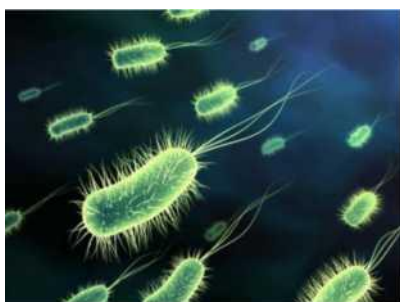


**O'ZBEKISTON OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM  
VAZIRLIGI**

**TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI  
TERMIZ FILIALI**

**MIKROBIOLOGIYA FANIDAN  
LABORATORIYA  
MASHG'ULOTLARI**  
(o'quv qo'llanma)



**TERMIZ – 2019-2020**

Ushbu laboratoriya mashg'ulotlari bo'yicha qo'llanma "Mikrobiologiya" fani bo'yicha o'tiladigan laboratoriya mashg'ulotlarning mavzusi, uni o'tkazish uchun dastur, material va jihozlar, topshiriqlarning qisqacha mazmuni, topshiriqlarni bajarish usuli va tartibi hamda olingan natijalarni muhokama qilish bo'yicha tushuncha berilgan.

Ushbu o'quv qo'llanma

5410300 - O'simliklar ximoyasi va karantini

5420100 - Qishloq xo'jaligida menejment

5411000 - Meva-sabzavotchilik va uzumchilik

5410400 - Qishloq xo'jaligi ekinlari seleksiyasi va urug'chiligi

5410200 - Agronomiya (dehqonchilik mahsulotlari bo'yicha)

5410500 - Qishloq xo'jaligi mahsulotlarini saqlash va dastlabki qayta ishlash texnologiyasi mutaxassisliklari uchun mo'ljallangan.

#### **TUZUVCHI:**

**K.Nizamiddinov**-O'simliklar himoyasi, agrokimyo va agrotuproqshunoslik kafedrasida assistenti

#### **TAQRIZCHILAR:**

**N. Abduraximov**-Tosh DAU Termiz filiali Agrobiologiya fakulteti dekani q.x.f.n

**B.Aliyev** - Meva sabzavotchilik uzumchilik va seleksiya kafedrasida katta o'qituvchisi.

## KIRISH

Mikrobiologiya fani juda kichik o'lchamdagi va oddiy ko'z bilan ko'rish imkoniyati yo'q tirik organizmlar to'g'risidagi fandır. Aslida mikrobiologiya yunoncha so'z bo'lib, micros-kichkina, bios- hayot va logos-fan, ta'limot degan ma'noni bildiradi. Bu fan mikroorganizmlarning tuzilishini, ularning faoliyatini, yashash sharoitini, foydali va zararli tomonlarini o'rganadi.

Hozirgacha to'plangan ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, mikroorganizmlar dunyosi tabiatda keng tarqalgan bo'lib, ular turli tumandir. Mikroorganizmlarni faqat o'lchamlari tufayli bitta guruhga birlashtirilgan deb tushunish noto'g'ri, chunki ular turli sistematik guruhlarga mansub bo'lgan organizmlardir.

Mikroorganizmlar orasida hujayra tuzilishiga ega bo'lmagan virus va mikoplazmalar kabi faqat elektron mikroskopi orqali ko'rish mumkin bo'lganlari hamda tuzilishi jihatidan ancha murakkab bo'lgan zamburu'lar bor.

Mikrobiologiya fanidan laboratoriya mashg'ulotlarini o'tish uchun taqdim etilayotgan o'quv qo'llanma bakalavr talabalarini mikroorganizmlarning tashqi ko'rinishi, belgilari, ularning keltiradigan foyda yoki zarari bilan tanishtirish, laboratoriya mashg'ulotlarini qanday qilib bajarishni tushuntirib beradi. Talabalar laboratoriya mashg'uloti davomida mikroorganizmlarning kulturalari, preparatlar va asboblari bilan ishlashni o'rganadilar.

## MIKROBIOLOGIYA LABORATORIYASI VA UNDA ISHLASH QOIDALARI

**Mashg'ulotni o'tish tartibi:** Mikrobiologik laboratoriyalarni tashkil etish va unda ishlash qoidalari bilan tanishadilar. Mikrobiologik laboratoriyalarning asosiy asboblari va jihozlaridan foydalanish usullarini o'rganadilar.

**Kerakli asboblari:** Mikrobiologiya laboratoriyalarida foydalaniladigan asosiy asbob-uskunalar: avtoklav, termostat, quritish shkafi, laminar boks, mikroskop va boshqa asboblari, idishlar.

Mikrobiologiya laboratoriyasi uchun ajratilgan xona yorug', keng, uning tabiiy yoritilganligi 110 lk dan kam bo'lmasligi kerak. Laboratoriya xonasining tagiga oson yuviladigan linoleum to'shalgan, stollarning sirti plastik materiallar bilan qoplangan bo'lishi kerak. Xona devorlarini yerdan 170 sm balandlikgacha kafel qoplash yoki moy bo'yoq bilan

bo'yash zarur. Mikrobiologiya xonasidagi stollar laboratoriya tipida va u yerda reaktiv hamda idishlarni qo'yish uchun shkaf va peshtaxtalar bo'lishi kerak. Stollar elektr va gaz tarmog'iga ulangan manbaga ega bo'lishi talab etiladi.

Mikrobiologiya laboratoriyasi asosiy xonadan tashqari avtoklav va quritish shkafi qo'yiladigan sterilizasiya xonasiga, boks, idish yuvadigan xona, sovutkich va termostat qo'yiladigan, mikroorganizmlarning kulturalarini saqlaydigan xonalarga va hokazolarga ega bo'lishi kerak. Boks - mikroorganizmlarni ekadigan unchalik katta bo'lmagan xona bo'lib, u ikkiga ajratilgan bo'lishi zarur. Boksdagi asosiy ishlash xonasiga kichik xona, ya'ni tamburdagi suriladigan eshik orqali kiriladi. Bu holat eshik ochilganda tashqaridagi havo orqali mikroorganizmlarni to'g'ridan-to'g'ri kirib kelishini ma'lum darajada oldini oladi. Boks ichida ishchi va bakterisid lampa bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda stolga joylashtiriladigan turli kattalikdagi ichida steril havosi almashib turadigan laminar bokslar ham keng ishlatilmoqda.

Mikrobiologik laboratoriyalarida mikroorganizmlar bilan ish olib boriladi. Qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining agronomiya yo'nalishlarida mikrobiologik tadqiqotlar asosan o'simliklarni o'sishi va rivojlanishi hamda qishloq xo'jalik mahsulotlarini qayta ishlash jarayonida ishtirok etuvchi mikroorganizmlar ustida olib borilsada, ularning orasida insonlarda kasallik qo'zg'atuvchi turlari ham bo'lishi mumkin. Shuning uchun laboratoriyada xodim va talabalar o'zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmasliklari uchun ichki tartib qoidalariga qat'iy rioya qilishlari zarur. Ular quyidagilardir:

**1.** Barcha xodim va talabalar oq xalatda ishlashlari kerak. Laboratoriyaga xalatsiz kirish mutlaqo mumkin emas. Zarur hollarda xodim va talabalar yuzlariga dokadan tayyorlangan niqoblarni taqishlari kerak.

**2.** Laboratoriyada chekish va ovqatlanish man etiladi.

**3.** Ish joyi toza va namunali saqlanishi lozim. Xodim va talabalarning shaxsiy kiyimlari maxsus ajratilgan joylarda saqlanishi kerak.

**4.** Mikroorganizmlarni sof kulturalarini saqlash, kuzatish va ularni o'ldirish maxsus qo'llanmaga ko'ra olib borilishi lozim.

**5.** Ishni tamomlagach, qo'lni yaxshilab yuvish va kerak bo'lsa dezinfeksiya qiluvchi eritmadan foydalanish lozim



*Yorug'lik mikroskopi*



*Avtoklav*



*Quritish shkafi*



*Termostat*



*Sentrifuga*



*Suv hammomi*



*Laboratoriva shisha idishlar*

Mikrobiologik laboratoriyalar tuman yoki viloyatlardagi o'simliklarni himoya qilish bo'limlarida, o'simliklarni himoya qilish va qishloq xo'jalik ekinlarining nav smash stansiyalarida, qishloq xo'jalik mahsulotlarini qayta ishlaydigan korxonalar qoshida, pivo va vino hamda sut mahsulotlari ishlab chiqariladigan zavodlarda tashkil etiladi. Bu laboratoriyalarda o'simlik, tuproq va ekinlarning urug'laridan olingan namunalar hamda qishloq xo'jalik xom ashyolarini qayta ishlab chiqarish jarayonini boshqarish davomida olingan namunalar mikrobiologik usullar bilan tekshiriladi.

Bundan tashqari, suv, havo, oziq-ovqat mahsulotlari va turli buyumlar ham mikrobiologik tekshiruvdan o'tkaziladi. Mikrobiologik laboratoriyada mikroorganizmlarni sof holda ajratib olish uchun boks yoki laminar bo'lishi shart.

Mikrobiologiya laboratoriyasi quyidagi asboblardan ta'minlangan bo'lishi kerak: biologik va lyuminessentli mikroskop, termostat, sterillash uchun asboblardan (avtoklav, quritish shkafi, Kox apparati), pH-metrlar, distillangan suv tayyorlaydigan asbob (distillyator), sentrifugal, texnik hamda analitik tarozilar, filtrlaydigan asbob (Zeyts filtri va boshqalar), suv hammomi, sovutkichlar, paxta-dokali probkalar tayyorlaydigan apparat asboblardan to'plami (bakteriologik sirtmoq, shpatellar, ignalar, pinset va boshqalar), laboratoriya idishi (probirkalar, kolbalar, Petri likobchalari, flakonlar, ampulalar, belgili va belgisiz pipetkalar).

Laboratoriyada mikroskopik preparatlarni bo'yash uchun alohida joy ajratilgan bo'ladi. Bu yerda bo'yoqlar eritmasi, spirt, kislotalar, filtr qog'oz va boshqalar mavjud bo'lishi kerak. Har bir ish joyi gaz yoki spirtli lampa va dezinfeksiya eritmasi solingan shisha idishlar bilan ta'minlangan bo'lishi shart. Kundalik ishlatish uchun laboratoriyada yetarli miqdorda oziqa muhitlari, kimyoviy reaktivlar va boshqa kerakli narsalar bo'lishi zarur. Yirik laboratoriyada mikroorganizmlarni ko'p miqdorda o'stirish uchun termostat xonasi bo'lishi maqsadga muvofiq.

#### **Mikrobiologik laboratoriyalarda qo'llaniladigan asboblardan:**

**Termostat.** Bu jihozda issiqlik bir xil darajada saqlanib turiladi. Ko'p mikroorganizmlarning ko'payishi uchun qulay harorat 25-27°S hisoblanadi. Termostatlar quruq, havoli va suvli bo'ladi. Bulardan mikroorganizmlarni o'stirish uchun foydalaniladi.

**Quritish shkafi (Paster pechi).** Shisha, chinni va metaldan yasalgan laboratoriya idishlari hamda boshqa materiallarni sterillash uchun mo'ljallangan.

**Avtoklav.** Bu jihoz bug' va bosim bilan sterillashga mo'ljallangan. Mikrobiologik laboratoriyalarda avtoklavlarning turli xillari (gorizontal,

vertikal shakldagi, ko'chirib bo'lmaydigan va ko'chirish mumkin bo'lgan turlari) ishlatiladi.

**Sovutkichlar.** Mikroorganizmlarni, oziqa muhitlarni, zardob va boshqa biologik jihatdan faol preparatlarni 4°S atrofida saqlash uchun foydalaniladi. Biopreparatlarni 0°S dan past haroratda saqlash uchun past haroratli sovutkichlardan foydalaniladi. Bularda harorat -20°S va undan ham past bo'lishi mumkin.

**Sentrifugalalar.** Bular mikroorganizmlar hujayralarini cho'ktirish, bir xil bo'lmagan suyuqliklarni ajratish uchun ishlatiladi. Laboratoriyada turli tezlikda aylanadigan sentrifugalardan foydalaniladi.

***Mikroorganizmlarning koloniyalarini hisoblovchi asbob.***

Yarim avtomat hisoblovchi asbob prujina moslama bilan ignaga ulangan. Igna Petri likobchasidagi koloniya ustiga bir oz tegiziladi va likobcha yuzasida iz qoladi. Bundan qo'l bilan ushlanadigan qismi yuqoriga ko'tariladi, natijada zanjir berkiladi, asbob hisoblay boshlaydi.

## **MIKROSKOP VA UNING TUZILISHI**

**Mashg'ulotni o'tish tartibi:** Biologik mikroskopning tuzilishi va ular bilan ishlash qonun qoidalarini o'rganadilar. Mikroskopni yig'ilgan holda hamda uning alohida qismlari bilan tanishadilar. Talabalar mikrobiologik tadqiqotlar olib borishda mikroskopda ishlash texnikasini o'rganadi.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** Mikroskop, turli ob'ektiv va okulyarlar, mikroorganizmlarning bo'yalgan mazoklari, immersion moy, doka salfetkalari, mikroorganizmlarning tasviri ko'rsatilgan jadvallar.

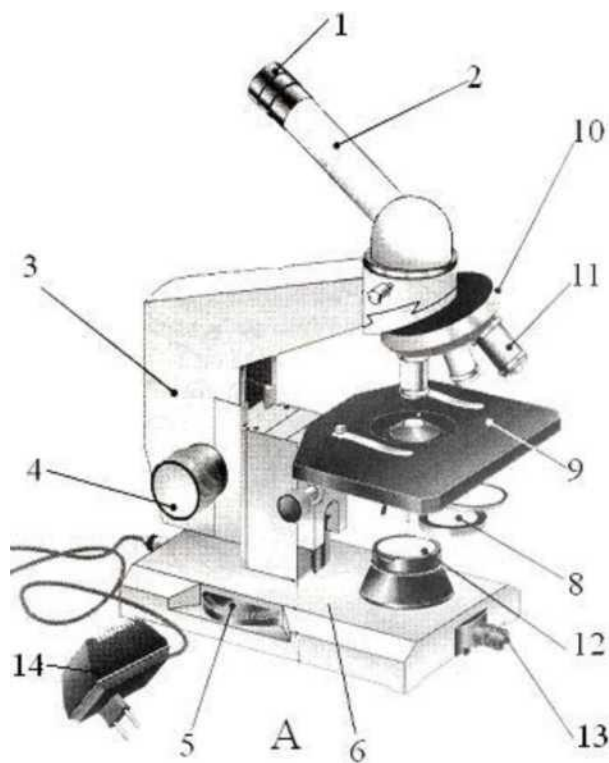
Mikroorganizmlarni kuzatish va tekshirish uchun mikroskoplarning bir necha turi (biologik, lyuminessent, elektron) dan foydalaniladi.

**Biologik mikroskop.** Mikrobiologik amaliyotda qo'llaniladigan yorug'lik mikroskoplari mikroorganizmlarning shakli, tuzilishi, o'lchami va boshqa belgilarini aniqlash va kattaligi 0,2-0,3 mkm dan kichik bo'lmagan mikroorganizmlarni ko'rish uchun mo'ljallangan. Immersion ob'ektivlar yordamida mikroskopda 0,2 mkm dan kichik bo'lgan ob'ektlarni ko'rish mumkin.

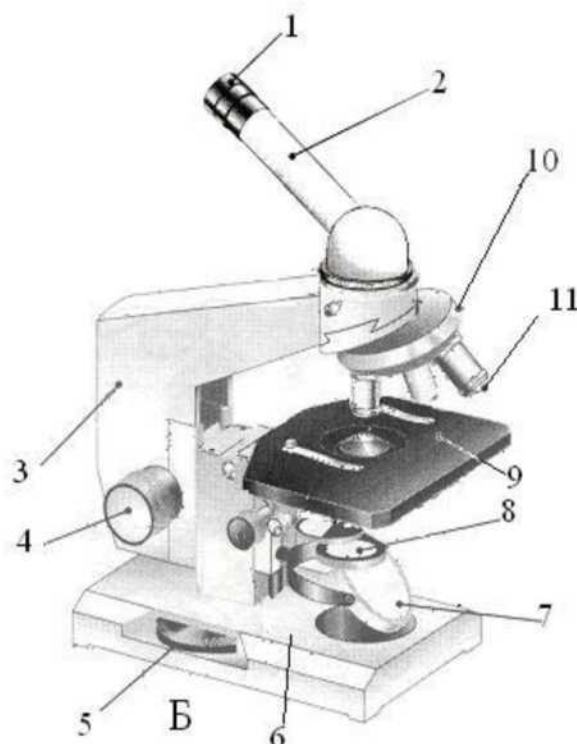
Biologik mikroskop ikkita asosiy qismdan iborat: mexanik va optik.

*Mexanik* qismlariga - shtativ, tubus, revolver, mikrovint, makrovint, buyum stolchasi kiradi.

*Optik* qismiga - okulyar, ob'ektiv, yoritgich yoki kondensor, ko'zgu kiradi.



**MIKMED-1**



**BIOLAM**

1-okulyar, 2-tubus, 3-tubus tutqichi, 4-makrovint, 5-mikrovint, 6-taglik, 7-ko'zgu, 8-kondensor, iris diafragmasi va svetofiltr, 9-buyum stolchasi, 10- revolver uskunasini, 11-ob'ektiv, 12-kollektor linza korpusi, 13-lampa, 14- elektr toki manbai.

**Mexanik qismi:** *Shtativ* - mikroskopning asosiy qismi bo'lib, bunga *makrovint* va *mikrovint*, *tubus*, tubusning pastki qismiga o'rnatilgan *revolver* va boshqalardan iborat bo'ladi. Tubus vintlar yordamida harakatlanadi, makrovint - fokusni taxminan, mikrovint - fokusni aniq to'g'rilash uchun ishlatiladi. Makrovint bir marta to'la aylantirilganda truba 0,1 mm suriladi. Mikrovint esa juda ehtiyotlik bilan aylantirilishi kerak, chunki uning juda nozik kertigi bor. *Buyum*

*stolchasi* - unga preparat qo'yiladi. Buyum stolchasi harakatlanadigan yoki harakatlanmaydigan bo'lishi mumkin. Harakatlanuvchi stolcha preparatni turli tomonga surish uchun kerak, stolchaning yon tomonida ikkita vint buraladi. Preparatlarni qo'l bilan surilgandan ko'ra, vint bilan aniq surish mumkin.

**Optik qismi:** *Okulyar* - ikkita linzadan tuzilgan bo'lib, birinchisi yig'uvchi linza ob'ektivga qaragan, ikkinchisi esa asosiy linza bo'lib, ko'zga qaragan bo'ladi. Okulyarning necha marta katta qilib ko'rsatishi gardishida yozib qo'yilgan bo'ladi (7x, 10x, 15x). Bakteriyalar tekshirganda ko'pincha 15x belgisi qo'yilgan okulyardan foydalaniladi.

**Ob'ektivlar:** Ob'ektivning gardishida yozilgan 8, 40, 90, 120 raqamlari shu ob'ektivni necha marta katta qilib ko'rsatishini bildiradi. 8- ob'ektiv kamroq



katta qilib ko'rsatsa, 40- ob'ektiv o'rtacha, 90 va 120 immersion ob'ektiv juda katta qilib ko'rsatadi. Immersion ob'ektiv deyilishining sababi, bu ob'ektivdan foydalanilganda preparatga bir tomchi kedr moyi (immersion moy) tomiziladi va ob'ektiv linzasi shu moy tomchisiga botiriladi. Ob'ektiv immersion moyga botib turganligidan unga yorug'lik nurlari ko'proq tushadi. Buning sababi shuki, kondensordan buyum oynasiga keluvchi yorug'lik nurlari shu oynada sinadi. Oynada kedr moyi bo'lmasa, ob'ektiv shu joyga botib turadi, moyning nur sindirish koeffisienti buyum oynasining yorug'lik nur sindirish koeffisienti bilan bir-biriga yaqin bo'lgani uchun yorug'lik nurlari bir jinsli muhitdan o'tib ketadi va sinmaydi, buyum oynasidan kedr moyi orqali to'g'ridan-to'g'ri ob'ektiv linzasiga boradi. Natijada tekshirilayotgan mikroorganizmlar aniq ko'rinadi. Demak, yorug'lik nurlari faqat bir marta sinadi. Buyum oynasi bilan linza orasida moy o'rniga havo bo'lsa (havo nurni moyga qaraganda kamroq sindiradi), havoda yorug'lik nurlari ikkinchi marta sinadi, shunga ko'ra ob'ektiv linzasiga kamroq nur boradi. Buyum oynasining yorug'lik sindirish koeffisientiga qaraganda ( $n=1,32$ ) havoning yorug'lik sindirish koeffisienti ( $n=1,0$ ) kamroq bo'ladi.

Ob'ektivlar ikki xil sistemada - quruq va immersion bo'ladi. Quruq sistemaga 8 va 40 ob'ektivlar kiradi, ular bilan ishlaganda immersion moy ishlatilmaydi. 8-ob'ektivdan foydalanilganda kondensator pastga tushiriladi, 40-ob'ektivda esa kondensator biroz ko'tariladi. Quruq ob'ektivda tirik mikroob ko'rilsa, immersion ob'ektivda o'lik yoki bo'yalgan mikroblar ko'riladi.

Mikroorganizmlarni necha marta kattalashtirilganini bilish uchun ob'ektiv va okulyarning ko'rsatkichlari bir-biriga ko'paytiriladi. Masalan, ob'ektiv 90x bo'lib, okulyar 15x ga teng bo'lsa, ularning ko'paytmasi 1350 ga teng, ya'ni mikroblar mikroskopda 1350 marta katta qilib ko'rsatilgan bo'ladi.

Ko'zgu ikki xil bo'ladi - botiq va yassi. Yoritgich bilan ishlaganda asosan yassi ko'zgudan foydalaniladi, chunki bu ko'zgu yorug'lik nurlarini parallel tutam qilib beradi. Yorug'lik kam bo'lgandagina botiq ko'zgudan foydalaniladi.

***Yoritgich yoki Abbe kondensori.*** Bunga mikroskop stolchasining ostidagi iris diafragma biriktirilgan bo'ladi. Kondensator linzalarninmurakkab sistemasidan iborat bo'lib, mikroskopning ko'ruv maydonini bir tekis yaxshi yoritish uchun kerak. Ko'zgudan yoritgichga tushadigan nurlar tutami shu yerda yig'iladi, yoritgichdan yanada ravshanroq parallel nurlar tutami chiqib, ob'ektiv linzasiga tushadi. Shu sababli ko'zgudan va yoritgichdan foydalanganda mikroskopning ko'ruv maydoni ko'zguning yolg'iz o'zidan foydalanishga qaraganda yaxshiroq yoritiladi.

Ob'ektlarni kamroq va o'rtacha katta qilib ko'rsatadigan ob'ektivlardan

foydalanganda yoritgichni tushirib qo'yish kerak, chunki bunday ob'ektivlarning linzalari kattaroq bo'ladi, yoritgich tushirib qo'yilganda ham ularga yetarli yorug'lik tushaveradi, yorug'lik haddan tashqari ravshan bo'lsa, mikroblarni ko'rish qiyinlashadi. Immersion ob'ektivdan foydalanilganda yoritgich buyum stolning tomoniga tegiziladi, chunki immersion ob'ektiv linzasi juda kichik bo'ladi, yoritgich shu linzaga qancha yaqin bo'lsa, unga shuncha ko'proq nur tushadi. Tushadigan yorug'lik nurlarini iris diafragma yordami bilan ham o'zgartirish mumkin. Immersion ob'ektiv bilan ishlaganda diafragmani butunlay ochib qo'yish kerak.

**Biologik mikroskopga qo'shimcha moslamalar.** Bu moslamalar mikroskopning butun imkoniyatidan to'liq foydalanish imkonini beradi, ishlash sharoitini yengillashtiradi va ularni qo'llash doirasini birmuncha kengaytiradi. Mikrobiologik laboratoriyalarda asosan quyidagi moslamalardan foydalaniladi:

1. Qorong'ilashtiruvchi kardiod va paraboloid - kondensorlar;
2. Fazo-kontrast moslamalar;
3. Ko'rinishni tabiiy sharoitga yaqinlashtiruvchi juft okulyarli nasadka;
4. Qulay va turg'un yorug'likni ta'minlovchi yoritgichlar;
5. Mikroskopik ob'ektlarni o'lchash uchun mo'ljallangan okulyar - mikrometr va ob'ekt-mikrometrlar;
6. Preparatlarni rasmini chizuvchi, rasm oladigan asbob. Bu asbob yordamida bir vaqtning o'zida ob'ekt va stoldagi mikroskopga yaqin turgan qog'oz tasvirini ko'rish va qog'ozga konturlarini chizish mumkin;
7. Yorug'lik manbai bilan mikroskop oralig'iga o'rnatiluvchi va mikrofotografiyalarda, mikroskopiyaning maxsus usullarida qo'llanuvchi rangli, neytral, optik yorug'lik filtrlari;
8. Mikroskopik ob'ektlarning rasmini olish uchun ishlatiluvchi mikromoslamalar;
9. Qisqa (seytrofer) mikrokinoga olish uchun foydalaniladigan juda kichkina moslama, u fazo-kontrast mikroskopiya bilan birgalikda mikroorganizmlarning rivojlanishi, ko'payishi, dinamikasini, ularga turli omillarning ta'siri va boshqa ko'p masalalarni o'rganish uchun ishlatiladi.

**Qorong'i ko'ruv maydonidagi mikroskopiya.** Qorong'i ko'ruv maydonida mikroskop ostida ko'rish, suyuqlikdagi juda mayda zarrachalar aralashmasini yon tomondan kuchli yoritilishi natijasida hosil bo'ladigan yorug'lik difraksiyasiga asoslangan. Bunga biologik mikroskopdagi oddiy kondensorni paraboloid yoki kardiod - kondensor bilan almashtirish natijasida erishiladi.

**Fazo-kontrast mikroskopiya.** Shaffof ob'ektlardan yorug'lik to'liqini o'tayotganda fazo o'zgarishlarining amplituda o'zgarishlariga aylanishiga asoslangan, buni ko'z bilan sezsa bo'ladi.

Fazo-kontrast moslama yordamida ob'ektdan o'tuvchi yorug'lik to'liqlarning fazoviy o'zgarishlarini amplitudali va shaffof ob'ektlarga aylanib mikroskop ostida ko'rinadigan bo'ladi. Bunda ular yuqori kontrastli tasvirlarga ega bo'lib, pozitiv yoki negativ bo'lishi mumkin. Pozitiv fazo-kontrast deb, yorug' ko'rish maydonida ob'ektning qora, negativ fazo-kontrast deb, qorong'ilikda ob'ektning yorug' tasviriga aytiladi. Fazo-kontrast mikroskopda ko'rish uchun oddiy mikroskop va unga qo'shimcha moslamadan foydalaniladi.

**Lyuminessent yoki flyuoressent mikroskopda ko'rish.** Lyuminessensiya - moddalarga qandaydir energiya manbai ta'sir qilganda ularda yorug'lik tarqaladi. Bularga yorug'lik, elektron nurlari, ionlashtiruvchilar kiradi. Fotolyuminessenssiyada ob'ektning ta'sirida lyuminessensiya qilinshidir. Lyuminessensiya qisqa to'liqli nurlar yordamida hosil bo'ladi. Agar lyuminessensiya qilinadigan ob'ektga ko'k yorug'lik yuborilsa, u qizil, to'q sariq, sariq yoki yashil ranglarni tarqatadi. Natijada ob'ekt rangli ko'rinadi.

Birlamchi lyuminessensiya ob'ekt oldindan bo'yalmasa ham kuzatiladi. Ikkilamchi lyuminessensiya esa, preparatni maxsus lyuminessent bo'yoqlar - flyuoraxmalar bilan bo'yalganda hosil bo'ladi. Lyuminessent mikroskopiya boshqa usullarga nisbatan bir muncha afzalliklarga ega: tirik mikroorganizmlarni tekshirish va tekshirilayotgan materiallarda juda kam miqdorda bo'lsa ham ularni topish.

Laboratoriya amaliyotida ko'pchilik mikroorganizmlarni aniqlash va o'rganish uchun lyuminessent mikroskoplardan keng foydalaniladi.

**Elektron mikroskopda ko'rish.** Elektron mikroskop yordamida yorug'lik mikroskopi bilan ko'rib bo'lmaydigan (0,2 mkm) kichik ob'ektlar ko'riladi. Elektron mikroskop viruslar, mikoplazmalar, turli mikroorganizmlarning nozik tuzilishi, makromolekulyar birikmalari va boshqa submikroskopik ob'ektlarni o'rganish uchun qo'llaniladi. Bunday mikroskoplarda yorug'lik nurlarini elektron oqimlari egallaydi. Ushbu elektron oqimlarining to'liq uzunligi 0,005 nm bo'lib, deyarli ko'rinadigan yorug'lik to'liqlarining uzunligidan 100 000 marta kalta. Elektron mikroskopining eng kuchli ko'rsata olish imkoniyati amalda 0,1 - 0,2 nm bo'lib, umuman 1000000 martagacha katta qilib ko'rsatadi.

"Nur tarqatuvchi" elektron asboblari bilan bir qatorda skanirlaydigan elektron mikroskoplardan ham foydalaniladi. Ular ob'ekt relifini yaxshi

ko'rsatadi. Ammo bu mikroskopning katta qilib ko'rsatish imkoniyati "nur tarqatuvchi" elektron mikroskopnikidan kam.

**Mikroskopni ishlash uchun tayyorlash:** Mikroskopni quyosh nuri to'gridan-to'g'ri tushadigan joydan uzoqda joylashtirish zarur. Buyum stolini qora rangda bo'yalishi ko'zni kamroq toliqishiga sababchi bo'ladi.

Mikroskopga o'ng ko'zni yummaganda chap ko'z bilan qarash tavsiya etiladi. Binokulyar bilan ishlash vaqtida okulyarni ikkisinining ham ko'rish maydonini bir tekislikka keltirib, har ikki ko'z uchun bir xil ko'rinishni hosil qilishi kerak.

Mikroskopni bir joydan ikkinchi joyga ikkita qo'l yordamida ko'chiriladi, bunda biri bilan shtativ ushlab turilsa, ikkinchisi bilan uning asosi ushlanadi. Mikroskopni boshqa buyumlar bilan urilishidan, turli moddalarni ta'siridan (kislota va ishqorlardan) saqlash kerak. Okulyarni trubkadan chiqarib qo'yish mumkin emas, chunki bu holat ob'ektiv va trubkani chang bosishiga sababchi bo'ladi.

**Immersion ob'ektiv bilan ishlash.** Mikroskopning immersion ob'ektivi ( $V=90x$ ;  $A=1,25$ ) bilan ishlash vaqtida ko'zguni yassi tomoni qaratiladi va kondensator ko'tariladi.

Immersion suyuqlik (kedr moyi) preparat ustiga tomizilganda, uni buyum oynasiga surtib yuborilmaydi. Immersion suyuqlikka faqat immersion ob'ektivni botirish mumkin. Immersion suyuqlikka frontal linzani botishini yon tomonidan kuzatiladi.

Makrovint fokusga to'g'rilab olingandan so'ng, ish jarayonida asosan faqat mikrovint bilan ishlanadi.

Immersion suyuqlik (kedr moyi) maxsus og'zi germetik berkitilgan shisha flakonlarda saqlanishi kerak. Shisha flakon qopqog'ida uning tagigacha yetadigan shisha tayoqchasi bo'lishi kerak. Bu tayoqcha yordamida immersion moy preparat ustiga tomiziladi. Ish tugagandan so'ng ob'ektiv ksilol yoki tozalangan benzin bilan yaxshilab artiladi.



*Yorug'lik mikroskopi*  
**Leica - DM3000**



Lyuminessent mikroskop  
**Mikromed 3 LYuM**



*Yorug'lik mikroskopi uchun okulyar va ob'ektivlar*



*Elektron mikroskop - Hitachi H-7650*

**Yorug'likni to'g'rilab olish.** Mikroskop bilan ishlashda kunduzgi tabiiy yorug'likdan ko'ra, lampochkalar yordamida hosil qilingan sun'iy yorug'lik bilan ishlash qulay. Ayniqsa katta ob'ektiv (90x) bilan ishlashda bu holat juda muhimdir. Preparatni Keler bo'yicha yoritish yoritgichlar yordamida amalga oshiriladi.

1. Yoritgich (past voltli lampochka) mikroskopdan 25-30 sm uzoqlikda krestovinaga o'rnatilgan holda qo'yiladi. Yoritgichning dala diafragmasi ochiq holatda bo'ladi. Mikroskopning 8x kattalikdagi ob'ektivi, ko'zguning yassi tomoni ishlatiladi va kondensor ko'tariladi.

2. Preparatni ko'rish uchun fokusini olishda yoritgich va kondensorning diafragmalari ochiq bo'lishi kerak.

3. Yoritgichni dala diafragmasi berkitiladi. Mikroskop ko'zguniga bir varaq oq qog'oz yaqinlashtiriladi va qog'ozga (ko'zguda) yoritgichning spiralini yorqin aksi izlanadi.

4. Mikroskopga qaraladi. Sekin-asta ko'zgu yordamida yorug'lik topiladi. Preparatga focus to'g'rilanadi. Preparat aniq ko'rinishga ega bo'lguncha kondensor pastga tushiriladi. Diafragma ko'zgu yordamida yorug'lik to'g'rilanadi.

5. Mikroskop orqali kuzatishi davomida yoritgichning dala

diafragmasi mikroskopning kuzatiladigan maydonchasini to'liq va kengroq yoritilguncha kattaroq qilib ochiladi.

Yoritgichni, ko'zguni, mikroskop kondensorning shu holatini keyinchalik ham o'zgartirmaslik kerak. Keler bo'yicha yorug'likni o'rnatish yorug'lik, fazo kontrast va qorong'u maydonchalik mikroskoplarida amalga oshirish mumkin.

### **Ob'ektlarni yorug'lik mikroskoplari yordamida o'lchash.**

Mikrobiologiya amaliyotida ko'p hollarda mikroorganizmlarning hujayralarini o'lchashga to'g'ri keladi. Buni doimiy preparatlar yordamida amalga oshiriladi. Ob'ektlarni okulyar mikrometr-okulyar lineyklar orqali o'lchanadi. Bu mikrometr yumaloq, shishadan, yassi tuzilishiga ega bo'lib, uning markazida 5 mm dagi shkala 50 yoki 100 ga bo'lingan. Okulyarni linzasi burab olinib, unga okulyar mikrometr (shkalani bo'lingan tomonini tepaga qilib) qo'yiladi. Okulyar mikrometr shkalasining bir bo'lagining haqiqiy o'lchami ob'ektiv mikrometr orqali aniqlanadi. Ob'ektiv mikrometr shisha yoki temirdan yasalgan bo'lib, uning o'lchami buyum oynasidek va markazidagi yumaloq shishadagi lineyka 100 ta bo'lakka bo'lingan. Bu shkalaning uzunligi 1 mm ga teng, ya'ni bir bo'lakning o'lchami 10 mkm (0,01 mm). Ob'ektiv mikrometr mikroskopning buyum stolchasida preparat

qo'yiladigan yerga joylashtiriladi va kichik ob'ektiv yordamida mikrometrdagi lineykasi topilib uning fokusi to'g'rilanadi. So'ngra lineyka ko'rish maydonchasining markaziga keltiriladi va shundan keyin o'lchash uchun zarur bo'lgan ob'ektivga almashtiriladi. Buyum stolini harakatlantirib va okulyarni aylantirgan holda ob'ektiv va okulyar mikrometrlarning lineyklaridagi chiziqchalarni parallel qilib, bir-birini ustiga tushiriladi. Ob'ektiv va okulyar mikrometrlardagi parallel chiziqchalarning bir-biri bilan tutashgan chiziqchalari aniqlanadi va keyingi tutash chiziqchalar topiladi. So'ngra okulyar mikrometrning bir bo'lak chizig'i ob'ektiv mikrometrning nechta bo'lak chizig'i to'g'ri kelishi aniqlanadi. Masalan, ob'ektiv mikrometrning ikkita bo'lagi (20 mkm), okulyar mikrometrning beshta bo'lagiga to'g'ri kelsa, okulyar mikrometrning bitta bo'lagi 4 mkm (20:5) bo'ladi.

Preparatdagi ob'ektni o'lchami uning hujayrasi okulyar mikrometrni bo'lagiga to'g'ri kelishini aniqlab va bu sonni okulyar mikrometrning bir bo'lagini o'lchamiga ko'paytirib topiladi.

### **Mikroskopda ishlashning asosiy qoidalari.**

Mikroorganizmlardan tayyorlangan preparatni mikroskopda tekshirish uchun quyidagi ishlar bajariladi:

1. Mikroskopni ish joyiga qulay qilib o'rnatib, yorug'lik to'g'rilanadi.
2. Mikroskopning buyum stolchasiga tayyor bo'yalgan mazokni qo'yib, tutqichlar bilan mahkamlanadi.
3. Tekshirilayotgan materialni yaqqol va yaxshi ko'rinadigan joyini topib, preparatni ob'ektivlarda (8, 40) ko'riladi.
4. Mikroskopning tubusi ko'tariladi va revolver yordamida immersion ob'ektiv (90, 120) o'rnatiladi.
5. Preparat ustiga tayoqchada bir tomchi immersion moyi tomiziladi, moyga immersion ob'ektiv tushiriladi. Mikroskopning ko'ruv maydonida ob'ekt (tekshiriladigan material) ko'rinadi. Bundan keyin mikrovint bilan fokus aniq to'g'rilanadi, natijada ravshan, aniq tasvir vujudga keladi. Ob'ektivni makrovintini juda sekin va avaylab tushirish kerak, aks holda ob'ektiv linzasi buyum stolchasiga taqalib, buzilib qoladi.
6. Immersion ob'ektiv ishlatilgandan so'ng uni artish uchun benzingga ho'llangan paxta lattadan foydalaniladi.

