



UDK: 159.9(575.1)

Madina RAXMATOVA,

Guliston davlat universiteti tayanch doktoranti

E-mail: m_raxmatova@internet.ru

Habibjon QO'SHIYEV,

Guliston davlat universiteti Agrobiotexnologiyalar va biokimyo ilmiy tadqiqot instituti direktori, b.f.d., professor

Tohir HUSANOV,

O'zR FA Mikrobiologiya instituti dotsenti, katta ilmiy xodim, PhD

Maftuna NORMATOVA,

O'zbekiston Milliy universiteti magistranti

Gulsanam ABDUSALOMOVA,

O'zbekiston Milliy universiteti magistranti

PhD, dots. X.Karimov taqrizi asosida

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF NITROGEN-FIXING AND PHOSPHATE-MOBILIZING BACTERIAL STRAINS AND ISOLATES

Annotation

In this study, the morphological characteristics of seven strains and three isolates belonging to the genera *Bacillus*, *Priestia*, and *Pseudomonas* were examined using Gram staining and microscopic analyses. The results showed that among the seven strains, four (*P. endophytica* N19, *B. paralicheniformis* M11, *B. licheniformis* X30, *P. endophytica* I16) and two of the three isolates (A8, X22) were Gram-positive, while the remaining ones exhibited Gram-negative characteristics. Based on cell shape, six strains were rod-shaped, one (*P. fulva* Q11) was oval-rod shaped, and among the isolates, two were oval-rod shaped (A8, X22), while one (N4) was slender rod-shaped. Regarding spore formation, sporulation was observed in three strains (*P. endophytica* N19 – subterminal, N6 – terminal, I16 – subterminal) and in one isolate (X22 – subterminal). These findings indicate that the morphological differences among the bacteria serve as important diagnostic criteria in determining their ecological stability, viability, and potential for biotechnological applications.

Keywords: *Bacillus*, *Priestia*, *Pseudomonas*, Gram staining, morphological characteristics, spore formation, cell shape.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШТАММОВ И ИЗОЛЯТОВ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Аннотация

В данном исследовании были изучены морфологические характеристики семи штаммов и трёх изолятов, относящихся к родам *Bacillus*, *Priestia* и *Pseudomonas*, с использованием метода окраски по Граму и микроскопического анализа. Результаты показали, что среди семи штаммов четыре (*P. endophytica* N19, *B. paralicheniformis* M11, *B. licheniformis* X30, *P. endophytica* I16) и два из трёх изолятов (A8, X22) являются грамположительными, тогда как остальные обладают грамотрицательными свойствами. По форме клеток шесть штаммов были палочковидными, один (*P. fulva* Q11) — овально-палочковидным; среди изолятов два имели овально-палочковидную форму (A8, X22), а один (N4) — тонкопалочковидную. По признаку спорообразования у трёх штаммов (*P. endophytica* N19 – субтерминальное, N6 – терминальное, I16 – субтерминальное) и у одного изолята (X22 – субтерминальное) наблюдалось образование спор. Полученные данные показывают, что морфологические различия бактерий являются важным диагностическим критерием при определении их экологической устойчивости, жизнеспособности и биотехнологического потенциала.

Ключевые слова: *Bacillus*, *Priestia*, *Pseudomonas*, окраска по Граму, морфологические характеристики, спорообразование, форма клеток.

AZOT FIKSATSIIYA VA FOSFAT MOBILIZATSIIYA QILUVCHI BAKTERIYA SHTAMM VA IZOLYATLARINING MORFOLOGIK XUSUSIYATLARI

Annotatsiya

Ushbu tadqiqotda *Bacillus*, *Priestia* va *Pseudomonas* turkumlariga mansub 7 ta shtamm va 3 ta izolyatning morfoloqik xususiyatlari Gram usuli bo'yash va mikroskopik tahlillar yordamida o'rganildi. Natijalar shuni ko'rsatdiki, 7 ta shtammidan 4 tasi (*P. endophytica* N19, *B. paralicheniformis* M11, *B. licheniformis* X30, *P. endophytica* I16) hamda 3 ta izolyatdan 2 tasi (A8, X22) gramm-musbat bo'lib, qolganlari gramm-manfiy xususiyatga ega ekanligi aniqlandi. Hujayra shakli bo'yicha 6 ta shtamm tayoqchasimon, 1 tasi (*P. fulva* Q11) ovalsimon tayoqchasimon, izolyatlar orasida esa 2 tasi ovalsimon tayoqchasimon (A8, X22), 1 tasi (N4) ingichka tayoqchasimon shaklda bo'ldi. Spora hosil qilish xususiyatiga ko'ra, 3 ta shtamm (*P. endophytica* N19 – subterminal, N6 – terminal, I16 – subterminal) va 1 ta izolyatda (X22 – subterminal) sporalanish kuzatildi. Ushbu ma'lumotlar bakteriyalarning morfoloqik farqlari ularning ekologik barqarorligi, yashovchanligi va biotexnologik qo'llanilish imkoniyatlarini belgilashda muhim diagnostik mezon bo'lib xizmat qilishini ko'rsatdi.

Kalit so'zlar: *Bacillus*, *Priestia*, *Pseudomonas*, gramm bo'yash, morfoloqik xususiyatlar, spora hosil qilishi, hujayra shakli.

Kirish. Mikroorganizmlarni to'g'ri aniqlash va ularning morfoloqik xususiyatlarini baholash zamonaviy mikrobiologiyaning eng muhim vazifalaridan biridir. Bakteriyalar hujayra tuzilishi, fiziologik xususiyatlari va ekologik

funksiyalari bilan farqlanadi, shu bois ularni tasniflashda klassik bo'yoq usullaridan foydalanish hali ham dolzarbligini yo'qotmagan. Gram bo'yash usuli bakteriyalarni Gram-musbat va Gram-manfiy guruhlariga ajratish imkonini beruvchi asosiy differensial bo'yoqlash usullaridan biri hisoblanadi. Ushbu usul hujayra devori tuzilishidagi kimyoviy va fizik xususiyatlar farqiga asoslangan bo'lib, mikroorganizmlarning diagnostikasi, ekologik roli va biotexnologik qo'llanilishida muhim ahamiyatga ega.

Gram bo'yash usuli bakteriya shtammlarini dastlabki aniqlash, ularning kolonizatsiya qobiliyatini baholash hamda turli ekologik sharoitlarda yashash strategiyalarini o'rganishda ishonchli vosita bo'lib xizmat qiladi va bakteriyalarni kompleks xarakterizatsiya qilishga imkon beradi va keyingi molekulyar yoki biokimyoviy tadqiqotlar uchun poydevor yaratadi.

Mavzuga oid adabiyotlar tahlili. Bakteriyalar tirik tabiatning eng qadimiy va xilma-xil guruhlaridan biri hisoblanib, ular biosferadagi eng muhim ekologik jarayonlarda, jumladan, azot va fosfor aylanishida, organik moddalar parchalanishida, shuningdek, o'simliklar o'sishi va hosildorligiga ijobiy ta'sir ko'rsatishda muhim rol o'ynaydi [1]. Shu jihatdan, ayrim azotfiksatsiya qiluvchi va fosfat mobilizatsiya qiluvchi bakteriyalar qishloq xo'jaligi uchun katta ahamiyat kasb etadi.

Bacillus turkumiga mansub bakteriyalar odatda gramm-musbat, sporlashuvchan va keng tarqalgan mikroorganizmlar sifatida tavsiflanadi. Ular tuproq muhitida keng uchraydi, yuqori darajadagi ekologik moslashuvchanlikka ega hamda o'simliklar bilan simbiotik aloqalarda qatnashadi [1]. Shu bilan birga, *Bacillus* vakillari turli biologik faol moddalarni sintez qilib, bioo'g'it va bioprotektor sifatida qishloq xo'jaligida keng qo'llaniladi [2]. *Priestia* morfologik va biokimyoviy xususiyatlari jihatidan *Bacillus*ga yaqin bo'lsa-da, molekulyar-genetik tahlillar ularning alohida avlod sifatida qaralishini tasdiqlagan [3]. Bu esa bakteriyalarning morfologik hamda molekulyar belgilarini uyg'un holda o'rganish zarurligini ko'rsatadi.

Pseudomonas turkumi esa gramm-manfiy, aerob bakteriyalarni o'z ichiga olib, tabiatda keng tarqalganligi bilan ajralib turadi [4]. *Pseudomonas* bakteriyalari yuqori darajadagi ekologik moslashuvchanlik, antibiotiklarga chidamlilik va metabolik xilma-xilligi bilan ham ilmiy jamoatchilik e'tiborini tortmoqda [5].

Bakteriyalarning morfologik xususiyatlarini o'rganish, ya'ni hujayra shakli, hajmi, gramm bo'yash natijalari va spora hosil qilish qobiliyati ularning taksonomik joylashuvini aniqlashda muhim diagnostik mezon hisoblanadi. Bu usul nafaqat bakteriyalarning ekologik rolini ochib beradi, balki ularning patogenlik darajasi va biotexnologik qo'llanilish imkoniyatlarini ham ko'rsatib beradi [6,7].

So'nggi yillarda molekulyar biologiya va genetik usullarning jadal rivojlanishiga qaramay, bakteriyalarning morfologik tahlili mikrobiologiyada muhim ahamiyatini yo'qotgani yo'q. Aksincha, morfologik belgilar taksonomik aniqlash va laboratoriya diagnostikasida eng oddiy, samarali va tezkor metodlardan biri bo'lib qolmoqda [8]. Shu sababli, *Bacillus*, *Priestia* va *Pseudomonas* turkumlariga mansub bakteriyalarning morfologik xususiyatlarini o'rganish ularning ekologik va biotexnologik ahamiyatini aniqlashda zarur ilmiy asos yaratadi.

Mazkur tadqiqotning maqsadi – azot fiksatsiya va fosfat mobilizatsiya qiluvchi *Bacillus*, *Priestia* hamda *Pseudomonas* vakillarining morfologik xususiyatlarini mikroskopik usullar yordamida tahlil qilish hamda ularning taksonomik joylashuvi va ekologik roliga oid ilmiy ma'lumotlarni aniqlashdan iborat.

Tadqiqot metodologiyasi. Tadqiqot obyekti sifatida *Bacillus paralicheniformis* (M11, Y13), *Bacillus licheniformis* (X30), *Priestia endophytica* (N19, N6, I16) hamda *Pseudomonas fulva* (Q11) shtammlari tanlab olindi. Shuningdek, uchta mahalliy izolyat – A8, N4 va X22 bakterial namunalari ham o'rganildi. Ushbu shtamm va izolyatlar azot fiksatsiyasi hamda fosfat mobilizatsiya qilish xususiyatiga ega bo'lishi tufayli tahlil uchun qiziqish uyg'otadi.

Bakteriya koloniyalarini o'stirish uchun **Мясо-пептонный агар (МПА, 28 g/l)** hamda **Nutrient Broth** ozuqa muhitlari ishlatildi. Har bir shtamm va izolyat 24 soat davomida 28–30 °C haroratda inkubatsiya qilindi. Keyingi tahlillar uchun 1 kunlik madaniyatlardan foydalanildi.

Bakteriyalarning morfologik xususiyatlarini aniqlashda **Gramm bo'yash usuli** qo'llandi [9]: Gramm bo'yalgan preparatlarda mikroskopik kuzatuvlar olib borildi. Tahlillar OLYMPUS BX 41 yorug'lik mikroskopida, immersiya obyektivi (100×) va umumiy kattalashtirish 1350× ostida amalga oshirildi.

Bakteriyalarning quyidagi morfologik belgilariga e'tibor qaratildi:

- hujayralarning gramm reaksiyasi (musbat yoki manfiy),
- hujayra shakli (tayoqchasimon, ovalsimon tayoqchasimon, ingichka tayoqcha),
- spora hosil qilishi va uning joylashuvi (terminal, subterminal, markaziy),
- hujayra bo'yashdan keyingi rang xususiyatlari.

Ushbu metod bakteriyalarning morfologik farqlarini aniqlashda ishonchli, tezkor va mikrobiologiyada keng qo'llaniladigan standart yondashuv sifatida tanlangan [10].

Tahlil va natijalar. Ushbu tadqiqotda *Bacillus*, *Priestia* va *Pseudomonas* turkumlariga mansub ayrim shtamm va izolyatlarning morfologik xususiyatlari Gramm bo'yash usuli va mikroskopik kuzatuvlar yordamida o'rganildi. Tadqiqotning asosiy vazifasi – bakteriyalarning gramm reaksiyasi, hujayra shakli va spora hosil qilish xususiyatlarini aniqlash orqali ularning morfologik tasnifini aniqlashdan iborat bo'ldi.

Gramm usuli bo'yash natijalari shuni ko'rsatdiki, o'rganilgan 7 ta shtammdan 4 tasi gramm-musbat, 3 tasi gramm-manfiy bo'lib chiqdi. Shu bilan birga, 3 ta izolyatdan 2 tasi gramm-musbat, 1 tasi esa gramm-manfiy bo'ldi (1-jadval).

1-jadval

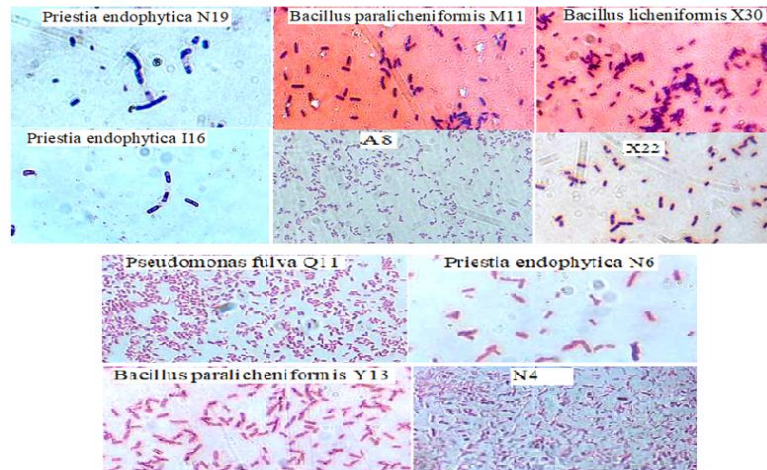
Gramm bo'yash natijalari va bakteriyalarning morfologik xususiyatlari

№	Shtamm/Izolyat nomi	Gramm tipi	Hujayra shakli	Spora hosil qilishi
1	<i>Priestia endophytica</i> N19	+	Tayoqchasimon	Subterminal spora
2	<i>Pseudomonas fulva</i> Q11	–	Ovalsimon tayoqcha	–
3	<i>Priestia endophytica</i> N6	–	Tayoqchasimon	Terminal spora
4	<i>Bacillus paralicheniformis</i> M11	+	Tayoqchasimon	–
5	<i>Bacillus paralicheniformis</i> Y13	–	Tayoqchasimon	–
6	<i>Bacillus licheniformis</i> X30	+	Tayoqchasimon	–
7	<i>Priestia endophytica</i> I16	+	Tayoqchasimon	Subterminal spora
8	A8	+	Ovalsimon tayoqcha	–
9	N4	–	Ingichka tayoqchasimon	–
10	X22	+	Ovalsimon tayoqcha	Subterminal spora

Jadvalda keltirilgan ma'lumotlarga ko'ra, gramm reaksiyasi bo'yicha 7 ta shtammdan 4 tasi gramm-musbat (*P. endophytica* N19, *B. paralicheniformis* M11, *B. licheniformis* X30, *P. endophytica* I16), 3 tasi gramm-manfiy (*P. fulva* Q11, *P. endophytica*

N6, *B. paralicheniformis* Y13) bo'ldi. Izolyatlar orasida esa A8 va X22 gramm-musbat, N4 gramm-manfiy xususiyatga ega ekanligi aniqlandi.

Hujayra shakli bo'yicha 7 ta shtammdan 6 tasi tayoqchasimon shaklda, faqat *P. fulva* Q11 ovalsimon tayoqchasimon shaklda kuzatildi. Izolyatlar orasida esa A8 va X22 ovalsimon tayoqchasimon, N4 esa ingichka tayoqchasimon shaklga ega bo'ldi.



1-rasm. Gramm bo'yash asosida olingan bakteriyalar mikroskopik tasviri

2- *Pseudomonas* sp Q11, *Priestia endophytica* N6, *Bacillus paralicheniformis* Y13 Gramm-musbat tayoqchasimon bakteriyalar: *Priestia endophytica* N19, *Bacillus paralicheniformis* M11, *Bacillus licheniformis* X30, *Priestia endophytica* I16, A-8, X-22;

Gramm-manfiy ovalsimon bakteriya: *Pseudomonas* sp Q11, *Priestia endophytica* N6, *Bacillus paralicheniformis* Y13, N14

Spora hosil qilish xususiyatida 3 ta shtamm sporalar hosil qildi: *P. endophytica* N19 – subterminal, N6 – terminal, I16 – subterminal spora ega bo'ldi. Izolyatlar ichida esa X22 subterminal spora hosil qildi. Boshqa shtamm va izolyatlarda sporalanish kuzatilmadi.

Gramm usuli bo'yash asosida tayyorlangan preparatlar mikroskop ostida kuzatildi. Hujayralarning shakli va gramm reaksiyasi aniq ko'rindi: gramm-musbat bakteriyalar fiolet rangda, gramm-manfiy bakteriyalar esa qizil rangda bo'yalgan holda kuzatildi (1-rasm).

Muhokama. Ushbu tadqiqotda olingan natijalar bakteriyalarning morfologik xususiyatlari ularning turli ekologik va biotexnologik rollarini belgilashda muhim ahamiyatga ega ekanligini ko'rsatdi. Gramm bo'yash natijalarida aniqlanganidek, *Bacillus* va *Priestia* vakillarining ko'pchiligi gramm-musbat bo'lib, bu ularning hujayra devori qalin glikoprotein qavatdan iborat ekanligi bilan izohlanadi. Bunday xususiyat ularga tashqi muhit omillariga nisbatan yuqori chidamlilik va ekologik barqarorlikni ta'minlaydi [11]. Shu bilan birga, gramm-musbat bakteriyalarda sporalanish kuzatilishi ularning noqulay sharoitlarda ham uzoq muddat yashovchanligini ta'minlovchi qo'shimcha adaptiv mexanizm sifatida qaraladi [12].

Pseudomonas vakillari esa gramm-manfiy hujayra tuzilishiga ega bo'lib, bu ularning ekologik moslashuvchanligi va yuqori metabolik faolligini ta'minlaydi. Gramm-manfiy bakteriyalarda lipopolisaxaridlardan tashkil topgan tashqi membrana mavjudligi ularni antibiotiklar va boshqa noqulay sharoitlarga nisbatan chidamli qiladi [13]. Tadqiqot natijalarida *Pseudomonas fulva* (Q11) ovalsimon tayoqchasimon shaklda va sporalanmaydigan xususiyat bilan ajralib turdi. Bu morfologik xususiyatlar ilgari chop etilgan ilmiy manbalardagi ma'lumotlar bilan uyg'un keladi, ya'ni *Pseudomonas* vakillari odatda sporalanmaydi, lekin ular keng metabolik imkoniyatlari hisobiga turli ekologik sharoitlarda faol yashay oladi [14].

Spora hosil qilish xususiyatiga ega shtammlar orasida *Priestia endophytica* N19 (subterminal), N6 (terminal) va I16 (subterminal) hamda X22 izolyatida (subterminal) sporalanish kuzatildi. Sporalarining turlicha joylashuvi ushbu shtammlarning genetik xilma-xilligidan dalolat beradi. Spora hosil qiluvchi bakteriyalar, ayniqsa *Bacillus* va *Priestia* vakillari, qishloq xo'jaligi biotexnologiyasida bioo'g'it va bioprotektor sifatida muhim ahamiyat kasb etadi, chunki ular o'simlik ildiz zonalarida uzoq muddat faoliyat yuritadi [15].

Izolyatlar morfologiyasini tahlil qilish shuni ko'rsatdiki, A8 va X22 izolyatlari gramm-musbat bo'lib, ovalsimon tayoqchasimon shaklga ega, X22 izolyatida esa sporalanish kuzatildi. N4 izolyati esa gramm-manfiy va ingichka tayoqchasimon shaklda bo'ldi. Bu morfologik tafovutlar bakterial populyatsiyalarning ekologik sharoitlarga moslashuvchanligini ko'rsatadi. Bunday xususiyatlarni aniqlash, izolyatlarning biotexnologik va agrobiologik ahamiyatini baholash uchun muhimdir [16].

Umuman olganda, olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, gramm-musbat va sporalanishuvchan bakteriyalar ekologik barqarorlik va bioo'g'it sifatida qo'llanish uchun istiqbolli hisoblanadi. Gramm-manfiy, sporalanmaydigan bakteriyalar esa ekologik moslashuvchanlik va ayrim hollarda patogenlik xususiyatlari bilan ahamiyatlidir. Shu sababli bakteriyalarning morfologik xususiyatlarini chuqur o'rganish ularning taksonomik joylashuvini aniqlash va biotexnologik imkoniyatlarini baholashda zarur ilmiy asos bo'lib xizmat qiladi.

Xulosa va takliflar. O'tkazilgan tadqiqotlar natijasida *Bacillus*, *Priestia* va *Pseudomonas* turkumlariga mansub 7 ta shtamm hamda 3 ta izolyatning morfologik xususiyatlari aniqlandi: 7 ta shtammdan 4 tasi va 3 ta izolyatdan 2 tasi gramm-musbat, qolganlari gramm-manfiy bo'lib chiqdi; hujayra shakli bo'yicha 6 ta shtamm tayoqchasimon, 1 tasi (*P. fulva* Q11) ovalsimon tayoqchasimon shaklda, izolyatlar orasida esa 2 tasi (A8 va X22) ovalsimon tayoqchasimon, 1 tasi (N4) ingichka tayoqchasimon shaklda kuzatildi; spora hosil qilish xususiyati 3 ta shtammda (*P. endophytica* N19 – subterminal, N6 – terminal, I16 – subterminal) va 1 ta izolyatda (X22 – subterminal) qayd etildi. Ushbu natijalar shuni ko'rsatadiki, *Bacillus* va *Priestia* vakillari asosan gramm-musbat va sporalanishuvchan morfologiyasi bilan ekologik barqarorlik va biotexnologik ahamiyat kasb etsa, *Pseudomonas* vakillari

gramm-manfiy, sporalanmaydigan va morfologik jihatdan oʻziga xosligi bilan ajralib turadi; mazkur farqlar bakteriyalarning ekologik roli va biotexnologik qoʻllanilish imkoniyatlarini belgilashda muhim ilmiy asos boʻlib xizmat qiladi.

ADABIYOTLAR

1. Haritova S., Karimova D. *Bacillus* turkumining taksonomik va funksional xususiyatlari. *Microbiology Journal*, 2020, 15(2): 45–58.
2. Logan N.A., Vos P. *Bacillus systematics: past, present and future*. In: Logan N.A., De Vos P. (eds). *Bacillus: Cellular and Molecular Biology*. Norfolk: Caister Academic Press, 2015, pp. 1–20.
3. Ivanova I., Kiprianova E., Chuvilskaya N., et al. Taxonomic reevaluation of the genus *Priestia* based on morphological and molecular data. *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(10): e00423-19.
4. Johnson L., Smith P. Morphological diversity of *Pseudomonas* spp. in various ecological niches. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(12): 5153–5164.
5. Silby M.W., Winstanley C., Godfrey S.A., Levy S.B., Jackson R.W. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiology Reviews*, 2011, 35(4): 652–680.
6. Kumar A., Singh P., Mishra S. Morphological characterization of environmental bacteria using microscopy techniques. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 674321.
7. Lee H., Kim S. Advances in microscopic analysis of bacterial morphology. *Trends in Microbiology*, 2020, 28(4): 305–317.
8. Khabib Kushiev, Kuralova R, Tokhir Husanov Pathogen Management in *Glycyrrhiza glabra*: Microbial Interactions and Phylogenetic Insights. *Journal of Phytopathology*. 01 April 2025. <https://doi.org/10.1111/jph.70057>
9. Gram H.C. Ueber die isolierte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medicin*, 1884, 2: 185–189.
10. Cappuccino J.G., Sherman N. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 10th ed. Boston: Pearson, 2013, 560 p.
11. Madigan M.T., Bender K.S., Buckley D.H., Sattley W.M., Stahl D.A. *Brock Biology of Microorganisms*. 15th ed. New York: Pearson, 2018.
12. Nicholson W.L., Munakata N., Horneck G., Melosh H.J., Setlow P. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(3): 548–572.
13. Nikaido H. Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1989, 33(11): 1831–1836.
14. Silby M.W., Winstanley C., Godfrey S.A., Levy S.B., Jackson R.W. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable. *FEMS Microbiology Reviews*, 2011, 35(4): 652–680.
15. Perez-Garcia A., Romero D., de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacillus* and *Priestia* species. *Microbial Biotechnology*, 2011, 4(4): 495–512.
16. Glick B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012, Article ID 963401, 15 p.