oshadi. Filtrlar, odatda nikellangan metallardan tayyorlangan voronkaga

(5-rasm) o'rnatiladi. Voronka ikki qismdan iborat: yuqori qismi silindr ko'rinishida va pastki qismi esa konus ko'rinishida bo'ladi. Ularning o'rtasiga metall to'rga asbest filtr qo'yiladi. Shundan keyin voronka burab qo'yiladi yoki maxsus vintlar yordamida zich qilib tortiladi. Ensiz tubus esa bunzen kolbasining rezina tiqiniga o'rnatiladi.



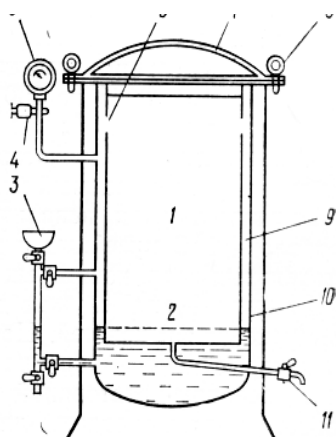
1-rasm. Quruq havoli elektr termostat:

1 – tashqi eshik; 2 – korpus; 3 – ichki eshik; 4 – termostatni elektr tarmog'iga ulaydigan tumbalar; 5 – haroratni aniq o'rnatish uchun potensiometr; 6 – haroratni taxminiy o'rnatish uchun potensiometr; 7 – boshqarish bloki; 8 – tokchalar; 9 – isituvchi element.



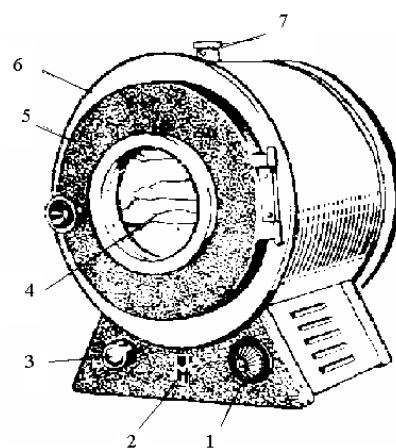
2-rasm. Termostat.

Tokchalarda mikroorganizmlar ekilgan probirkalar va Petri likopchalari.



3-rasm. Avtoklavning tuzilish sxemasi:

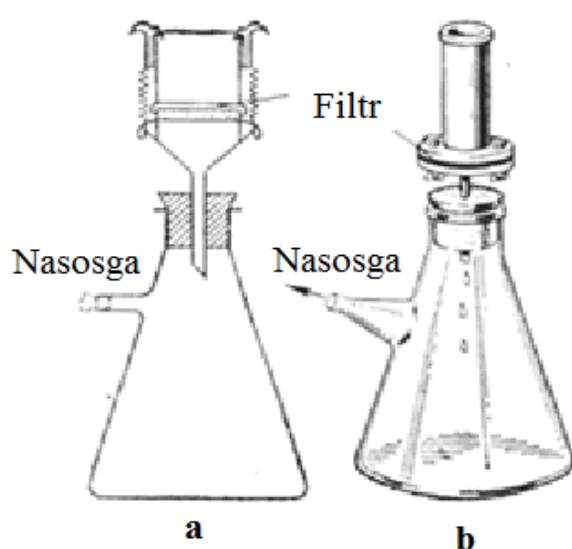
1 – sterilizatsiyalash kamerasi;
2 – sterilizatsiya qilinadigan materiallarni qo'yadigan taglik; 3 – avtoklavga suv quyish uchun voronka; 4 – saqllovchi klapan;
5 – manometr; 6 – sterilizatsiyalash kamerasiga bug' o'tadigan teshik; 7 – qopqoq; 8 – vintli qisqich; 9 – suv-bug'li kamera; 10 – qozon;
11 – suvni tushirib yuboradigan kran.



4-rasm. Quritish shkafi:

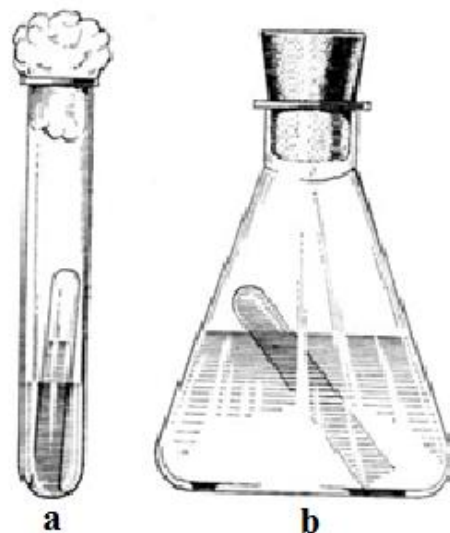
1 – shkalali termoregulyatorni dastasi; 2 – asbobni o'chiruvchi muruvvat; 3 – signal beruvchi lampa; 4 – taglik; 5 – eshikcha; 6 – korpus; 7 – termometr uchun teshik va ventilyasiya qalpoqchasi.

Idishlar. Mikrobiologik tadqiqotlar uchun har xil shisha idishlar talab etiladi. Petri likobchasi (diametri 10 sm, balandligi 1,5 sm) qattiq oziq muhitda mikroorganizmlarni o'stirish uchun, tebratgichga o'rnatiladigan kolbalar aerob mikroorganizmlarni o'stirish uchun, probirkalar va naychali kolbalar bijg'ish jarayonlarini o'rganish uchun qo'llaniladi. Shuningdek, oddiy kimyoviy idishlardan ham keng foydalaniladi. Bular jumlasiga tubi yassi, konussimon, Erlenmeyer kolbasi, tubi dumaloq, o'lchov kolbalari; darajalangan (1, 2, 5, 10 ml li) pipetkalar, mor pipetkalari (1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100 ml li), kapillyarli Paster pipetkalari, 18x2,0, 18x1,5, 15x1,5 sm li agronomik probirkalari (rangsiz), byuretkalar, tomizg'ichlar, voronkalar, menzurka, silindr, byuks va boshqalar kiradi.



5-rasm. Zeyts filtrlari:

a – shisha tutqichli; *b* – metall tutqichli



6-rasm. Paxta tiqinlarni tayyorlash:

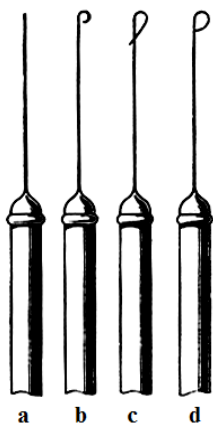
a – to'g'ri; *b* – noto'g'ri

Paxtali tiqinlarni tayyorlash. Oziq muhitlarini tayyorlash va sterillash hamda mikroorganizmlar to'plamini o'stirish uchun ishlatiladigan kolba va probirkalar paxtali tiqinlar (6-rasm) bilan berkitiladi. Tiqinlar qo'lda yoki maxsus mashina yordamida tayyorlanadi. To'g'ri tayyorlangan tiqin 3-5 sm uzunlikda, probirkaga zich kiradigan, mahkam va ko'p marta ishlatilganda o'z shaklini o'zgartirmaydigan bo'lishi kerak. Agar paxtali tiqinni doka bilan o'rab, yuqori qismi ip bilan mahkam bog'lab qo'yilsa, u yaxshi saqlanadi.

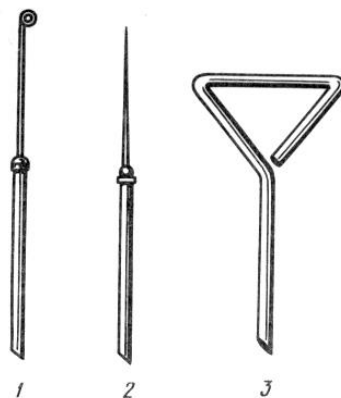
Jihoz. Mikrobiologiya amaliyotida ilmoqlar, ninalar, shpatellar (7, 8-rasm), pinset, qaychi, tiqimlar uchun parma, pipetkalar uchun metall

silindr probirkalarni sterillash uchun teshikchali sim yoki metall savatchalar, probirkalar uchun plastmassa yoki metall shtativlar va shu kabi boshqa jihoz qoʻllaniladi.

Ilmoq va ninalar uzunligi 8 sm va diametri 0,4-0,5 mm boʻlgan platina, nikel yoki xromli nikel simlardan tayyorlanadi hamda shisha yoki metall ushlagichlarga payvandlanadi. Ekish uchun shpatellar 4-5 mm qalinligdagi shisha tayoqchalardan tayyorlanadi.



7-rasm. Mikroblarni ekishda qoʻllanadigan igna (a) va ilmoq:
b va c – ilmoq notoʻgʻri bajarilgan;
d – ilmoq toʻgʻri bajarilgan.



8-rasm. Mikroorganizmlarni ekishda qoʻllanadigan asboblari:
1 – mikrobiologik ilmoq;
2 – mikrobiologik igna;
3 – shpatel.

Sinov savollari:

1. Texnik mikrobiologiya laboratoriyasida ishlayotganda qanday havfsizlik texnikasi va qoidalariga rioya qilinishi lozim?
2. Spirtovkalar bilan ishlayotganda spirt bugʻlarining alanganib ketishidan qanday ehtiyot choralarini qoʻllash kerak?
3. Termostatlar nima maqsadda ishlatiladi?
4. Termoregulyatorli quritish shkafi nima uchun moʻljallangan?
5. Mikrobiologik tadqiqotlar uchun qanday shisha idishlar talab etiladi?
6. Bakteriosid chiroqlar bilan ishlayotganda nimalarga ahamiyat berish kerak?

2-laboratoriya ishi

Mikrosuv oʻtlarni oʻstirish uchun ozuqa muhiti tayyorlash

Ishdan maqsad: Xlorella suv oʻtini oʻstirish uchun zarur ozuqa muhiti tarkibini va tayyorlash usullarini oʻrganish.

Mikroskopik suv oʻtlar oʻsimliklar dunyosiga xos xususiyatga ega

bo'lib, turli yo'nalishdagi biologik ilmiy tadqiqotlar olib borishda qulay obyekt hisoblanadi. Ularning hujayra o'lchami kichikligi, o'sish va ko'payish muddatlarining juda qisqaligi, hamda har xil texnologik o'stirish sharoitlariga moslashtirish mumkinligi bilan ko'pchilik olimlarni o'ziga jalb etib kelmoqda.

Olimlarning aniqlashicha yer yuzida suv o'tlarining 40 mingdan ortiq turlari mavjud. Shulardan ba'zi bir tur va shtammlari suv havzalaridan ajratib olinib, sun'iy sharoitda o'stirilib, amaliyotga joriy etilmoqda.

Keyingi (1960-2000) yillarda dunyo miqyosida mikroskopik suv o'tlari ayrim turlarining bio-ekologik, fiziologik xususiyatlari, biokimyoviy tarkiblari o'rganilib, ulardan foydalanish borasida qator ilmiy tadqiqot ishlari olib borildi.

Suv o'tlarining quruqlikda yashovchi o'simliklar bilan raqobat sifatida solishtirish o'rinli emas. Sababi, ularni dehqonchilik uchun yaroqsiz yerlarda maxsus qurilgan uskunalarda (reaktorlarda) va dehqonchilik uchun yaroqsiz hisoblangan suvlarda ham o'stirish mumkin.

Suv o'tlarini ochiq usul bo'yicha o'stirish ayniqsa O'zbekiston sharoitida tannarxi nisbatan ancha arzon suv o'tlari biomassasi yetishtirishga imkon beradi. Shu boisdan ham suv o'tlarining biologiyasi, ekologiyasi, fiziologiyasi va biokimyosini o'rganish borasida qator ilmiy izlanishlar olib borildi. Tabiatdan suv o'tlarining ayrim turlari algologik toza holda ajratib olinib, har xil ozuqa muhitlariga moslash yo'li bilan ulardan seleksiya yo'li bilan yuqori hosil beradigan shtammlari ham ajratib olingan.

Xlorellani o'stirishda ishlatiladigan mineral ozuqalar miqdori

Yashil suv o'ti – xlorella bir hujayrali, yashil rangli mikroskopik suv o'tidir. Uni oddiy ko'z bilan ko'rib bo'lmaydi. Hujayrasining tuzilishi har xil: sharsimon yoki ellips shaklida bo'lib, kattaligi 3-10 mkm atrofida bo'ladi. Hujayra bo'linib ko'payish xususiyatiga ega. Bo'linish jihatdan ular jinssiz yo'l bilan 4 tadan 8 tagacha va hakoza yangi hujayralarga bo'linib ko'payadi. Yangi yosh hujayrachalarda avtosporalar hosil bo'ladi. Sharoit qulay bo'lganda hujayralar har 6-8 soatda bo'linib ko'payib boradi.



9-rasm. Xlorella suv o‘tining umumiy ko‘rinishi

Xlorellaning rivojlanishi uchun yorug‘lik, mineral oziq, CO₂ yetarli bo‘lsa, ayniqsa harorat hamda suspenziyani aralashtirib turish me‘yorida bo‘lsa, bir mavsumda 50 m³ xlorella suspenziyasi sig‘adigan qurilmada o‘stirilgan suspenziyadan o‘rtacha 40-80 tonna quruq yoki 170-250 tonna suyuq holdagi xlorella olish mumkin.



10 -rasm. Xlorella suv o‘tining ko‘payishi

Quruq xlorella tarkibida 56% umumiy oqsillar, shundan 50-60% oqsil, 30% uglevodlar, 7-15% yog‘, 6-8% azot, 5,5% fosfat kislotasi, 12% mineral tuzlar va boshqa foydali elementlar mavjud. U aminokislotalar va vitaminlarga juda boy. Shu jumladan: A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, D, E vitaminlariga boyligi bilan ajralib turadi. Xlorella o‘stishi uchun suv harorati +10, +35°C bo‘lishi va u yorug‘lik bilan yaxshi ta‘minlanishi zarur. Xlorella hosildorligini oshirish uchun ayrim bakteriyalardan tozalangan go‘ng sharbati va oz miqdorda selitra talab qilinadi. Shu bilan doimo harakatda, ya‘ni nasos qurilmasi hovuzdagi xlorella suspenziyasini aralashtirib, hujayralarni hovuz tubiga cho‘kib qolishiga yo‘l qo‘ymaydi va yorug‘lik bilan bir maromda ta‘minlanishiga imkoniyat tug‘diradi. Xlorella o‘stirish jarayonida muhitning pH ini diqqat bilan kuzatib borish zarur. Muhitdagi pH 6-6,5

va 8 atrofida bo'lganda xlorella yaxshi o'sadi.

O'zbekiston sharoitida xlorellani ochiq qurilmalarda ham o'stirish mumkin. Xlorellani bizning iqlimda (issiqda, o'rtacha issiqlikda va harorat past bo'lganda) o'sadigan navlari, shtammlari bor.

Issiqda o'sadigan xlorella navlari 30-35°C li haroratda yaxshi ko'payadi. O'rtacha issiqda o'sadigan navlari 15-28°C da, past haroratda o'sadiganlari esa 6-12°C da yaxshi ko'payadi.

Xlorellani O'zbekiston sharoitida ilmiy asosga ko'targan akademik A.M. Muzaffarov va biologiya fanlari doktori, professor T.T. Tovboyev tavsiya etgan ozuqalar yordamida xlorellani o'stirib ko'paytirish mumkin. Bu ozuqalar xlorellani qaysi tarmoqda qo'llash bilan farqlanadi. Masalan, chorvachilikda xlorellani o'stirishda asosan quyidagi ozuqalardan foydalanish tavsiya etiladi:

1-jadval

Ozuqa normalari	Suspenziya o'stirish uchun, 1 m ³ /g	5 m ³ /g	10 m ³ /g
Ammoniy sulfat	200	1000	2000
Kalsiy digidrofosfat	30	150	300
Kalsiy sulfat	30	150	300
Magniy sulfat	80	400	800
Natriy gidrokarbonat	100	500	1000
Kaliy xlorid	25	125	250
Temir III xlorid eritma	150 ml	750 ml	1500 ml
Borat kislota	2,86	14,3	28,60
Marganes xlorid	1,81	9,05	18,10
Rux sulfat	0,222	1,110	2,200
Ammoniy kanadat	22,4	112	224

Bundan tashqari, xlorella suspenziyasini pillachilikda ishlatish tavsiya qilinadi. Bunga zarur bo'lgan ozuqalar quyidagi jadvalda berilgan:

2-jadval

Ozuqa normalari	Suspenziya o'stirish uchun, 1 m ³ /g	5 m ³ /g	10 m ³ /g
Ammoniy sulfat	200	1000	2000
Kalstiy digidrofosfat	30	150	300
Kalsiy sulfat	30	150	300
Magniy sulfat	80	400	800

Natriy gidrokarbonat	100	500	1000
Kaliy xlorid	25	125	250
Temir III xlorid eritma	150 ml	750 ml	1500 ml
Borat kislota	2,86	14,3	28,60
Marganes xlorid	1,81	9,05	18,10
Rux sulfat	0,222	1,110	2,200
Ammoniy kanadat	0,222	11,25	22,5

Paxtachilikda xlorellani qo'llash yaxshi samaralar beradi. Xlorella suspenziyasini paxtachilikda qo'llash uchun har bir fermer xo'jalikda mavjud bo'lgan ozuqalardan keng foydalanib, suspenziya o'stirish imkoniyati bor. Masalan, xo'jaliklarda mineral va mahalliy o'g'itlardan foydalanib o'stirish mumkin.

Xlorella suv o'ti pH 6-7 atrofida bo'lgan mineral ozuqali muhitda o'stiriladi.

3-jadval

Xlorella suspenziyasini paxtachilikda o'stirishda ishlatiladigan tuzlar

Ozuqa normalari	Suspenziya o'stirish uchun, 1 m³/g	5 m³/g	10 m³/g
Selitra	125	2500	5000
Ammofos	190	950	1900
Natriy gidrokarbonat	100	500	1000
Kaliy xlorid	10	50	100
Go'ng sharbati	10 litr	100 litr	200 litr

Xlorella o'stirishda qo'llaniladigan ozuqa muhiti pillachilik va chorvachilikda o'stiriladigan holatdan deyarli farq qilmaydi.

Sinov savollari:

1. Yer yuzida suv o'tlarining qancha turi mavjud?
2. Nima uchun suv o'tlarining quruqlikda yashovchi o'simliklar bilan raqobat sifatida solishtirish mumkin emas?
3. Xlorella suv o'tidan qancha biomassa olish mumkin?
4. Xlorella o'sishi uchun qanday sharoit zarur?
5. O'zbekiston sharoitida xlorellani qanday qurilmalarda o'stirish mumkin?

3 – laboratoriya ishi

Kulturani o‘stirish va biomassalarni ajratish usullarini o‘rganish

Ishdan maqsad: Bakteriyalarni qattiq va suyuq muhitda o‘stirish. Mikroorganizmlar biomassasini turli usullar yordamida aniqlash usullarini o‘rganishdan iborat.

1. Kultural belgilar. Bakteriyalarning qattiq muhitda o‘sishi.

Mikroorganizmlarni tasniflash maqsadida Petri likopchasidagi quyuq muhitga va probirkadagi qiya agarga toza kultura ekiladi. Petri likopchasida bakteriyalar yuzada, chuqurda va tubida o‘sayotgani farq qiladi. Yuzada bir-biridan nari o‘sayotgan koloniyalar o‘rganiladi va ta’riflanadi va quyidagi belgilari aniqlanadi: koloniyasining shakli; o‘lchami diametrini chizg‘ichda o‘lchab, millimetrda ifodalanadi: maydalari 1-2, o‘rtachalari 2-4, yiriklari 4 mm, nihoyatda maydalari, nuqtasimonlari, yirik nuqtasimonlari, 1 mm dan mayda bo‘ladigan yirik nuqtasimonlari; yuzasi silliq, g‘adir-budur, burmali, bo‘rtiqchali, shaffof, yarim shaffof, shaffof emas, yaltiroq, xira, unsimon, fluoressirlovchi, nam, quruq; rangi – koloniyalar ular ostidagi substratning pigmentatsiyasi – oq, kulrang – oq, sariq, limon rang, to‘q sariq, qizil va hokazo; profili; strukturasi (mikroskopning kichik obyektivida aniqlanadi) – bir xil, mayda donador, yirik donador, tolali va hokazo; chekkasi (mikroskopning kichik obyektivida aniqlanadi); konsistensiyasi – zich, yumshoq, shilimshiq, cho‘ziluvchan, xamirsimon, mo‘rt; emulsiyalanishga moyilligi –suvda bir tekis yoki donador suspenziya hosil qiladi, plyonkalar bo‘lakchasi shaklida qalqib yuradi. Probirkadagi qiya agarda uzuq-uzuq chiziq (shtrix) shaklida rivojlanayotgan mikroorganizmlarning o‘shini ta’riflashda quyidagilar aniqlanadi: o‘sh tezligi – tez, o‘rtacha, kuchsiz; uzuq chiziqlar xossasi – chetlari tekis yaxlit, chetlari to‘lqinsimon yaxlit, aniq ko‘rinadigan, diffuz, patsimon, rizoidsimon; rangli, optik xossalari, yuzasi, konsistensiyasi. Koloniyalarni va shtrixlar (uzuq chiziqlar)ni tekshirishda muhitning tarkibi va kulturaning yoshi hisobga olinadi, chunki aniqlagichlarda GPA da va go’sht-peptonli jelatinda o‘sgan kulturalar ta’riflangan bo‘ladi.

Bakteriyalarning kartoshkada o‘sishi. Ko‘pgina bakteriyalar kartoshka bo‘lakchalarida o‘ziga xos g‘ubor ko‘rinishda o‘sadi. Shuning uchun kartoshkada o‘sh xossalari ham tasniflashda foydalaniladigan

tashxis (diagnostik) belgilar qatoriga kiritiladi. Bakteriya kartoshkali qiya yuzaga ilmoqda surib ekiladi. Keyin ularning o'sayotganligi yoki yo'qligi aniqlanadi. Agar o'sayotgan bo'lsa uning tezligiga, pigment hosil bo'lishiga va boshqa belgilariga e'tibor beriladi; chunki mikroorganizmlarning qattiq muhitda o'sishini ta'riflashda ana shu belgilardan foydalaniladi.

Bakteriyalarning suyuq muhitda o'sishi. Bakteriyalarning suyuq muhitda o'sishini ta'riflash uchun kultura GPB ga yoki boshqa suyuq muhitga ekiladi. Mazkur muhit tekishirilayotgan shtammlarning o'sishi uchun normal (me'yorida) bo'lishi kerak. Ta'riflash uchun statsionar sharoitda o'stirilgan 4-7 kunlik kulturalardan foydalaniladi. Bunda o'sish tezligiga (sekin, o'rtacha, avj olib), muhitning loyqalanishiga (bir xil, palaxsa-palaxsa, ipaksimon to'lqinli), plyonkasi bor yo'qligiga (halqasimon yoki yalpi, yupqa yoki qalin, zich yoki g'ovak, silliq yoki burmali, quruq yoki shilimshiq, devori bo'ylab sirg'aluvchi yoki sochilib ketadigan) e'tibor beriladi.

Biomassani tortib ko'rish yo'li bilan aniqlash. Bu usul ishlab chiqarish va tadqiqot laboratoriyalarida quruq yoki nam biomassa holdagi mikroorganizmlar sonini bilvosita aniqlash maqsadida qo'llanadi. Odatda, biomassa miqdori 1 litr muhitga nisbatan gramm yoki milligrammlarda ifodalanadi.

Sentrifugalash, probirkalarini (byukslarni) va filtrlarni doimiy vazngacha quritish. Qopqog'i ochiq Petri likopchalariga joylangan filtrlar, sentrifugalash probirkalari va byukslarni quritish shkafiga qo'yib, 100-105°C haroratda 1 soat saqlanadi. So'ngra ular suvsiz kalsiy xloridli yoki konsentrlangan sulfat kislotali eksikatorlarga qo'yiladi. Bunda filtrli likopchalar qopqog'i berk bo'ladi. Sentrifugalash probirkalari (byukslar, filtrlar) eksikatorida 30 minut davomida sovitilgandan keyin analitik tarozida 0,0001 g aniqlikkacha tortiladi. Probirka (byuks)ning yoki filtrning massasi (vazni) doimiy bo'lguncha va qayta tortib ko'rishdagi farqi $\pm 0,0001$ g dan oshmaydigan vaznga kelguncha quritish shkafida bir necha marta quritib, eksikatorida sovitiladi.

Mikroorganizmlar hujayrasini sentrifugalash. Kultural suyuqlikdagi bakteriyalar va tomizg'ilar hujayrasi sentrifugalash yo'li bilan ajratib olinadi. Buning uchun yaxshilab aralashtirilgan kulturadan pipetkada aniq miqdorda olib, quritilgan sentrifugalash probirkalariga solinadi. Sentrifugalash vaqti (qancha davom etishi) va aylanish soni hujayralarning yirik-maydaligiga bog'liq. Bakteriyalar minutiga 5-7

ming aylanishda (oborotda) 15-20 minut, tomizg'ilar 3,5-4,0 ming aylanishda 5-10 minut sentrifugalanadi. Cho'kma yuzasidagi suyuqlikni ehtiyotlik bilan quyib olib, cho'kma fiziologik eritma yoki kuchsiz kislotali distillangan suv (1 l suvga 1 ml konsentrlangan HCl hisobidan) bilan yuviladi va yuqorida aytilgan aylanishda yana sentrifugalanadi. Yuqib bo'lgandan keyin suvni to'kib, cho'kma probirkada qoldiriladi (agar u shishadan yasalgan bo'lsa). Agar probirkalar polietilendan yasalgan bo'lsa, cho'kma miqdoriy ravishda distillangan suv bilan oldindan quritilgan shisha byukslarga quyib olinadi.

Mitseliyli zamburug'lar va aktinomisetlarning, shuningdek, tomizg'ichlar va bakteriyalarning hujayralarini kultural suyuqlikdan ajratib olishda kulsizlantirilgan qog'oz filtrlardan va membrana filtrlardan foydalanish mumkin. Buning uchun shisha voronkaga yoki Byuxner voronkasiga ikki qavat qog'oz filtr qo'yib, aniq miqdorda olingan kultura filtrlanadi. Jarayonni tezlashtirish maqsadida vakuum ostida filtrlash mumkin. Filtrda qolgan cho'kma bir oz kislotalangan distillangan suv bilan yuviladi. Bakteriyalar hujayrasini ajratib olishda membranali filtrlardan foydalaniladi; filtrlarni shunday tanlash kerakki, ularning teshiklari bakteriya hujayrasidan mayda bo'lishi kerak.

Hujayralar massasini aniqlash. Ichida mikroorganizmlar hujayrasining cho'kmasi bo'lgan sentrifugalash probirkalari (byukslar) yoki filtrlar quritish shkafiga qo'yib, 30°C da, so'ngra 100-105°C da 2 soat quritiladi. 4 soatdan keyin birinchi marta, so'ngra har 1 soatda tortib ko'riladi. Har gal tortishdan oldin probirkalar, byukslar va filtrlar eksikatorida sovutiladi. Qurish protsessini tezlashtirish maqsadida majburiy ventilyatsiyali vakuum-quritish shkaflaridan, infraqizil nurli lampalardan foydalaniladi. Filtrlardagi biomassani K.N. Chijova asbobida tez quritish mumkin. U tekshirilayotgan namunani isitilgan qoramtir jismdan tarqalayotgan infraqizil nurlar bilan 5-7 minut davomida 160°C gacha isitib, suvsizlantirish prinsipiga asoslanagan.

Quruq biomassa miqdori (g/l hisobida).

$$x=(A-B) \times 1000/V$$

bu yerda A va B – sentrifugalash probirkalari (byuks, filtrlar)ning cho'kmali va cho'kmasiz massasi (g); V-sentrifugalash yoki filtrlash uchun olingan kultural suyuqlikning hajmi (ml).

Biomassani tortish usulida aniqlashda ikkita parallel namuna olinadi.

Biomassani nefelometrik usulda aniqlash. Nefelometriya loyqa eritma orqali o'tgan yorug'lik intensivligi o'lchamiga asoslangan. Mikroorganizmlar suspenziyasi tarqatadigan yorug'lik miqdori yo

ularning massa birligida yoki hujayralar soni bilan ifodalangan konsentratsiyasiga yo bo'lmasa ularning o'rtacha o'lchamiga proporsionaldir. Bir tekis loyqalantiruvchi o'sayotgan kulturalarga tarqatayotgan yorug'lik nuri bilan 1 ml kultural muhitdagi ($\pm 7\%$ aniqlikda) hujayralar sonining aniq bog'liqligi xosdir. Mikroorganizmlar parda, mitseliy, to'p-to'p yoki donador cho'kma hosil qilganda bu usulga rioya etilmaydi.

Yorug'likni tarqalishi miqdori fotoelektrokolorimetrlarda, nefelometrlarda (FEKN-57, FEKN-56M va boshqalarda) o'lchanadi.

Ularning ishlash prinsipi va yorug'likning tarqalishini o'lchash tartibi fizik-kimyoviy usullarga doir qo'llanmalarda va instruksiyalarda (priborlarga ilova etilgan) ta'riflangan bo'lib, eritmalarining optik zichligini o'lchashdan farq qilmaydi. GPBda yoki solod sharbatida suspenziya hosil qilingan bakteriya va tomizg'ilar hujayrasini tekshirishda qizil filtrda o'lchash, ko'k-yashil suvo'tlarni yashil filtrda o'lchash eng qulaydir. Kultural muhitda hujayralar konsentratsiyasi yuqori (hujayralar nihoyatda ko'p) bo'lsa, yorug'lik tarqalishi kuchayadi, bu esa past natija olinishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun hujayralar nihoyatda ko'p bo'lgan bunday suspenziyani oziq muhiti yoki suv bilan suyultirish kerak. Bitta kulturaning namunasini har xil suyuqliklar bilan suyultirish mumkin emas, chunki hujayralarning bo'rtib qolishi va qisilishi yorug'lik tarqalishi darajasiga ta'sir etadi.

Hujayralar soni (biomassa) yo bevosita nefelometrning ko'rsatishi bo'yicha yoki yorug'lik tarqalishi miqdori bilan hujayralar soni yoki hajm birligidagi quruq biomassa orasidagi o'zaro bog'liqlik egri chizig'i bilan ifodalanadi.

O'lchov egri chizig'i quyidagicha tuziladi: har xil quyuqlikdagi bir nechta mikroorganizm suspenziyasi tayyorlanadi. Sanash kamerasi yordamida yoki quruq biomassasini tortish yo'li bilan 1 ml suspenziyadagi hujayralar soni aniqlanadi. Keyin fotoelektrokolorimetr yordamida yorug'lik tarqalishi o'lchanadi. Olingan kattaliklarning bog'liqligi grafik tarzda ifodalanadi. Bunda ordinatalar o'qiga fotoelektrokolorimetr ko'rsatkichi, absissalar o'qiga 1 ml muhitdagi hujayralar soni (yoki g/l hisobidagi quruq biomassa hajmi) yoziladi. Har qaysi o'lchov chizig'iga yorug'lik filtrining raqami (nomeri), kyuvetaning ish masofasi, grafik tuzilgan muddat va mikroorganizmning nomi yozib qo'yiladi.

O'lchov egri chizig'i bo'yicha hujayralar soni quyidagicha aniqlanadi. Tahlil qilinayotgan namunaning yorug'lik tarqatishi o'lchanadi, ordinatalar o'qidan olingan songa mos nuqta topiladi. Ana

shu nuqta orqali o'lchash egri chizig'i bilan kesishguncha abssissalar o'qiga parallel chiziq o'tkaziladi.

Perpendikulyarning abssissalar o'qi bilan kesishish nuqtasi tekshirilayotgan namunadagi hujayralar soniga (biomassasiga) mos keladi.

Sinov savollari:

1. Hujayralarning biomassasi nima?
2. Biomassani tortib ko'rish yo'li bilan qanday aniqlanadi?
3. Mitseliyli zamburug'lar va aktinomisetlar, tomizg'ichlar va bakteriyalarning hujayralarini kultural suyuqlikdan ajratib olishda qanday filtrlardan foydalanish mumkin?
4. Biomassani nefelometrik usulda aniqlash qanday olib boriladi?
5. O'lchov egri chizig'i qanday tuziladi?

4-laboratoriya ishi

Zamburug'larni o'stirish uchun suyuq va qattiq ozuqa muhiti tayyorlash

Ishdan maqsad: Zamburug'larni suyuq va qattiq oziq muhitlarda o'stirish usuli orqali ularni ko'paytirish, ulardan biomassa va biofaol moddalarni ajratib olishni o'rganish.

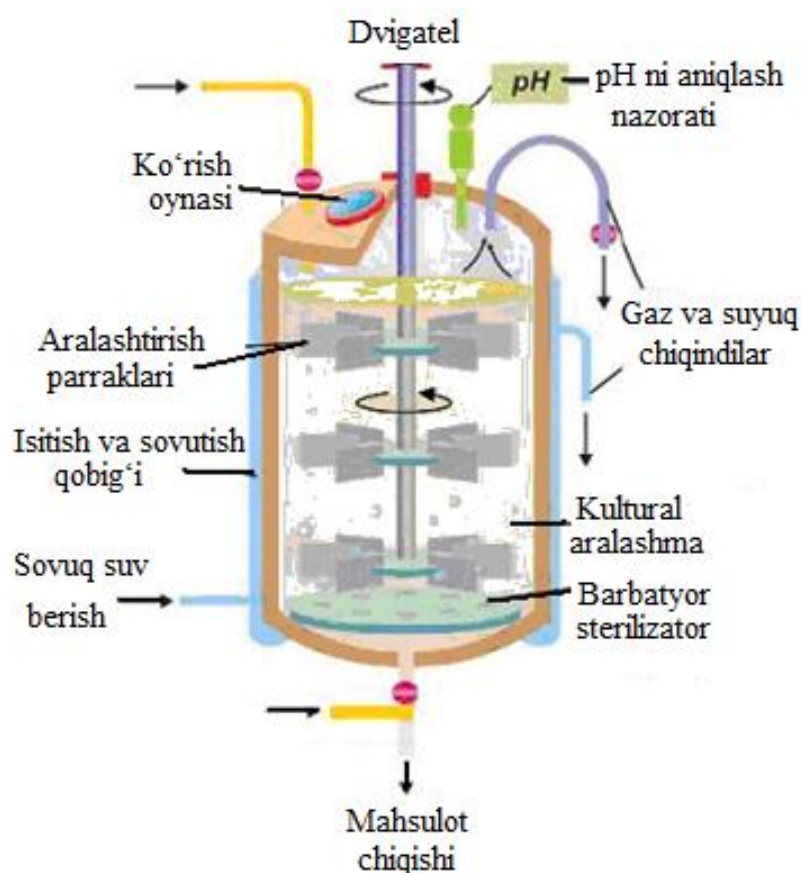
Kerakli reaktiv va asboblari: Suv, mineral tuzlar (uglerod, azot) maxsus chayqatgich (kachalka) sterilizator, fermentyor, sentrifuga, pH-metr, tarozi, jelatin, agar-agar, mineral tuzlar (uglerod, azot), suv, avtoklav, kyuveta, kolba, maxsus aralashtirgich, chayqatgich (kachalka) sterilizator, termometr, termostat.

1. Zamburug'larni o'stirish uchun suyuq ozuqa muhiti tayyorlash

Laboratoriya sharoitida: Produtsentlarning suyuq oziq muhitini tayyorlash uchun suv, mineral tuzlar, uglerod, azot manbalari qo'shib sterilanadi va oziq muhitiga steril sharoitda ferment produsenti ekiladi. Suyuq oziq muhitida ekilgan produtsentlar maxsus chayqatgichga qo'yib chuqur o'stiriladi. Chayqatgich (kachalka)da o'stirilganligi uchun chuqur o'stirish usuli hisoblanadi.

Bu usul qattiq oziq muhiti yuzasida o'stirish usuliga qaraganda bir qator, ya'ni ishlab chiqarish maydonini bir necha marotaba

qisqartirishga, og'ir qo'l mehnatini bartaraf qilishga, mehnat gigiyenasini yaxshilashga, ishlab chiqarishni avtomatik tizimini yaratishga va boshqa ustunliklarga ega.



11-rasm. Mexanik aralashtirgichli fermentyor

Suyuq oziq muhiti ichida o'stirishda oziqani birmuncha iqtisod bilan ishlatishga va ferment preparatlarini tozaroq hamda yuqori faollik bilan olishga erishish mumkin.

Mikroorganizmlarni suyuq oziqa muhiti ichida o'stirish vertikal holatda joylashgan fermentyorlarda olib boriladi. Fermentyorga qo'yilgan eng asosiy talab produtsentni o'stirish jarayonida intensiv havo almashinuvi bilan birga aseptika sharoitlarini vujudga keltirish imkoniyatlaridir. O'stirish jarayonida murakkab bo'lgan uch fazali suyuqlik-qattiq, jism-gaz tizimi bilan ishlashga to'g'ri keladi. Bu tizimda massa almashinuv jarayonlari juda qiyin kechadi va uskunani o'stirishning hamma bosqichlariga moslab yaratish ancha mushkuldir.

Sanoatda ishlatilayotgan fermentyorlarni havo almashinuvi uchun energiya uzatishi va aralashtirish usullariga qarab uch guruhga bo'lish mumkin:

1. Mexanik aralashtirgichli va purkama uskunalar (birlashtirilgan);
2. Siqilgan havoni purkash tizimiga (energiyani suyuqlik ichiga purkovchi) asoslangan uskunalar;
3. Purkashga asoslangan (energiyani gaz fazasiga uzatuvchi) uskunalar.

Ferment sanoati uchun birinchi guruh fermentyorlari aseptika talablariga javob berishlari bilan juda katta ahamiyatga ega. Bu uskunalar asosan silindr shakli ega bo'lib, bir-birlaridan hajmi, ichki tizim konustruksiyasi, aylantirish tezligi va qurilmalari hamda issiqlik almashtirish moslamalari bilan farq qiladi.

Fermentyorlarning eng yirigi mexanik aylantirgichlari va ko'pik so'ndirgichlari bilan birgalikda 2000 m³ hajmga ega. "Xeman" firmasi 360-400 m³ li fermentyorlarni ishlab chiqarish va joriy qilish bilan shug'ullanadi.

Bizda asosan Rossiyada ishlab chiqarilgan 50 m³ li va 100 m³ li germetik berk bo'lgan va mexanik aralashtirgichli hamda havoni purkovchi fermentyorlardan keng miqyosda foydalaniladi. Bundan tashqari Germaniya mahsuloti bo'lgan 63 m³ li fermentyorlar juda ko'plab ferment korxonalarida ishlatiladi.

2. Zamburug'larni o'stirish uchun qattiq ozuqa muhiti tayyorlash

Laboratoriya sharoitida: produtsentlarni qattiq oziq muhiti yuzasida o'stirish uchun suv, mineral tuzlar uglerod, azot manbalari qo'shib sterillanadi va oziq muhitiga steril sharoitda ferment produsenti ekiladi. Bu jarayon huddi suyuq oziq muhitini tayyorlash kabi boradi, qo'shimcha qilib yuqoridagi oziq muhiti tarkibiga jelatin yoki agar-agar solinadi. Avtoklavda sterilizatsiya qilingach, sovuq holatda ekiladi, keyin qattiq dirildoq massa hosil bo'ladi. Qattiq oziq muhitining ustida ferment produsenti yuzaki o'stiriladi, va biomassa hosil qilinadi, keyin hujayra ichidagi fermentlari ajratib olinadi. Shu usul orqali ferment produtsentlarini qattiq oziq muhitlarida o'stirilib ajratiladi.

Sanoatda: esa produtsentlarni o'stirish jarayoni sovitilgan steril oziq muhitiga ekish materialini sepishdan boshlanadi. Davriy sterilizatsiya sharoitida ekishni odatda sterilizatorning o'zida uzluksiz aralashtirish yo'li bilan o'tkaziladi. Uzluksiz sterilizatsiya qilish sharoitida esa oziqaga ekish sterilizatorning sovitish bo'limida amalga oshiriladi va ekilgan oziq muhiti kultura bilan birgalikda o'stirish sexiga yuboriladi.

Kulturalarning qattiq oziq muhiti yuzada o'stirish jarayonini har xil

usullar bilan bajarish mumkin. Kyuvetalarga ekib o‘stirish an‘anaviy usul hisoblanib, ko‘p qo‘l mehnatini va ko‘p ishlab chiqarish maydonini talab qiladi. Produktlarni mexanizatsiyalashgan qurilmalarda o‘stirish birmuncha yangi usul bo‘lib hisoblanadi.

Kyuvetali o‘stirish usulining elementar yacheykasi bo‘lib oddiy ruxlangan temir tunikadan yasalgan usti ochiq yoki yopiq va balandligi 20-50 mm li 0,25-0,50 m² maydonga ega bo‘lgan idish tashkil qiladi. Bu idishning tag qismi teshikli yoki teshiksiz bo‘ladi.

Kyuvetalarga 2-2,5 sm qalinlikda namlangan, ekilgan oziq muhiti solinadi va u o‘stirish xonasiga yuboriladi. Bu yerda kyuvetalar harakatlanuvchan yoki statsionar uskunalarda bir necha qavatli qilib teriladi. Har bir qavat orasi 10-11 sm bo‘ladi.

Odatda bu qavatlar soni 18 ta atrofida bo‘lib, umumiy bo‘yi 2 m dan oshmasligi kerak. Birinchi kyuveta 20-25 sm balandlikda o‘rnatiladi. Hamma temir uskunalar korroziyaga qarshi material bilan qoplangan bo‘lishi lozim. Kyuvetalarni o‘stirish xonasiga bo‘shatishda ular formalin bilan dizinfeksiya qilinadi. O‘stirish xonalari har xil shakl va ko‘rinishda bo‘lishi mumkin. Ko‘pincha ular uzun ensiz ikki tomoniga eshik o‘rnatilgan yo‘lak shaklida bo‘ladi. O‘stirish xonasi tepasida havo haydash va havoni tozalash moslamalari o‘rnatiladi. O‘stirish xonalarida olib boriladigan butun texnologik jarayonlar 36-90 soat davom etadi.

Mexanizatsiyalashgan o‘stirish qurilmalarini yaratishning imkoniyatlari oziq muhiti qavatlarining orasida havoning yaxshi aylanishi, zichlashib qolmasligi yoki tezda qurib qolmasligi kabi talablar bilan cheklangan. Shu bilan birga ularni shunday qurish kerakki, agarda o‘stirilayotgan mikroorganizmlar ifloslanib qolsa, o‘stirish tizimini to‘xtatmasdan shu yerdagi ifloslangan oziq muhitlarini bemalol almashtirish va sterilizatsiya qilish imkoniyatlari bo‘lishi kerak. Bunday nisbatan yaxshi qurilmalarga Djefris, Xristensen, Anderkofler, Valershteyn, Chexoslovakiya va VNIIFS, VNII biotexnika va boshqalar ishlab chiqargan uskunalarni kiritish mumkin Djefris va Xristensen qurilmalari tuzilishi jihatidan bir-birlaridan sal farq qilsada, ishlash mexanizmi harakatlanuvchan tasma yoki transporterga asoslangan va har bir o‘stirish jarayoni to‘liq bajariladi. Lekin bu qurilmalarda ifloslanish hodisasi ro‘y bersa butun boshli tizimni to‘xtatish va hamma qismlarini sterilizatsiya qilish kerak bo‘ladi.

Mikroorganizmlarni mexanizatsiyalashgan o‘stirishning Anderkofler, Valershteyn va Chexoslovakiya qurilmalarida o‘stirishni uzluksiz olib borish, har bir qism va jihozlarni alohida sterilizatsiya qilish mumkin va

ifloslanish jarayonida butun tizimni to'xtatish shart emas. Ularning samaradorligi sutkasiga 0,4 tonnadan 10 tonnagacha bo'lishi kuzatilgan.

Sinov savollari:

1. Fermentyorga qo'yilgan eng asosiy talab nimadan iborat?
2. Suyuq oziq muhiti ichida o'stirish orqali qanday faollikka erishiladi?
3. Sanoatda ishlatilayotgan fermentyorlarni qanday turlari bo'ladi?
4. Birinchi guruh fermentyorlari qanday ahamiyatga ega?
5. Laboratoriya sharoitida produtsentlarni qattiq oziq muhiti yuzasida o'stirish qanday amalga oshiriladi?
6. Sanoat sharoitida produtsentlarni o'stirish jarayoni qanday olib boriladi?
7. Laboratoriya va sanoat usullarida produtsentlarni o'stirish farqi nimada?
8. Mexanizatsiyalashgan o'stirish qurilmalarining samarali tomoni nimada?

5-laboratoriya ishi

Oziq muhiti tarkibini tahlil qilish

Ishdan maqsad: Mikroorganizmlarni o'stirish uchun zarur oziq muhiti turlari va ularni tayyorlash usullarini o'rganish.

Kerakli reaktiv va asboblari: Petri likopchalari, pH-metr, kolba, flakon, probirka, 1-2% li HCl yoki H₂SO₄ eritmalari, go'sht-peptonli agar, sovun yoki sintetik yuvish vositalari.

Oziq muhitlarni toza shisha idishlarda (kolba, flakon, probirka va boshqalarda) tayyorlash kerak. Yangi shisha idishlarni yuvib 8-10 soatga 1-2% li HCl yoki H₂SO₄ eritmalariga solib qo'yiladi yoki o'sha eritmalarda qaynatib, yuvib, distillangan suvda yaxshilab chayib quritiladi. Ishlatilgan idishlarni sovun yoki sintetik yuvish vositalari bilan yuvib, vodoprovod suvida so'ng distillangan suvda chayiladi.

Juda ifloslangan, yog' izlari qolgan idishlarni xrom aralashmasi bilan ishlov berib, yaxshilab yuvib tashlanadi. Suyuq oziq muhitlarni qog'oz yoki qalin gazlama filtr yordamida filtrlab, idishlarga quyiladi. Suyuq muhitlarni qotirish uchun agarning kerakli miqdorini qo'shib, suv hammomida, agar to'la eriguncha qizdiriladi. So'ng muhitni paxta-marlili filtdan o'tkazib, idishlarga erib turgan holatida quyiladi. Probirka va kolbalarni sterilizatsiyalash oldidan paxtali tiqin bilan

yopiladi. Qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkalarning yarmigacha agarli muhit quyiladi, keyin sterilizatsiya qilinadi.

Petri likopchalariga quyiladigan agarli muhit bilan katta probirkalarning 2/3 hajmiga to'ldiriladi. Muhitni yana kolbalarga quyib ham sterillash mumkin. Har bir oziq muhiti solingan kolbaga etiketka qilib, unga oziq muhitining nomi, tarkibi va sana yoziladi. Sterilizatsiyani qilib bo'lib, qiyalashtirilgan agar tayyorlash uchun probirkaning tiqin o'rnatilgan tomonini bir oz balandroq qilib sovitish uchun qoldiriladi. Bunda oziq muhiti paxta tiqingacha 5-6 sm yetmasligi kerak.

Sterillangan oziq muhitlarni salqin, quruq, nur tushmaydigan joylarda, yaxshi berkiladigan shkaflarda saqlanadi. Nam joylarda paxta tiqinlar o'ziga namni tortib, mog'or zamburug'lari rivojlanishiga olib keladi. Mog'or ko'payib, o'sib kolba va probirkalarning ichiga ham tushishi mumkin.

Go'sht-peptonli agarni tayyorlash. Odatda mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash uchun standart oziq muhiti go'sht-peptonli agar qo'llanadi (GPA).

Uni tayyorlash uchun avvalombor go'sht-peptonli bulyon qilinadi (GPB). Uning uchun 1 kg mol go'shtini suyak, yog' va chandirlardan ajratib, go'sht qiymalagichdan o'tkaziladi. Olingan 0,5 kg qiymaga 1 l suv qo'shib 1 soat davomida qaynatiladi, ko'pigi olib tashlanadi. Go'sht suvini sovitib, ustidagi yog' olib tashlanadi va uni paxta-marlili filtrdan o'tkaziladi. So'ng dastlabki hajmigacha vodoprovod suvi quyiladi.

1 l go'shtli suvga 1% quruq pepton va 0,5% natriy xloridni qo'shib 30 minut qaynatib, hajmini dastlabki darajasiga yetkaziladi. GPB filtrlanib, pH 7,2-7,4 ga 10% yordamida yetkaziladi va 20 min davomida 120°C da sterilizatsiya qilinadi.

GPA tayyorlash uchun GPB ga oziq muhitning qo'llanishiga binoan 0,2-2% agar-agar qo'shiladi va past olovda aralashtirib, agar eriguncha qaynatiladi. GPA ni probirka va kolbalarga quyib, 120°C da 20 min sterilizatsiya qilinadi.

Oziq muhitlarning pH ini aniqlash. Oziq muhitlarning pH i ko'pincha Mixaelis bo'yicha kalorimetrik usul bilan aniqlanadi.

Bu usul muhitdagi vodorod yoki gidroksil ionlar miqdoriga qarab indikator rangiga asoslangan. Vodorod ionlari kislotali reaksiyani, gidroksil ionlar esa ishqorli reaksiyani yuzaga keltiradi. U yoki bu guruh ionlar miqdorining ko'payishi muhitning o'zgarishga olib keladi. Teng miqdordagi ionlar muhitni neytral holatga keltiradi.

pH ni aniqlash muhit rangining (unga indikator qo‘shilgandan keyin) Mixaelis bo‘yicha standartlar bilan taqqoslash yo‘li bilan amalga oshiriladi. Indikator sifatida metanitrofenol, paranitrofenol va gammodinitrofenol qo‘llaniladi. Indikatorlar yorug‘likni o‘tkazmaydigan shishadan tayyorlangan flakonlarda saqlanadi. Mixaelis asbobida indikatorlardan och sariqdan to to‘q sariqqacha bo‘lgan turli ranglardagi eritmalar solingan standartlar tayyorlangan. Bo‘yalish darajasi pH ning etiketkada yozilgan muayyan kattaligiga to‘g‘ri keladi. Yonma-yon joylashgan probirkalar o‘rtasida pH ning farqi 0,2 ga teng. Standartlardan 4 ta qator hosil qilingan: birinchi qatorda – metanitrofenol indikator standartlari (pH 6,8-8,4), ikkinchi qator paranitrofenol indikator standartlari (pH 5,4-7,0), uchinchi qatorda gammadinitrofenolniki (pH 4,0-5,4) va to‘rtinchi qatorda alfadinitrofenol indikator standartlari (pH 2,8-4,4) joylashtirilgan.

Ko‘rib chiqilgan usulda tashqari, pH ni aniqlash uchun universal pH indikator ham qo‘llaniladi.

Elektrometriya usuli. pH ni aniqlash uchun turli markadagi potensiomترلardan (laboratoriya pH-metrlari) foydalaniladi. Bunday asboblار yordamida pH ni aniqlash metodikasi fizik-kimyoviy tadqiqot usullarida va asboblarning tavsiflarida aytib o‘tilgan.

Sinov savollari:

1. Oziq muhitlarni qanday idishlarda tayyorlash kerak?
2. Sterillangan oziq muhitlarni qanday joylarda saqlanishi kerak?
3. Mikroorganizmlarning umumiy sonini aniqlash uchun qanday oziq muhitidan foydalaniladi?
4. Oziq muhitlarning pH i qaysi usul yordamida aniqlanadi?
5. pH ni aniqlashda indikator sifatida qanday buyoqlar qo‘llaniladi?

6-laboratoriya ishi

Zamburug‘larni o‘stirish usullarini o‘rganish. *Pleurotus ostreatus* – oddiy veshenka zamburug‘ini yetishtirish usullari

Ishdan maqsad: Iste’mol qilinadigan zamburug‘larni yetishtirish jarajonida zarur jihozlar, asbob uskunalar va ekish materiallarini tayyorlash usullarini o‘rganish.

Kerakli reaktiv va asboblار: tarkibida sellyuloza va lignin bo‘lgan o‘simlik chiqindisi (chigit qobig‘i, daraxt qipig‘i va boshq.), sulı doni,

gips, bo‘r, paxta va dokadan tayyorlangan qopqoqlar, 96°C li spirt, Petri chashkalari, filtr qog‘ozi, oltingugurt, polietilen xaltalar.

1. Qo‘ziqorinlar haqida umumiy tushuncha

Qo‘ziqorinlar – na o‘simlik, na hayvonot olamiga kiruvchi o‘ziga xos tirik tabiat saltanati. Ular bundan qariyb bir milliard yil muqaddam paydo bo‘lgan bo‘lib, ayni vaqtda yer yuzidagi eng ko‘p tarqalgan, eng xilma-xil tirik organizmlardan biri hisoblanadi. Taxminiy hisob-kitoblarga ko‘ra, sayyoramizda qo‘ziqorinlarning 100 mingdan ortiq turi mavjud. Lekin olimlar ularning bor-yo‘g‘i 5 foizini o‘rganishgan, xolos.

Taniqli Sharq tabibi Vu Sinning ta’kidlashicha, qo‘ziqorinlarning shifobaxsh xususiyati dorivor giyohlarnikidan ancha yuqori. U o‘zicha haq, giyohlardan farqli o‘laroq qo‘ziqorinlar organizmga faolroq ta’sir ko‘rsatadi. Yaponiyada o‘sovchi shiitake qo‘ziqorinini esa qadimdan qo‘ziqorinli odamgiyoh yoki ilohiy qo‘ziqorin deb atashgan. Undan deyarli barcha kasalliklarni davolashda foydalanishgan. Shiitakeni yetishtirish usulini esa qattiq sir saqlashgan. Faqat yapon zodagonlarigina o‘z qo‘ziqorin plantatsiyalariga egalik qilishi hamda uning mo‘jizaviy shifosidan bahramand bo‘lishlari mumkin edi.

O‘zbekiston hududida zamburug‘larning 300 ziyod turi mavjud. Biroq shulardan 25 turigina iste’mol uchun yaroqli hisoblanadi. Bu iste’mol uchun yaroqli bo‘lgan zamburug‘ turlarini mahalliy aholi qo‘ziqorin deb ataydi. Shuning uchun ham O‘zbekistonning har qaysi viloyatida, har bir tumanida qo‘ziqorinning faqat ayrim, muayyan turlarigina terilib, ulardan turli xilda tansiq taomlar tayyorlanadi. Bu iste’mol uchun yaroqli qo‘ziqorinlar ma’danli moddalar, oqsil hamda “C” va “B” guruhlariga mansub vitaminlarga juda boydir.

Biroq respublikamiz hududida o‘sadigan qo‘ziqorinlarning 275 dan ziyod botanik turlari zaharli hisoblanadi. Ularni umuman iste’mol qilib bo‘lmaydi. Bunday qo‘ziqorin turlarini mahalliy aholi o‘z iborasi bilan zaharli o‘simlik – “qurbaqaning sallasi” deb ataydi.

Bu turlarga mansub qo‘ziqorinlar tarkibida gelvelli kislotasi, fallotoksin, ammonitotoksin va boshqa zaharli moddalar mavjud bo‘lib, ularga qanchalik ishlov berilmasin, tarkibidagi zaharli moddalar yo‘qolib ketmaydi. Ular qizdirishga juda ham turg‘un, qaynatilganda zararsizlanmaydi, oksigen ta’sirida oksidlanmaydi va oshqozon-ichak fermentlari ta’sirida parchalanmaydi. Oqibatda iste’mol qilgan kishilarni zaharlanishga duchor qiladi. Shunday o‘tkir zaharli qo‘ziqorin turlaridan

biri “lepiota” deb ataladi. U Toshkent shahri hududidagi bog‘larda, qabristonlarda, sayhon joylarda, daraxtlar tevaragida va boshqa joylarda ham uchrab turadi. “lepiota” barcha qo‘ziqorinlarga o‘xshab soyabon shaklida o‘sadi, uni iste‘mol qilgan kishi qattiq zaharlanadi.

Zaharli qo‘ziqorinni bilmay iste‘mol qilgan kishilar 6-12 soat vaqt o‘tganidan so‘ng ko‘ngli aynab, tez-tez qayt qiladi. Oshqozon-ichak faoliyati buzilib, qorinda og‘riq paydo bo‘ladi va butun a‘zoyi badani bo‘shashib ketadi.

Qo‘ziqorin tarkibidagi zaharli moddalar jigar, buyrak, me‘da osti bezi va markaziy asab tizimi a‘zolarini qattiq shikastlaydi. Qo‘ziqorindan zaharlanish alomatlari vujudga kelgan taqdirda, bemorga 5-6 piyola iliq namakobli suv ichirilib, sun‘iy qayt qildiriladi, uning me‘dasi yuvilishi kerak. Agar me‘da yuvilib, undagi zaharli moddalardan xalos etilmasa, bu moddalar qonga so‘riladi va zaharlanish yanada og‘ir kechadi. Bu bemorlarni uy sharoitida bilar-bilmas davolash og‘ir oqibatlarga olib kelishi mumkin. Bu holning oldini olish uchun zudlik bilan shifokorga murojaat qilish zarur.

O‘zbekistonda qo‘ziqorinning yeyishli bo‘lgan veshenka, podgruzd, lisichka, maslyonok, moxovik, o‘tloq shampinoni, oq, kulrang va malla turlari bor.

Veshenka. Organizmdan toksinlar chiqib ketishiga yordam beradi, foydali ichak mikroflorasi faoliyati va qondagi lipidlar darajasini me‘yorlashtiradi, shuningdek, qon bosimini tushirib, yurak-qon tomir va saraton kasalliklari paydo bo‘lish xavfini kamaytiradi, nerv tizimi ishini yaxshilaydi.



12-rasm. *Pleurotus ostreatus* – oddiy veshenka zamburug‘ining umumiy ko‘rinishi

Oq qo‘ziqorin. Ma’lumotlarga ko‘ra, oq qo‘ziqorinni muntazam iste’mol qilib turish ayrim oshqozon-ichak va saraton kasalliklarining rivojlanish xavfini bartaraf etadi. Ushbu qo‘ziqorindan olingan suv ekstrakti bilan qadim zamonlardan buyon yara va sovuq egan a’zolari davolashgan. Oq zamburug‘ silni davolashda, mador quriganda hamda moddalar almashinuvini yaxshilash uchun iste’mol qilingan. Oq qo‘ziqorinlar tarkibida shuningdek, gerstenin moddasi topilgan bo‘lib, ulardan stenokardiyaning davolashda foydalanishgan.

Oddiy veshenka – iste’mol uchun yaroqli qo‘ziqorinlar turiga kiradi va uni O‘zbekiston sharoitida intensiv usulda o‘stirishga mo‘ljallangan. Tabiiy sharoitda qo‘ziqorin terak, dub, ba’zan esa mevali daraxtlarning atrofida noyabr oyidan to mart oyigacha uchraydi.

2. Veshenka yetishtiriladigan xonani tayyorlash

Qo‘ziqorin yetishtirishning o‘zi unchalik qiyin emas. Birinchi galda qo‘ziqorin yetishtiriladigan joyni tayyorlab olish lozim. Bu joy iloji boricha aholi zichroq yashaydigan hududlardan chetroqda bo‘lgani ma’qul. Ayrimlar qo‘ziqorinni uy ichida, yerto‘lada yetishtirishga harakat qiladi. Ammo bunda devor kuchli namiqib ketadi. Natijada ulardan uncha-munchaga ketmaydigan qo‘ziqorin va namlik hidi anqiy boshlaydi. Shuningdek, ko‘p qavatli uylarda ham qo‘ziqorin yetishtirish tavsiya etilmaydi.

Qo‘ziqorin ekiladigan joy yoki xonaning germetikligi yuqori (eshik va deraza, tuynuklari zich yopiladigan) bo‘lishi lozim. Shuningdek, tanlangan bino yoki joy vaqti-vaqti bilan dezinfeksiyalab, shamollatib turish imkonini ham bersin. Qo‘ziqorinlarni javonlarda, yerda, polietilen qoplarda yetishtirish mumkin. To‘rt marta substrat almashtiriladi va bu bilan hosil olish jarayonining muntazamligi ta’minlanadi.

Oddiy veshenkaning zararkunanda va kasalliklari kam. Lekin tozalikka rioya qilinmaslik natijasida xonalarda pashsha, kana va chivinlar paydo bo‘ladi. Shuning uchun dezinfeksiya (infeksiyadan tozalash) maqsadida quyidagilar bilan ishlov beriladi:

1. Bino yoki xonaga formalinning 2-4%li eritmasi purkaladi. Keyin bino yoki xona ikki sutka davomida yopib qo‘yiladi. Tegishli muddat o‘tgach 1-2 sutka shamollatiladi;

2. Oltingugurt yoqib tutatiladi. Har 1m³ iga 40-60 gramm oltingugurt qo‘yib chiqilgach, bino 2 sutka yopib qo‘yiladi, so‘ngra 10 kun davomida shamollatiladi.

Oddiy veshenka (*Pleurotus ostreatus*)ning toza holda misteley (ip tolachadan iborat bo'lgan urug') olish usuli

Tabiatda madaniy veshenka turidan misteley olish uchun meva tanasining zararlanmagan yosh namunalari tanlanadi. Terayotgan paytda bu namunalarning mayda zarakunandalar bilan kasallanmagan, chirimagan yosh tanachalari yig'ishtirib olinadi. So'ngra har xil o'simlik qoldiqlaridan sekin tozalanib, oqib turgan vodoprovod suvida tezlik bilan yuviladi. Quritish uchun filtr qog'ozidan foydalanib, ulardagi ortiqcha suv shimdirib olinadi.

Ishlov berilgan meva tanasi bo'laklarga bo'linib, maxsus ozuqadan iborat bo'lgan Petri idishiga yoki nam kameraga joylashtiriladi. Mayda bo'laklar idishga joylashtirilganidan avval, sterilizatsiya qilish maqsadida dastlab 96°C li spirtga botirib olinadi, gaz yoki spirt gorelkasidagi olovga tutiladi. Keyin Petri chashkalari 25-26°C li termostatga qo'yiladi. 3-4 kundan keyin bu yerdagi bo'laklarning usti oq rangli o'suvchi ip tolalari bilan qoplanadi. Shu tolachalardan laboratoriya sharoitida boshqa ozuqa muhitdan suslo-agardan iborat bo'lgan idishlarga ajratib o'tkaziladi.

Ekiladigan donli mitseliyni tayyorlash usuli. Ekiladigan donli mitseliy tayyorlashda bug'doy, javdar, arpa donlaridan foydalaniladi. Buning uchun G. Limke (1972 y.) usuli qo'llaniladi. U quyidagicha amalga oshiriladi:

1. 10 kg suli doniga 15 litr suv qo'shiladi, aralashma 45-60 minut chamasida past olovda qaynatiladi.

2. Qaynab bo'lgandan keyin suv to'kiladi, don esa yoyilib, suvi yo'qolguncha quritiladi. So'ngra donga 120 gramm gips va 30 gramm bo'r qo'shib aralashtiriladi. Bundan maqsad donning bir-biriga yopishmasligi va havoning almashishini ta'minlashdir.

3. Qatiq uchun mo'ljallangan 1 litr yoki 0,5 litrli shisha idishlarga to'ldirmay don solinadi. Idishning og'zi paxta va dokadan tayyorlangan qopqoqlar bilan berkitiladi va 121°C haroratli bosim orqali zararsizlantiriladi (sterilizatsiya qilinadi).

4. Shisha idishlardagi don 24-26°C gacha sovutiladi.

5. Sovutilgan idishlarga avvaldan tayyorlab qo'yilgan probirkadagi toza holdagi mitseliy (ip tolali urug')dan olib ekiladi yoki zararlantiriladi.

6. Don ekilgan idishlar 24-26°C li termostat deb nomlangan shkafga joylashtiriladi.

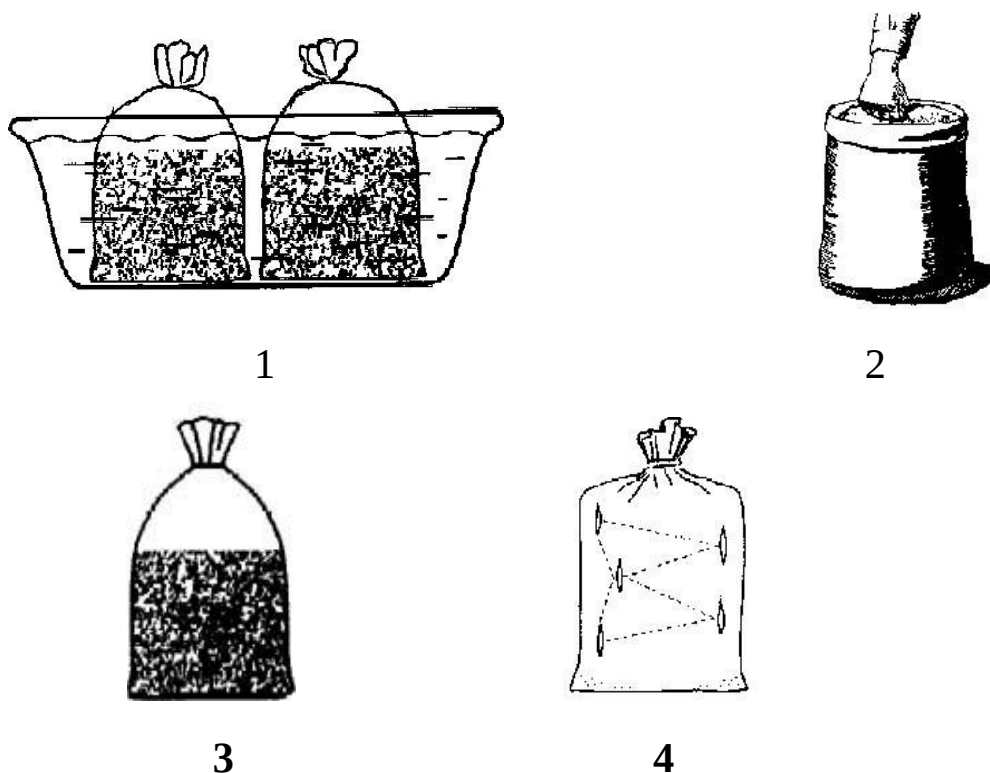
7.4-6 kundan keyin idishlarni silkitish kerak. Shunda donlar bir-biriga qattiq yopishib qolmaydi.

8.2 haftadan keyin esa ekish uchun mo'ljallangan donli mitseliy (urug') tayyor bo'ladi.

9. Ekishga tayyorlangan donli mitseliy muzlatgichda saqlanadi.

Substratni (qo'ziqorin o'stirishga mo'ljallangan ozuqa) ekishga tayyorlash. Oddiy veshenka tarkibida sellyuloza va lignin bo'lgan materiallarni parchalash xususiyatiga ega. Shuning uchun uni o'stirishda ozuqa sifatida o'simliklardan makkajo'xorining tanasi va o'zagi, har xil donli o'simliklarning hashagi, g'o'za chanoqlari, qamish, yog'och qirindisi va qipiq-lari xizmat qilishi mumkin. Foydalanilayotgan ozuqa toza, sog'lom, mog'or bosmagan bo'lishi kerak.

Substrat (ozuqa) maydalanadi yoki 0,5-2,0 sm hajmli bo'laklarga bo'linadi. Shuni yodda tutish kerakki, maydalangan materiallar tashqi jihatdan qanchalik toza bo'lib ko'rinmasin, lekin ularda juda ko'p mog'or zamburug'lari bo'ladi. Shuning uchun substrat avval maxsus idishlarga solinib, ortiqcha suv oqizib yuboriladi va polietilen xaltalarga joylashtiriladi.



13-rasm. Oddiy veshenka (*Pleurotus ostreatus*)ni xaltalarda o'stirish usuli

1-ozuqa muhitini sterillash; 2-zamburug' mitseliysini ekish; 3- polietilen xaltalarga ekilgan veshenka; 4-tayyor bo'lgan va teshilgan xaltalar.

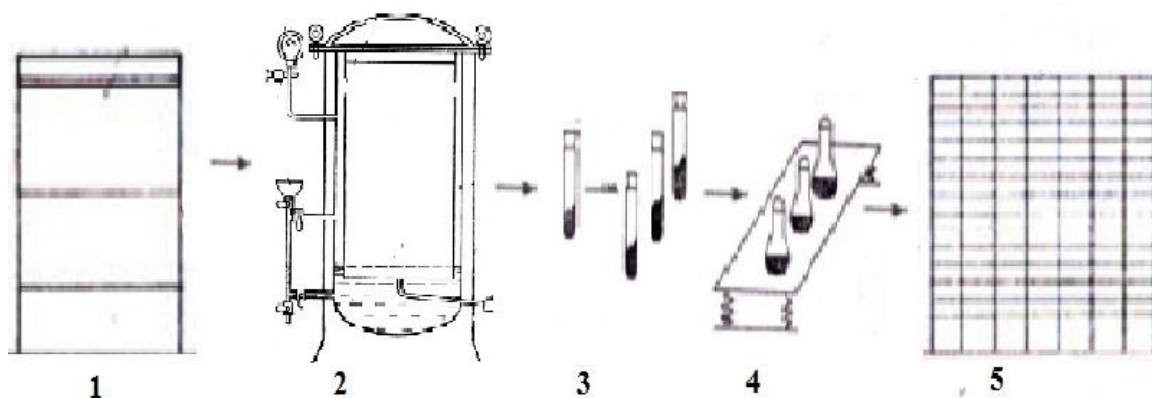
Xaltalarga joylashtirilgan substratga maxsus ishlov beriladi, ya'ni 10-12 soat davomida 55-60°C li darajada bug'lanadi. Shunday qilinganda undagi yuqorida aytilgan kasal tarqatuvchi zamburug'lar (mog'or) yo'qotiladi.

Xaltachalardagi substrat ichki darajasi 25-26°C gacha sovugandan keyin ekiladi. Substratning markazidan 8-10 sm chuqurlik yasab, bir tekisda ekish uchun mo'ljallangan donli mitseliyda ekiladi.

Xona harorati 20-25°C va namlik 90-95% bo'lganda oddiy veshenkaning mitseliysi juda yaxshi o'sadi va rivojlanadi. 5-6 kun o'tgach, u avval och-jigarrang tusga kiradi. Keyin esa oqish rangdagi ip tolachalar 3 kun davomida 4-5°C darajada sovutiladi. Bu davrda ular zichlashadi va etiladi. Keyin esa yana xona harorati 20-25°C ga ko'tariladi va ortiqcha parvarish talab qilinmaydi. Sug'orish ham kerak emas.

2.2. Qo'ziqorinning meva tana hosil qilishi

Meva tanalari paydo bo'lishi uchun maxsus sharoit yaratish kerak. Parvarish qilinayotgan xona havosining harorati 12-15°C daraja, namligi 95-100% bo'lishi lozim. Birinchi 5-6 sutka davomida yorug'likka talab bo'lmaydi. Lekin kichik meva tanachalar paydo bo'lishi bilan xonalar yetarlicha yoritib qo'yiladi.



14-rasm. Oddiy veshenkani yetishtirish chizmasi

1-xomashyo saqlanadigan ombor; 2-avtoklav; 3-zamburug' kulturasi; 4-ekuv materiali; 5-zamburug' kulturasi ekilgan qopchalarni joylashtiriladigan stellaj.

Oddiy veshenka tik joylashgan holda meva hosil qiladi. Shu munosabat bilan xonada o'tish uchun, ya'ni parvarish qilish maqsadida

xaltachalar bir-biridan ma'lum masofa oralg'ida joylashtiriladi. Mayda meva tanachalar hosil bo'lishi arafasida polietilen xaltachalarning har joy – har joyidan mayda 1-2 sm kattalikda teshiklar qirqib qo'yiladi. Bir oydan keyin qoplar atrofidan to'da-to'da meva tanalari o'sib chiqa boshlaydi va ular sekin-asta kattalashadi. Sug'orish esa mayda meva tanalari paydo bo'lishi bilan xaltalar ustidan yomg'irsimon usulda suv sepish orqali amalga oshiriladi. Sepilayotgan suv toza bo'lishi va shu bilan uni sepishda maxsus purkagichlardan foydalanish yaxshi natija beradi.

Oddiy veshenka substratning ozuqaviy moddalarini tez qabul qiladi va hosilning 70-80%ini dastlabki yig'ib olinadigan qo'ziqorinlar tashkil etadi. Shu munosabat bilan hosil ikki marta terilgandan keyin ozuqali substratni qaytadan o'zgartirish (almashtirish) kerak.



15-rasm. Xaltachalarga ekilgan *Pleurotus ostreatus* – oddiy veshenka zamburug'i meva tanasining umumiy ko'rinishi

2004 yili ikki nafar amerikalik talabalar Back To The Roots Ventures ("Ildizlarga qaytish") firmasini ochib, qahva ichimligi qoldiqlarida qo'ziqorin yetishtirishni yo'lga qo'yishdi. Ushbu g'oya afrikalik ayollarning bu sohadagi tajribasini o'rganish orqali tug'ildi. Qahva ichimligi qoldig'ida qo'ziqorinlar ikki barobar tez o'sib, yetishtirish ancha arzonga tushadi. Bir haftaning ichida firma 600 funtgacha qo'ziqorin yetishtirib, iste'molchilarga yetkazib berishadi. 1 funt qo'ziqorinning bahosi 12 dollarligini hisobga olsak, firma 30000 dollargacha daromad ko'radi.

Bundan tashqari ishbilarmon talabalar qo'ziqorin sporalari sochilgan

va qahva qoldig'i aralashtirilgan maxsus tuproq va moslamalar sotuvini ham yo'lga qo'yishgan. Bunday tuproqda qo'ziqorin bir haftada hosilga kiradi.

Sinov savollari:

1. Dunyoda zamburug'larning qancha turi mavjud?
2. O'zbekiston hududida zamburug'larning qancha turi mavjud?
3. Zamburug'lar tarkibida qanday biologik faol moddalar bor?
4. *Pleurotus ostreatus* – oddiy veshenka zamburug'ini yetishtirish uchun qanday xomashyolar kerak bo'ladi?
5. Oddiy veshenka zamburug'ini yetishtirish uchun qanday sharoit zarur?

7-laboratoriya ishi

Sut va sut mahsulotlari ishlab chiqarish

Ishdan maqsad: Sut va sut mahsulotlarini laboratoriya sharoitida tayyorlash usullarini o'rganish.

Kerakli reaktiv va asboblari: yangi sog'ilgan sut, tomizg'ilar: *Streptococcus lactis*, *S. lactis subsp. diacetilactis*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Saccharomyces lactis*, *Sacch. carilaginosus*, *Acetobacter aceti*, termometr, pH-metr, saxaromer, sut saqlash uchun idishlar, pishloqni presslash uskunasini.

Odatdagi sharoitda yangi sog'ilgan sutda bir qancha (1 ml da minglab) mikroorganizmlar uchraydi. Bularning manbai hayvon yelini, terisi, sut sog'adigan idish va uskunalari, havo va xizmat qiluvchi xodimlar bo'lishi mumkin. Yomonlashgan sanitariya sharoitida sutdagi bakteriyalarning miqdori 1 ml da yuz ming va millionga yetishi mumkin. Sanitariya qoidalariga rioya qilingan holda olinsa sutda mikrokokklar va oz miqdorda enterokokklar uchrashi ustunlik qiladi.

Ifloslangan sut tarkibida enterobakteriyalar, sut achituvchi bakteriyalar va chirituvchi bakteriyalar bo'lishi mumkin. 10°C dan oshiq haroratda sutni uzoq muddatga saqlaganda unda ma'lum guruh mikroorganizmlarni oldinma-ketin taraqqiy qilishi kuzatiladi, bularni bir qancha fazalarga bo'lib o'rganiladi.

Bakteriosid faza shu bilan xarakterlanadiki, sutni sog'andan keyin uni tarkibidagi laktenin-1 va laktenin-2 moddalarining ta'sirida

bakteriyalar ko‘payishi kuzatilmaydi. Bu fazani uzaytirish uchun yangi sog‘ilgan sutni tezlikda sovutish kerak bo‘ladi. Aralash mikroflorali fazasi sutdagi mavjud hamma guruh mikroorganizmlarning rivojlanishi bilan xarakterlanadi. Faza oxirida sut achituvchi bakteriyalar boshqa mikroorganizmlardan ustunlik qiladi. Sut achituvchi bakteriyalar fazasi – ko‘pincha sut achituvchi bakteriyalarning taraqqiyoti bilan belgilanadi. Sut tarkibida sut achituvchi streptokokklar kamayib, sut achituvchi tayog‘chalarning miqdori asta-sekin ko‘payib boradi.

Tomizg‘ilar va mitselial zamburug‘lar fazasi nordonlashgan sutda shunday mikroorganizmlarning rivojlanishi boshlanadi. Zamburug‘larning hayot faoliyati tufayli sutning nordonligi (kislotaligi) kamayib boradi, oqsilni parchalovchi chirindi hosil qiluvchi mikroorganizmlar taraqqiy qilishiga qulay sharoit yaratiladi. Sutni saqlash uchun uni pasterizatsiya yoki sterilizatsiya qilinadi. Pasterizatsiya turli xil rejimda olib boriladi, masalan: 63-65°C da 30 minut mobaynida, 74-76°C da 15-20 minut va 85-87°C da qizdirilib tezda sovutiladi. Sutning mo‘tadilligini oshirishning samarali yo‘li odatda bajariladigan 105-115°C da 30 minut mobaynida sterilizatsiya qilishdir. Sut achituvchi bijg‘ish jarayoni ko‘plab sut mahsulotlari, xususan sariyog‘, pishloq va boshqa mahsulotlar olishda yetakchi rol o‘ynaydi.

Faol bijg‘ishni ta‘minlash uchun suyuq yoki quruq holatdagi tomizg‘ilardan foydalaniladi, uning tarkibiga ma‘lum turkumga mansub bo‘lgan sut achituvchi bakteriyalarning toza kulturalari kiradi. Tomizg‘ining tarkibiy qismini tanlashda albatta tayyorlanadigan mahsulotlarning maxsus xossalari hisobga olinishi kerak.

Tomizg‘ilarning bir-biriga munosabati sut achituvchi bakteriyalarning xususiyati unda mavjud bo‘lgan tabiiy ingibitorlarga ularning bakteriosid xususiyatiga, antibiotiklarga va boshqa sutdagi dizenfeksiya qiluvchi moddalarga chidamliligi bilan belgilanadi. Tomizg‘i tarkibidagi sut achituvchi bakteriyalarning, bakteriofaglarga chidamli bo‘lishlari ham muhimdir. Masalan: streptokokk fagi xom sutda, pasterizatsiya qilingan sutda, pishloqdan chiqqan zardobda keng tarqalgan.

Pishloq va yogurt tayyorlashda foydalaniladigan tomizg‘ilar tarkibidagi *L. laktobatsillaga* (Masalan: *L. helveticus*, *L. lactis*) nisbatan faol bo‘lgan faglar shu mahsulotlarni ishlab chiqarish jarayonida uchratilgan bakteriofaglarning tabiiy manbalari pishloq yoki yogurt bo‘lgan tuproq va o‘simliklarda uchraydigan bakteriyalardir, sutga esa

ular oziqdan, hayvonlar terisi va yelinidan, shuningdek, havodan tushishi mumkin. Ishlab chiqarish sharoitida faglarni inaktivatsiya qilishga 90°C da kamida 30 minut qizdirish natijasida erishiladi. Tarkibida fagga chidamliligi bilan farq qiladigan bakteriyalar bo'lgan tomizg'ilarni almashtirib turish, ishlab chiqarish jarayonida faglarning to'planmasligiga qarshi kurashishning asoslangan usullaridandir.

Sut achituvchi mahsulotlarni tayyorlash har bir mahsulot uchun maxsus tomizg'ilardan foydalanishga asoslangan. Masalan: oddiy prostokvasha olishda *Streptococcus lactis*, *S. lactis subsp. diacetylactis* ishlatiladi. Shu turlar va shunga o'xshash *S. cremoris* qaymoq olishda tomizg'iga qo'shiladi. Tvorog tayyorlashda *S. lactis* va *S. lactis subsp. diacetylactis*dan foydalaniladi. Mahsulotni tezda olish uchun teng miqdorda termofil *S. thermophilus* va mezofil streptokokklar aralashmali tomizg'ilar ishlatiladi; Achitishni 38-40°C da olib boriladi.

Asidofil suti va asidofil pastasi, pastirlangan sutning *L. acidophilus* bakteriyasini achitish yo'li bilan olinadi.

Bir qancha mahsulotlarni (kefir, qimiz, va boshqalar) ko'p komponentli tomizg'ilardan foydalanish yo'li bilan olinadi. Bular tarkibiga sut achituvchi bakteriyalardan tashqari tomizg'ilar ham qo'shiladi. Ko'pincha sirka kislotasi bakteriyalari ham qo'shiladi. qimizda odatda *Lactobacillus bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Saccharomyces lactis*, *Sacch. cartilaginosus*, *Acetobacter aceti* ishlatiladi. Kefir ishlab chiqarish uchun tomizg'i sifatida "kefir zamburug'i" va sun'iy tomizg'idan foydalaniladi. Zamburug'ning tanasi ipsimon, grammusbat, bakteriyalarni o'ralib ketgani; zamburug'ni ustki qismida qalinlashgan qavatda tomizg'i va sut achituvchi streptokokklar, ichki chuqurchalik – ko'tarilgan qavatda esa sirka kislotali bakteriyalar uchraydi. Kefir uchun tanlangan tomizg'i tarkibiga sut achituvchi bakteriya tomizg'i va sirka kislotali bakteriyalar yuboriladi.

Bu tomizg'i kefirni quyruq qon konsistensiyasining yaratilishiga sababchi bo'ladi va unga maxsus ta'm beradi. Sariyog' tayyorlash uchun tomizg'i tarkibiga *S. lactis*, *S. cremoris* kislotasi hosil qiluvchilar sifatida: *S. lactis subsp. diacetylactis* esa yoqimli, xushbo'y hidli moddalar (diacetil, atsetoin) ajratuvchilar sifatida qo'shiladi. Xushbo'y hidli moddalar ayrim vaqtda 1 l sutda 10-30 mg gacha yig'iladi.

Yog'ni doimiy oqim usulida 30°C da olishda tarkibida quyidagi bakteriyalar bor tomizg'ini ishlatish yaxshi natija beradi. *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* va *S. lactis subsp. oliacetylactis* bo'lsa, yog'ning sifati yaxshilanadi. Pishloqlarning pishishi sut achituvchi bakteriyalar sintez

qiluvchi proteaza fermentlari ta'sirida boradi, bu bakteriyalar pishloq massasini zichlashdan boshlab pishloq tarkibiga kiradigan mikroorganizmlarning asosiysi hisoblanadi.

Pishloq pishirish jarayonida oqsillarni proteolitik parchalanishida sut achituvchi bakteriyalarning yetakchi roli aniqlangan. Pishloqqa xarakterli maza va yoqimli hid berib turuvchi moddalar asosan aminokislotalar va ularning hosilalaridir. Leytsin va valin aminokislotalari cheddar pishlog'iga o'ziga xos ta'm beruvchi 3-metilbutanol va 2-metilproponat birikmalarini hosil bo'lishi uchun xizmat qilishi mumkin. Pishloq ta'mini yaratilishida sut achituvchi bakteriyalar hosil qiladigan organik (shu qatorda uchuvchi) kislotalarning alohida roli bor.

Propion achituvchi bakteriyalarning gaz hosil qiladigan shtammlari (faqat propion achituvchi bakteriyalar emas) ayrim pishloqlarda ma'lum shakl g'ovaklar hosil qiladi. Pishloqdagi sut achituvchi bakteriyalarning yana bir roli, ular kerak bo'lmagan mikroorganizmlarning rivojlanishiga yo'l bermaydi (ayniqsa yog' kislotali bakteriyalarga). Pishloq tomizg'isi uchun sut achituvchi bakteriyalarning proteolitik faol shtammlari tanlanadi, ularning tarkibi pishloq tayyorlash texnologiyasiga asosan aniqlanadi.

Sinov savollari:

1. Ifloslangan sut tarkibida qanday turdagi bakteriyalar bo'lishi mumkin?
2. Faol bijg'ishni ta'minlash uchun qanday holatdagi tomizg'ilardan foydalaniladi?
3. Kefir ishlab chiqarish uchun tomizg'i sifatida qanaqa tomizg'ilardan foydalaniladi?
4. Pishloqqa xarakterli maza va yoqimli hid berib turuvchi moddalar asosan qaysilar?

8-laboratoriya ishi

Non kvasi tayyorlash usulini o'rganish

Ishdan maqsad: Non kvasi ishlab chiqarish jarayonlari va usullarini o'rganish.

Kerakli reaktiv va asboblari: non, suli, arpa, suslo, *Sacch. cerevisiae* achitqisi, suslo saqlash idishlari, termometr, pH-metr.

Non kvasi-spirtli va sut achituvchi bijg'ishning tamom bo'lmagan mahsuloti bo'lib, qadim zamonlardan buyon tayyorlanib kelinayotgan ichimlikdir. Xalq orasida uni tayyorlashning bir qancha usullari mavjud. Hozirgi vaqtda kvas sanoat sharoitida tayyorlanadi.

Kvas ishlab chiqarish uchun xomashyo sifatida odatda suli va arpadan foydalaniladi, shuningdek, mahsulot sifatida suv va qand xizmat qiladi. Suli uni va solodining oldindan parlantiriladi va arpa solodi qo'shiladi, solodni fermentativ ta'sirida polisaxaridlar, oqsil va kraxmallar gidrolizga uchraydi. Filtrlab olingan suslo quyuqlashtiriladi, parlantiriladi va 105-115°C gacha qizdiriladi.

Shunda unga intensiv rang beruvchi va suli nonining xushbo'y hidini beruvchi melanoidlar hosil bo'ladi. Kvas suslosini bijg'itish uchun *Sacch. cerevisiae* achitqisi va sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalar qo'shilgan kulaturalar aralashmasi ishlatiladi. Achitqi va sut kislota hosil qiluvchi bakteriyalardan iborat majmua, oldin sterillangan kvas suslosida har qaysisi alohida ko'paytiriladi va keyin pastertilizatsiya qilingan suslo qand sharbati bilan to'ldirilgan chanlarga dastlab sut kislota hosil qiluvchi bakterianing ko'paytirilgani beriladi, keyinroq o'stirilgan tomizg'i solinadi.

Bijg'ish jarayonida kvasda 0,3-0,5% spirt to'planadi. Kvas sovutiladi, cho'kmadan tozalanadi, qand sharbati bilan shirinlashtiriladi va quyishga beriladi. Tayyor kvasni saqlashda spirt miqdori 1,2% dan oshmasligi kerak. Kvasning tiniq bo'lmasligi, achimtir bo'lib qolishi, turli xil begona tur mikroorganizmlarning ta'sirida bo'ladi. *Candida krusei* va *C. guilliermondii* turlariga kiruvchi achitqilar kvasdagi spirtni oksidlaydi, organik kislotalar to'planishiga sababchi bo'ladi, yoqimsiz ta'm hosil qiladi. Kvasning buzilishida sirka kislota hosil qiluvchi bakteriyalar ham ishtirok etishi mumkin.

Sinov savollari:

1. Kvas ishlab chiqarish uchun xom-ashyo sifatida odatda qanday xomashyodan foydalaniladi?
2. Kvas suslosini bijg'itish uchun qanday mikroorganizmlar aralashmasi ishlatiladi?
3. Bijg'ish jarayonida kvasda qancha spirt to'planadi?
4. Kvasning buzilishida qanday turdagi bakteriyalar ishtirok etadi?

9-laboratoriya ishi

Bakterial entomopatogen preparatlar ishlab chiqarish usullari

Ishdan maqsad: Entomopatogen bakteriyalarni oʻstirish uchun oziq muhiti tayyorlash, ularni oʻstirish usullari hamda biomassasini ajratib olish, ularning miqdorini mikroskopik tahlil qilishni oʻrganishdan iborat.

Kerakli reaktiv va asboblari: Petri likopchalari, pH-metr, kolba, flakon, probirka, 1 Pepton-1,0 g; NaCl-0,05 g; K_2HPO_4 -0,05 g; $MgSO_4$ -0,02 g, sovun yoki sintetik yuvish vositalari.

1. Bakterial entomopatogen preparatlar

Tushuntirish: Hozirgi vaqtda oʻsimlik zararkunanda hasharotlariga qarshi koʻplab mikroorganizmlar majmuasi ajratib oʻrganilgan va ular asosida mikrob biopreparatlari tayyorlashning ilmiy asosi yaratilgan. Sanoat asosida koʻplab preparatlar ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda keng qoʻllanilmoqda.

Shunday preparatlarni tayyorlash uchun bakteriyalar, zamburugʻlar va viruslardan foydalaniladi. Preparatlarni ishlab chiqarish texnologiyasi ham xilma xildir. Ularni ishlab chiqarishda mikroorganizmlarning fiziologiyasi va biokimyoviy xususiyatlari hamda preparat nima maqsadda qoʻllanilishi eʼtiborga olinadi.

Mikrob preparatlarini ishlab chiqarishda quyidagi bir necha talablar qiyiladi:

- ◆ ularning spetsifikligi, faqat maʼlum turdagi zararkunandalarga taʼsir qilib foydali hasharotlarga beziyonligi;
- ◆ yuqori samarali taʼsir kuchiga ega boʻlishi;
- ◆ ishlab chiqarish va qoʻllashning qulayligi;
- ◆ odam va hayvonlarga nisbatan xavfsiz boʻlishi;
- ◆ preparatning foydali xususiyatlarining uzoq saqlanishi;
- ◆ uning yaxshi namlanishi va eritmasining barqarorligi;
- ◆ oʻsimlik bargiga va boshqa organlariga yopishqoqligi va u yerda uzoq vaqt saqlanishi va hokazo.

Dunyoda 50 ga yaqin oʻsimliklarni zararkunanda hasharotlardan himoya qilish uchun mikrobiologik preparatlar yaratilgan. Shulardan koʻpchilik preparatlar sporali entomopatogen *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi asosida ishlab chiqariladi.

Bakteriyalar – eng katta va keng tarqalgan mikroorganizmlar guruhi hisoblanadi. Bularning ichida *Bac. thuringiensis* entomopatogen

bakteriyasi katta ahamiyatga ega. Bu bakteriya birinchi marotaba XIX asrning 60-yillarida ipak qurtining kasallanganida Paster tomonidan kuzatilgan. U uni odatdagidan boshqa yadro hosil qiluvchi, qurtlarda kasallik qo'zg'atuvchi bakteriya sifatida yozadi va unga *Bacillus bombicis* deb nom beradi.

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

Bu batsilla boshqa bir qancha entomopatogen bakteriyalar qatori *Bacillaceae* oilasiga kiradi. *Bacillus* turkumi tayoqchasimon, spora hosil qiluvchi, grammusbat turlarni birlashtiradi, ko'pchiligi harakatchan (xivchinlari mavjud) fakultativ va obligat (haqiqiy) aeroblardir. Ko'pchiligi tuproqda tarqalgan. *Bacillus thuringiensis* o'zining ko'pchilik xossasi jihatidan *Bac. cereus*ga yaqindir. Shuning uchun ular bir guruhga birlashtiriladi. Sun'iy yaratilgan muhitda va hasharot ichida yaxshi rivojlanadi. *Bacillus thuringiensis*ga qiziqish yildan yilga ortmoqda, chunki bakteriya juda ko'p muhim xususiyatlarga ega: tez ko'payadi; juda ko'plab oziq muhitlarida spora hosil qiladi; vegetativ o'sishi tugagandan so'ng, faqat spora hosil qilibgina qolmasdan, zararkunanda hasharotlarni nobud qiladigan asosiy qurol – kristall holdagi endotoksin ham sintez qiladi.

Bu bakteriyaning ayrim shtammlari kristall holdagi endotoksindan tashqari o'zi o'sadigan muhitiga yuqori haroratga chidamli β -ekzotoksin va fermentlar chiqaradi. Bular hasharotlar uchun o'ta zararlidir. Bu bakteriya turli xil texnologik monupulyatsiyalarga chidamli, separatsiyaga, vakuum-bug'latishga, quritishning turli xil usullariga, substrat-tashuvchilar (bakteriyani o'ziga biriktirib turuvchi vosita) bilan aralashtirishga va boshqalarga qulaydir. Quritilgan holatda tayyor preparat o'zining dastlabki xususiyatini yo'qotmasdan bir necha yillargacha (1-10 yillargacha) yaxshi saqlanadi.

*Bacillus thuringiensis*ning hamma ko'rsatilgan sifatlari uni o'simliklarni zararli hasharotlardan saqlash vositasi sifatida birinchi o'ringa chiqardi.

Entomopatogen bakteriyalarda virulentlik va ferment faolligining bog'liqligi va shtammning yuqori virulentlikka ega bo'lishida S-

fosfalipaza fermenti alohida o‘rin tutishi aniqlangan. *Bac. thuringiensis* bakteriyasining maxsus S fosfalipaza bilan patogenlik xususiyati orasidagi bog‘liqligi o‘rganilgan va S-fosfolipaza *Bac. thuringiensis* bakteriyalarining entomotsid ta‘sirida asosiy omil hisoblanadi degan xulosaga kelingan. Bu haqda Bolgariyalik olimlar A. Ivanov va boshqalar (1990) o‘z tadqiqotlarida *Bac. thuringiensis* bakteriyalarining S-fosfolipaza ajratishi, uning spetsifik xususiyati va n-nitrofenil-fosforilxolinning gidrolizlashi va entomopatogen xususiyati to‘g‘risida ma’lumot berishgan.

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

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

Hujayrada turli ko‘rinishdagi bir nechta kristallar hosil bo‘lishi mumkin (to‘g‘ri bipiramidal, rombsimon, kubsimondan ovalsimongacha). Ularning o‘lchamlari $0,5 \times 1,3$ dan $1 \times 3,5$ mkm gacha va hattoki submikroskopik ko‘rinishigacha kichrayishi mumkin. Ular organik eritmalarda erimaydi, biroq sporadan ajralishi mumkin, pH ko‘rsatkichi yuqori ishqoriy (pH–11,5 dan yuqori) sharoitda yaxshi eriydi va qaytaruvchi ishqoriy bufer ishtirokida (pH 7,9–9,5) ularning erish darajasi ortadi. Kristallar 100°C haroratda 30–40 minut qizdirilganda o‘zining zaharlilik xususiyatini yo‘qotadi.

Foydalaniladigan produtsent: *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi shtammi laboratoriya muzeyidan texnik laborant tomonidan maxsus kosyaklar ekilgan holda beriladi.

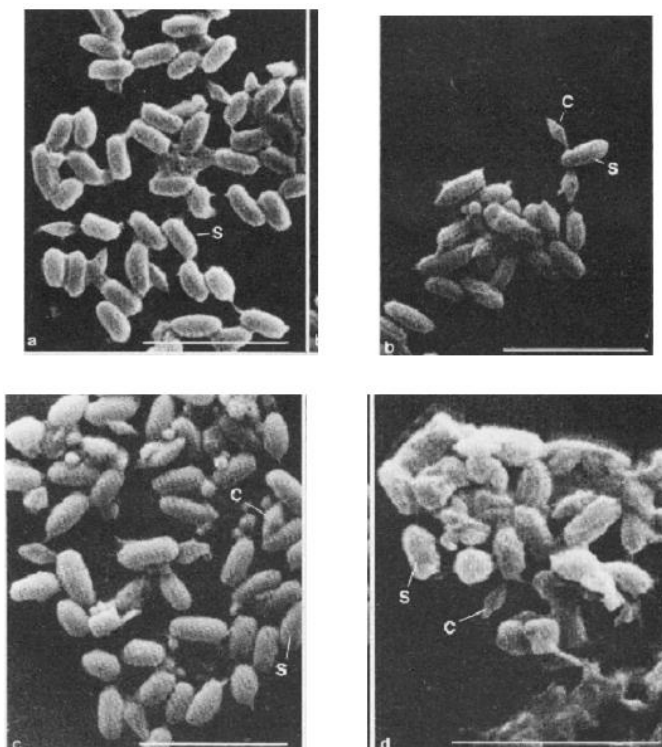
Produtsentni o‘stirish va saqlash. Kultura agar-agar qo‘shilgan kartoshkali suyuq va qattiq oziq muhitlarida $28-30^{\circ}\text{C}$ haroratda 5 kun davomida o‘stirib (suyuq oziq muhiti uchun mikrobiologik chayqatgichda; qattiq oziq muhiti uchun termostatda) olinadi.

Oziq muhitlari. Bakteriyalarni o‘stirish va saqlashda quyidagi oziq muhitlaridan foydalanish mumkin: go‘sht peptonli agar (GPA), go‘sht peptonli sho‘rva (GPSH), Xottinger oziqasi, kartoshkali agar va suslo-agar (ma’qul oziq muhiti murabbiy tomonidan tavsiya etiladi).

Dastlabki ekuv materialini tayyorlash. Ekish materialini o‘stirish uchun agarli kartoshka oziqa muhiti kosyakida 2 kun davomida $28-30^{\circ}\text{C}$

haroratda o'stirilgan kulturadan foydalaniladi (texnik laborant tomonidan ta'minlanadi); Shundan keyin, kultura sig'imi 750 ml bo'lgan kolbalarda 100 ml oziqa muhitiga ekilib, chayqalatgichda (200 tez/min) 48 soat davomida 28-30°C haroratda o'stiriladi (100 ml oziqa muhitiga 100 mln/hujayra). Ushbu kultura biomassasi oziqa muhitidan sentrifugalash usulida (5000 tez/min) yoki Zaysev filtrida ajratib olinadi (ma'qul usul murabbiy tomonidan tavsiya etiladi).

Sterilizatsiyalash sharoiti. Oziq muhiti 105-110°C haroratda 1 atmosfera bosimda 20 minut davomida sterillanadi. Oziq muhitining pH ko'rsatkichi: sterilizatsiyagacha 7,0-7,2 va sterilizatsiyadan keyin 6,8-7,0 ga teng bo'lishi lozim (zarur bo'lganda pH ko'rsatkichi mo'tadillashtirilishi kerak, kulturaning mo'tadil o'sib rivojlanishi uchun oziqa muhiti pH ko'rsatkichini 7,4 da ushlab turish maqsadga muvofiqdir).



16-rasm. *Bacillus thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi hosil qiladigan spora (s) – kristallari (c) shakllari (N.A. Xo'jamshukurov, 2002 y).

pH ko'rsatkichi (suyuq oziq muhiti uchun). pH ko'rsatkichi fermentatsiya jarayonigacha 6,8-7,0 bo'lishi kerak; fermentatsiya jarayoni oxirida pH ko'rsatkichi ko'tarilib ketadi (8,0). Tabiiyki oziq muhitining ishqoriy holatga o'tishi kristallarni kichik bo'laklarga

bo‘linib ketishiga olib keladi va bu keyingi kristall oqsillarni ajratib olishda qiyinchilik tug‘diradi. Shu boisdan fermentatsiya jarayoni tugagandan so‘ng, biomassani ajratib olishda kultural suyuqlikning pH ko‘rsatkichini 6,2-6,4 darajasigacha keltirib olamiz. Bunda maqsadga muvofiq bo‘lgan barcha kristall oqsillarni sentrifugalash (5000 tez/min. 20 min) orqali ajratib olishga erishiladi. Buning uchun HCl ning kuchsiz eritmalaridan foydalanish mumkin.

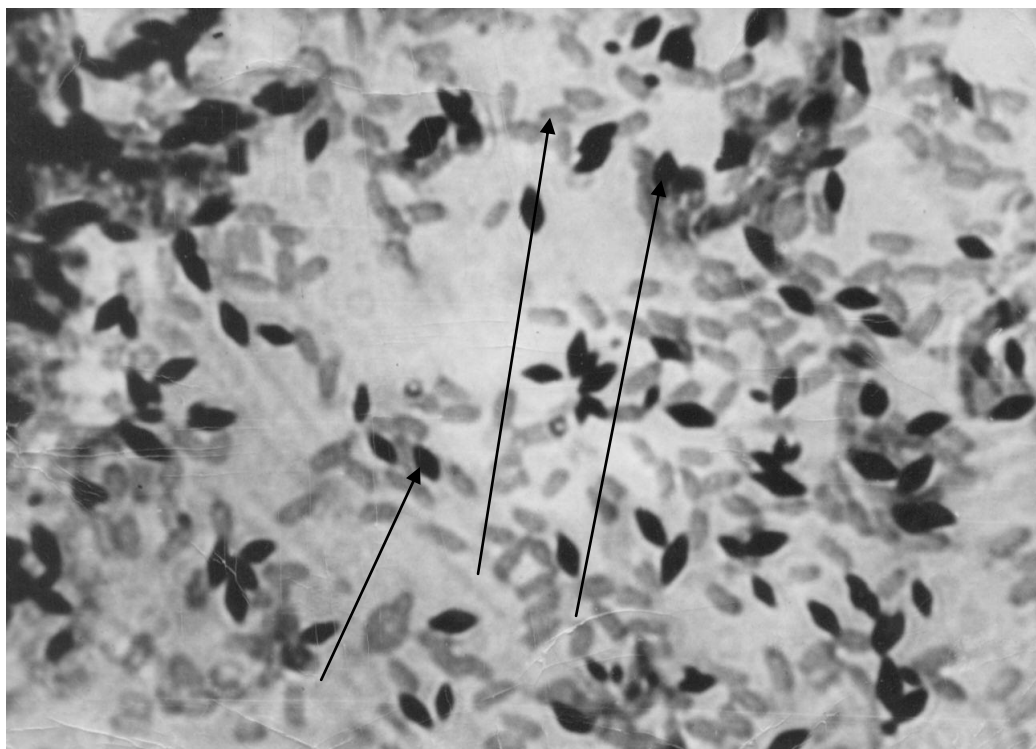
2. O‘stirish usullari va oqsilli moddalarni ajratib olish

Tushintirish: Ma’lumki, oqsillar tirik organizmdagi morfologik va boshqa o‘zgarishlarning asosini belgilaydi va o‘zgargan genotip haqida informatsiya beruvchi biopolimer modda hisoblanadi. Kristall ko‘rinishdagi oqsillarning funksional va aminokislotalari tarkibini o‘rganish ularni toza holda ajratib olish muammosini tug‘diradi. Ushbu bakteriyalarda, kristallarni spora, vegetativ hujayra va ularning fragmentlaridan ajratish uchun asosan quyidagi usullardan foydalaniladi: xloroform – suv, tetrabrom etan – suv, to‘rtxlorli uglevodorod 1% li natriy sulfat, polietilenglikol 6000 – dekstransulfat natriy 500, flotatsiya, CsCl zichligi gradiyentida qavatida sentrifugalash va h.k. Ammo ushbu usullar yordamida *Bac. thuringiensis* kulturalaridan toza kristallar ajratib olish katta qiyinchilik tug‘diradi. Shu boisdan shtammlardan kristallarni ajratib olishda biz Pendlton usulidan ma’lum bir o‘zgartirish kiritgan holda quyidagi tartibda ish olib borish tavsiya etamiz. Pendlton usulida ikki fazali (1% li natriy sulfat–n-ksilol) tozalash usulidan foydalanilgan bo‘lsa, biz birinchi bosqichdagi gomogenizatorida aralashtirish va tindirishdagi 1% li natriy sulfat o‘rniga kulturani o‘stirishda foydalanilgan suyuq oziq muhitidan, oxirgi bosqichda esa suvdan foydalanamiz.

Pendlton usulini bunday modifikatsiya qilish bizga *Bac. thuringiensis* var. *thuringiensis* bakteriyasi shtammlaridan 99% dan ko‘proq toza kristall ajratib olish imkonini beradi.

Shu nuqtayi nazardan tabiiy va mutant shtammalarning umumiy oqsil spektrlarini qiyosiy o‘rganish ular genomidagi molekulyar o‘zgarishlarni farqlashga va keyingi biotexnologik jarayonlarni bajarishga yordam berishi mumkin. Ushbu oqsillarni toza holda ajratib olish qishloq xo‘jaligi, meditsina va fundamental tadqiqotlarda katta ahamiyatga ega.

Talabalar ish davomida ushbu kulturalarning quyidagi rasmlardagidek manzaralarni ko‘rishlari mumkin:

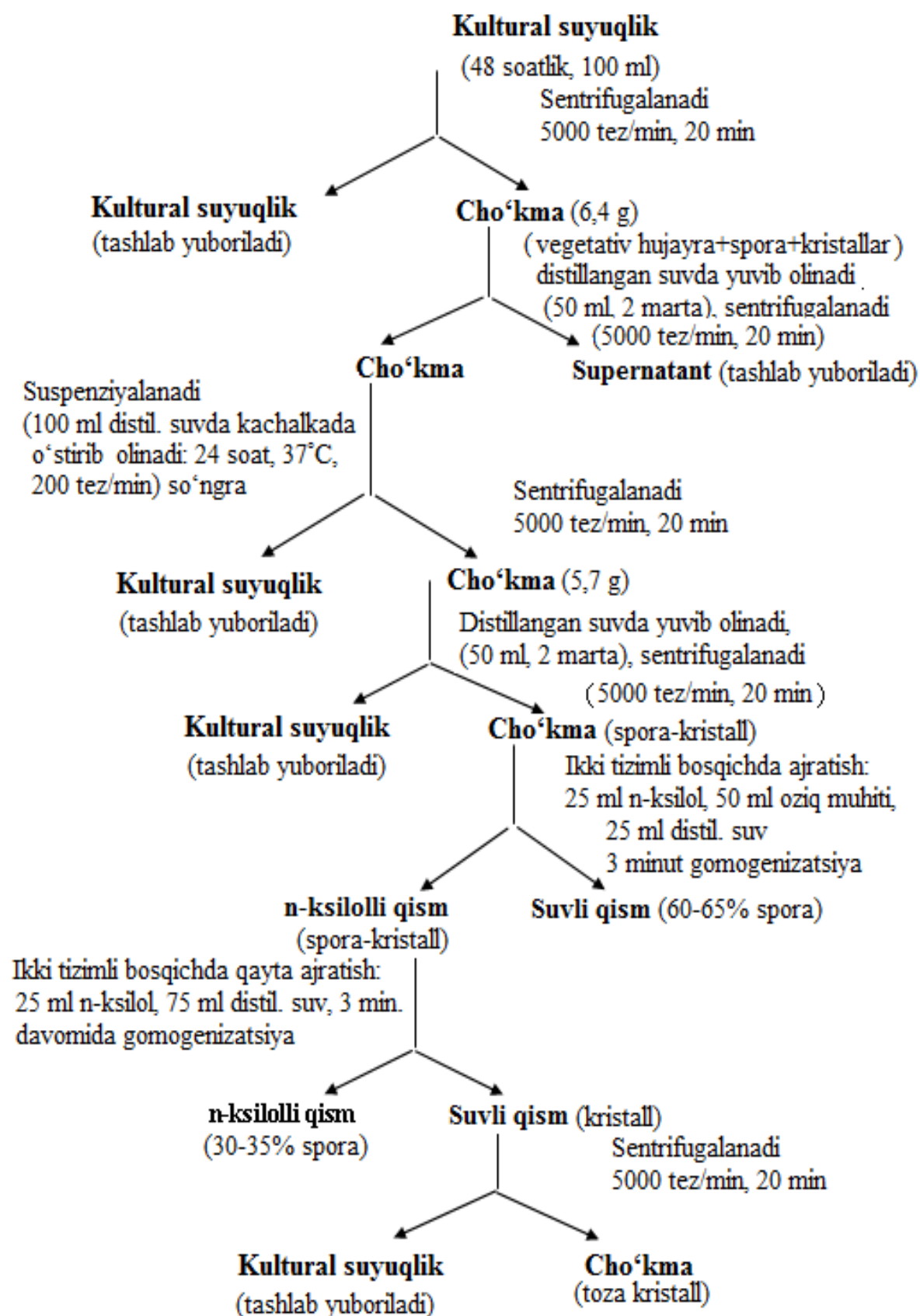


2-rasm. Spora va kristall oqsillarning ko‘rinishi

Asbob-uskunalar va materiallar:

- ✓ 500-700 ml-li kimyoviy stakanlar (8 ta);
- ✓ n-ksilol (200 ml);
- ✓ distillangan suv va bir litrli kolbalar;
- ✓ Petri likobchalari (zarur miqdorda);
- ✓ Suyuq oziq muhitidan biomassani cho‘ktirish uchun epindorf yoki sentrifuga stakanlari (zarur miqdorda);
- ✓ Sentrifuga;
- ✓ Mikroskop va zarur bo‘yoqlar;
- ✓ pH-metr.

5) **Ishning borishi:** talabalarga quyidagi chizma asosida ishlash tavsiya etiladi:



1-chizma. Kultural suyuqlikdan kristall oqsillarni ajratib olish chizmasi

Sinov savollari:

1. Mikroby insektisid biopreparatlardan nima maqsadda foydalaniladi?
2. *Bac. thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi shtammlarini o'stirish uchun qanday oziq muhitlari tavsiya etiladi?
3. Produtsentni o'stirish va saqlashda nimalarga ahamiyat berish kerak?
4. Bakteriyalarni o'stirish va saqlashda qanday oziq muhitlaridan foydalanish mumkin?
5. Kristall ko'rinishdagi oqsillarning funksional va aminokislotalari tarkibini o'rganishda qanday muammolar mavjud?
6. *Bac. thuringiensis* kulturalaridan toza kristallar ajratib olish qanday usulda amalga oshiriladi?
7. Pendlton usuli nima?
8. Oqsillarni toza holda ajratib olish qaysi sohalarda katta ahamiyatga ega?

Foydalanilgan adabiyotlar:

1. Sattarov M.E., Sultanova Sh.A., Safarov J.E. Mikrobiologiya fanidan laborotoriya ishlarini bajarish uchun uslubiy qo‘llanma. – Toshkent. 2015.
2. Лысак В.В. Микробиология. Учебное пособие. – Минск: БГУ, 2007.
3. Jacquelyn G. Black. Microbiology, 8th Edition International Student Version. Wiley. United States of America. 2012.
4. Прунтова О.В., Сахно О.Н. Лабораторный практикум по общей микробиологии. Владимир. 2005.
5. Нетусова А.И. практикум по микробиологии. – Москва: Академия. 2000.
6. Manufacturing Process and Equipment. George Tlusty. Prentice Hall Lewiston NY, U.S.A 1999.
7. Handbook of Food Processing Equipment (Food Engineering Series) 2nd ed. 2016 Edition, George Saravacos, Athanasios, E. Kostaropoulos Springer; 2nd ed. 2016 edition), USA 2015.
8. Xo‘jamshukurov N.A. Sanoat mikrobiologiyasi fanidan ma’ruza matnlari. – T.: TKTI, 2013. – 126 b.
9. Xo‘jamshukurov N.A., Nurmammedova V.Z. Sanoat mikrobiologiyasi fanidan amaliy mashg‘ulotlar uchun uslubiy qo‘llanma. – T.: TKTI, 2013. – 100 b.

Elektron resurslar

1. <http://www.ziyo.net>
2. www.cbio.ru
3. www.biotex.ru
4. www.promega.com
5. www.molbio.ru
6. www.biotech.ru
7. <http://www.microbeworld.org/home.htm>– © 2002 American Society for Microbiology.
8. <http://www.bact.wisc.edu/Bact303mainpage>– © 2003, Dr. Kenneth T. (University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology).

MUNDARIJA

1-laboratoriya ishi. Mikrobiologiya laboratoriyasida ishlash tartibi, laboratoriyaga qo'yiladigan talablar va maxsus laboratoriya jihozlari bilan tanishish.....	3
2-laboratoriya ishi. Mikroskopiya usullari. Yorug'lik mikroskopining tuzilishi.....	10
3-laboratoriya ishi. Mikroorganizmlarni fiksatsiyalangan va bo'yalgan holda tekshirish.....	15
4-laboratoriya ishi. Mikroorganizmlarning o'lchamini aniqlash...	19
5-laboratoriya ishi. Mikroorganizmlar sonini aniqlash.....	23
6-laboratoriya ishi. Mikrob biomassasini aniqlash.....	25
7-laboratoriya ishi. Mikroorganizmlar kulturalari uchun oziq muhitlari tarkibi va ularni tayyorlash usullari.....	33
8-laboratoriya ishi. Sterilizatsiya va pasterizatsiya qilish usullari. Sterillash hamda mikroorganizmlarni parvarish qilish.....	36
9-laboratoriya ishi. Mikroorganizmlarning yig'ma kulturalari va toza kulturalarini olish usullari.....	37
Foydalanilgan adabiyotlar.....	45

Tuzuvchi: Sattarov M.E., Parpiyev Z.T., Amanova G.I.
“Sanoat mikrobiologiyasi” fanidan laboratoriya ishlarini bajarish
uchun uslubiy qo‘llanma

Muharrir: Miryusupova Z.M.