

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

QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI

**TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI
TERMIZ FILIALI**



“AGROBIOTEXNALOGIYASI”

fani bo'yicha

O'QUV – USLUBIY MAJMUA

Termiz tumani – 2020

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI

OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

QISHLOQ VA SUV XO'JALIGI VAZIRLIGI

TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI
TERMIZ FILIFLI

“AGROBIOTEXNALOGIYASI”

fani bo'yicha

O' Q U V – U S L U B I Y M A J M U A

Bilim sohasi:	400000 – Qishloq va suv xo'jaligi
Ta'lim sohasi:	410000 – Qishloq, o'rmon va baliq xo'jaligi
Ta'lim yo'nalishlari:	5410200 – Agronomiya (dehqonchilik mahsulotlari turlari bo'yicha)
	5410300 – O'simliklarni himoya qilish
	5411500 - O'simliklar va qishloq xo'jalik mahsulotlari karantin

Termiz tumani – 2020

O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'ra maxsus ta'lim vazirligi tomonidan 2020 yil "____" _____ dagi "____" –sonli qarori bilan tasdiqlangan fan dasturi asosida ishlab chiqilgan.

Fanning ishchi o'quv dasturi TDAU Termiz filiali Kengashining 202_ yil "____" dagi ____-sonli bayoni bilan tasdiqlangan.

Tuzuvchilari:

- E.Jo'raev** - O'rmonchilik, dorivor o'simliklar va manzarali bog'dorchilik kafedrası mudiri
- S.Sultonov** - O'rmonchilik, dorivor o'simliklar va manzarali bog'dorchilik kafedrası assistenti
- A.Choriev** - O'rmonchilik, dorivor o'simliklar va manzarali bog'dorchilik kafedrası assistenti
- S.Boynazarova** - O'rmonchilik, dorivor o'simliklar va manzarali bog'dorchilik kafedrası katta o'qituvchisi

Taqrizchilar:

A.Begmatov - TerDU "Botanika" kafedrasining mudiri b.f.n

U.X.Raximov - ToshDAU "Botanika va agrobiotexnologiya" kafedrası dotsenti

Agrologistika va biznes fakulteti dekani: _____ A. Turakulov
2020 yil "____" _____

"O'rmonchilik, dorivor o'simliklar va
manzarali bog'dorchilik" kafedrası mudiri: _____ q.x.f.f.d., E.Jo'raev
2020 yil "____" _____

№	MUNDARIJA	bet
1	O‘QUV MATERIALLARI	
1.1	MA’RUZA MASHG‘ULOTLARI MATERIALLARI	6
1.2	LABORATORIYA MASHG‘ULOTI MAVZULARI MATERIALLARI	113
2	MUSTAQIL TA’LIM MASHG‘ULOTLARI	209
3	GLOSSARIY	212
4	ILOVALAR	
4.1	Tarqatma materiallar	234
4.2	Test	242
4.3	Baxolosh mezonlari	249
5	Adabiyotlar	250
6	Namunaviy fan dastur	
7	Ishchi dastur	

Sizga tavsiya etilayotgan «Agrobiotexnologiya» fani bo'yicha ma'ruza matnlari tezislari tasdiqlangan namunaviy dastur asosida yozilgan bo'lib, ushbu fanga doir asosiy tushunchalar va ma'lumotlar qisqa bayon etilgan. Fanni chuqur va mukammal egallash uchun ko'rsatilgan adabiyotlardan foydalanishni tavsiya qilamiz.

Ma'ruza matnlari mavzulari

№	Ma'ruza mavzulari	Dars soatlari hajmi
1.	Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi faniga kirish	2
2.	Gen muhandisligi asoslari	2
3.	Rekombinant DNK olish	2
4.	O'simlikshunoslikda gen muxandisligi	2
5.	Hujayra va to'qimalar kulturasida	2
6.	Kallus to'qimalar kulturasida	2
7.	O'simliklarni klonli mikroko'paytirish	2
8.	Qishloq xo'jalik ekinlarini sog'lomlashtirish va virusdan holi qilishning biotexnologik asoslari	2
9.	Fermentlar va ularni ishlab chiqarish biotexnologiyasi	2
10.	O'simliklarni o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi moddalar	2
11.	Tuproq unumdorligini oshirishda biotexnologiya	2
12.	Mikrobli insektitsidlarni olish biotexnologiyasi	2
13.	O'simliklarni himoya qilishda biotexnologiya	2
14.	Oziq-ovqat va ichimliklar ishlab chiqarish biotexnologiyasi	2
15.	Noananaviy sabzavotlarni yetishtirish biotexnologiyasi	2
16.	Biotexnologiyaning asosiy yo'nalishlari va uning istiqbollari	2
17.	Mikroorganizmlardan antibiotiklar olish texnologiyasi	2
18.	Biotexnologiya va bioxavfsizlik	2

Jami: - 36 soat

Laboratoriya mashg'ulotlari

2- jadval

№	Laboratoriya mashg'ulotlari mavzulari	Dars soatlari hajmi
1.	Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi laboratoriyasining tuzilishi, asbob-uskunalari va laboratoriyada ishlash qoidalari	2
2.	O'simlik hujayrasidan DNK ajratish	2
3.	DNK ni restriktaza fermentlari yordamida fragmentlarga bo'lish	2
4.	Bakteriya hujayrasidan plazmid DNK ni ajratish	2

5.	Agarozali gelda DNK elektroforezi	2
6.	O'simliklarni genetik transformatsiyasi usullari	2
7.	O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash	2
8.	Biotexnologiyada sterillash usullari	2
9.	Steril o'simtalar o'stirishda laminar boksda ishlash texnikasi	2
10.	Kartoshka apikal meristemasini ajratish va o'stirish	2
11.	Kartoshka nihollarini qalamchalab mikroko'paytirish	2
12.	Kartoshkadan mikrotuganaklar olish	2
13.	Kartoshka kallusidan supenzion kultura olish	2
14.	Suspension kulturani NaCl qo'shilgan selektiv muhitlarga ekish orqali sho'rga chidamliligini baholash	2
15.	Kallus to'qimasidan regenerant o'simlik olish	2
16.	Ikkilamchi sintez moddalar olishda kallus to'qimalar kul'turasi	2
17.	Kallus to'qimalarini yangi oziqa muhitlariga passirlash	2
18.	Steril o'simtalar o'stirish	2
19.	Termoterapiya usuli asosida apikal meristemasini kulturalash orqali virussiz ekish materiali olish	2
20.	Fitoregulyatorlar yordamida kartoshka tuganaklarini tinim holatiga o'tishi va uyg'onishini boshqarish	2
21.	Kartoshkani mikroklonal ko'paytirishda ildiz hosil bo'lish induktsiyasi	2
22.	Auksin va gibberillin ta'sirida hujayrani bo'linish va o'sish induktsiyasi	2
23.	Tugunak bakteriyalarni sof kulturasini ajratish va ularni ko'paytirish	2
24.	Nitrugin olish texnologiyasi	2
25.	Azotobakterin olish texnologiyasi	2
26.	Viruslar asosida olingadigan entomopatogen preparatlar	2
27.	Bakteriyalar asosida olingadigan entomopatogen preparatlar	2
28.	Zamburug'lar asosida olingadigan entomopatogen preparatlar	2
29.	Antagonistik xususiyatlariga ega bo'lgan mikroorganizmlarni aniqlash	2
30.	Mikroorganizmlarni o'stirish sharoitlari va usullari	2
31.	Mikroorganizm kulturalarini saqlash usullari	2
32.	Mikroorganizmlarni fitotoksik xususiyatlarini o'rganish	2
33.	Chig'anoq va shampinon qo'ziqorinlari urug'lik mitseliysini tayyorlash	2
34.	Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi laboratoriyasining tuzilishi, asbob-uskunalar va laboratoriyada ishlash qoidalari	2

Jami: - 68 soat

Nazariy mashg'ulot

1-Ma'ruza

Mavzu: Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi fanining mohiyati, vazifasi va rivojlanish bosqichlari

Reja:

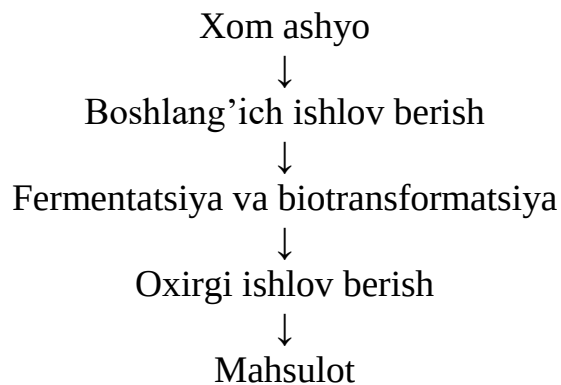
1. Biotexnologiyaning predmeti va vazifalari
2. Biotexnologiyaning rivojlanish tarixi
3. Biotexnologiyaning zamonaviy yo'nalishlari
4. Biotexnologiyaning sanoat, sog'liqni saqlash va qishloq xo'jaligidagi ahamiyati
5. Biotexnologiyada qo'llaniladigan asosiy metodlar
6. O'zbekistonda biotexnologiyaning rivojlanishi

Tayanch iboralar: biotexnologiya, hozirgi zamon biotexnologiyasi, klassik biotexnologiya, sanoat biotexnologiyasi, hujayra injenerligi, gen injeneriyasi, kul'tura, mikroorganizm, molekulyar biotexnologiya, yo'nalishlar, vazifalar, qo'llaniladigan metodlar.

Ma'lumki, biologiyaga boshqa tabiiy fanlar – fizika, ximiya, matematika kabi fanlarning tatbiq qilinishi natijasida zamonaviy biologiya rivojlandi. XX asrning ikkinchi yarmida bioximiya, molekulyar genetika va molekulyar biologiya sohalarida erishilgan fundamental tadqiqotlarning yutuqlari hujayra faoliyatini turli mexanizmlar yordamida boshqarish imkonini berdi. Biologiya sohasida yaratilgan olamshumul yangiliklar va ishlanmalar zamonaviy biotexnologiyani rivojlanishiga turtki bo'ldi va ular quyidagilardir:

- Biologik sistemalardagi irsiy axborotni saqlanishi va avloddan- avlodga uzatilishida nuklein kislotalar rolini isbotlanishi;
- Barcha tirik organizmlar uchun universal hisoblangan genetik kod tuzilishini aniqlanishi;
- Organizmlar bir avlodining hayoti jarayonida genlar faoliyatini boshqarish mexanizmlarini ochib berilishi;
- Mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon hujayralari kulturasini olishning ma'lum bo'lgan texnologiyalarni mukammallashtirish va yangi texnologiyalarini yaratilishi;
- Genetik va hujayra injeneriyasi metodlarini rivojlanishi va ular yordamida sanoat miqyosida ishlatiladigan organizmlarning yuqori mahsuldor shakllarini yaratish.

“Biotexnologiya” terminini 1917 yilda venger injeneri Karl Ereki kiritgan. Uning ta'rifiga ko'ra “**biotexnologiya** – bu tirik organizmlar yordamida xom ashyodan u yoki bu mahsulot olinadigan ishlarning barcha turidir”, ya'ni biotexnologik jarayonlarning sxemasi quyidagichadir:



Biotexnologiyani 3 ta asosiy qismga bo'lish mumkin:

1. Sanoat biotexnologiyasi. Bunda biotexnologik jarayonlar amalga oshirishining umuiy tamoyillari o'rganiladi, biotexnologiyaning asosiy ob'ektlari va uni qo'llash mumkin bo'lgan sohalar, mikroorganizmlar ishlatiladigan bir qator ko'p masshtabli sanoat biotexnologiyasi bilan tanishiladi.

2. Hujayra injenerligi. Bu qismning asosiy maqsadi – hujayra kulturasini olish va bu ob'ektlardan amaliyotda foydalanish bilan tanishtirishdir. Bunda hayvon va o'simlik hujayralari kulturasini olish usullari bilan tanishtiriladi. Hujayra biotexnologiyasi yordamida selektsiyada chidamli, mahsuldorlik va sifatli o'simlik va hujayralarning muhim formalari va liniyalarini olish, qimmatli genotiplarni ko'paytirish, oziq ovqat, yem va tibbiyotda ishlatiladigan qimmatli biologik faol moddalarni olish tezlashdi.

3. Gen injeneriyasi. Zamonaviy biotexnologiyaning asosiy yutug'i genetik transformatsiya, ya'ni begona gen va boshqa irsiy belgilarni tashuvchi materiallarni mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon hujayralariga o'tkazish, yangi belgi va xususiyatli transgen organizmlarni olishdir.

Biotexnologiyaning vazifalari:

- Kerakli mahsulotlarni ishlab chiqarish uchun biologik ob'ektlar, sistema va jarayonlardan foydalanish;
- Mikroorganizmlar, hujayra kulturalari va ularning alohida komponentlaridan ishlab chiqarishda foydalanish maqsadida bioximik, mikrobiologik va injenerlik bilimlarini kompleks qo'llash;
- Turli tipdagi foydali mahsulotlarni olish va ko'paytirish uchun biologik jarayonlardan foydalanish;
- Kerakli mahsulotlar olish yoki servis texnologiyasini yaratish maqsadida biologik agentlar yordamida ishlov berish uchun ilmiy va injenerlik printsiplardan foydalanish.

Biotexnologiya so'zi grekcha so'zlar yig'indisi bo'lib, «bios» - hayot, «texne» - san'at, texnika va «logos» – tushuncha, ta'limot ma'nolarini bildiradi.

Biotexnologiya yo'nalishlarining vazifalari quyidagilardir:

- Sog'liqni saqlash sohasida turli kasalliklarni davolash, diagnostikasi va profilaktikasi uchun yangi biologik aktiv moddalar va dorivor preparatlarni yaratish;
- Qishloq ho'jaligi o'simliklarini kasallik qo'zg'atuvchilar va zararkunandalardan himoyalashning biologik vositalarini, bakterial o'g'itlar va o'simlik va hayvonlarning o'sish regulyatorlarini; noqulay atrof-muhit omillariga chidamli yangi o'simlik navlarini hamda foydali xususiyatga ega bo'lgan yangi hayvon zotlarini (transgen hayvonlar)ni yaratish;
- Qishloq xo'jaligi hayvonlarining mahsuldorligini oshirish uchun qimmatli oziqa qo'shilmalarini (oziqaviy oqsil, aminokislotalar, vitaminlar, oziqalarni hazm qilishga yordam beruvchi fermentlar va b.) yaratish;
- Qishloq ho'jaligi va veterinariyada turli maqsadlarda qo'llanadigan yuqori samarali preparatlarni bioinjenerlik metodlari yordamida yaratish;
- Oziq-ovqat, kimyoviy va mikrobiologik sanoat uchun qimmatli mahsulotlarni yaratish va ularni olishning yangi texnologiyalarini yaratish;
- Qishloq xo'jaligi, sanoat va maishiy chiqindilaridan kelgusida foydalanish mumkin bo'lgan mahsulot olish uchun qayta ishlashning yangi texnologiyalarini yaratish va ularni amalda qo'llashdir.

Demak, **biotexnologiya** – ilmiy-texnikaviy progressning predmetlararo sohasi bo'lib, u biologik, kimyoviy va texnik bilimlar to'qnashuvida vujudga kelgan bo'lib, u yangi biotexnologik jarayonlarni yaratishga qaratilgandir. Bu jarayonlar aksariyat hollarda past temperaturada amalga oshadi, kam miqdorda energiya sarflanadi va boshlang'ich xomashyo sifatida arzon substratlar ishlatiladi.

Biotexnologiyada yangi ishlanmalarni yaratish, rivojlantirish va jarayonlardan optimal foydalanish maqsadida kimyo, mikrobiologiya, biokimyo, molekulyar biologiya, kimyoviy texnologiya va kompyuter texnikasi metodlaridan keng foydalaniladi.

Molekulyar biotexnologiyaning rivojlanish tarixi

Sana	Voqealar
1917	Karl Ereki «biotexnologiya» terminini kiritgan
1943	Sanoat miqyosida penitsillin ishlab chiqarilgan
1944	Everi, Mak Leod va Mak Kartilar genetik material DNKdan tuzilganligini ko'rsatib berishgan
1953	Uotson va Krik DNK molekulasi tuzilishini aniqlashgan
1961	“Biotexnologiya va bioinjeneriya” jurnali ta'sis etilgan
1961-1966	Genetik kod rasshifrovan
1970	Birinchi restriksion endonukleaza ajratib olingan
1972	To'liq hajmli tRNK geni sintez qilingan
1973	Rekombinant DNK texnologiyasiga asos solingan

1975	Monoklonal antitela olingan
1976	Rekombinant DNKni olish bo'yicha yo'riqnoma ishlangan
1976	DNKning nukleotid ketma-ketligini aniqlash metodi ishlab chiqilgan
1978	<i>E.coli</i> yordamida inson insulini ishlab chiqilgan
1982	Rekombinant DNK texnologiyasi bo'yicha olingan 1 vaktsinani hayvonlarda qo'llashga ruxsat berilgan
1983	Gibrid Ti-plazmidadan foydalanib o'simliklar transformatsiyalangan
1988	Polimerazaning zanjir reaksiyasi metodi yaratilgan
1990	Insonning somatik hujayrasidan foydalanib gen terapiyasi sinash rejasi tasdiqlandi
1990	"Inson genomi" loyihasi bo'yicha ishlar boshlandi
1994-1995	Inson xromosomasining genetik va fizik haritasi chop etildi
1996	Rekombinant DNK katta miqdorda sotildi
1997	Somatik hujayradan sut emizuvchi klonlashtirildi

O'zbekistonda biotexnologiyani fan sifatida ikki yo'nalishini ko'rish mumkin:

1. Hozirgi zamon biotexnologiyasi.
2. Klassik biotexnologiya.

Hozirgi zamon biotexnologiyasi gen va hujayra injenerligi usullari genetik transformatsiya qilgan ob'ektlarni yaratish texnologiyalari, ular orasida turli mahsulotlarni ishlab chiqarishdir.

Klassik biotexnologiya esa tabiiy biologik ob'ektlardan foydalangan holda turli moddalarni ishlab chiqarish usullari va texnologiyalaridir (non pishirish, pivo, vino, sirka, qatq tayyorlash).

O'zbekistonda biotexnologiyaning rivojlanishi va shakllanishini O'zR FA akad. O.S.Sodiqov nomidagi bioorganik Kimyo instituti tashkil etilganidan bilishimiz mumkin. Ushbu institut 1977 yilda O'zbekiston Respublikasi FA tarkibidagi bioorganik kimyo bo'limi (1973 y.) negizida tashkil etilgan. Institutning asosiy ilmiy yo'nalishi hayvon va o'simliklar organizmidagi bioorganik kimyo jarayonlarini, ya'ni yuqori va quyi molekulyar tabiatga ega bo'lgan biologik faol moddalarning tuzilishi, funktsiyasi o'rganilib, ularni sintetik usulda olish yo'llari ishlab chiqildi. Tabiiy biologik faol modda – gossipolning polimorf modifikatsiyasi kompleks hosil qilishi birinchi bo'lib isbotlandi va uning asosida yigirmadan ortiq yangi dorilar, biologik moddalar asosida esa 30 dan ortiq dori preparatlari olindi. Bulardan viruslarga qarshi ishlatiladigan 3%li gossipol linimenti, immunomodulyator - timoptin, qon to'xtatuvchi "Lagoden", xlamidiyaga qarshi qo'llaniladigan dorivor vosita "Polinil" va bioorganika institutining tajriba sinov bazasida ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda qo'llanilmoqda. Jahon andozalariga mos keladigan paxta moyini va kam gossipolli paxta kunjarasini olish texnologiyasi ishlab chiqilib, O'zbekiston Respublikasining ko'pchilik yog'-moy ekstraksiya zavodlarida litsenziya asosida qo'llanilmoqda.

Biotexnologiya sohasida O'zbekiston asosan O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining mikrobiologiya institutida, genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi institutida hamda Respublika Kimyo birlashmasiga qarashli bir qator zavodlarda ishlar olib borilmoqda. Biotexnologiya ixtisosligi birinchi o'zbek akademiki A.G.Xolmurodov (1939-1996) fuzalium avlodiga mansub zamburug'lardan NAD struktura-funksional bog'liqligini o'rganish hayvon va o'simliklardan ajratib olingan ikkilamchi mahsulotlarni qayta ishlashning jahon standartlariga mos keladigan yangi texnologiyalarini hamda o'simliklarni himoya qiluvchi ekologik toza vositalarni olish ustida tadqiqotlar olib borishdan iborat. Institutda olib borilgan yuqori va quyi molekulyar bioregulyatorlarni kompleks tadqiq etish natijasida zaharli jonivorlar zaharidan 50 dan ortiq biologik faol oqsil va peptidlar ajratib olindi. Ulardan 15 dan ortig'ining kimyoviy tuzilishi va ta'sir mexanizmi o'rganildi. G'o'zadan fitogormonlarning retseptorlari ajratib olindi va fizik-kimyoviy xossalari o'rganildi, ularning paxta bargini to'kishdagi regulyatorlik roli isbotlandi. Natijada g'o'za defoliatsiyasida ro'y beradigan jarayonning molekulyar mexanizmi ko'rsatildi va defoliatsiyalovchi hamda o'sishni tezlashtiruvchi faollikka ega bo'lgan birikmalarni tanlash ko'rsatkichlari ishlab chiqildi. G'o'za o'sishi jarayonida organizm ferment sistemalarining paxta tolasi hosil bo'lishidagi roli o'rganildi va sellyuloza biosintezi jarayonining molekulyar mexanizmi isbotlandi. O'simliklar zararkunanda hashorotlari fero kofermenti va vitaminlar kompleksi (V guruhiga kiruvchi vitaminlar, vitamin RR, A va h.k.) tayyorlash texnologiyasini yaratdi.

Professor K.D.Davronov tomonidan yog' parchalovchi ferment-lipaza tayyorlash texnologiyasini «Yer malhami» biopreparatini yaratdi. Bu preparat azot yutuvchi mikroorganizmlar asosida tayyorlangan bo'lib, mamlakatimiz qishloq xo'jaligida qo'llanilmoqda. Bundan tashqari K.D.Davronov rahbarligida sellyuloza lignin biokarkasini (g'o'zapoya, somon, kanop poyasi, qirindi va b.) maxsus tayyorlangan bazidiometsitlarning fermentlari ishtirokida tabiiy sellyuloza – lignin birikmalari parchalanishi amaliyotda ko'rsatib berildi.

Akademik M.I.Mavloniy O'zbekistonda uchraydigan achitqi zamburug'larni tahlil qilib, ularni novvoychilik, vinochilik va chorvachilikka qo'l keladigan turlarini oldi va ular asosida maxsus xamirturushlar va vinochilik uchun achitqi tayyorlash texnologiyalarini yaratdi. Mikrobiologiya instituti olimi J.Toshpo'latov somon va g'o'zapoyani parchalashda «Trixoderma harznanum» zamburug'i fermentlari-dan foydalanish mumkinligini ilmiy asoslab berdi. Bu texnologiya qo'llanilganda somonda shakar miqdori 6-7% ga yetgani, vitaminlar, aminokislotalar paydo bo'lib, somonni oziqa birligi bir necha barobar oshganligi isbotlab berilgan.

Nazorat uchun savollar:

1. Biotexnologiya fani nimani o'rganadi ?
2. Klassik biotexnologiya usullarini tushintiring?
3. Molekulyar biotexnologiyaning rivojlanish tarixi?
4. Biotexnologiya yo'nalishlarining vazifalari?
5. Biotexnologiyaning vazifalari?

2-Ma'ruza

Mavzu: Gen muhandisligi

Reja:

1. Hujayrani ko'paytirish tizimi.
2. Genetik axborot tashilishiga mas'ul molekulyar mexanizmlar.
3. Transkripsiya va translyatsiya.
4. DNK sintezi.
5. Genlarning tuzilishi: intronlar va ekzonlar
6. Gen injenerligining fermentlari

Tayanch iboralar: DNKning tuzilishi, DNK sintezi, replikasiya, translyasiya, transkripsiya, polimerazalar, genlarning tuzilishi. DNK fragmentlari, gen injenerligining fermentlari, mikroorganizmlardan ajratib olingan fermentlar, ingibitorlar, markerlar.

Gen injenerligining maqsadi laboratoriya usullari bilan irsiy xususiyatlari kombinatsiyalangan yangi organizmlarni yaratishdir.

Amerikalik olimlar Uotson va Krik 1953 yilda o'zlarining olamshumul yangiliklari, ya'ni DNKning ikkilamchi strukturasi aniqlashlari va matritsa sintezini tushuntirib berishlari bilan gen injenerligini alohida fan sifatida rivojlanishiga asos soldilar.

DNKning qo'sh spirali replikatsiya davomida DNK iplari bo'ylab ikkiga ajraladi, maxsus ferment-polimerlar ona DNKning aniq nusxasini ko'chiradilar. Natijada hujayra bo'linishi oldidan 2 ta bir xil DNK molekulalari hosil bo'ladi va ulardan biri hujayra bo'lingandan so'ng qiz hujayraga o'tadi. Qiz hujayra ona hujayra tashigan axborotni tashiydi va u bajargan funktsiyalarni bajaradi. Shunday qilib tirik organizm hujayralarida o'ziga xos reaksiya – **matritsa sintezi** ro'y beradi. Molekulalarning biri – matritsa, ikkinchisi esa shu matritsa asosida tuziladi. DNK replikatsiyasi, barcha turdagi RNK va iRNKstrukturasiga mos ravishda oqsil molekulalarining to'planishi, ularning barchasi matritsa sintezining variantlari bo'lib, doimo nuklein kislotalar ishtirokida amalga oshadi.

Xuddi shu mexanizm bilan RNKning yig'ilishi amalga oshadi, faqatgina 2 ta spiral emas, balki bitta spiralniki. Bu jarayon **transkripsiya** deyiladi. Demak, hujayradagi axborot oqimini matritsa sintezining reaksiyalari amalga oshiradi, ya'ni, **DNK replikatsiyasi** (irsiy axborotni qiz hujayralarga uzatish uchun kerak), **transkripsiya** (hujayra yadrosida i-RNKni sintezi) va **translyatsiya** (ribosomalar yordamida i-RNKda oqsil zanjirlarini yig'ilishi).

Organizmning irsiy xususiyatlarini o'zgartirish bilan transgen o'simlik va hayvonlar yaratish va ularni klonlash imkoni tug'ilgan.

Eukariotlar hujayralaridagi genlarni tuzilishini o'rganish klonlash va DNKni birlashtirish metodlariga asos solgan. Olimlar tomonidan ovalbuminning 386 ta aminokislotadan tuzilgan informatsion RNKsi ajratib olingan va ushbu RNKning 1872ta nukleotidan 1158 tasigina oqsilning 386ta aminokislotasini kodlashi, shu bilan birga 5'-uchdagi 64 ta nukleotid va 3'-uchdagi 650 ta nukleotid

translyatsiyalanmasligini aniqlangan. i-RNKdan ovalbumin geniga mos keluvchi DNK nusxasini olib uni plazmidaga joylashtirganlar va uni *E.coli* hujayrasida klonlashtirganlar. Frantsiyalik olimlar esa DNK nusxasini restriktazalar yordamida parchalanmasligini aniqlaganlar, chunki ular ushbu fermentlar taniydigan 6 ta nukleotidli DNK ketma-ketligini o'zida tutmaganlar. 1977 yili frantsiyalik olimlar ovalbuminning informatsion RNKsi bilan transkribtsiyalanmaydigan DNK genomida i-RNKda uchramaydigan qismlar bor deb faraz qilganlar. Genning uzlukli tuzilishi keyinchalik boshqa genlarda ham kuzatilgan.

Keyinchalik Shambon va Kurilskini ko'rsatishlaricha, ovalbumin genining DNKsi i-RNK bilan qisman birlashadi: DNKning 7 ta uchastkasi RNK bilan gibridlanmaydi va mRNKda uchramaydigan genning ushbu uchastkalari **intronlar** deb ataladi. Intronlar ovalbuminni kodlaydigan DNK ketma-ketligini 8 ta fragment - **ekzonlarga** ajratadi.

Intronlar genning ma'lum bir qismida uchraydi, hajmi katta bo'lib 100 dan bir necha ming nukleotidlar juftidan iboratdir. O'rtacha hisoblaganda intronlar ekzonlardan uzunroqdir.

Hozirgacha o'rganilgan sut emizuvchilar, qushlar va amfibiyalarning geni tuzilishi yaxlit ko'rinishda emasligi aniqlangan, ya'ni ular ekzonlar va intronlardan tuzilgan. Faqatgina giston va interferonlarning genlari bundan mustasnodir. Yaxlit bo'lmagan genlar bulardan tashqari hashorotlar va achitqilarda, hamda DNKsi mavjud va eukariot hujayralar yadrosida ko'payadigan viruslarda topilgan.

Gen injenerligida rekombinant DNKlarni konstruktsiya-lashda ishlatiladigan fermentlar quyidagi guruhlarga bo'linadi:

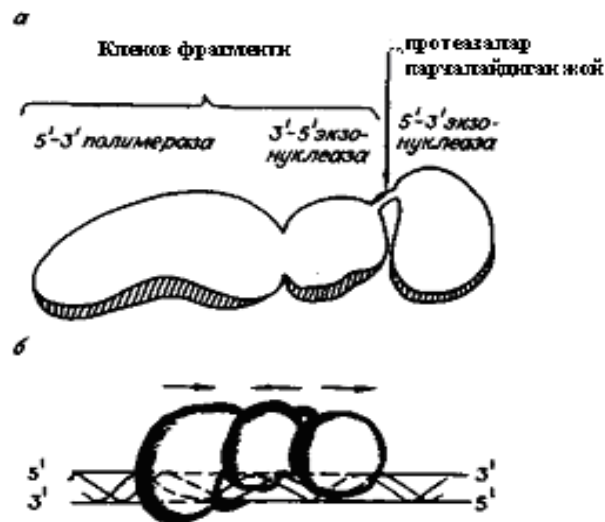
- DNK fragmentini olish uchun ishlatiladigan fermentlar (restriktazalar);
- DNK matritsasida DNKni (polimerazalar) va RNKni (qaytar transkriptazalar) sintezlovchi fermentlar;
- DNK fragmentlarini birlashtiruvchi fermentlar (ligazalar);
- DNK fragmenti uchlari strukturasini o'zgartiruvchi fermentlar.

Restriktazalar (restriksiya-lovchi endonukleazalar) – DNK molekulasida ma'lum bir nukleotidlar ketma-ketligi (restriksiya saytlari)ni tanib ularga «hujum qiluvchi»fermentlardir.

Restriksiya va modifikatsiya sistemalari bakteriyalarda keng tarqalgan: ular rezident DNKni begona nukleotidlarni kirishidan himoya qiladi. 1968 yili Mezelson va Yuanlar metillanmagan DNKni parchalovchi restriktazani ajratib olishgan. 1970 yili esa Smit va Vilkoks *Haemophilus influenzae* dan DNKning aniq bir ketma-ketligini parchalovchi birinchi restriktaza (Hind III)ni ajratib olishgan. Turli bakteriyalar ularning DNKsini turlicha belgilaganligi sababli, restriktazalar ham turli ketma-ketliklarni tanishi kerak. Shundan beri, restriksiyaning 150 ta saytini taniydigan restriksiya-lovchilar ajratib olingan.

Bakteriyalarning barcha restriksion endonukleazalari o'ziga xos, qisqa DNK ketma-ketliginitaniydi va ular bilan bog'lanadi. Bu jarayonda DNK molekulasini tanish saytida kesiladi. Bakteriya shtammi restriksion faollikka ega bo'lishi birga DNKni metillash xususiyatga ega.

Restriktazalarni 3 sinfga bo'lish mumkin: 1, 2 va 3.



Barcha restriktazalar DNKning qo'sh spiralida qat'iy bir ketma-ketlikni taniydi, lekin 1-sinf restriktazalari DNK molekulasining ixtiyoriy nuqtasini kesadi, 2- va 3-sinf restriktazalari esa tanish saytining ichidagi qat'iy bir nuqtalarni parchalaydi.

1 va 3 tipdagi fermentlar murakkab sub'birlikdagi tuzilishga ega bo'lib, 2 tipdagi, ya'ni metillovchi va ATFga bog'liq endonukleazali faollikka egadir.

2-sinf fermentlari 2 ta alohida oqsillardan: restriksiyalovchi endonukleaza va modifikatsiyalovchi metilazalardan tashkil topgan. Shuning uchun gen injeneriyasida asosan 2- sinf fermentlari ishlatiladi. Bular uchun kofaktor sifatida magniy ionlari zarurdir.

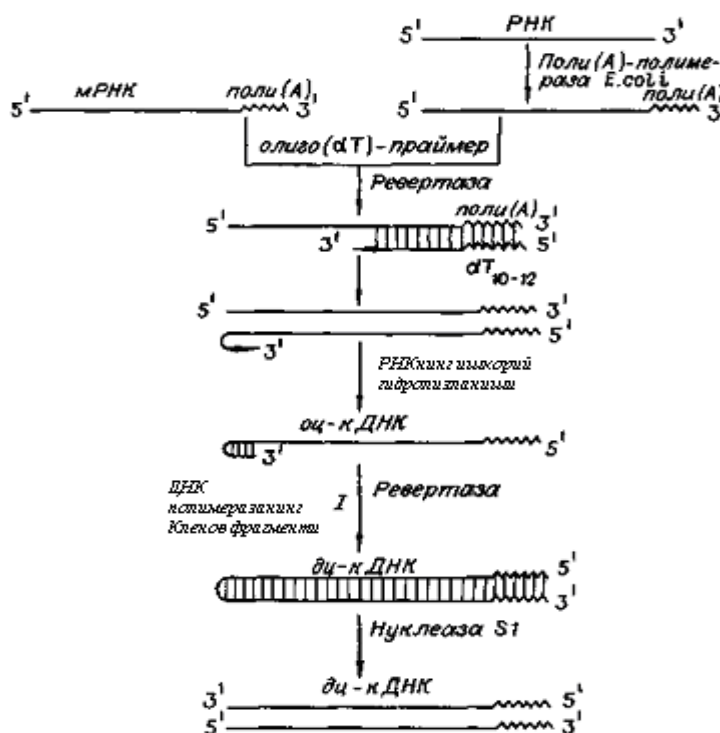
Hozirga kelib 500 dan ortiq 2- sinf restriktazalari ajratib olingan. Shunga qaramay turli mikroorganizmlardan ajratib olingan fermentlar ichida DNKni muayyan bir ketma-ketligini taniydigan fermentlar uchraydi. Bunday juftliklar yoki guruhlar **izoshizomeralar** deb ataladi. Agar fermentlar DNKni muayyan bir ketma-ketligini tanisa va DNK muayyan bir nuqtada kesadigan bo'lsa haqiqiy izoshizomeralar, hamda DNKning bitta saytini tanib, lekin o'sha saytning turli nuqtalarini kesadigan bo'lsa, soxta izoshizomeralar deyiladi.

Qaytar transkriptaza m-RNKni DNKning komplementar zanjiriga transkripsiyalash uchun ishlatiladi. Genomi bir zanjirli RNK molekulalaridan iborat bo'lgan retroviruslar o'rganilganda retrovirus ichki hujayraviy rivojlanishi jarayonida hujayra ho'jayin xromosomasiga 2 zanjirli DNK ko'rinishida o'z genomining integratsiya bosqichini bosib o'tishi aniqlangan. 1964 yili Temin RNK-matritsada komplementar DNKni sintezlovchi ferment borligini aniqlagan. Ushbu RNKga bog'liq **DNK-polimeraza** qaytar transkriptaza yoki revertaza deb nomlangan.

Qaytar transkriptaza reaksiyasini RNK faollikka ega bo'lgan kuchli ingibitorlardan foydalangan holda maxsus sharoitlarda olib boriladi. Bunda RNK molekulalarining to'liq hajmli DNK-nusxalari olinadi. Praymer sifatida poli (A)-tutuvchi mRNK ning qaytar transkripsiyasida oligo (dT), Z'-poli (A) uchiga ega bo'lmagan RNK molekulalari uchun esa kimyoviy sintezlangan oligonukleotidlar

ishlatiladi. mRNKda DNKning komplementar zanjiri sintezlangandan va RNK buzilgandan keyin DNKning 2 zanjiri sintezlanadi.

Matritsa sifatida kDNKning birinchi zanjiri bo'lishi mumkin. Bu reaksiya revertaza singari *E.Coli*ning DNK-polimerazasi yordamida katalizlanishi mumkin. Sintez tugagandan so'ng kDNKning 1- va 2-zanjirlari shpilka tuguni bilan kovalent bog'langan holda qoladi. Bu tugun endonukleaza S1 bilan parchalanadi. Hosil bo'lgan ikki zanjirli DNKni klonlanayotgan vektorlarga kiritish, DNKning gibrid molekulalari tarkibida ko'paytirish va keyingi tadqiqotlarda ishlatish mumkin.



RNK molekulasining ikki zanjirli DNK- nusxasini sintezlash sxemasi

Ligazalar. 1961 yili Mezelson va Veygl fag I misolida rekombinatsiyaning mohiyati DNK molekulalarining kesilishi va keyinchalik birlashishidan iboratligini ko'rsatganlar. Bu DNK fragmentlarini tikilishida qatnashadigan fermentlarni topishga sabab bo'lgan. 1967 yili bunday ferment topilgan va ular DNK-ligazalar deb nomlangan. Bu ferment nuklein kislotaning 2 zanjirli molekulasidagi fosfodiefir bog'ni katalizlaydi. Boshqacha aytganda, DNK-ligazalar yonma-yon joylashgan nukleotidlarni qand qoldiqlari aro bog' hosil qilib birlashtiradi. DNK-ligazalar DNK reparatsiyasi jarayonlarida, replikatsiyada juda kerakdir.

DNK-ligazalar kofaktorga bo'lgan zaruriyati va ta'sir qilish xususiyatiga qarab 2 tipga ajratiladi. *E.coli* ning DNK-ligazasi kofaktor sifatida difosfopiridin nukleotid, T4- fagining ligazasi esa Mg^{2+} ishtirokida ATF ni ishlatadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Genetik axborot tashilishiga mas'ul molekulyar mexanizmlarni tushintiring?
2. Transkriptsiya va translyatsiya jarayonlarini gen injenerligidagi ahamiyati?
3. DNK sintezi- replikatsiyaning gen injenerligidagi ahamiyati?
4. Genlarning tuzilishi: intronlar va ekzonlarga ta'rif bering?
5. Restriktazalar va ularni tavsiflang?
6. Ligazalar va ularni tavsiflang?
7. Izomerazalar va ularni tavsiflang?
8. Ingibitorlar nima?

3-Ma'ruza

Mavzu: Rekombinant DNK konstruksiyalarini yaratishda asosiy vektorlar

Reja:

1. *In vitro* sharoitida genetik rekombinatsiyani amalga oshirish
2. Bakteriya hujayralariga DNKni kiritish metodlari
3. Bakteriya hujayrasiga rekombinant DNKni ekspressiya qilinishi.
4. Ichak tayoqchasi hujayralarida inson insulinini biosintezlash.
5. Ichak tayoqchasi hujayralarida inson o'sish gormonini biosintezlash.

Tayanch iboralar: rekombinasiya, gibrid molekulalar, vektorlar, plazmidalar, bakteriofaglar, genlar ekspressiyasi, somatotropin, interferon, insulin.

Genetik rekombinatsiya – ikki xromosomalararo genlarning almashinuvidir. Pontekorvoning 1958 yilda bergan ta'rifiga ko'ra, rekombinatsiya – 2 yoki undan ortiq determinant irsiy belgilarga ega bo'lgan hujayra yoki organizmlarning hosil bo'lishga olib keladigan jarayondir. Bunday rekombinatsiya sut emizuvchilarda jinsiy hujayralarning hosil bo'lishida albatta ro'y beradi. Meyoz vaqtida gomologik xromosomalar genlar bilan almashinadi (krossingover); aynan ana shu almashinuv orqali irsiy belgilarni avloddan-avlodga o'tishini tushuntirish mumkin. Virus va bakteriyalarda genetik rekombinatsiya hayvonlarga nisbatan kamroq bo'ladi. Genetik materialning almashinuvi, undan keyin sodir bo'ladigan rekombinatsiya bir yoki bir-biriga yaqin turlarda ro'y beradi.

Barcha tirik organizmlarda restriksion endonukleazalar mavjud bo'lib, ular organizmga kirgan yot DNKni taniydi va uni parchalaydi.

Genlar almashinuvi yoki genni hujayraga kiritish *In vitro* sharoitidagi genetik rekombinatsiya orqali amalga oshirilishi mumkin. Bu usul bakteriyalarda, xususan, ichak tayoqchasi hujayralariga hayvon va odam genlari kiritilib, ular replikatsiyalanishiga erishish natijasida ishlab chiqilgan.

In vitro sharoitida genetik rekombinatsiyani amalga oshirishning mohiyati turli turlardan DNKni ajratish, DNKning gibrid molekulalarini olish va hosil bo'lgan rekombinant molekulalarni yangi belgi, masalan, o'ziga xos oqsilni sintezini hosil qilish maqsadida tirik hujayralarga kiritishdan iboratdir (rasm)

Genni ajaratib olish uchunbiokimyoviy metodlardan foydalaniladi. Hayvon hujayralarida mRNK transkriptsiyasi hujayra yadrosida sodir bo'ladi: mRNK

molekulalari informatsiyani yadrodan sitoplazmaga tashiydi, (bunda ular oqsillar translyatsiyasi uchun ishlatiladi). Bakteriya hujayralarida esa transkripsiya va translyatsiya bir vaqtda va uyg'unlashgan holda ro'y beradi: mRNK ribosomalar bilan bog'langan. Ribosomalar translyatsiya jarayonida va hayvon hujayralarida muhim rol o'ynaydi.

DNK molekulasi oqsil strukturasi haqidagi axborotdan tashqari bir qator boshqaruvchi signallarga ham ega. Bu signallar transkripsiya va translyatsiya uchun boshlang'ich nuqta hisoblanadi. Hayvon hujayralarida oqsil strukturasi to'g'risidagi axborot DNKning bir nechta segmentida, ya'ni DNK qismlari bilan ajralgan segmentlarida (intronlar deb nomlanadi) kodlanishi mumkin.

Bakteriya hujayralariga DNKni kiritish 2 usulda amalga oshiriladi:

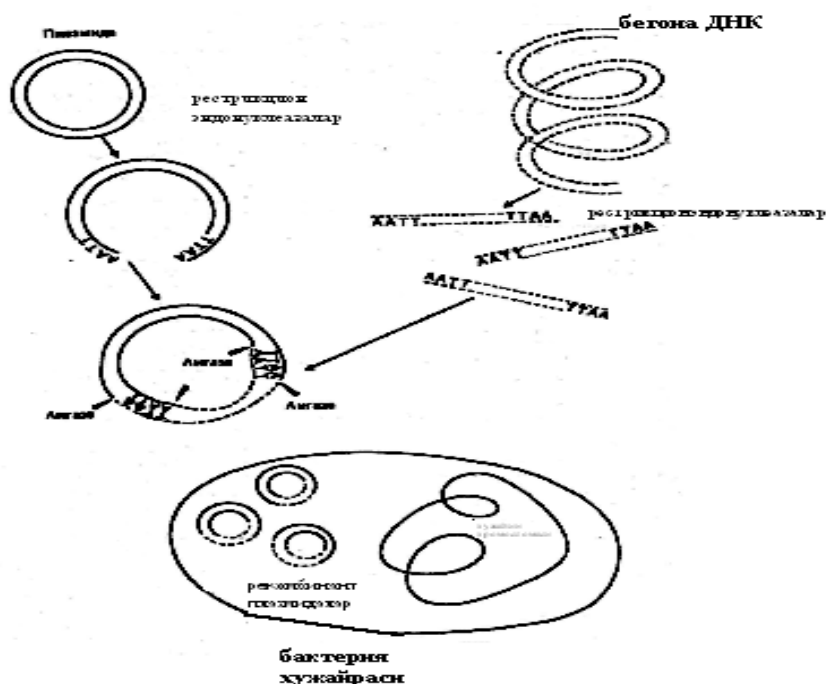
1. Vektor sifatida plazmidadan foydalanish
2. Vektor sifatida bakteriofagdan foydalanish.

1950 yilning boshlarida Lederberg *E.coli* da kon'yugatsiya jarayoni ro'y berishini ko'rsatib bergandan so'ng bakteriya hujayralarining "qo'shilishi" genetik belgilangan va bu genetik informatsiya ota tipidagi hujayradan ona tipidagi hujayraga yoki retsipient hujayraga o'tishi aniqlangan. Kon'yugatsiya paytida hujayralarning donorlik qilishi (yoki F -hosildorlik omili) boshqa istalgan genetik belgiga nisbatan kam uchraydi. G'-omil donor hujayraning istalgan ma'lum genidan mustaqil ravishda uzatila oladi. Lederberg ushbu G'-omil yuqori organizmlar sitoplazmasida uchraydigan xromosomadan tashqari genetik elementga o'xshashligini ta'kidlaydi. 1952 yilda xromosomadan alohida joylashgan genetik sistemalarni umumiy nom – **plazmidalar** deb atash qabul qilingan.

Plazmidalar bakteriyalarning deyarli barcha turlarida uchraydi. Plazmidali shtamm plazmidasiz variantlarni tiklaydi. Bunday holatlarda plazmida butunlay yo'qoladi va hujayra uni regeneratsiya qila olmaydi. Buni faqatgina boshqa bakteriyaning hujayrasidan olish mumkin.

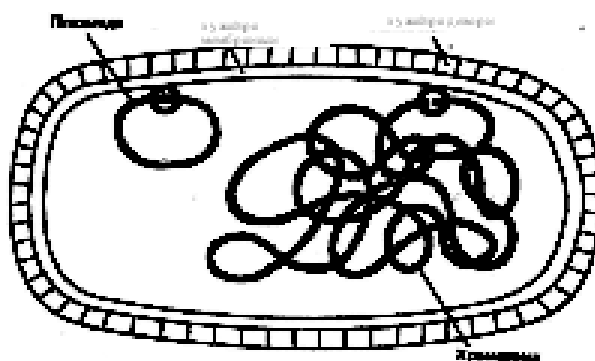
Plazmidalar DNKning halqasimon molekulalari bo'lib, bakteriya hujayralari genomini 1-3 %ini tashkil qiladi. Irsiy apparatning shu kam qismining o'zi odatda bakterial xromosoma kodlamaydigan muhim genetik belgilarni kodlaydi. Masalan, ular bakteriya hujayralarini kon'yugatsiyalash uchun kerakli informatsiyani saqlaydi. Ular hujayraning oziqa manbai sifatida ko'plab murakkab birikmalarni sarflashi uchun yordam beradi, hamda turli toksik agentlarga nisbatan, ayniqsa antibiotiklarga, chidamliligini ta'minlaydi. Masalan, stafilokokk plazmidalari penitsillin, letal holatga keluvchi simob va bir qator og'ir metallarga chidamli genlarni tashiydi. *E.coli*ning R-plazmidalari tarkibida ham og'ir metallarga chidamli genlar topilgan. *Bacillus thuringiensis* hujayralarida insektitsid sintezini boshqaradi. Bakteriya hujayralariga begona genlarni plazmidalar yordamida kiritish 1975 yildan boshlab ularning strukturasi va replikatsiya harakterini aniqlash uchun turtki bo'ldi.

Hujayrada plazmidalar soni 1 va 100 ortiq bo'lishi mumkin, plazmida qanchalik katta bo'lsa, uning hujayradagi nusxasi shunchalik kam bo'ladi.



Odatda plazmidaning replikatsiyasi xromosoma replikatsiyasiga bog'liq bo'lmaydi.

Bakteriya hujayralarining kon'yugatsiyalanishi vaqtida xromosomadagi genlari bilan almashina olmaydigan ikki bakteriyalararo plazmidalar almashinishi mumkin. Bunday almashinuv o'sish va konkurentsia davomida plazmidadagi genlarning o'zaro almashinuviga olib keladi. Natijada retsipient hujayralar donor hujayralar hisobiga tirik qoladi.



Вектор sifatida bakteriofagdan foydalanib genni kiritish metodida gen virus genomiga joylashtiriladi va u bakteriya hujayrasida virus genomini ko'payishi davomida gen virusi bilan birga replikatsiyalanadi.

Бактерија хужайрасига рекомбинант ДНКни експрессија қилиниши.

Бактерија хромосомасининг узунлиги 1 мм атрофида бўлиб, у тахминан 3 млн нуклеотидлардан иборат ДНК молекуласидан тuzilgандир; у хужайрада бир неча минг марта зич joylashgan ва 1 мкм maydonni egallaydi. Inson hujayrasi

DNKsi 46 ta xromosomada tuzilgan, ularning har birining uzunligi taxminan 4 sm, nukleotidlar soni esa 3 mlrdga yaqindir. Restriksion endonukleazalar DNK molekulasini ma'lum bir nuqtalarda parchalaydi, natijada bir necha yuzdan bir necha minggacha nukleotidli fragmentlar hosil bo'ladi. Har bir restriktazalar DNKnini o'ziga xos ravishda parchalaydi.

Bakteriya hujayrasiga genlarni ekspressiya qilish uchun hayvonlarning o'ziga xos oqsil (masalan, insulin) ishlab chiqaradigan maxsus hujayrasidan ushbu oqsilni kodlaydigan mRNK ajratib olinadi. So'ng qaytar transkriptaza yordamida mRNKga komplementar DNK ipi sintezlanadi. DNK nusxasiga komplementar bo'lgan ikkinchi ip DNK-polimerazalar yordamida ajratiladi. Keyingi bosqichda qo'sh ipli DNKnusxasi transferaza fermenti ishtirokida plazmidaga kiritiladi. Transferaza DNK uchlarida nukleotidlarning qisqa ketma-ketligini tiklaydi. So'ng plazmidaning maxsus joyi restriksion endonukleaza bilan parchalanadi. Plazmidada parchalangandan keyin uning uchlari transferaza yordamida guanin qoldig'i bo'lgan 4 ta nukleotid joylashtiriladi. Shundan so'ng hosil bo'lgan 2 ta DNK molekulalarining uchlari nukleotidlar ketma-ketligi o'zaro ta'sirlashishi hisobiga birikadi; bakterial ferment – DNK-ligaza yordamida kiritilayotgan DNK va plazmidada DNKsi tikiladi. Hosil bo'lgan yangi halqasimon plazmidada rekombinant DNKga ega bo'ladi.

Ma'lumki, hozirgi paytda insonlar orasida diabet kasalligi ko'p uchraydi va uning bir necha ko'rinishlari mavjuddir. Insulin yordamida davolanadigan formasi ushbu gormonni sintezlaydigan hujayralarning tanlab nobud bo'lishi bilan bog'liqdir. Diabetning insulin talab qilinmaydigan ko'rinishi esa tegishli dieta yordamida davolanadi.

1921 yili Torontoda Banting va Best itning oshqozon osti bezidan gormon ajratib olishgan va uning antidiabetik xususiyati borligini aytib o'tishgan. 1922 yili hayvondan ajratib olingan insulin kasallangan yosh bolaga yuborilgan va kutilgan natijaga erishilgan. Shundan so'ng insulin ko'p miqdorda ishlab chiqarila boshlangan.

Insulinning birinchi kristallari 1952 yilda olingan, keyinchalik uni tozalash metodlari takomillashtirilib, boshqa gormonal moddalar (masalan, glyukagon – insulin va somatostinni antagonist) ham olinib boshlangan. Gilbert va uning shogirdlari insulin mRNKsini kalamush oshqozon osti bezidagi β -hujayrasining o'smalaridan ajratib olishgan. Buning uchun mRNKning DNKnusxasini rBR322 *E.coli* plazmidasiga genning o'rta qismiga penitsillinaza joylashtiriladi. Hosil bo'lgan DNKning ketma-ketligi aniqlanganda, uning rekombinant plazmidasi proinsulin struktura to'g'risidagi axborotga egaligi ma'lum bo'lgan. Ichak tayoqchasi hujayralarida mRNK translyatsiyasi jarayonida penitsillaza va proinsulin ketma-ketligini tutgan gibril oqsil sintezlangan. Oqsil tarkibidan tripsin yordamida gormon ajratib olingan. Ushbu yo'l bilan olingan molekulalar ham oshqozon osti bezidan ajratib olingan gormon singari qand almashinuviga ta'sir qilgan.

Insonning o'sish gormoni yoki somatotropin, gipofizning old bo'lmasidan sekretsialanadi. Bu gormonning yetishmasligi natijasida insonda gipofizar pakanalik kelib chiqadi. 4-5 yoshli bolalarga gormonni in'ektsiyalash bilan

kasallikni tuzatish mumkin. Ilk marta somatotropin murdadan olingan va uni yetarlicha olish imkoni bo'lmagan.

Maxsus konstruksiyalangan bakteriya hujayralarida sintezlanadigan o'sish gormonini bir necha afzalliklarga egadir, ya'ni bu yo'l bilan gormonni ko'p miqdorda olish mumkin, uning preparatlari bioximik toza va viruslardan holidir.

Somatotropinni (191 ta aminokislota qoldig'idan iborat) olish uchun birinchi bosqichda mRNK qo'shipli DNK nusxasi klonlanadi va restriksion endonukleazalar yordamida parchalanib gormonning birinchi 23 ta aminokislotasidan tashqari barcha aminokislotalarni kodlaydigan ketma-ketlik hosil qilinadi. So'ng 1 dan 23 gacha aminokislotaga mos keladigan sintetik polinukleotid klonlanadi. 2 ta fragment bir-biri bilan birlashtiriladi va ribosomalarni birlashadigan uchastkasiga joylashtiriladi. Olinadigan gormon miqdori 1 ml kulturaga 2,4 mkg to'g'ri keladi. Bakteriyalarda sintezlangan gormon kerakli molekulyar massaga ega bo'ladi va boshqa bakterial oqsillardan xoli bo'ladi.

Qon hujayralari va fibrioblastlarda interferonning hosil bo'lishi. Kulturalarda o'stiriluvchi va interferon hosil qiluvchi hujayralarning barcha tipi uchun interferon olish jarayoni deyarli bir xil. Hujayralar Senday virusi bilan zararlantiriladi va 24 soatdan so'ng sentrifugalanadi: cho'kma usti suyuqligidan interferonning "dag'al" preparati olinadi va tozalanadi. 2 l qon qayta ishlanganda 4 mln birlikdagi interferon olinadi. Deyarli o'tgan 10 yil davomida interferon ishlab chiqarishning katta qismi Xelsinkidagi sog'lomlashtirish markazi laboratoriyasiga to'g'ri kelib, bu yerda Kandell sog'lom donorlar qoni leykotsitlaridan interferon olish metodini takomillashtirdi. Bu laboratoriya leykotsitar interferon ishlab chiqarish bo'yicha lider bo'lib, yiliga 400 mlrd interferon ishlab chiqarilgan.

1960 yilning boshlaridan boshlab, Shani sog'lomlashtirish va meditsina ilmiy tekshirish milliy instituti, INSERM, Parijdagi Sent-Vinsent-de-Pol klinikasi) Paster Instituti bilan hamkorlikda interferon olishning yarim masshtabda ishlab chiqarishni yo'lga qo'ydi. 1980 yilning martida ushbu muammo ilmiy tekshirish institutlarining milliy markazlari, INSERM, Paster instituti va universitetlarining olimlari tomonidan konferentsiyada muhokama qilindi. IIP firmasi va qon quyish markazi (leykotsitlar bilan ta'minlaydi) interferonning ishlab chiqarish metodini takomillashtirdi va interferonni ko'p miqdorda hosil bo'lish yo'llarini aniqladi. Yarim yil ichida IIP 26000 donordan olingan qondan 48 mlrd birlik interferon olishga erishilgan va Frantsiya, Yevropada interferon ishlab chiqarish bo'yicha 2-o'rinni egalladi. 1980 yil oxiriga kelib, IIP va sog'liqni saqlash vazirligi o'rtasida interferonni sinash bo'yicha shartnoma tuzilib, unga ko'ra interferonning viruslarga va o'smalarga qarshilik xususiyati tekshirilib ko'rildi va uni ko'p miqdorda ishlab chiqarish yo'lga qo'yilishi belgilandi. Interferonning ishlab chiqarilishi yiliga 100 mlrd birlikgacha orttirilib (200 kasalni davolashga yetarli), uning 80 mlrd birligi klinikalarning markaziy dorixonalari tomonidan sotib olingan, qolgan qismi esa ilmiy-tekshirish institutlariga yuborilgan.

1982 yilning iyulida interferonning zahirasi 70 mlrdgacha borgan bo'lib, undan faqat 20 mlrd ishlatilgan. IIP va qon quyish markazi instituti ishlab

chiqarishni to'xtatishga majbur bo'ldi, chunki mahsulot sarflanmay qoldi va uni eksport qilish zarurati tug'ildi. Oyiga 2 mlrd leykotsitar interferon ishlatiladi. Biroq sog'liqni saqlash vazirligining 1982 yil iyul oyidagi qarori preparat ishlab chiqarishni to'xtatish vaqtinchalik ekanligi aniqlandi.

Nazorat uchun savollar:

1. *In vitro* sharoitida genetik rekombinatsiyani amalga oshirishni tushintiring?
2. Bakteriya hujayralariga DNKni kiritish metodlari haqida tushuncha bering?
3. Bakteriya hujayrasiga rekombinant DNKni ekspressiya qilinishi tushintiring?
4. Ichak tayoqchasi hujayralarida inson insulinini biosintezlash haqida tushuncha bering?
5. Vektor nima?
6. Plazmida nima?
7. Bakteriofag nima?

4- Ma'ruza

Mavzu: O'simlikshunoslikda gen muhandisligi

Reja:

1. O'simlik hujayralariga genlarni kiritish.
2. Transgen o'simliklarga genetik materiallarni ekspressiyasi.
3. Transgen o'simliklarning yaratilishi va ahamiyati.
4. Virus genlarini joylashtirish va ko'chirish

Tayanch iboralar: agrobakteriyalar, mikrozarachalar, vektorlar, gen ekspressiyasi, plazmidalar, protoplastlar, regenerasiya, retroviruslar, hayvon hujayralari.

O'simlik hujayralariga genlarni kiritish

O'simlik hujayralariga genlar turli usul bilan kiritiladi:

Ikki pallali o'simliklar uchun tabiiy vektor, ya'ni agrobakteriyalar plazmidasi mavjuddir. Bir pallali o'simliklar uchun ham ushbu usuldan foydalaniladi, lekin bu usul ozroqqiyinchiliklar tug'diradi.

Agrobakteriyalarga nisbatan chidamli bo'lgan o'simliklarda esa genlar bevosita fizik yo'l bilan kiritiladi. Bular: mikrozarachalar bilan «xujum» qilish yoki ballistik metod; elektroporatsiya, polietilenglikol bilan ishlov berish; DNKni liposoma tarkibida o'tkazish va b.

Eng qulay metod mikrozarachalar bilan «hujum» qilish metodi hisoblanadi. Yuqori tezlikda zarachalar yadroga bevosita kirib, transformatsiya samaradorligini oshiradi. Shu usul bilan DNKga ega bo'lgan hujayraning boshqa organellalari – xloroplastlar va mitoxondriyalarni ham transformatsiyalash mumkin.

Oxirgi vaqtlarda kombinatsiyalangan transformatsiya metodi – agrolistik metodi ham yaratilib, amalda qo'llanilmoqda. Bunda begona DNK to'qimaga biror-bir fizik yul, masalan ballistik yo'l bilan kiritiladi. Kiritilayotgan DNK da T-DNK vektor va marker geni, hamda virulentlikning agrobakterial geni bo'lishi

kerak. O'simlik hujayrasida virulentlik genini vaqtinchalik ekspressiyasi oqsillar sinteziga olib keladi. Bu oqsillar plazmidadan T-DNKni to'g'ri kesib, uni agrobakterial transformatsiyadagi singari ho'jayin genomiga joylashtiradi. So'ng *in vitro* da tarkibida hujayralarning ko'payishi uchun zarur bo'lgan fitogormonli oziqa muhitiga ekiladi. Oziqa muhitida odatda transgen o'simliklar chidamlilikka erishishi uchun selektiv marker bo'lishi kerak.

Regeneratsiya ko'proq kallus bosqichidan so'ng ro'y beradi. So'ngra muhit to'g'ri tanlay olinsa organogenez boshlanadi. Unib chiqqan kurtaklar ildiz berishi uchun boshqa muhitga o'tkaziladi.

Transgen o'simliklarga genetik materiallarni ekspressiyasi.

Olimlar o'simlik hujayrasiga begona genlarni kiritishda bo'yicha olib borgan tadqiqotlarida yangi hodisalarga guvoh bo'lganlar. Aniqlanishicha, bir tajribaning o'zida bir xil DNK konstruksiyasi bilan transformatsiyalangan transgen klonlar kiritilayotgan gen ekspressiyasi bo'yicha farqlanar ekan. Ekspressiya darajasi ko'pgina omillarga bog'liq bo'lib, u ayniqsa kiritilayotgan genning yadro xromatinini qaysi qismiga tushishiga bog'liq ekan. Bundan tashqari, yadro genomiga DNK konstruksiyalanganda bir qancha o'zgarishlarga uchraydi (duplikatsiya, inversiya va b.) va bu ekspressiyaning pasayishiga olib keladi. Yana aniqlanishicha, qo'llanilayotgan transformatsiya protseduralari xo'jayin genomi uchun ham befarq emasdir.

Birinchidan, transgenni joylashishi qaysidir xo'jayin genini birlamchi strukturasini buzishi bilan birgalikda uni inaktivatsiyalaydi.

Ikkinchidan, o'simlik genomiga genlar agrobakterial yoki fizik o'tkazilganda turli ko'rinishdagi qayta tuzilishlar, hatto xromosoma fragmentlarining translokatsiyasigacha kuzatiladi. Bularning barchasi o'simlik genomini normal faoliyat ko'rsatishini o'zgartiradi.

O'simlikka kerakli genni tutuvchi Ti-plazmida ketma-ketligini kiritishning 2 xil metodi yaratilgan:

1-metod — «oraliq vektorlar» metodi (kointegrativ vektorlar) — pBR 322 ichak tayoqchasidan foydalanishga asoslangan (rasm).

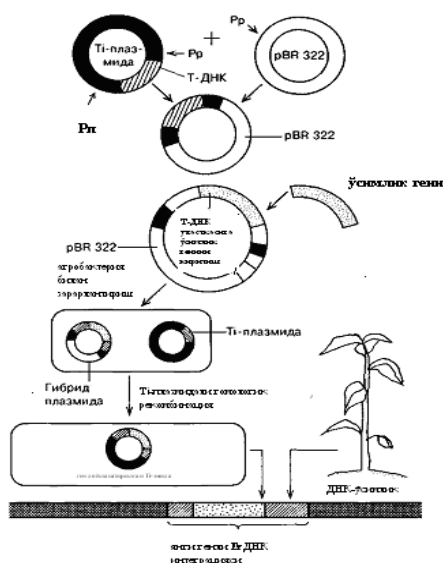
Ti-plazmidadan T-DNK restriktazalar yordamida kesiladi va *Ye. soli* da klonlash uchun pBR 322 plazmidasiga joylashtiriladi. T-DNK plazmidali bakteriyalar ko'paytiriladi va plazmida ajratib olinadi. So'ngra klonlangan T-DNKga restriktaza yordamida kerakli gen joylashtiriladi. Hosil bulgan T-DNKli rekombinant molekula yana bir bor katta miqdorda ko'paytiriladi, ya'ni ichak tayoqchasida klonlanadi. Shundan keyin kon'yugatsiya yordamida to'liq Ti-plazmidani tashuvchi agrobakteriya hujayrasiga kiritiladi. Nativ Ti-plazmidasining T-segmentlari va oraliq vektorlar o'rtasida gomologik rekombinatsiya ro'y beradi. Buning natijasida gen joylashtirilgan T-DNK normal DNK o'rniganativ Ti-plazmidaga kiradi. T-segmentga kerakli genlar joylashgan Ti-plazmidani tashuvchi *A. Tumefaciens* hujayralari hosil bo'ladi. Ularning navbatdagi ko'chirilishi agrobakteriyalarga xos bo'lgan oddiy yo'l bilan amalga oshiriladi.

Ikkinchi metod binar (qo'sh) vektorlar sistemasini yaratishga asoslangan.

Oxirgi tadqiqotlardan ma'lum bo'lishicha, zararlash va transformatsiya uchun yaxlit Ti-plazmida kerak emas, balki T-DNK ning chekka uchastkasi va Ti -

plazmidaning virulentlikka javobgar bir uchastkasining o'zi yetarlidir. Bu ikkala uchastka bir plazmidada bo'lishi ham shart emas. Agar agrobakteriyada vir segmentli Ti-plazmidada va T-DNKli boshqa plazmidada bo'lsa, bu bakteriyalar o'simlik hujayrasini transformatsiyalashi mumkin. Bunday holda istalgan gen joylashtirilgan T-DNK o'simlik genomi bilan integratsiyalanadi. Buning uchun bakteriya hujayralarida gomologik rekombinatsiya sodir bo'lishi kerak emas. Begona genlar ekspressiyasi uchun T-DNKning maxsus promotori, masalan nopalinsintetaza promotori kerakdir.

O'simlik hujayrasiga konstruksiyalangan Ti-plazmidani kiritishning bir nechta metodlari bor. Bulardan eng oddiy tabiiy usul –



Ti-plazmidada asosida kointegrativ vektorni yaratilishi. Rp - restriktaza 1rdamida parchalanish konstruksiyalangan shtammlarni o'simlikning zararlangan qismiga kiritishdir.

Boshqa metod – protoplastlarni agrobakteriyalar bilan kokultiva-tsiyalash yo'li bilan transformatsiyalash. Agrobakteriyalar yangi ajratib olingan yoki bir kunlik protoplastlarga qo'shilsa, bakteriyalar birlashmaydi ham, transformatsiyalanmaydi ham. Transformatsiyalash uchun 3 kunlik protoplastlarda hujayra devori qaytadan hosil bo'lgan bo'lishi kerak. Bu hol hujayra devorini hosil qiluvchi va bakteriyalarni birlashtiruvchi ingibitorlarni qo'shish bilan isbotlangan. Kokultivatsiyalash davri (bu davrda protoplastlar agrobakteriyalar bilan agregatsiyalanadi), ya'ni bir sutkadan ortiq vaqtdan so'ng birlashmagan bakteriyalar qayta yuvish bilan olib tashlanadi. So'ng o'simlik hujayralari gormonlar qo'shilgan muhitda o'stiriladi. 3-4 haftadan so'ng koloniyalar gormonsiz muhitga o'tkaziladi. Bu muhitda faqatgina transformatsiyalangan hujayralarning koloniyalari o'sadi. Shunday usul bilan tamaki va petuninning transformatsiyalangan o'simlik-regenerantlari olingan.

Oxirgi 10 yil mobaynida tashqi bozorda yangi xususiyatlarga ega bo'lgan **transgen o'simliklar** chiqa boshladi. 1996 yili AQShda transgen o'simliklar

egallagan maydon 3 mln. akr bo'lsa, 2002 yilga bu maydon 80 mln akrga yetdi. Asosiy transgen o'simliklar: jo'hori, soya, gerbitsid va hashorotlarga chidamli g'o'zalardir.

Kundan-kunga aholi soni ortib borayotgani sababli insoniyat oldida muhim bir muammo, oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish masalasi turibdi. Yana bir muammo, bu tibbiy davolashdir. Bularni transgen o'simliklar yaratish bilan hal qilish mumkin.

Gen injenerligi yordamida qishloq ho'jaligi uchun quyidagi o'simliklar yaratish uchun takliflar kiritilgan:

1. Hashorotlarga chidamli o'simliklarni yaratish. Ularni yaratish uchun o'simliklarning genomiga *Basillus thuringiensis* (bu mikroorganizm hashorotlar organizmida rivojlanib tangaqanotlilarda kasallik keltirib chiqaradi, odamlarga ta'sir qilmaydi)dan ajratib olingan toksin geni kiritiladi. Toksinni sintez qiladigan o'simliklar ayrim zararkunandalarga nisbatan chidamli bo'ladi. Bularning bari dalalarda pestitsidlarni ishlatishni va atrof-muhit ifloslanishini kamaytiradi.

2. Oziq-ovqat mahsulotlarini sifatini yaxshilash. Ma'lumki, qishloq ho'jaligi ekinlarining hammasining tarkibida ham almashmaydigan aminokislotalar va vitaminlar yetarli miqdorda bo'lmaydi. Bularning o'rnini to'ldirish uchun o'simliklarga vitamin yoki aminokislotalarni sintezlaydigan genlar kiritiladi. Hozirda tarkibida karatinoid ko'p bo'lgan transgen guruch va oqsilga boy soya o'simligi olingan.

3. Tovar sifatini yaxshilash. Gullarga pigment sintezlovchi genlar kiritilib ajoyib rangli gullar yoki oqsillarni fluorestsentsiyalovchi genlarni kiritib qorong'uda nur beruvchi dekorativ o'simliklar olingan.

4. Gerbitsidlarga chidamli o'simliklarni yaratish.

5. O'simliklarning chidamliligini oshirish. Ma'lumki, ayrim baliq va hashorotlar gidrofil oqsillar ajratadi. Bu oqsillar geni issiqsevar o'simliklarni sovuqqa chidamli qilish uchun ularga kiritiladi.

Nazorat uchun savollar

- 1.O'simlik hujayralariga genlarni kiritish haqida tushuncha bering?
- 2.Transgen o'simliklarga genetik materiallarni ekspressiyasi haqida tushuncha bering?
- 3.Transgen o'simliklarning yaratilishi va ahamiyati?
- 4.Virus genlarini joylashtirish va ko'chirish haqida tushuncha bering?

5- Ma'ruza

Mavzu: Hujayra va to'qimalar kulturas

Reja:

1. Hujayralar biotexnologiyasi.
2. O'simlik hujayra va to'qimalarini in vitro kulturlash texnikasi.
3. Oziqa muhitlar.
4. Kulturalash sharoiti.

Tayanch iboralar: o'simlik hujayralari, sun'iy oziqa, alkaloidlar, steroidlar, glikozidlar, gormonlar efir moylari, ekish materiallarini sog'lomlashtirish, to'qimalar kulturasida, kallus to'qimalari, meristema, klonli mikroko'paytirish, in vitro morfogeneza, regenerasiya.

Hujayralar biotexnologiyasi hujayralarning in vitro sharoitida yashash, ko'payish va regeneratsiyalanish xususiyatlariga, hamda ularning totipotentligiga asoslanadi. Ajratilgan to'qimalarni steril sharoitida, sun'iy oziqa muhitlarida in vitro kulturalash usuli biotexnologiyada qimmatli genotiplarni saqlash, ko'paytirish, ularning embriogeneza amalga oshirish va ekish materiallarini sog'lomlashtirish maqsadlarida keng foydalaniladi. Biotexnologiyada ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasida rolini uchta yo'nalishda ko'rish mumkin.

Birinchi yo'nalish – ajratilgan o'simlik hujayralarining tibbiyot, parfyumeriya (attorlik), kosmetika va sanoatning boshqa tarmoqlari uchun ikkilamchi sintez moddalar: alkaloidlar, steroidlar, glikozidlar, gormonlar efir moylari va boshqa moddalarni sintez qilish xususiyati bilan bog'liq. Ikkilamchi sintez moddalar qattiq (agarli) yoki suyuq (suspensiyali kultura) oziqa muhitlarida o'stirilgan kallus to'qimalaridan olinadi. Hujayralar texnologiyasi asosida foydali o'simliklar hujayralaridan quvvatni oshiruvchi va tetiklashtiruvchi moddalar olinib, ular tibbiyot va attorlikda keng qo'llaniladi. Hujayralar selektsiyasi natijasida olingan hujayralar kulturasining mahsuldorligi yaxlit o'simliklar mahsuldorligidan yuqori bo'lishi mumkin. Bunday usulda ikkilamchi sintez moddalar olishning afzalligi shundaki, bizning tabiiy sharoitimizda o'smaydigan o'simliklardan butun yil mobaynida mahsulot olish mumkin.

Ikkinchi yo'nalish–ajratilgan to'qimalar kulturasidan ekish materiallarini virusdan holi qilish va ko'paytirishda foydalanish. Bu usul o'simliklarni klonli mikroko'paytirish usuli deb ataladi va bir yilda bitta meristemadan yuz minglab o'simliklar olish imkonini beradi.

Uchinchi yo'nalish–ajratilgan hujayralardan o'simliklar selektsiyasida foydalanib, tez rivojlanuvchi, turli tashqi omillar ta'siriga qurg'oqchilik, sho'rlanish, past va yuqori harorat, fitopatogenlar, og'ir metallar va boshqalarga chidamli tez rivojlanuvchi o'simliklardan foydalanish.

Shuningdek, bu yo'nalish orqali ajratilgan protoplastlarni qo'shish va jinssiz (somatik) duragaylar olish yo'li bilan yangi o'simliklar yaratish ishlarini ham amalga oshirish mumkin. Gen muxandisligi usullari yordamida ajratilgan protoplastlarga yot genlarni kiritish kelajakda yangi xususiyatli o'simliklar olish imkonini beradi. Ajratilgan changdon va urug' kurtaklarni sun'iy oziqa muhitida kulturalash orqali gaploidlar olish, puch, unmaydigan (endosperi yaxshi rivojlanmagan) duragay urug'lardan o'simliklar olishga erishish mumkin. Probirkada chatishtirish orqali esa ba'zi o'simliklarning o'zaro chatishmasligini yengish mumkin. Hujayra va to'qimalar kulturasidan foydalanishda muvaffaqiyatga erishish uchun, avvalombor hujayralarning

normal bo'linishi, differentsiyalanishi va regeneratsiyalanib, ulardan yetuk o'simlik hosil bo'lishi kabi fiziologik jarayonlarni optimallashtirish zarur.

Alohida hujayralardan o'simlik regeneratsiyalash ancha murakkab jarayondir. Ayniqsa donli ekinlarda bu ishni amalga oshirish ancha qiyin. Shuning uchun in vitro morfogenezi, regeneratsiya va ular asosida yotuvchi jarayonlar mexanizmini aniqlash muhim ahamiyatga ega.

O'simlikdan alohida ajratilgan to'qimalarni kulturalashga ancha yillardan buyon harakat qilib kelingan va bu usulning rivojlanish tarixi bir necha bosqichlarni o'z ichiga oladi.

I- bosqich (1882 –1902 yillar) G.Xaberlandt, Fyoxting, Rexinger kabi nemis tadqiqotchilari nomlari bilan bog'liq. Ular tomonidan saxaroza eritmasida turli o'simliklarni kulturalashga harakat qilingan. Qoqio't va terak poyasi segmentlarida birinchi kallus to'qimalari olingan va kallus hosil qilishga qobiliyatli segmentlarning minimal o'lchami aniqlangan. Xaberlandt har qanday o'simlik hujayrasining totipotentligini ya'ni hujayra o'zining rivojlanish potentsialini sarflab, ma'lum kulturalash sharoitida yetuk o'simlik hosil qilish qobiliyati haqidagi ilmiy nazariyalarni ilgari surgan.

II-bosqich (1902 –1922 yillar) hayvon to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhiti yaratildi. Bu oziqa muhitlar tabiiy kelib chiqishga ega bo'lib, tarkibi qon plazmasi va embrion (pusht) suyuqligidan iborat bo'lgan. Bu davrda ajratilgan o'simlik to'qimalarini o'simlik ekstrakti tutuvchi sun'iy oziqa muhitlarida o'stirishga bo'lgan urinishlar muvaffaqiyatsiz chiqdi, chunki tajribalar uchun yuksak o'simliklarning o'sish faolligini kam namoyon qiladigan hujayra va to'qimalari tanlangan edi.

III-bosqich (1922 – 1932 yillar) Bu davrda amerika olimi V.Robins va nemis olimi Kotte bir-biriga bog'liq bo'lmagan holda pomidor va makkajo'xori ildiz meristemalarini qattiq oziqa muhitlarida kulturlash imkoniyatining mavjud ekanligini aniqlashdi. Ammo ma'lum vaqt o'tgandan so'ng, o'simlik to'qimalari qo'ng'ir rangga kirib nobud bo'lgan. O'simlik to'qimalarni kulturlash usulining xaqiqiy rivojlanishi davri 1932 yildan boshlandi.

IV-bosqich (1932-1940 yillar) frantsuz olimi R.Gotre nomi bilan bog'liq. U o'simlik to'qimalarini in vitro sharoitida uzoq vaqt kulturlashga to'qimalarni vaqti – vaqti bilan yangi oziqa muhitga ko'chirib o'tkazish orqali erishish mumkinligini isbotladi. Bu kashfiyot to'qimalar kulturasi bo'yicha yangi ishlarning boshlanishiga turtki bo'ldi.

V-bosqich (1940-1960 yillar) 1955 yilda sitokinin fitogormonlarining yangi sinfi, aniqrog'i kinetinning kashf etilishi munosabati bilan, tamakini o'tkazuvchi to'qimalari va kambiydan holi qilingan o'zak parenxima to'qimasi hujayralarining bo'linishini stimullash imkoniyati paydo bo'ladi. O'simlik stimulyatorini miqdori va nisbatiga bog'liq holda eksplantidagi hujayralar bo'linishini tezlashtirish, kallus to'qimasi o'sishni davom ettirish va morfogenezi indutsirlash mumkinligi aniqlandi.

Bu davrda kokos yong'og'i, kashtan, makkajo'xori va boshqa o'simliklarning endosperm tipidagi tabiiy ekstraktlaridan hujayralarning tartibsiz o'sishini amalga oshirishda, kallus to'qimalari kulturasida va hujayralar suspenziyasidagi morfogenez jarayonlarini stimullashdagi roli ijobiy baholandi.

VI-bosqich (1960 – 1975 yillar) Bu davrdagi muhim voqealardan biri, Hottingem universiteti professori E.K.Kokking tomonidan fermentativ yo'l bilan protoplastlarning ajratilishi bo'ldi. U hujayralar devorini gidrolizlovchi fermentlar yordamida pomidor mevasi va ildizidan protoplastlar ajratib oldi va va nazoratdagi sharoitda kulturaladi. Keyinroq 1970 yilda shu laboratoriyada Pauer va uning shogirdlari tomonidan protoplastlarni qo'shish orqali, somatik duragaylar olishning yangi usuli yaratildi. Bu davrda yaratilgan yana bir usul, bu in vitro sharoitida meristema kulturasidan foydalangan holda o'simliklarning mikroko'paytirishdir. Bu usul frantsuz olimi J.Morel tomonidan dastlab orxideya o'simligining sog'lomlashtirilgan ko'chatlarini ko'paytirish maqsadida ishlab chiqilgan.

VII-bosqich (1975 yildan hozirgi kunga qadar) in vitro texnikasi jadal rivojlanishi davom etmoqda, kulturalanayotgan ob'ektlar biologiyasi o'rganilmoqda, ajratilgan protoplastlarni elektr toki yordamida qo'shish usullari, hujayralar seleksiyasi va mutagenezi usullari, gaploid o'simliklar yaratish usullari yaratilmoqda. Protoplastlar va Agrobacterium tumefaciens va A. rhizogenasning Ti va Ri plazmidalari asosidagi vektorlaridan foydalanib, hujayralarni chuqur kulturalash usullari mukammallashtirilmoqda. Gen muxandisligi usullari yordamida ikki pallali o'simliklar hujayrasiga genlarni ko'chirib o'tkazishning samarali usullari ishlab chiqildi.

Shunday qilib, keyingi 10 yillarda ajratilgan o'simlik hujayra va to'qimalari bilan ishlashning texnik usullarini rivojlantirish ishlari jadal davom etmoqda. Ammo, bu ishlarda tadqiqot ob'ekti sifatida asosan bir pallali va ikki pallali o'tchil o'simliklardan ba'zi hollardagina daraxtsimon o'simliklardan foydalanildi.

O'simlik hujayra va to'qimalarini in vitro kulturlash texnikasi

Ajratilgan to'qimalar kulturasida bilan ishlashning asosiy sharti sterillikka qat'iy rioya qilishdir. Oziqa muhitining boy tarkibi mikroorganizmlar o'sishi uchun ham yaxshi substrat hisoblanadi. Oziqa muhitda kulturalanayotgan o'simlik qismlarini (eksplantlar) mikroorganizmlar oson zararlaydi. Shuning uchun eksplant ham, oziqa muhiti ham sterillangan bo'lishi shart. Ajratilgan to'qimalar bilan olib boriladigan barcha ishlar (kulturaga o'tkazish, yangi oziqa muhitiga ko'chirish) steril xonalarda, (laminar bokslarda) steril asboblarda yordamida amalga oshiriladi, ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash lozim, chunki harorat pasayganda, yoki namlik yuzaga kelganda idishning nam tiqini orqali probirka ichiga mikroorganizmlar kirishi mumkin. Eksplant va urug'lar 5-20 min sterillovchi eritmada sterillanib, so'ng bir necha marta steril suvda yuviladi. Sterillash

vaqti eksplantni tabiatiga va sterillovchi eritmaning faolligiga bog'liq. Urug'lar 10 –20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 minsterillanadi (5.1-jadval).

Kulturalash uchun olingan o'simlik eksplantlari oldin sovunli suvda ishqalab yuviladi va distillangan suvda chayiladi, so'ng bir necha sekundga 70 % li etanolga solinadi, urug'lar esa 1-2 min.ga spirtga solib qo'yiladi. Spirt to'qimalarni sterillash bilan birga asosiy sterillovchi eritmaning sterillash samarasini ham oshiradi. Spirtdan so'ng to'qimalar steril suvda ham chayiladi.

5.1-jadval.

O'simlik materiallarini sterillash (R.G.Butenko 1990)

Ob'ekt	Sterillash vaqti			
	0,1 % li diatsid	0,1 % li sulema	5-7 % li (Na,Ca) gipoxloridlar	10-12 % li vodorod peroksid i
Quruq urug'	15–20	10–15	15–20	12–15
Ivutilgan urug'	6–10	6– 8	10–15	6–8
Ildiz, tugunaklari-ning to'qimalari	20–30	15–25	15–20	–
Yog'ochlangan poyalar	20–40	20–25	20–25	–
Barglar	1–3	1–3	3–6	3–5
Apekslar	1–10	1–7	3–15	2–7

Tashqi sterillash faqat tashqaridagi infektsiyalardan holi qiladi. Agar eksplantda ichki infektsiya mavjud bo'lsa, u holda antibiotiklar bilan ishlov berish zarur. Asosan tropik va subtropik o'simlikto'qimalari ichki infektsiyalarga boy bo'ladi. Zamburug' yoki bakteriyalar bilan zararlangan kulturani ekilganidan 1-14 kundan so'ng aniqlash mumkin. Mikroorganizmlar bilan zararlangan kulturalarni xonaga tarqalib havoni ifloslantirmasdan ularning oldini olish zarur.

Oziqa muhirlari avtoklavda 120⁰S haroratda 0,75 –1 atmbosimda 20 minut davomida sterillanadi. Agar oziqa muhit tarkibiga yuqori haroratda parchalanib ketuvchi moddalar kiritilgan bo'lsa, u holda bu moddalar maxsus bakterial filtrlardan o'tkazib tozalanadi, so'ng avtoklavlangan va 40⁰S ga cha sovitilgan asosiy oziqa muhitga qo'yiladi.

Idishlarni oldindan zar qog'ozga yoki oddiy qog'ozga o'rab, quritish shkaflarida 160⁰S haroratda 2 soat davomida sterillash lozim.

Oziqa muhitlar. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun oziqa muhitlari tarkibida o'simlik uchun zarur bo'lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kaltsiy, magniy, oltingugurt, temir) mikroelementlar (bor, manganets, rux, mis, molibden va boshqalar) shuningdek vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularning analoglarini tutishi zarur. Ba'zi oziqa muhitlarga kazein gidrolizati, aminokislotalar ham qo'shiladi. Bundan tashqari, hujayraning temirga bo'lgan talabini qondirish uchun oziqa muhitlar tarkibiga EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uning natriyli tuzi kiritiladi.

Kallus to'qimasi olish uchun ba'zi hollarda oziqa muhit tarkibiga kokos yong'og'ining suyuq endospermi (kakos suti), kashtan qo'shiladi. Uglevodlar ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturalanayotgan oziqa muhitning zaruriy tarkibi hisoblanadi. Chunki ular avtotrof oziqlanish xususiyatiga ega emas. Uglevod manbai sifatida 2-3% li kontsentratsiyada saxaroza yoki glyukozadan foydalaniladi.

Fitogormonlar hujayralarning dedifferentsiyalanishi va hujayralar bo'linishini tezlashtirish uchun zarur. Shuning uchun kallus to'qimalar olishda oziqa muhit tarkibida albatta auksinlar (hujayralar dedifferentsiyasini chaqiradi) va sitokinlar (hujayralar bo'linishini chaqiradi) bo'lishi shart. Poya morfogenezi yuzaga keltirishda oziqa muhitdagi auksinning miqdori kamaytiriladi yoki umuman qo'shilmaydi.

Gormonsiz muhitda shish to'qimalari yoki ko'nikkan to'qimalar o'sadi. Ular o'zlari gormon sintez qilish xususiyatiga ega bo'ladi.

Oziqa muhitlarda auksin manbai sifatida 2,4-dixlorfenosirka kislota (2,4-D), indolil 3-sirka kislota (ISK), naftilsirka kislota (NKS) dan foydalaniladi. G'ovak, (po'k) yaxshi o'suvchi kallus to'qimasi olish uchun asosan 2,4-D dan foydalaniladi, chunki uning faolligi ISKga nisbatan 30 marta yuqori.

Sun'iy oziqa muhitlarda sitokin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (BAP), zeatindan foydalaniladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirishda, organlarni hosil qilishda kinetinga nisbatan 6-BAP va zeatindan foydalanish ko'proq samara beradi. Ba'zi oziqa muhitlar tarkibiga adenin qo'shiladi.

Hozirgi vaqtda tarkibi jihatidan bir-birlaridan farq qiluvchi bir nechta oziqa muhitlari ma'lum. Lekin ajratilgan hujayra va to'qimalarni in vitro o'stirish uchun asosan 1962 yilda T. Murasiga va F. Skuga tomonidan yaratilgan tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Bu muhitda oziqa moddalar tarkibi balanslangan bo'lib, ammoniyli va nitratli azotning nisbati bilan boshqalaridan farq qiladi.

Qattiq oziqa muhiti tayyorlash uchun dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxarid agar-agar moddasidan foydalaniladi.(5.2.jadval)

Makro-mikro elementlar tuzlari eritmalarini, shuningdek vitaminlar va fitogormonlarning kontsentrangan (miqdori oshirilgan) eritmalarini tayyorlab, ulardan oz miqdorda olib, suyultirib ishlatish mumkin. Kontsentrangan boshlang'ich eritmalar sovutgichda saqlanadi.

O'simlikning ajratilgan to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhitlar tarkibi.

Oziqa muhiti komponentlari	Kontsentratsiyasi mg/l			
	Murasiga- Skuga	Gamborga	Shenka- xildebrandt	Gressxoff- dou
NH_4NO_3	1650	2500	2500	—
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	—	—	300	—
KNO_3	1900	2500	—	1000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	400	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	—	134	—	—
KH_2PO_4	170	—	—	—
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,3	37,3	20,0	37,3
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,95	28,0	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	—	150	—	90,0
H_3BO_3	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,1	0,25
Glitsin	2,0	—	—	2,0
Mezoinozit	100	100	1000	10
Nikotin kislotasi	0,5	1,0	5,0	1,0
Piridoksin –HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Tiamin-HCl	0,1	10,0	5,0	—
2,4-dixlorfenok- sirka kislotasi (2,4- D)	—	2,0	—	—
Kinetin	—	—	0,1	—
Glutamin	—	—	—	2,0
Saxaroza	30 000	20 000	30 000	20 000

Kulturalash sharoiti. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalashni amalga oshirish uchun o'stirishning zaruriy shartlariga amal qilish lozim.

Aksariyat kallus to'qimalari yorug'likka muhtoj emas, chunki ularning hujayralarida xloroplastlari bo'lmaydi va geterotrof oziqlanadi. Ba'zi yashil kallus to'qimalari masalan, mandragoralar bundan mustasno. Ayrim hollarda kallus to'qimalari avtorotrof oziqlanishga qodir bo'lmasalar ham uzluksiz yorug'lik sharoitida o'stiriladi, bu muvaffiqiyatli morfogenez hosil bo'lishining zaruriy sharti hisoblanadi Asosan kallus to'qimalarini olish uchun qorong'ulik yoki sochma yorug'lik sharoiti yaratiladi.

Shakllana boshlagan to'qimalar yorug'likda 1000-4000 lk yoritish ostida kulturalanadi.

Izolyatsiyalangan meristemalarni kulturalash va ularni mikroko'paytirish yorug'likda amalga oshiriladi. Xonalarni yoritish darajasi kulturaga bog'liq holda 3000-10000 lkni tashkil qilishi kerak.

Mazkur kulturalanayotgan ob'ekt uchun zarur bo'lgan fotodavrni hisobga olish zarur. Kulturalar o'sayotgan xonada namlik 60-70% ni tashkil etishi kerak. Agar probirka yoki kolbalar og'zi paxta tiqin bilan yopilgan bo'lsa, quruq havo oziq muhitlar qurishiga va kontsentratsiyasining buzilishiga sabab bo'lishi mumkin. Xonadagi namlikning miqdorini oshirish uchun idishlarda suv qo'yib qo'yish mumkin. Ko'pchilik kulturalanayotgan to'qimalar uchun optimal harorat 25-26⁰S, tropik o'simliklar to'qimalari uchun esa 29-30S ni tashkil qiladi. Morfogenez induktsiyasini amalga oshirishda harorat 18-20S gacha pasaytiriladi. Yorug'lik, harorat va optimal namlik rejimini klimatik kameralar yordamida yaratish mumkin.

Nazorat savollari

1. Hujayralar biotexnologiyasi nima?
2. O'simlik hujayra va to'qimalarini in vitro kulturlash texnikasi deganda nimalarni tushundingiz?
3. Oziqa muhitining tarkibi nimalardan iborat?
4. Morfogenez induktsiya uchun qabul qilingan xarorat necha gradusni tashkil etadi?

6-Ma'ruza

Mavzu: Kallus to'qimalar kul'turasi

Reja:

1. Kallus kul'turasi
2. Kallus hujayralarinig xususiyatlari.
3. Kallus hujayralari genetikasi.
4. Gormonga bog'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari
5. Hujayralar suspenziyasi kul'turasi

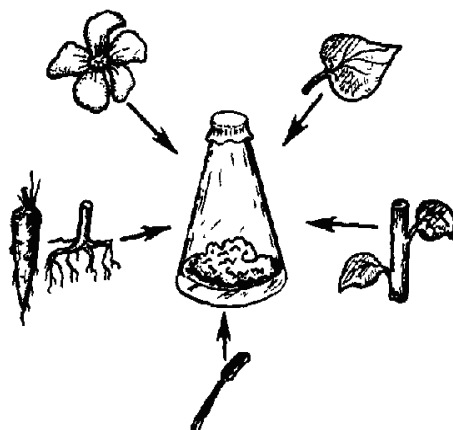
Tayanch iboralar: Tamaki bargi misolida barglarni inson uchun ahamiyati; barglarning morfologik tuzilishi va funksiyasi; o'simliklarda uchraydigan barg tomirlanishlari: dixotomik, to'rsimon, yulduzsimon, panjasimon, patsimon; doimiy yashil o'simliklar va xazonrezgilik; o'simlik barglarini shakl o'zgarishlari.

Kallus kul'turasi-bu dedifferentsiyalangan hujayralarning tarqoq bo'linayotgan to'qimalaridir. *Kallus* - qadoq ma'nosini bildirib, o'simliklarning shikastlangan joyida va in vitro kulturalanayotgan o'simlik to'qimalarida (eksplantlarda) hujayralarning betartib bo'linishi va o'sishidan hosil bo'lgan qabariqdir.

In vitro kallus to'qimasi asosan oq yoki sarg'ish rangda, kamdan – kam hollarda och yashil rang (mandagora o'simligi)da bo'ladi. Kallus to'qimasi qariy boshlashi bilan uning hujayrasida fenolli birikmalar to'planishi sababli, to'q qo'ng'ir rangga kira boshlaydi. Buning oldini olish uchun oziqa muhitlari tarkibiga antioksidantlar qo'shiladi.

Kallusli to'qimalar amorf bo'lib, aniq anatomik tuzilishga ega emas, ammo kelib chiqishi va o'stirish sharoitiga bog'liq holda ular turli xil konsistentsiyaga ega bo'lishi mumkin; 1) po'k, suvga to'yingan hujayralardan iborat, mayda, alohida agregatlarga uvalanib ketuvchi; 2) o'rtacha zichlikda, meristematik markazi yaxshi ko'ringan; 3) kambiy va o'tkazuvchi sistema elementlari differentsiyalanayotgan zich tuzilishga ega bo'ladi.

O'simlik hujayrasini dedifferentsiyalanishi va uning kallusga aylanishi uchun oziqa muhit tarkibida fitogormonlarning ikki guruhi: auksinlar va sitokininlarning ishtirok etishi zarur. Auksinlar hujayralarning dedifferentsiyalanish jarayonini yuzaga keltirib hujayralarni bo'linishga tayyorlaydi, sitokininlar esa dedifferentsiyalangan hujayralarning bo'linishini amalga oshiradi (6.1).



6.1-rasm.O'simlikdan olingan turli eksplantlar:poya qismlari, ildiz, barg, changdonalaridan kallus to'qimasi kulturasini olish

Agar gormonsiz oziqa muhitga differentsiyalangan hujayralardan iborat poya, barg, ildiz (uchki meristemasi olingan) qismlari yoki o'simlikning boshqa eksplantlari joylashtirilsa, hujayralar bo'linmaydi va kallusli to'qimalar hosil bo'lmaydi, chunki differentsiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga ega emas. Har bir hujayra o'sishning uchta davridan o'tadi: 1) bo'linish; 2) cho'zilishi; 3) differentsiyalanish. Differentsiyalanish davrida hujayraning ikkilamchi qobig'i qalinlashadi va hujayra bo'linish xususiyatini yo'qotadi. Differentsiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga qayta ega bo'lishlari uchun ularning dedifferentsiatsiyasi yuzaga kelishi ya'ni hujayralar meristematik holatga qaytishi kerak.

Dedifferentsiyalangan hujayralarning ko'payishi tartibsiz, uyushmagan o'sishga, natijada kallusli to'qimalar hosil bo'lishiga olib keladi. Demak, kallus to'qimalari hosil qilish uchun hujayralar bo'linishini induktsiyalash lozim.

Oziqa muhitda sitokininning yo'qligi tamakini o'zak parenximasi (TO'P) mitoz oldi davrda hujayra siklini to'sib qo'yadi. Shuning uchun, agar oziqa muhitida faqat auksin ishtirok etsa, hujayralarda bo'linish ketmaydi va to'rt kunlik latent davrdan so'ng cho'zilish orqali o'sishga o'tadi. Oziqa muhit tarkibida auksinsiz faqat sitokinin bo'lsa, u holda gormonsiz muhitdagi kabi TO'P to'qimalar qariy boshlaydi.

To'p to'qimalarida olingan natijalar barcha hollar uchun ham to'g'ri kelavermaydi, bunga zid misollar ham bor. Masalan, bug'doyning yetilmagan murtaklarida 2,4-D tutuvchi sitokininsiz oziqa muhitida, kungaboqar urug'pallasida auksinsiz faqat sitokinin tutuvchi oziqa muhitida kallus hosil qilishni keltirish mumkin. Aniqlanishicha, natija ko'pincha u yoki bu eksplantning hujayrasidagi endogen gormonlarning miqdoriga bog'liq, ya'ni ularning gormon statusi xususiyatlari bilan bog'liq ekanligi isbotlangan.

Shuningdek yangi ma'lumotlarga qaraganda, hujayralarning bo'linishini yuzaga keltirib, kallus hosil qilishida auksin ham, sitokinin ham rol o'ynamaydi, balki polisaxaridlar va boshqa induktorlar bu jarayonni boshqarar ekan.

Apeksni bazal qismida kallus to'qimalari hosil bo'lish jarayoni hujayra bo'linishi to'xtashi bilan boshlanadi. Lag faza 24-48 soat davom etadi. Bu vaqt mobaynida hujayralar o'lchami kattalashadi va shishadi (po'klashadi). Lag fazadan so'ng hujayralar kallus hosil qilib jadal bo'lina boshlaydi. Agar ixtisoslashgan hujayralarning differentsiyalanishi fitogormonlar ta'sirida bo'linish induktsiyasi bilan bog'liq bo'lsa, u holda bo'linayotgan meristema hujayralarining dedifferentsiyalanishi bo'linishning to'xtashi, hujayralarning qayta ixtisoslashishi va shundan so'nggina hujayralar bo'linishi induktsiyalanib kallus hosil bo'lishi bilan bog'liq.

Bir fitogormonning ta'sir samarasi nishon—to'qimaning fiziologik xususiyatiga bog'liq holda turlicha bo'lishi mumkin.

Ko'rib chiqilgan misollarda uning kompetentligi (omilkorligi) hujayralarning differentsiyalanish darajasi bilan aniqlanadi.

Hujayralarning *in vitro* differentsiyalangan holatidan dedifferentsiyalangan holatiga o'tishiga va hujayralarning faol bo'linishga genlar faolligining (epigenom o'zgaruvchanligi) o'zgarishi sabab bo'ladi. Ba'zi genlarni faollashishi va boshqalarining repressiyalanishi hujayra oqsil tarkibining o'zgarishiga olib keladi. Kallus hujayralarida spetsifik oqsillar hosil bo'ladi va bir vaqtning o'zida bargni fotosintezlovchi hujayralariga xos bo'lgan oqsillar miqdori kamayadi yoki umuman yo'qolib ketadi.

Ikki pallali o'simliklarda dedifferentsirovka asosida yotuvchi genlarni repressiya va derepressiya jarayoni bir pallali o'simlik-larga nisbatan yengilroq o'tadi.

Dedifferentsiatsiyalangan hujayralarning uyushmagan, tartibsiz ko'payishga o'tishi natijasida, kallus to'qimasi hosil bo'ladi va hujayrada biokimyoviy hamda sitologik o'zgarishlar yuzaga keladi. Dedifferentsirovka-hujayradagi zahira moddalardan foydalanish va ixtisoslashgan hujayra organellalarini parchalanishidan boshlanadi. Hujayraning dedifferentsiyanishi induktsiyalanganidan 6-12 soat o'tganidan so'ng, hujayra devori po'klashadi va shishadi, erkin ribosomalar, Golji apparati elementlari, yadrochalar soni va o'lchami ortadi. Barcha o'zgarishlar 48-72 soatdan so'ng boshlanadigan hujayralar bo'linishi uchun asos yaratadi. Kulturalashning boshlang'ich davrida eksplant hujayralari metabolizmida, dedifferentsiyanish natijasida paydo bo'lgan o'zgarishlarni kuzatish mumkin. Bu jarayonlarning oldini olish uchun eksplantlarni oldindan gormonsiz oziqa muhitlarda 3-6 kun inkubatsiya qilish maqsadga muvofiqdir. Kallus to'qimasi o'zining rivojlanish sikliga ega bo'lib, boshqa hujayralarga xos bo'lgan: bo'linish, cho'zilish va dedifferentsiyanish kabi rivojlanish davrini takrorlaydi, so'ng hujayralar qarishi va nobud bo'lishi boshlanadi. Kallus hujayralari dedifferentsiya-lanishini ikkilamchi deb atash mumkin, lekin uni morfogenez asosida yotuvchi hujayraning ikkilamchi dedifferentsiyanishi bilan adashtirmaslik lozim.

Eksplantlarda paydo bo'lgan birlamchi kallus to'qimalari 4-6 hafta o'tgandan so'ng, hujayralarining bo'linish xususiyatlari yo'qolib, qarishi boshlanmasdan oldin, yangi oziqa muhitlarga ko'chirib o'tkazilishi kerak. Bu muolajani passirlash ya'ni qayta ekish deyiladi. Muntazam passirlash orqali hujayralarning bo'linish qobiliyatini o'n yillab saqlab turish mumkin.

Kallus hujayralarining o'sishi S-simon shakldagi egri chiziqqa ega (3.2-rasm). O'sishning bunday xarakterini kallus hujayralari-ning suspenziyali kulturasida kuzatish mumkin. O'sish egri chizig'i beshta fazani o'z ichiga oladi. Birinchisi, latent yoki lag-fazada hujayralar soni yoki massasi o'zgarishi kuzatilmaydi. Bu fazada hujayralar bo'linishga tayyorlanadi. Navbatdagi ikkinchi logoritmik yoki ekponentsial o'sish fazasi-mitotik faolligi va kallus to'qimalari massasining ortishi bilan xarakterlanadi, bundan tashqari o'sishi tezlashadi. Uchinchi doimiy fazasida hujayralar o'sishi doimiy bo'ladi. Shundan so'ng To'rtinchi o'sishning sekinlashish fazasi-hujayraning mitotik faolligi keskin kamayganda yuzaga keladi. Beshinchi statsionar fazada o'sish egri chizig'i platoga chiqadi. Bu davrda hujayralar degradatsiyasi boshlanadi, ammo hujayralar bo'linishi hisobiga hujayralar soning ortishi sababli yana tenglashadi: umuman olganda hujayra massasining oshish tezligi nolga teng bo'ladi.

Kallus hujayralarinig xususiyatlari. Kallus hujayralari *in vitro* sharoitida o'simlik organizmining normal hujayralariga xos bo'lgan barcha fiziologik va biokimyoviy xususiyatlariga ega bo'ladi. Ular ikkilamchi metabolitlar sintez qilish qobiliyatini ham saqlab qoladi. Sovuq haroratga chidamli o'simliklardan olingan kallus to'qimalari sovuqqa chidamlilikni namoyon qiladi. Tropik va subtropik o'simliklardan olingan kallus to'qimalari esa bunday xususiyatga ega emas. Demak, hujayraning past

haroratga chidamlilik xususiyati kallus to'qimasi hosil bo'lganda ham saqlanib qolar ekan. Kallus to'qimalariga fotoperiodik reaksiyalar ham xos bo'lib, bu undagi fitoxrom faollikning saqlanishi bilan bog'liqdir.

Normal o'simlik hujayralariga xos bo'lgan yuqori haroratga, osmotik aktiv moddalarga, sho'rlanishga chidamlilik belgilari kallus hujayralari uchun ham umumiydir.

Shu bilan birgalikda kallus hujayralari normal hujayralardan farqlanuvchi quyidagi bir qator xususiyatlarga ham egadir. Ularda bargning fotosintezlovchi hujayralariga xos bo'lgan oqsillarning miqdori o'zgarib turadi, yoki umuman yo'qolib ketadi. Kallus hujayralari genetik geterogenligi va fiziologik asinxronligi bilan ham farq qiladi.

Kallus hujayralari organizm nazoratidan chiqib ketishi tufayli uyushmagan xolda asinxron ravishda cheksiz ko'payishiga o'tadi. R.Gorte tomonidan olingan sabzi kallus to'qimasi kulturasida yangi oziqa muhitiga muntazam o'tkazilib turilishi sababli 60 yildan buyon hozirgi kunga qadar to'qimalar to'plamida o'sib turibdi.

Kallus hujayralarining hujayra sikli ochiq yerda o'sayotgan o'simlik hujayralarinikiga nisbatan davomiydir.

Kallusning asosiy xususiyati, hujayralarining yoshiga nisbatan geterogenligidir. Kallus to'qimalarida bir vaqtning o'zida G_1 - fazadagi yosh hujayralar, G_2 - fazadagi qari hujayralar va S-fazadagi hujayra bo'linishi davridagi hujayralar ham ishtirok etadi.

Kallus hujayralarining energiya almashinishida ham katta farq mavjud. Ular normal hujayralarga nisbatan kam kislorod talab qiladi. Ramsgorn 1938 yilda meristema to'qimalarining faol bo'linayotgan hujayralarining ham xuddi shunday xususiyatini aniqlagan edi. Kallus hujayralarining nafas olish ko'effitsienti (N.O.K) 1 dan ortiq, masalan: no'xat kallusi hujayralarida N.O.K $> 3,5$ (A.V.Romanova va boshqalar 1988)ni tashkil etadi. Bu nafas olish va bijg'ish orasidagi nisbatining bijg'ish tomoniga surilishi, Paster effektini kamayib, bijg'ish kuchayishidan dalolat beradi. Paster effekti deganda kislorodli nafas olish orqali bijg'ish jarayonini to'xtatilishini tushunish mumkin. O'zgarish nafas olish substartida nafas olish ko'effitsientining oshishi shundan dalolat beradiki, kallus hujayralarining nafas olishi xatto kislorod ishtirokida ham bijg'ishni to'xtatmaydi, uglerodlarning kislorodsiz parchalanishi ya'ni bijg'ishi amalga oshadi. Uyushmagan to'qimalarni o'sishida uglevodlarning kislorodsiz parchalanishi-bijg'ish natijasida bo'linayotgan hujayralar tarkibidagi etil spirti to'planadi. Shunday natijalar no'xatni intakt o'simtalarini uyushmagan xolda o'sishi induktsiyalanganida olingan (G.M.Artamonov, 1975, 1978).

Kallus to'qimalarida mitoxondriyalar meristema to'qimalariniki singari yaxshi rivojlanmagan, ulardagi kristalar soni kam bo'lgani uchun aerob nafas olish faolligiga ta'sir ko'rsata olmaydi.

Paster effektining buzilishini hayvonlarning shish hujayralarida Varburg tomonidan o'rganilgan. U Paster effekti buzilishi natijasida, kislorod ishtirokida uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi ya'ni aerob glikoliz shish

hujayralarining uglevodlarga bo'lgan ehtiyojini (19 martagacha) keskin oshiradi.

Kallus hujayralari genetikasi. Uzoq vaqtlar mobaynida kallus hujayralari genetik bir xil deb hisoblangan edi. Ammo 1960 yilda kallus to'qimalarining genetik geterogenligi aniqlandi. Kallus hujayralari xromosomalar soni bilan farq qiladi. Meristema to'qimalari in vitro genetik turg'un hisoblanadi.

Kallus va suspenziya kulturalarida boshlang'ich o'simlikga xos xromosomalarning diploid to'plamiga ega hujayralarni, shuningdek 3,4,5 va undan ortiq xromosomalar to'plamiga ega poliploid hujayralarni xam uchratish mumkin. Kallus to'qimalari kulturasida poliploidliya bilan bir qatorda aneuploidlar (bir yoki bir necha juft gomologik xromosomalari kamaygan yoki ko'paygan organizmlar)ni ham kuzatish mumkin. Kallus hujayralari in vitroda qancha uzoq vaqt kulturalansa, ploidlik bo'yicha shunchalik farq qiladi. Tamakini kallus hujayralari 4 yil kulturlanganidan so'ng, diploid hujayralari umuman qolmaydi, hamma hujayralar poliploid yoki aneuploid bo'ladi. Ploidlikning o'zgarishi kulturalash va oziqa muhit tarkibiga kiruvchi moddalar tarkibi ta'sirida yuzaga keladi. Yoki buni boshqacha izoxlash ham mumkin. Poliplid hujayralar diploid hujayralarga nisbatan qisqa lag-fazaga ega bo'ladi, shuning uchun tezroq bo'linishga o'tadi. Buning natijasida ular qayta ekilish imkoniyatiga ega bo'ladi. Ikkala sabab ham ta'sir ko'rsatishi e'tibordan holi emas.

O'simlik hujayra va to'qimalarini in vitro sharoitida kulturalash ularning ploidligidagi o'zgarishlardan tashqari, hujayralarida xromosomalar abberatsiyasini ham paydo qiladi. Buning natijasida, kulturalanayotgan to'qimaning xususiyati, tashqi ko'rinishi, moddalar almashinishi, o'sish tezligi o'zgaradi. Kulturalanayotgan hujayralarda mikroskop orqali ko'rish mumkin bo'lgan xromosomalar mutatsiyasi bilan birga, mikroskopda ko'rinmaydigan o'zgarishlar ham paydo bo'lishi mumkin. Bu o'zgarishlar xromosomaning ba'zi qismlariga, shuningdek genlar strukturasi ham ta'sir ko'rsatishi mumkin. Genlar mutatsiyasini hujayralarning morfologik, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini o'zgarishi orqali aniqlash mumkin.

Kulturalanayotgan hujayralarni genetik turg'un emasligining sababi nimada? Bunday sabablar bir qancha. Eng avvalo-boshlang'ich materiallarning genetik bir xil emasligidir (eksplantning geterogenligi). Qator o'simliklarning differentsiyalangan to'qimalari turli ploidlikka ega hujayralar tutishi bilan xarakterlanadi va faqatgina ontogenez davrida bo'linayotgan uchki meristema, kambiy va boshqa to'qimalar doimo diploid bo'lib qoladi. Boshqa sababi, hujayra va to'qimalarni uzoq vaqt passirlash bo'lib, natijada genetik o'zgarishlarning to'planishi, ploidlikning notekis o'zgarishiga olib keladi. Ajratilgan o'simlik to'qimalarini sun'iy oziqa muhitlariga o'tkazilganda hujayralarning genetik turg'unligi buziladi. Bunday natijalar oziqa muhit tarkibidagi fitogormonlarning hujayralar genetik apparatiga ta'siridan ham kelib chiqishi mumkin. Kallus hosil qilish uchun oziqa muhiti tarkibiga auksin va sitokininlar kiritilishi zarur. Ko'pgina olimlar o'tkazgan tadqiqotlarda bu moddalarning mutagen ta'siri aniqlangan. Ayniqsa, qator

oziqa muhitlar tarkibiga kiruvchi 2,4-D-faol mutagen hisoblanadi. Hujayralarning poliploidlanishiga sitokinin, ayrim hollarda kinetin ham ta'sir ko'rsatadi.

Kallus hujayralarining genetik xilma – xilligi ularni hujayralar selektsiyasida qo'llab, atrof muhitning noqulay omillariga, fitopatogenlarga chidamli, hosildorligi yuqori hujayralar olish imkonini beradi.

Gormonga bog'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari

Kallus hujayralari sun'iy oziqa muhitlarda faqat gormonlar ishtirokidagina bo'linishi mumkin. Ammo, ba'zi hollarda, ular uzoq vaqt kulturalanganda ham gormonsiz muhitlarda o'sish xususiyatini paydo qiladi ya'ni auksinlar va sitokininlarga nisbatan avtonom bo'lib qoladi. Bunday hujayralar «moslashgan» hujayralar deyiladi. «moslashgan» hujayralardan hosil bo'lgan to'qimalar kimyoviy shishlar deb yuritiladi. «Moslashgan» to'qimalar shish to'qimalar kabi normal regeneratsiyalanmaydi va faqat teratomlar xosil qiladi, kamdan kam hollardagina normal regenerantlarni paydo qiladi.

Kallus to'qimalari to'rtinchi marta qayta ekilgandan so'ng regeneratsiyalanish qobiliyatini yo'qotadi. Qari kallus to'qimalari ham regeneratsiyalanmaydi.

Hujayralar moslashuv sabablarining hali aniq javobi yo'q. Lekin ularning normal differentsiyalanishi va bo'linishida ishtirok etuvchi gormonlarning uzoq vaqt ta'sir etishi bilan bog'liq bo'lishi ham mumkin degan taxminlar bor.

Kimyoviy shish deb nomlanuvchi «moslashgan» to'qimalardan tashqari o'simliklarda bakteriya, viruslar tomonidan chaqirilgan va turli o'simliklarni uzoq formalari duragaylaridan paydo bo'lgan genetik shishlar ham ma'lum. Tabiatda keng tarqalgan va tadqiqotchilarda katta qiziqish uyg'otgan shishlar ikki pallali o'simliklarda agrobakteriyalar (*Agrobacterium tumefaciens*) tomonidan chaqiriladigan bo'rtma – gall shishlaridir. Shuningdek o'simliklarda bo'rtma gallga o'xshash xaqiqiy shishlaridan yana 2 turi mavjud bo'lib, ulardan *A.rizogenes* tomonidan yuzaga keladigan kasallik natijasida – serpopuk ildiz va *A.ruby* tomonidan poya galli (bo'rtmasi) hosil bo'ladi.

O'simliklarning «moslashgan» va shish to'qimalarining umumiy xususiyatlari ularning gormonga nisbatan extiyojsizligi, ya'ni gormonsiz oziqa muhitlarda o'sish xususiyatiga ega ekanligidir. Bu ularning kallus to'qimalaridan asosiy farqidir.

«Moslashgan» to'qimalar va shish to'qimalarida o'zining gormonlari sintezlanadi, shuning uchun ular o'sayotgan oziqa muhitga gormonlarni qo'shishning xojati yo'q.

Tashqi ko'rinishidan bu to'qimalar kallus to'qimalaridan farq qilmaydi, ularning yagona farqi gormon sintez qilishi bilan namoyon bo'ladi. Bu xususiyat «moslashgan» va shish hujayralari uchun umumiy bo'lsada, ularning bu vazifani yechish yo'li xar xildir. «Moslashgan» to'qimalarda gormonga nisbatan

extiyojsizlik, gormon sintezida va gormon molekulalari tuzilishida ishtirok etuvchi, ferment oqsillar sinteziga javobgar genlar faolligining o'zgarishi natijasida paydo bo'ladi. Shunday qilib, ushbu xolatdagi o'zgarish epigenomli xarakterga ega bo'lsada, mutatsiya imkoniyatlarini ham e'tibordan chetda qoldirmaslik kerak. «Moslashgan» hujayralarda o'zgarish epigenomli yoki genetik xarakterga egaligini aniqlash uchun hujayra-o'simlik-hujayra qatorida gormonga extiyojsizlik xususiyati saqlanib qolishi yoki qolmasligini nazorat qilish kerak. Buning uchun "moslashgan" to'qimada regeneratsiya olib, keyin regeneratsiyalangan o'simlikdan olingan eksplant umuman gormonsiz yoki gormonlardan biri bo'lmagan oziqa muhitda o'stirilishi kerak. Agar mana shu muhitda hujayra bo'linsa, ya'ni gormondan avtonom bo'lsa, gormonga extiyojsizlik xususiyati nasldan-naslga o'tadi, demak, u genetik xarakterga ega deb aytish mumkin. Agar gormonsiz muhitda hujayra bo'linmasa, va kallusli to'qima xosil bo'lmasa, ya'ni gormonga extiyojsizlik nasldan-naslga o'tmasa, o'zgarishning epigenomli xarakterga egaligi xaqida xulosa chiqarish mumkin. Ammo, bu yo'l bilan faqatgina regeneratsiyalanish xususiyatini yo'qotmagan "moslashgan" hujayralarni tekshirish mumkin xolos. Ma'lumki, ko'pchilik "moslashgan" hujayralar regeneratsiyaga bo'lgan imkoniyatlarini yo'qotadi, bu esa yuqoridagi usuldan foydalanib, gormonga extiyojsizlik xarakteri tabiatini aniqlashni qiyinlashtiradi.

Shish to'qimalarda gormonlarning sintezi-o'simlik hujayrasiga bu jarayonga javobgar bo'lgan bakteriya genlarini kiritilishi bilan bog'liq.

O'tgan asrning 40-yillarida F. Uaytning shogirdi, Braun bo'rtma galli shish to'qima kulturasida xatto agrobakteriya ishtirok etmagan (ular yuqori xarorat ta'sirida o'ldirilgandan keyin ham) xollarda ham shish xususiyatini saqlab qolishini kuzatgan. Gormon qo'shilmagan sun'iy oziqa muhitida bakteriyasiz bo'rtma gall to'qimasi faol proliferatsiyasini davom ettira olgan. Bu to'qimalar, oddiy to'qimaga nisbatan auksinlarning yuqori miqdorini tutadi va bir necha xil sitokininlarni sintezlaydi. Braun o'zi o'tkazgan tajribalari asosida o'simlik hujayralari *Agrobacterium tumefaciens* ta'siridan so'ng qandaydir yo'l bilan shish hujayralarga aylanadi degan fikrga kelgan edi. Agrobakteriyalar o'simlik hujayrasiga Tip (Tumor inducing principle) omilni kiritishi natijasida 36 soatdan so'ng, oddiy hujayrani shish hujayraga aylantiradi deb taxmin qilingan edi. Keyinchalik Tipning DNKdan iboratligi va agrobakteriyaning katta plazmidasi (Ti-plazmida) tarkibida bo'lishi aniqlandi. Bakteriya hujayrasidan Ti-plazmidani butunlay yoki ma'lum bir qismi ajratib olinishi uning onkogen faolligining yo'qolishiga sabab bo'ladi.

1977 yilda Chilton shogirdlari bilan birgalikda bo'rtma gall shishlari agrobakteriyalar Ti-plazmidasining ma'lum qismini o'simlikning yadro DNK sig'a birikishi natijasida paydo bo'lishini isbotladilar.

Shunday qilib, Ti-plazmida sig'menti (T-DNK) xromosomaga integratsiya lanadi (ulanadi) va o'simlikning transformatsiyalangan (shish) hujayrasi irsiy apparatining bir qismi bo'lib xizmat qiladi. Agrobakteriyalarning Ti-plazmidalari T-DNKsining o'simliklar xromosomasiga integratsiyasi shish paydo bo'lishiga va shish hujayralarning sun'iy oziqa muhitlarida gormonga nisbatan extiyojsiz ravishda o'sishiga olib keladi. Bu har ikki hodisa bir-biri bilan o'zaro uzviy

bog'liq, chunki aynan auksin va sitokininlar sintezini nazorat qilib turuvchi genlarning ekspressiyasi natijasida gormonga extiyojsizlik kelib chiqadi va u hujayralarning dedifferentsirovkasiga va proliferatsiyasiga olib keladi.

Ti-plazmida o'simlik hujayralariga yangi genlarni kirituvchi tabiiy vektor bo'lib xizmat qiladi. Agrobakteriyalar tomonidan indutsirlangan shish hujayralar tomonidan auksin va sitokininlarni sintez bo'lish yo'li, normal va «moslashgan» hujayralarnikiga nisbatan boshqacharoq, oddiyroq va qisqadir. Gormonlar faolligi o'zgarishini nazorat qilib turuvchi T-DNK uchastkalarini mutagenlar yordamida aniqlashni amalga oshirish mumkin bo'ldi. Shishning o'sishi uchun bitta lokus emas, balki bir qancha genlar javobgar ekanligi ham aniqlanadi.

T-DNK gallar orqali auksin va sitokininlardan tashqari tabiatda uchramaydigan yangi sinf aminokislotalar sintezini determinatsiya qiladi. Bu moddalar shish paydo bo'lishiga sabab bo'la olmaydi; balki ular hosil bo'lgan shish to'qimalarida sintez bo'ladilar. Shish to'qimalar bir necha kunlik bo'lganlaridan keyingina opinlar sintezini boshlaydi, masalan, kolanxoeda shish induktsiyasining 7-chi kunidan opinlar sintezi boshlanadi. Opinlar – aminokislotalar, turli ketokislotalar va shakarlarning hosilasidir. Ular yangi tipdagi biologik faol moddalar hisoblanadi va faqatgina o'simliklarni bo'rtma gall to'qimalarida uchraydi, shuning uchun ham ularni bo'rtma gall hujayralarining biokimyoviy markeri sifatida qarash mumkin. Opinlar agrobakteriyalar uchun oziqa modda bo'lib xizmat qiladi, ammo shish to'qimalari agrobakteriyalar bo'lmagan steril sharoitda opinlarni sintez qilaveradi. Opinlarning uch tipi ma'lum: nopalín, oktopin va agropin. Bakteriyalarning bir shtammi oktopin sintez qiluvchi shishlarni induktsiya qilsa, boshqa shtamlari nopalín sintez qiluvchisini induktsiya qiladi.

Shunday qilib, agrobakteriyalar tomonidan induktsiyalanuvchi «moslashgan» va shish to'qimalarning birinchi umumiy xususiyati, o'zining gormonini sintez qilish xususiyati bilan bog'liq bo'lgan gormonga nisbatan extiyojsizligidir. Gall shishlaridagi bunday qobiliyat bakteriya hujayrasidagi begona genlarni o'simlik hujayralariga kiritilishi natijasida paydo bo'ladi. Kimyoviy (moslashgan) shish hujayralarida bu xususiyat gormonlar sintezi uchun javobgar genlarni depressiyasi bilan aloqador bo'lishi mumkin deb taxmin qilinadi, ammo u mutatsiya bilan bog'liq bo'lishi xam mumkin.

Ikkinchi umumiy xususiyat, birinchisidan kelib chiqib, -agrobakteriyalar tomonidan indutsirlangan «moslashgan» va shish hujayralarning fertil o'simliklarni regeneratsiya qilish qobiliyatining yo'qotilishidir. Gall shishlarini ko'pchilik xolatlarda sog'lom o'simlik regeneratsiya qila olmaydi. Ba'zida ular teratomlar (majruh, organsimon tuzilmalar) hosil qiladi va ular normal rivojlana olmaydi.

Odatda «moslashgan» to'qimalar ham normal o'simlikni regeneratsiya qila olmaydi, ularning hujayralari ikkilamchi differentsiyalanish va morfogeneza bo'lgan qobiliyatlarini yo'qotadi. Ammo ba'zida, oziqa muhiti tarkibini o'zgartirish orqali, «moslashgan» chegarasini orqaga surish mumkin. Demak, uzoq vaqt passaj qilingan kulturalar to'qimalaridan xam regenerant o'simliklar olish imkoniyatlari xam yo'q emas.

Hujayralar suspenziyasi kulturasini

Hujayralar suspenziyasini olish uchun, kallus avtomatik ravishda aralashtiriladigan suyuq oziqa muhitga o'tkaziladi. Pektinaza fermenti yordamida eksplant to'qimalaridan (barg, poya, ildiz va boshqalar) suspenziyalik kulturasini olish mumkin. Bunda dastlab eksplant yuzasida kallus to'qimasi paydo bo'ladi, so'ng undan hujayralar va hujayra agregatlari ajraladi va natijada hujayralar suspenziyasi hosil bo'ladi.

100 ml hujayra suspenziyasi olish uchun 2-3 g yangi kallus to'qimasi kerak bo'ladi. Hujayralar suspenziyasini tayyorlash uchun asosiy zarur sharoit—bu doimiy ravishda muhitni chayqatib, aralashtirilib turishidir. Agar hujayra suspenziyasi harakatsiz holatda tursa hujayra suspenziyasini bo'linishi natijasida kallus hosil bo'ladi.

Hujayralar suspenziyasining bo'linishi auksinlar va sitokinlar, ya'ni kallus hujayralari o'sishi va induktsiyasi uchun zarur bo'lgan gormonlar yordamida amalga oshiriladi. Suspenziya kulturalari kallus hujayralariga xos bo'lgan barcha xususiyatlarni o'zida namoyon qiladi.

Suspenziyalar po'k kallusdan 2,4-D tutuvchi oziqa muhitlarida yaxshi hosil bo'ladi. Oziqa muhit tarkibida kaltsiy ionlarining ishtirok etmasligi suspenziyaning suspendirlanishini yengillashtiradi. Agar oziqa muhitga pektinaza fermenti qo'shilsa (bu ferment alohida hujayralarni bir-biriga yelimplab turuvchi pektat kaltsiyni parchalaydi) va bu jarayon yanada yengillashadi.

Biotexnologiyada hujayralar suspenziyasidan qimmatli dori-preparatlari uchun ikkilamchi metabolitlar olishda, hujayralar biomassasini o'stirishda va hujayralar selektsiyasida foydalaniladi. Shu bilan birgalikda hujayralar suspenziyasi ajratilgan protoplastlar olish uchun boshlang'ich material sifatida ham qo'llaniladi.

Hujayralar suspenziyasi bilan ishlashda ularning xususiyatlari: yashovchanligi, suspenziya kulturasidagi hujayralar zichligi, agregirlanish darajasi, o'sish tezligini bilish zarur. Hujayralarning yashovchanligi metilen ko'ki va Evans ko'k bo'yoqlarida ularning bo'yalishiga qarab aniqlanadi. Tirik hujayralar bo'yalmaydi, o'lik hujayralarga esa bo'yoq oson kiradi va ko'k rangga bo'yaladi.

Hujayra suspenziyasi holatining ko'rsatkichlaridan biri, hujayra populyatsiyalarining zichligidir. Suspenziyadagi hujayralar sonini hujayralar matseratsiyalangandan (hujayralarning bir-biridan ajratilishi) so'ng, mikroskop yordamida Fuks-Rozental hisob kamerasida aniqlash mumkin. Hujayralarni matseratsiyalashda (10-20%li) xrom kislotadan foydalaniladi. U hujayralarni biriktirib turuvchi plastinkalarni gidrolizlaydi.

Yaxshi o'sayotgan suspenziya kallus kulturasini kabi o'sishning S-simon egri chizig'iga ega bo'ladi. Odatda passajning davomiyligi 14-16 kundan iborat bo'ladi. Bunda suspenziya zichligi $5 \cdot 10^4$ dan $5 \cdot 10^6$ xuj/ml-gacha ortadi. Subkulturlash uchun suspenziya o'sishning eksponentsial davri

oxirida olinadi. Hujayralar sonini ko'payishi, ularni quruq va ho'l massasi suspenszion kulturani asosiy o'sish darajasini tashkil etadi.

Suspenziyaning sifati hujayraning agregirlanish darajasiga bog'liq. Agregatlarda hujayralar soni 10-12 dan ko'p bo'lmasligi kerak. Shuning uchun, suspensziya doka, neylon yoki metal filtlardan o'tkazish orqali yirik agregatlar, eksplant qoldiqlari yoki kallus to'qimalari bo'laklaridan tozalanadi.

Suspensziya kulturalari qimmatli ikkilamchi metabolitlar manbai bo'lib xizmat qiladi, shuningdek ular tarkibida yangi ajoyib birikmalar, masalan, komptotetsin, xarringtonin va boshqa antikantserogenlar, peptidlar, (proteazalar, fitoviruslar ingibitorlari) tutadi. Ikkilamchi metabolitlarning sintezi o'sishni statsionar fazasida maksimal darajaga yetadi.

Yakka hujayralar kulturasida

Genetik va fiziologik izlanishlar uchun, shuningdek hujayralar selektsiyasida amaliy foydalanish uchun yakka hujayralarni kulturlash muhim ahamiyat kasb etadi. Yakka hujayralarning klonlarini olish, kallus hujayralarining genetik bir xil emasligi sabablarini aniqlashda yordam beradi, chunki bu xolatda kuzatish ishlari geterogen eksplantlardan emas, balki yakka hujayralardan olingan to'qimalar ustida olib boriladi.

Ajratilgan protoplastlar kulturasidan ajratilgan yakka duragay hujayra, o'zining bo'linishi natijasida duragay hujayralardan iborat klon hosil qiladi. Bu esa tadqiqotchilarning ajratilgan protoplastlar kulturasidan duragay (gibrid) hujayralarni aniqlab, ajratish ishlarini yengillashtiradi. Bundan tashqari yakka protoplastlarda somatik gibridizatsiya jarayonini kuzatish oson kechadi.

Yakka hujayralarni hujayralar suspensziyasidan, o'simlik to'qimalaridan, masalan, barg mezofilidan fermentlar yordamida matseratsiya qilinganidan so'ng, alohida protoplastlardan esa hujayra devori tiklangandan so'ng ajratiladi.

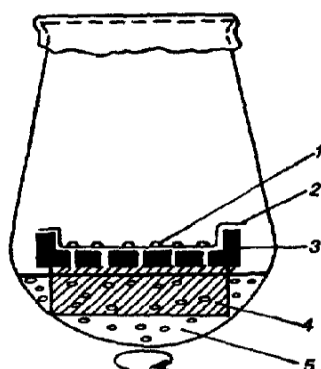
Shuningdek, ba'zida suspenszion kulturani 15-30 min. kolbada tindirib qo'yish orqali ham bir hujayrali fraktsiyalarini olish mumkin. Bunda yirik argegatlar kolba tagiga cho'kadi, cho'kma ustidagi fraktsiya faqat yakka hujayralar va mayda agregatlardan iborat bo'ladi. Agar bu usul orqali yakka hujayralar fraktsiyasini olish imkoniyati bo'lmasa, u holda matseratsiyalovchi fermentlar yordamida saxaroza gradientida sentrifugalash yoki filtrdan (neylon yoki metall filtr) o'tkazish orqali olinadi.

Yakka hujayralarni klonlash bir oz qiyin. Chunki kallus to'qimalari o'sadigan sharoitda yakka hujayralar bo'linmaydi. Shuning uchun yakka hujayralarning majburiy bo'linishini amalga oshiruvchi maxsus usullar yaratilgan bo'lib, 1960 yilda Jonson tomonidan taklif etilgan «enaga» usuli shular jumlasidandir. Bu usulda yakka hujayralar bo'linishini stimullovchi «enaga» vazifasini alohida hujayralardan filtr qog'ozi yordamida ajratib qo'yilgan kallus to'qimalari bo'laklari bajaradi. «enaga» ishtirokida alohida

hujayralar bo'linadi va hujayraning individual koloniyasi – klonni hosil qiladi.

Yana boshqa usul – juda kam miqdordagi tarkibi boyitilgan oziqa muhitidan foydalanib, yakka hujayralarni hajmi 20 mkl bo'lgan Kuprak likobchasidagi mikrotomchida kulturalashga asoslangan. Bu usul akademik Yu.Yu.Gleb tomonidan tadbiq qilingan. Mikrotomchi-larda somatik duragaylash uchun hujayralarning hosil bo'lishi va bo'linishini kuzatish juda ham qulay.

Yakka hujayralar bo'linishini induktsiyalash uchun «oziqlantiruvchi qatlamlar»dan foydalanish mumkin («oziqlantiruvchi qatlamlar» yakka hujayra olingan o'simlik turiga mansub suspenszion kulturaning faol bo'linayotgan hujayralari) (6.3.rasm).



6.3- rasm. Ajratilgan protop-lastlar va yakka hujayralarni o'stirish uchun hujayralarning suspensiyali kulturasidan “enaga” sifatida foydalanish.

1-hujayralar koloniyasi; 2-filtr qog'oz; 3-alyumin to'r; 4-penopoliuretan; 5-hujayralar suspensiyasi. (Vu Dik Kuang, Z.B.Shamin 1985)

Intensiv bo'linayotgan hujayralar kulturasidan olingan oziqa muhitidan qo'shilsa, hujayralar bo'linishi stimullanadi va oziqa muhitni konditsirlanadi. Konditsirlovchi omil hujayralar suspensiyasini o'sishning eksponentsial fazasida bakterial filtrdan o'tkazish orqali olinadi. Umuman olganda, yuqorida berilgan barcha usullar bo'linayotgan hujayralar ajratgan konditsirlovchi omildan foydalanishga asoslangan.

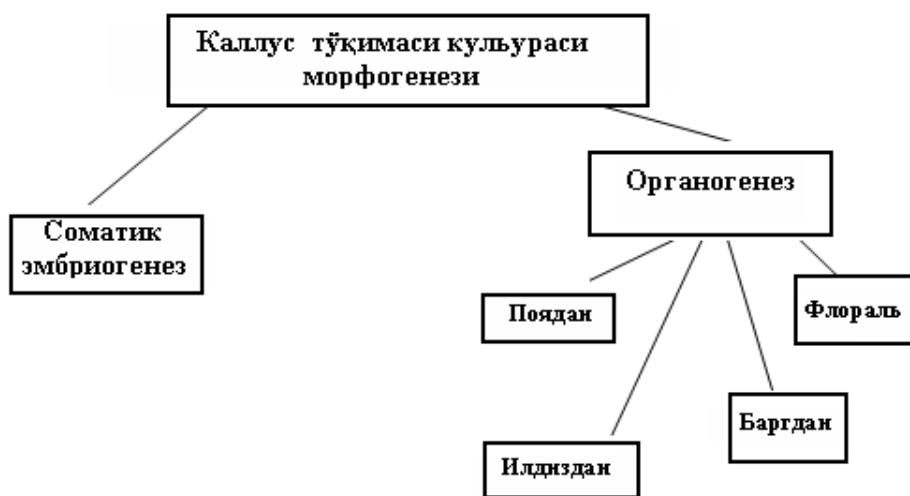
Konditsirlovchi omilning hujayralar bo'linishiga ta'sir mexanizmi va kimyoviy tabiati Hozircha aniqlanmagan. Ammo, bu omilning issiqqa chidamliligi, suvda eruvchanligi, past molekulali moddalar tutishi va fitogormonlar uning o'rnini bosa olmasligi haqida aniq ma'lumotlar bor (A.N.Pavlova,R.G.Butenko 1969). Qo'shimcha qilib yana shuni aytish mumkinki, bu modda rN 4-11 bo'lganda barqaror, uning molekulyar og'irligi 700 D va bu omilning brassinosteroidning sinergisti ekanligi aniqlangan (Bellmcampi, Morpurgo 1987). Shunday qilib, tadqiqotlarning ko'rsatishicha, bu modda kimyoviy modda emas, hujayralar ajratayotgan omillar yig'indisi ekan.

Kallus to'qimalarida morfogenez

Hujayralarning dedifferentsiyalanganidan keyingi taraqqiyoti rivojlanishining bir necha yo'li mavjud. Birinchi yo'li - bu yetuk o'simlikning ikkilamchi regeneratsiyasi, organ to'qima, hujayra darajasidagi differentsiyalanish stimulidir. Ikkinchi yo'li - hujayraning ikkilamchi differentsiyalanish va regeneratsiyalanish qobiliyatining yo'qolishi, turg'un dedifferentsiyalanishi, gormonsiz muhitda o'sish qobiliyatini paydo qilishi, ya'ni shish to'qimaga aylanishi. Bunday xususiyatlar ko'chirib o'tkazilgan qari hujayralarga xosdir. Uchinchi yo'li – kallus hujayralarini normal rivojlanish davri, uning qarishi va nobud bo'lishi bilan tugaydi. Bunday holatda hujayra ikkilamchi differentsiyalashishga uchraydi va bo'linishdan to'xtaydi (o'sishni statsionar fazasi). Ammo, bunday differentsiyalanish morfogenezga olib kelmaydi, balki unga qari kallus hujayralariga xos bo'lgan xususiyatlarni singdiradi.

Qishloq xo'jaligi biotexnologiyasi uchun to'qimalar kulturasida yakka hujayralardan yetuk o'simlik tiklash imkoniyati muhim ahamiyat kasb etadi. Bu ba'zida alohida organlarni hosil qilish orqali ham amalga oshiriladi.

Kallus to'qimalari kulturasidagi uyushmagan hujayralar massasidan tashkillangan strukturalarning hosil bo'lishiga *morfogenez* deb ataladi. Morfogenezni asosiy ikki turi mavjud (6.4-rasm).



6.4-rasm. Kallus to'qimasi kulturasidagi morfogenez turlari

To'qimalar kulturasida u organogenez ko'rinishida (bir qutbli strukturalarning, ya'ni alohida organlarning hosil bo'lishi): ildiz, poya, gul va bargda somatik embriogenez ko'rinishi (somatic hujayralarda qo'sh qutbli murtaksimon strukturalarning hosil bo'lishi) da namoyon bo'lishi mumkin. Organogenezda dastlab alohida organlar regeneratsiyalanadi, keyin esa, ulardan yetuk o'simlik paydo bo'ladi. Ildiz organogenezi bundan mustasno.

Somatik embriogenez natijasida orgogogenezdan farqi o'laroq, ildiz va poya meristemasiga ega bo'lgan kurtaklar hosil bo'lib, undan keyinchalik yetuk o'simlik rivojlanadi.

Ajratilgan somatik hujayralar o'zining rivojlanish dasturini to'liq amalga oshirishi va yaxlit o'simlik organizmi paydo qilish xususiyatiga o'simlik hujayrasining totipotentligi deb ataladi. Har qanday o'simlik hujayrasi bir xil potentsial imkoniyatlarga ega, chunki ular barcha genlar to'plamiga va hujayrani zigotaga xos bo'lgan rivojlanish dasturiga ega bo'ladi. Shuning uchun ham gul bargi hujayrasidan yoki poyaning o'zak parenximasidan, yoki o'simlikning har qanday to'qimalari hujayrasidan olingan kallus to'qimalaridan yetuk o'simlik o'stirish mumkin. Ammo uning totipotentlik xususiyatlari har doim ham namoyon bo'lavermaydi, chunki turli tipdagi hujayralarning potentsial imkoniyatlari turlicha bo'ladi. Ulardan ba'zi birlarida genlar kuchli repressiya holatida bo'ladi, shuning uchun totipotentligining namoyon bo'lishi cheklanganadi.

O'simlik hujayralari totipotentligi haqidagi nazariya 1902 yilda G.Xaberlandt tomonidan ilgari surilgan bo'lsa ham o'sha vaqtlarda tajribalar bilan isbotlanmagan edi. Xaberlandt fikriga ko'ra har qanday o'simlik hujayrasi yangi organizmni paydo bo'lishiga asos bo'la oladi va faqat o'simlik organizmi hujayraning rivojlanishiga bo'lgan potentsiyasini to'xtatib qo'ygan taqdirdagina bu xol kuzatilmasligi mumkin. Hujayralarni o'simlikdan ajratish bu potentsiyalarning namoyon bo'lishiga yordam beradi.

Morfogeneznining hujayra asosini sitodifferentsirlanish tashkil etadi. Hujayralarning ikkilamchi differentsilanişidan so'ng, o'simlikning regeneratsiyasi boshlanadi. Bunda dedifferentsiyalangan hujayralar ixtisoslashgan hujayralarning strukturasi va funktsiyasini qayta egallaydi.

Kallus to'qimalarini ikkilamchi differentsiyalanishi har doim ham o'simlik morfogenezi va regeneratsiyasi bilan tugallanmaydi. Ba'zida u faqat to'qimalar (gistodifferentsirovka) hosil bo'lishiga olib keladi. Shu yo'l bilan kallus hujayralari floema yoki kselema elementlariga aylanishi mumkin.

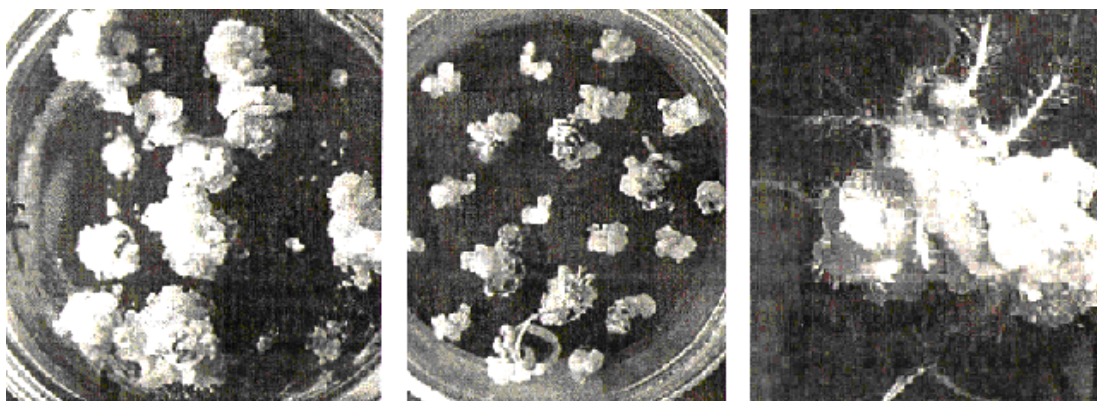
Ikkilamchi differentsiyalanishga misol qilib, dedifferentsiyalangan va faol bo'linayotgan hujayralarning bo'linmaydigan, qari kallus hujayralariga aylanib qolishini keltirish mumkin (o'sishning statsionar fazasi).

Barcha turdagi ikkilamchi differentsiyalanishlar orasida morfogenez katta qiziqish uyg'otadi, chunki u kallus hujayrasidan yetuk o'simlik regeneratsiyasini amalga oshirish imkonini beradi.

Differentsirovka va morfogeneznining asosida turli genlarni birin-ketin qo'shilishi yotadi, ya'ni hujayralarning differentsirovkasi genlarning differentsial faolligi bilan aniqlanadi. Struktura genlari faolligining o'zgarishi, ularning derepressiyasi, repressiyasi yoki amplifikatsiyasi (ko'payishi) bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Bu jarayonda fitogormonlar katta rol o'ynaydi.

Kallus to'qimalari kulturasidagi morfogenezni boshqarish mumkin. Ajratilgan o'simlik hujayralarini morfogenezga bo'lgan qobiliyatiga ham ichki, ham tashqi omillar ta'sir ko'rsatadi. Ichki omillarga: boshlang'ich o'simlikning qaysi turga mansub ekanligi, eksplant olingan organ, eksplantning yoshi kiradi. Tashqi omillarga esa oziqa muhit tarkibi, harorat, yorug'lik kiradi. Oziqa muhit tarkibiga kiruvchi sitokinin va auksinlar o'zaro

nisbatining o'zgarishi morfogenezni kuchli induktori hisoblanadi. Auksinga nisbatan sitokininlar miqdorini yuqori bo'lishi poya organogenezini, aksincha bo'lganda esa (auksin miqdori sitokininidan ko'proq bo'lishi) ildiz organogenezini rivojlantiradi (6.5- rasm).



6.5-rasm. Kallus to'qimasining morfogenetik reaksiyalari:

- a) – prolifiratsiyalanayotgan kallus; b) adventiv kurtaklarning hosil bo'lishi; v) – kallus to'qimalarida ildiz hosil bo'lishi (rizogenez).

Agar kallus to'qimasida ildiz hosil bo'lsa, u holda hech qachon o'simlik regeneratsiyalanmaydi, poya organogenezida esa avval nihol hosil bo'ladi, so'ng auksin miqdori oshirilgan oziqa muhitga ko'chirib o'tkazilganda, ildiz otadi va yetuk o'simlik rivojlanadi.

Shunday qilib, auksin va sitokinin tipidagi ekzogen gormonlar nisbatidagi farq, bir tomondan kulturadagi hujayraning dedifferentsiyalanishiga va uyushmagan prolifiratsiyaga (bo'linishga) o'tishini, boshqa tomondan u yoki bu turdagi morfogenezning ikkilamchi differentsirovkasining induktsiyalanishi imkoniyatlarini belgilab berishi 1957 yilda F. Skuga va Ye. Miller tomonidan aniqlangan. Demak, auksin va sitokininlar nisbatini o'zgarishi, hujayralarning dedifferentsiyalanib kallus to'qimalarining o'sishi yoki defferentsiyalanib kallus to'qimalarida morfogenezini chaqirishiga, ular nafaqat o'sish va rivojlanishni regulyatori, balki differentsiyalovchi regulyatori bo'lib ham xizmat qiladi.

Agar organogenezni auksin va sitokininlar yordamida induktsiyalash mumkin bo'lsa, unda somatik embriogenezning ekzogen fitogormonlarga umuman extiyoji bo'lmaydi. Odatda embriogen zonalar kallus hosil qilish uchun foydalaniladigan oziqa muhitlarda o'sayotgan kallus to'qimalarida ham paydo bo'ladi. Kallus to'qimalarida somatik (jinssiz) murtaklarning rivojlanishini amalga oshirish uchun, oziqa muhit tarkibida dedifferentsiyalovchi omillar (2,4 D yoki boshqa auksinlar) ishtirok etmasligi kerak. Rivojlanayotgan murtakning ekzogen gormonlarga ehtiyoji yo'q, chunki u o'zini o'zi gormon bilan ta'minlaydi.

Somatik embriogenezning gormonlarga nisbatan mustaqilligining sababi, hujayralarning alohida ajratilish jarayoni, uning totipotentligini, ya'ni morfogenezga o'tishini stimullaydi. Shunday qilib, oziqa muhitidagi

gormonlar nisbatining o'zgarishi va hujayrani o'simlik organizmidan ajratilishi morfogeneznining asosiy stimuli bo'ladi. Morfogeneznining qo'shimcha stimullariga oziqa muhiti tarkibida ishtirok etayotgan kumush nitrat, ammoniy nitrat, ba'zi aminokislotalar (prolin, tirozin, ba'zida serin) poliaminlar (putrestsin va spermidin)lar kiradi. Ba'zi hollarda morfogenez jarayonini mannit va sorbit ham stimullaydi. NO_3^- ionlari kallus to'qimalarida paydo bo'lgan uyushgan strukturalarning rivojlanishiga ta'sir ko'rsatadi, ularning induktsiyasini esa NH_4^+ ionlari stimullaydi. Gebberal kislota poya kurtaklarining rivojlanishini, abstsizov kislota esa somatik murtak organlarining differentsiyalanishini stimullaydi.

Yuqorida bayon etilgan moddalardan ayrimlari, masalan kumush nitrat ko'chirib o'tkazilgan qari kulturalarning regeneratsiyalanishga bo'lgan qobiliyatini uzaytiradi.

Morfogeneznining u yoki bu stimullari ta'sirida kallus hujayrasi determinlanishi kerak, ammo hujayralarning hammasi emas, faqatgina 400-1000ta hujayradan bitta hujayra regeneratsiyalanishiga qodir bo'ladi. Shuning uchun hujayraning morfogenezga o'tishda faqat induktorning (stimulyator) ishtiroki yetarli bo'lmay, hujayra ham javobga tayyor bo'lishi kerak. Hujayralarning morfogenez stimullarini qabul qilish xususiyati hujayralarning *kompitentligi* (omilkorligi) deyiladi. Shuning uchun, tadqiqotchilar hujayralar kompitentligini tasodifiy va kamdan-kam hol degan xulosaga kelganlar. Kompitent bo'lmagan kallus hujayralarining taqdiri nima bo'ladi degan savol paydo bo'lishi mumkin: bu hujayralar kulturada bo'linishni davom ettiradi va ayrimlari ko'nikma hosil qilib, gormonsiz o'sishga o'tadi, ayrimlari esa ekzogen gormonlardan foydalanishni davom ettiradi, lekin ular regeneratsiyalanish qobiliyatini umuman yo'qotadi. Bunday to'qimalar «moslashgan» va yangi kallus to'qimalari o'rtasidagi oraliq xolatni egallaydi

Kallus to'qimalarida morfogenez zaruriy sharoitlar ta'sirida, determinatsiyalangan hujayra atrofidagi kallus to'qimalariga nisbatan o'zgarishi, ya'ni hujayra devori qalinlashishidan boshlanadi. Bu holat 1972 yilda Danilin tomonidan sabzi to'qima kulturasining somatik embriogenezi kuzatilganda aniqlangan.

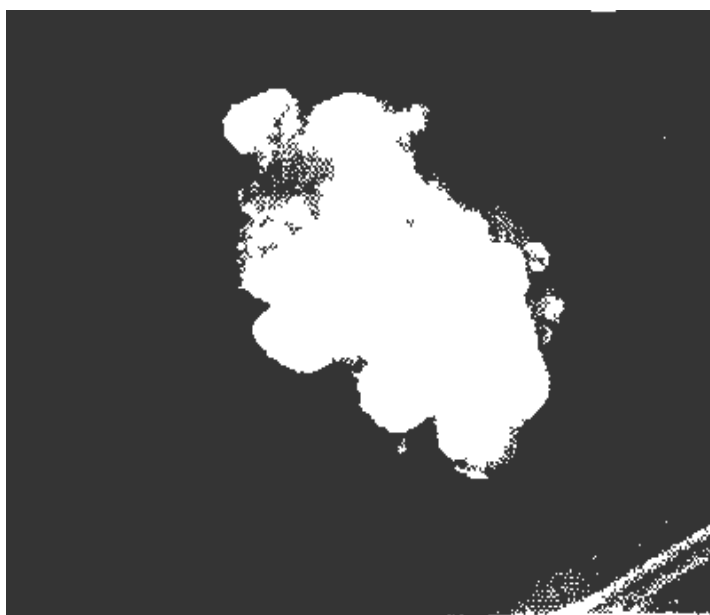
Tashabbuschi (initial) hujayra somatik embriogenezda zigotani, organogenezda esa meristema markazini rivojlanishini boshlanishiga asos bo'ladi. Determinatsiyalanmagan kallus hujayralariga nisbatan tashabbuschi hujayralar yadrosini yirikligi va vakuolasi o'lchamining kichikligi bilan farq qiladi. Odatda yadrosi markazda joylashadi. Tashabbuschi hujayralar tarkibida ko'plab miqdorda zahira moddalar; kraxmal, ba'zida lipidlar bo'ladi.

Tashabbuschi hujayralar, uning qayta tuzilishiga va navbatdagi bo'linishga o'tishiga tayyorlanishi uchun, bir qancha vaqt lag fazada qoladi, so'ng bu hujayralar mayda izodiametrik hujayralarning sferik massasini hosil qilib maydalab bo'linadi. Organogenez holatida bu hujayralar massasini *meristematik markaz*, somatik embriogenez holatida esa *globulyar*

proembrio deb ataladi. Keyinchalik meristematik markazda poya, ildiz, barg yoki gulning boshlang'ich kurtaklari differentsiyalanadi, shunga muvofiq poya, ildiz, barg yoki floral organogenez sodir bo'ladi.

Globulyar proembrioda esa bipolyar embrioidli strukturalar rivojlanadi. Kallus to'qimasidan somatik embrioidlarning shakllanishini globulyar, yuraksimon, torpedosimon, somatik murtak kabi ketma-ket amalga oshadigan bir necha bosqichlarga ajratish mumkin. Meristema markazi yoki proembrioning kallus to'qimasi chetida, yoki ichida paydo bo'lishi mumkin. Odatda ularning qaerda paydo bo'lishi haqida aniq qonuniyat yo'q (6.6- rasm).

Embriogen kulturadan ajratilgan glikoproteid oqsilni konditsirlovchi omil sifatida ko'rish mumkin. Kallus to'qimalari



6.6-rasm. Somatik murtaklarning shakllanishi

yangi oziqa muhitlarga muntazam ko'chirib o'tkazilganda, glikoproteid to'planib ulgurmaydi va embriogenez jarayoni yuzaga kelmaydi. Agar hujayralardan somatik embriogenezga o'tish jarayonida paydo bo'ladigan oqsillar ajratib olinsa va bu oqsillar uzun, (embriogen bo'lmagan) morfogenezi qobiliyatini yo'qotgan kallus hujayralariga kiritilsa, ularning morfogenezi indutsirlanadi.

Morfogenezni yangi markerlarini izlab topish ishlari davom etmoqda. Meristema markazi hujayralari va embrioidli strukturalar paydo qiluvchi hujayralar kallus hujayralaridan RNK va DNK sintezining jadalligi bilan farq qiladi. Bu ulardagi oqsil almashinuvining o'ziga xosligi bilan bog'liq. Oqsil almashinuvidagi o'zgarish, dedifferentsiyalangan hujayralarda o'tadigan jarayonlarga o'xshash bo'lsada, ammo natijasi turlichadir, R.P. Butenkoning fikricha, reaksiyani o'ziga xosligi, makromolekulalarni sintezini tezlashishi bilan emas, balki umumiy fonda bo'ladigan regulyator (boshqaruvchi) tipidagi oqsillar hosil qiluvchi o'ziga xos sintezlar

bilan belgilanadi. Kallus to'qimalarining morfogenezga o'tishi, nafas olish metabolizmini o'zgarishi bilan hamkorlikda boradi. Umuman olganda nafas olish (SO_2 bo'yicha) kuchayadi, ammo uning xarakteri pentozofosfat yo'li intensifika-tsiyasi yo'nalishida o'zgaradi. Nafas olish fermentlarining faolligi oshadi. Biokimyoviy o'zgarishlardan so'ng hujayrani qayta strukturaviy tashkillanishi (reorganizatsiyasi) boshlanadi. Hujayrani biokimyoviy differentsiylanishi har doim strukturaviy o'zgarishlardan oldin sodir bo'ladi.

Morfogenez yo'liga o'tgan hujayralarda ribosomalar va mitoxondriyalar soni ortadi, ularning ichki strukturasi o'zgaradi. Kallus hujayralarida morfogenez jarayoni uzoq davom etadi. Kallus to'qimalarida bir vaqtning o'zida to'liq shakllangan strukturalar, shuningdek endigina shu yo'lga o'tgan hujayralar mavjud.

Meristema markazi hujayralari va globulyar proembrioni faolligi sun'iy ravishda oshirilganda ularni oziqa moddalarni o'ziga tortuvchi markazga aylantiradi. Bunday hollardako'pincha ularning atrofidagi kallus hujayralari yemiriladi va hosil bo'lgan embriodlar kallus hujayralari massasidan oson tushib ketadi.

Kallus hujayralari bir – birlari bilan plazmodesmalar orqali bog'lanmagan. Murtaksimon strukturalar yoki meristema markazlarini paydo bo'lganda hujayralar orasidagi bog'lar plazmodesmalar yordamida tiklaydi.

Kallus hujayralarida morfogenez jarayoni bilan boshlanib, o'simlik paydo bo'lishi bilan tugaydigan barcha o'zgarishlar maxsus genlar tomonidan boshqariladi. Hozirgi vaqtda bir guruh olimlar morfogenez xossasi poligenlar va bir necha xromosomalar tomonidan nazorat qilinadi deb hisoblasalar, boshqalari, bu xususiyat ikkita yadro genlari tomonidan boshqarilib turiladi degan fikrlarga ega. Ba'zi hollarda kallus to'qimalaridan u yoki bu genotipni regeneratsiya qilish mumkin emasligini kallus hujayralarining morfogenetik faolligi genetik tabiatga ega bo'lganligi sababli, morfogenetik genotiplarni chatishtirish hujayralarning in vitro faol regeneratsiylanish qobiliyatini oshirishga olib kelishi mumkin.

Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus hujayralari kulturas

O'simlikdan alohida ajratilgan hujayralarni in vitro sharoitida subkulturalash usullari mavjud bo'lib, bu usullar yordamida olingan kallus to'qimalaridan nazariy izlanishlar uchun, shuningdek amaliy qo'llash uchun ham foydalaniladi. Ajratilgan hujayra, to'qima va organlarning ikkilamchi metabolizm moddalarni sintezlash xususiyati muhim ahamiyat kasb etadi. Ulardan tibbiyot, o'simliklar himoyasi, veterinariya, oziqa yem ishlab chiqarish, oziqa-ovqat sanoati, parfyumeriya uchun zarur moddalar ishlab chiqarishda foydalanish mumkin. Bu yo'nalishdagi ishlarga tadqiqotchilarning qiziqishi tasodif emas, chunki fiziologik faol moddalar olish uchun hujayralar biotexnologiyasining ana'anaviy tarzda o'simliklar xom-ashyosi olishga nisbatan: 1) hujayra biomassasini olish mavsumga, iqlim va tuproq sharoitlariga bog'liq emas; 2) zarur miqdorda kerakli

moddalarni sintezlab beruvchi hujayralar suspenziyasini kulturlashning sharoitini optimallashtirish imkoniyatining mavjudligi; 3) jarayonni avtomatlashtirish mumkinligi kabi bir qancha ustunlik tomonlari bor.

In vitro kulturalanilayotgan kallus hujayralaring intakt o'simlik hujayralari kabi ikkilamchi metabolitlar sintez qilishi aniqlangan. Shuningdek, miqdor va sifat jixatidan ular o'xshash bo'lishi mumkin. Hozirgi kunda sanoatda keng qo'llanilayotgan ikkilamchi metabolitlarni sintezlovchi, turli oilalarga mansub o'simliklar hujayralari kulturasini katta to'plam yig'ilgan. Bulardan uzoq sharq jensheni – diosgeenin manbai sifatida, deltasimon diskoreya – steroid glikozidlar, ilonsimon ravolfiya – aymalinning antiaritmik alkaloidi, steviya – stevoid manbai bo'lib xizmat qiladi. Keyingi vaqtlarda tadqiqotchilarda rezavor tis hujayralarini bioreaktorlarda kulturlashni amalga oshirish katta qiziqish uyg'otmoqda. Aniqlanishicha, bu o'simlikning hujayralari takson-moddalarini sintezlar ekan, bu modda saraton kasalligiga qarshi preparat tayyorlashda ishlatiladi.

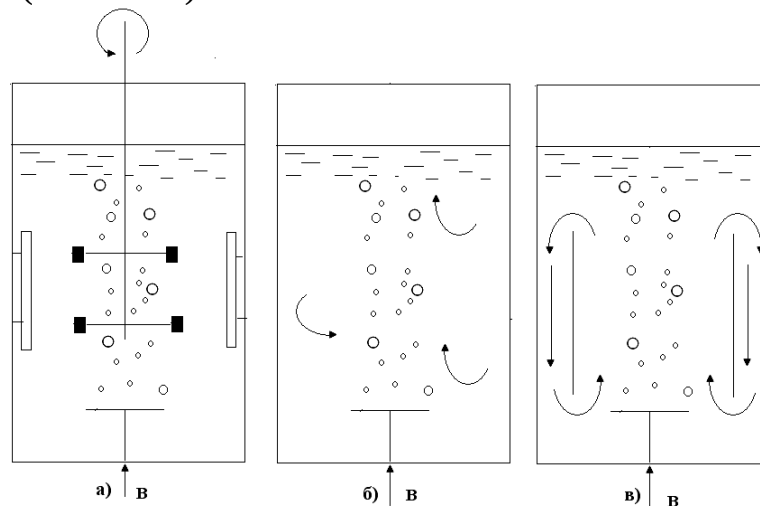
Hujayra biomassasining in vitro va in vivo sharoitlarda turlicha tezlikda o'sishi tajribalarda aniqlangan. Masalan, 1 yilda jenshen ildizini o'sishi taygada 1 g ni tashkil etsa, plantatsiyalarda esa 3 g. Ildiz hujayralari agarli (in vitro) oziqa muhitda o'stirilganda bir kunda 1 l oziqa muhitda 0,4 g quruq massasini olish mumkin. Jenshen hujayrasi suspenziyada o'stirilganda 50 litrli fermenterda bir sutkada bir litr oziqa muhitda 2,0 gr ga yetadi, bu plantatsiyada yetishtirilganiga nisbatan 1000 marta ko'p demakdir. Jenshenning qimmatbaholigini hisobga olib (plantatsiyada yetishtirilgan o'simlikning ildizining 1 kilogrammi 100-150 AQSh dollari, yovvoyi holda o'suvchilarining bahosi bir necha ming AQSh dollari turishi mumkin) uning hujayra kulturasini olishni biotexnologik usuli e'tiborga molikdir. 6.1. jadvalda yuksak o'simliklar hujayra kulturalari sintezlagan ba'zi iqtisodiy muhim mahsulotlar keltirilgan.

6.1-jadval

Yuksak o'simliklar hujayralar kulturasidan olingan iqtisodiy muhim mahsulotlar. (R.G.Butenko. 1999)

Ana'anaviy o'simlik mahsulotlari	Yangi faol moddalar	Biotransformatsiya mahsulotlari
Alkaloidlar	Fitoviruslar ingibitorlari	Metildigoksin Digoksin
Steroidlar Terpenlar va terenoidlar	Antikontserogenlar kompomitsin	Metol
Betaninlar glikozidlar Polifenollar Polisaxaridlar Efir yoglari	Proteinaza ingibitorlari Ajoyib oqsillar	Neomentol Geraniol Nerol tsitronellol
Tabiiy bo'yoqlar (pigmentlar) ubixinon maza (tam) beruvchi qo'shimchalar,		

Ikkilamchi sintez moddalarining kultural suspenziyalari bioreaktorlarda o'stirish yo'li bilan olinadi. Bioreaktorlar o'zining konstruksiyasi bo'yicha barbatajli bo'ladi, ularni aralashtirish ko'tarilayotgan havo pufaklari hisobiga havo aeratsiyasi orqali va mexanik aralashtirgichni qo'llash orqali amalga oshiriladi (3.7- rasm).



6.7-rasm. Suspenziya kulturalarini kulturalash uchun qo'llaniladigan bioreaktorning ishlash sxemasi

Tajribalardan aniqlanishiga ikkilamchi metabolitlar hujayra ichidagi organellalarda: plastidlar, xloroplastlar, mitoxondriyalar va mikoplastlarda sintezlanadi, qo'shni xujayrlarga, yoki oziqa muhitga tashilmaydi, hujayrani bo'sh qismi va vokulasi ko'pincha metabolitlarni yig'ishga xizmat qiladi (Knyazkov I. 1996).

Hujayralar in vitro sharoitida o'stirilganda ikkilamchi moddalarining miqdor va sifat o'zgarishi oziqa muhit tarkibi bog'liq. Masalan, jenshen o'simligi kulturasida oziqa muhitdagi turli shakldagi azotlarning nisbati steroid saponinlarning mahsuldorligiga ta'sir ko'rsatishi aniqlandi. Demak ammoniyli va nitratli azotning 1:3 nisbati biomassani oshishiga, 2:3 nisbati mahsuldorligiga ta'sir ko'rsatmadi, ammo diosgenin to'planishini kamayishiga olib keldi. Oziqa muhitda saxaroza miqdorining oshirilishi (5%) hujayra massasini o'sishiga, saxaroza miqdori kamaytirilganda esa (1,5 %) diosgeninning mahsuldorligini oshishiga ta'sir ko'rsatadi (Shatalova 1998).

Bioreaktorlarda hujayralar kulturasini o'stirish texnologiyasi keng hajmli jarayon hisoblanadi, ya'ni katta hajmdagi bioreaktorlarda hujayralarni o'stirish sharoiti ishlab chiqiladi. Hozirgi kunda bir necha kubometr hajmli bioreaktorlarda turli hujayralar kulturalarini muvaffaqiyatli masshtablashtirish bo'yicha yetarli miqdorda ko'p omillar yig'ilgan masalan, DJVERSA (hozirgi vaqtda FYTON) nemis firmasi mutaxassislari bir qator

o'simliklar hujayralarini 75000 litrli hajmga ega bo'lgan bioreaktorlarda o'stirishga erishganlar.

Nazorat savollari

1. Kallus to'qimasi nima va qanday olinadi?
2. Kallus to'qimalaridan biotexnologiyada foydalanish imkoniyatlari.
3. Hujayralar dedifferentsirovkasi deganda nimani tushunasiz?
4. Qaysi gormonlar dedifferentsirovka induktori hisoblanadi?
5. Nima uchun kallus to'qimalarini yangi oziqa muhitga ko'chirib o'tkazish zarur?
6. Kallus hujayralarining o'sish sikli fazalari.

7- Ma'ruza

Mavzu: O'simliklarni klonli mikroko'paytirish

Reja:

1. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishhaqida ta'rif
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari
3. Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish.
4. Klonli mikroko'paytirishni turli bosqichidagi o'simliklar to'qimalarini kulturalash texnikasi.

Tayanch iboralar: to'qimalar kul'turasi; o'simlik hujayrasini klonli mikroko'paytirish, apikal meristemasi, virussiz ekish materiallari, eksplantlar, meristemalar, somatik embriogeneza.

Hujayra va to'qimalar kulturasida erishilgan yutuqlar asosida o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi usuli- klonli mikroko'paytirish (in vitro sharoitida (probirkada) o'simliklarni jinssiz ko'payishi, dastlabki nusxaci bilan genetik bir xil) usuli yaratildi.

Usul asosida o'simlik hujayrasining faqat o'ziga xos bo'lgan totipotentlikni amalga oshirishdek ajoyib xususiyat yotadi, ya'ni ekzogen omillar ta'sirida o'simlik organizmi paydo bo'ladi. Bu usul, o'simliklarni ko'paytirishning an'anaviy usullariga nisbatan bir qator afzalliklarga ega:

- genetik bir xil ekish materiallar olish;
- meristema kulturasidan foydalanishi orqali o'simliklarni virusdan holi qilish;
- ko'paytirishning yuqori koeffitsienti (10^5 - 10^6 – o'tli, gulli o'simliklar uchun, 10^4 – 10^5 – butasimon daraxtlar uchun, ninabarglilar uchun 10^4);
- seleksion jarayonni davomiyligini qisqarishi;
- o'simliklarni yuvenil fazadan reproduktiv fazaga o'tishni tezlashishi;
- an'anaviy usullar bilan ko'payishi qiyin bo'lgan o'simliklarni ko'paytirish mumkinligi;

- butun yil mobaynida ish olib borishi mumkinligi, ekish materiallari o'stirish uchun maydonlarning tejamliiligi.

- o'stirish jarayonini avtomatlashtirish imkoniyati.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirish sohasida birinchi muvaffiqiyatga o'tgan asrning 50 yillarida frantsuz olimi Jorj Morel tomonidan erishilgan. U orxideyaning-regenerant o'simligini olgan. Bu vaqtda o'simliklarni apikal meristemasini invito kulturalash texnikasi yaratilgan edi. Tadqiqotchilar birlamchi eksplantlar manbai sifatida o'tchil o'simliklardan: chinnigul, xrizantema, kungaboqar, no'xat, makkajo'xori, qoqio't, salatdan foydalanib, bu o'simliklarni regeneratsiya jarayoniga va shakllanishiga oziqa muhitlari tarkibining ta'sirini o'rgandilar. J.Morel o'z tajribalarida shuningdek, simbidium (orxideyalar oilasiga mansub) o'simligini o'sayotgan uchki konussimon va ikki – uch barg asosiga ega qismini ma'lum bir sharoitda o'stirib sferik sferalar-protokormning hosil bo'lishini kuzatgan. Shakllangan protokormlarni ajratib, so'ng yangi tayyorlangan oziqa muhitda barg primordiylari va ildiz hosil bo'lgunga qadar kulturalash mumkin edi. Natijada, bu jarayonning xohlagancha davom ettirib ko'p miqdorda, yuqori sifatli, genetik bir xil, virussiz ekish materiallari olish mumkin ekanligi aniqlandi.

Shunday qilib, o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda birinchi muvaffaqiyat o'tchil o'simliklar apikal meristemasini o'ziga mos oziqa muhitda kulturalab, regnerant o'simlik olish bilan bog'liq.

Ammo mikroko'paytirishni qo'llash sohasi xilma-xil va kun sayin rivojlanib bormoqda. Bu birinchi navbatda daraxtlarni, ayniqsa, ninabarglilarni in vitro ko'paytirish va in vitro texnikasidan foydalanib dorivor o'simliklarning nodir va yo'qolib borayotgan turlarini saqlab qolish bilan bog'liq. Hozirgi vaqtda bu yo'nalish bo'yicha ko'zga ko'rinarli siljishini ko'rish mumkin. Daraxtsimon o'simliklar to'qimasi bo'yicha ishlar birinchi marta XX asrni 20 yillarida frantsuz olimi Gotre – tomonidan chop etilgan. Bunda u qayrag'och va qarag'ayning ba'zi turlari kambiy to'qimalarini in vitro kallus hosil qilishga bo'lgan qobiliyati haqida ma'lumotlar bergan. 1940 yillarda chop etilgan maqolalarda qayrag'ochning turli to'qimalarini adventiv kurtaklar hosil qilish xususiyati haqida yozilgan. Ammo mualliflar nihollarning keyingi o'sish va shakllanishini amalga oshira olmadilar. Faqatgina 1960 yillar o'rtalarida Mates tomonidan tog'terak o'simligining birinchi regenerant o'simligi olinib, tuproqqa ekishgacha yetkazilgan. Ninabarglilar to'qimalarini kulturalash ko'p vaqtgacha izlanishlar uchun ob'ekt bo'lib xizmat qildi. Bu o'simlikdan ajratilgan yuvenil to'qimalarni, undan ham qiyinrog'i katta yoshdagi o'simliklar to'qimalarini kulturalashning o'ziga xos qiyinchiligi bilan bog'liqdir.

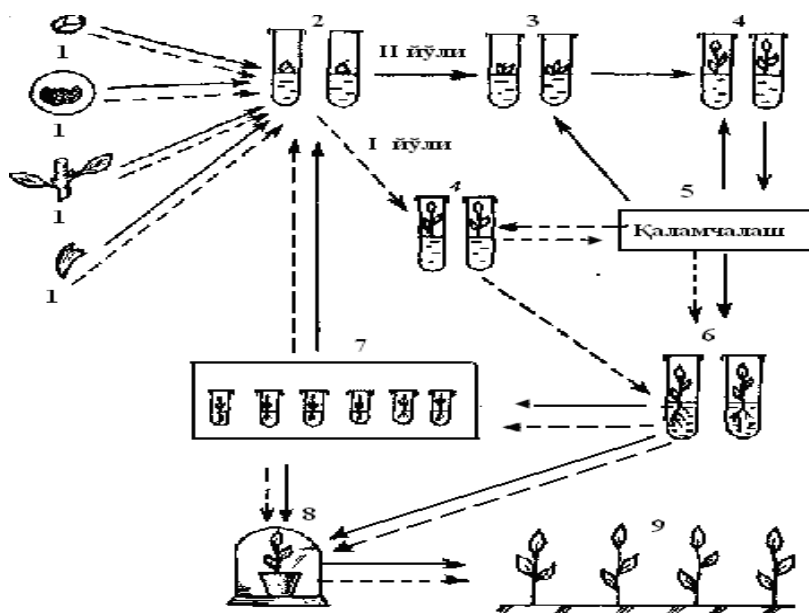
Ma'lumki, daraxtsimon o'simliklar, ayniqsa ninabarglar sekin o'sadi, ildiz otishi qiyin. Ular katta miqdorda ikkilamchi metabolit birikmalar (fenollar, terpenlar va boshqa moddalar) tutadi, bu ajratilgan to'qimalarda turli fenolazalar ta'sirida oksidlanadi. O'z navbatida fenoldan oksidlangan mahsulotlar odatda hujayraning bo'linishi va o'sishini to'xtatishi orqali

birlamchi eksplantlarning nobud bo'lishiga, yoki daraxtsimon o'simliklarning advenetiv kurtaklar paydo qilish xususiyatini kamayishi bilan xarakterlanadi. Ammo, barcha qiyinchiliklarga qaramay, olimlar ilmiy tadqiqotlar manbai sifatida ko'pincha daraxtsimon o'simliklarni to'qima va organlaridan foydalanishadi. Hozirgi vaqtda 40 ta oilaga kiruvchi 200 ga yaqin daraxt turlari (kashtan, eman, qayin, zarang, tog'terak, terak va tog'terak duragaylari, qarag'ay, qoraqarag'ay) in vitro sharoitida kupaytirilmoqda.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari

Klonli mikroko'paytirish jarayonini 4 ta bosqichga bo'lish mumkin.

- 1) donor – o'simlik tanlash, eksplantlarni o'simlikdan alohida ajratish va steril kulturada yaxshi o'sadiganini ajratib olish;
- 2) maksimal miqdorda meriklonlar olishga erishilgandan so'ng xususiyy mikroko'paytirish;
- 3) ko'paytirilgan nihollarning ildiz otishi va tuproq sharoitiga ko'nikishini amalga oshirish, zarur holatda regenerant o'simlikni past haroratda (-2^0 , -10^0S) saqlash;
- 4) o'simliklarni issiqxona sharoitida o'stirish va ularni sotishga yoki dalaga ekishga tayyorlash (7.1- rasm).



7.1. rasm. Mavjud meristemalarni rivojlanishini faollashtirish (I yo'li), eksplantlarda adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini induktsiyalash (II-yo'li) yordamida o'simliklarni klonli mikroko'paytirish usullari sxemasi

1-boshlang'ich eksplantni tanlash; 2-steril kulturalar olish; 3-birlamchi eksplantlarda adventiv kurtaklarning xosil bo'lishi.4-kurtaklarning rivojlanib mikronihollar paydo qilishi; 5-mikronihollarni ko'paytirish (qalamchalash); 6-mikronihollarning ildiz otishi; 7-past xaroratda regenerant o'simliklar

yashashishini ta'minlash; 8-o'simliklarni issiqxona sharoitiga o'tqazish; 9-regenerant o'simliklarni dalaga ekish.

Klonli mikroko'paytirishning bir necha usullari mavjud. Turli mualliflar eksplantlarni kulturalash sharoitlari morfogenez jarayoniga ta'siri bo'yicha individual izlanishlar o'tkazib, o'stirish sharoitining o'zgarishiga javoban turli morfogenetik reaksiyalarni kuzatishlarinatijasi klonli mikroko'paytirish usullarining yangi klassifikatsiyasi paydo bo'lishiga olib keldi. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish yuzasidan adabiyotlarda berilgan ma'lumotlardan kelib chiqib, bu jarayonni quyidagi usullaryordamida amalga oshirish mumkin;

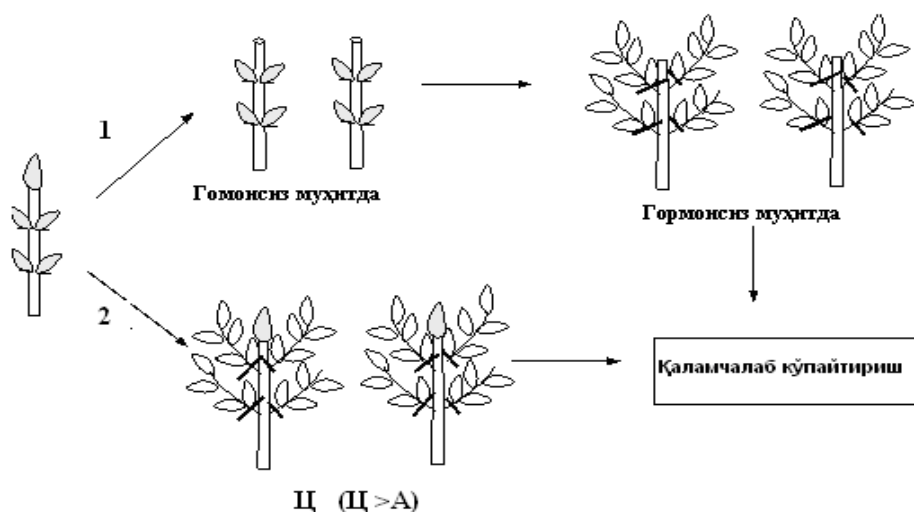
- o'simlikda mavjud bo'lgan meristemani faollashtirish (poya apeksi, bo'shliqdagi va tinim davridagi kurtaklar);

- adventiv kurtaklarni bevosita eksplant to'qimalarida paydo bo'lishini induktsiyalash;

- somatik embriogenez induktsiyasi;

- birlamchi va qayta ko'chirib o'tkazilgan kallus to'qimalaridagi adventiv kurtaklarni differentsiylanishi.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishda qo'llaniladigan asosiy usul, bu o'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni rivojlanishini apikal dominantlikni to'xtatilishi hisobiga faollashtirishdir (7.2- rasm).

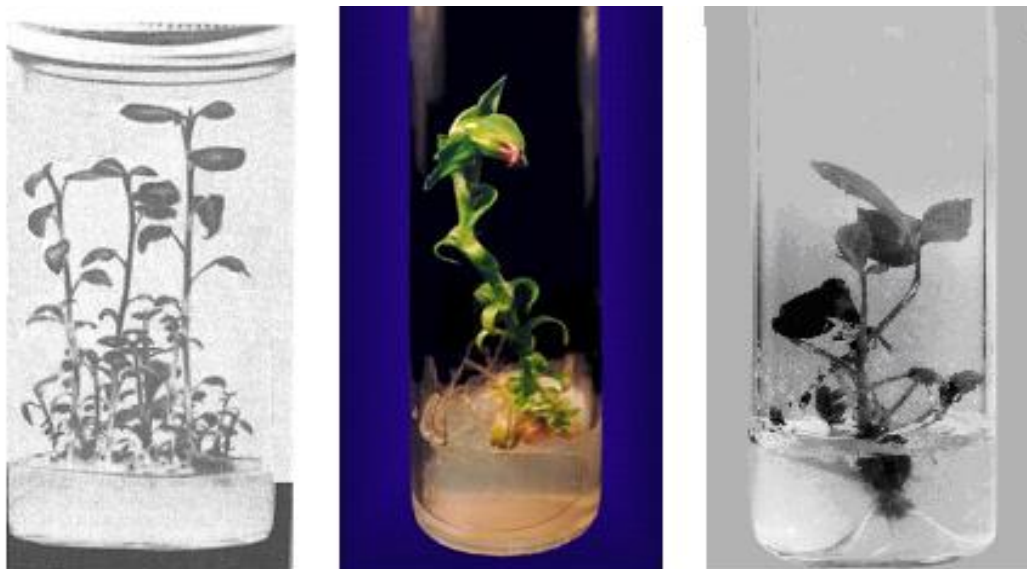


7.2- rasm. Mavjud meristemalar rivojlanishini faollashtirish usuli orqali o'simliklarni ko'paytirish sxemasi.

1-nihollarning uchki meristemasini olib tashlash. 2-ozuqa muhitlarga sitokininlarni qo'shish. (S-tsitokininlar, A-uksinlar)

Bunga ikki xil yo'l bilan erishish mumkin: a) poyani uchki meristemesi olib tashlanadi va novda in vitro gormonsiz muhitda mikroqalamchalanadi; b) ozuqa muhitiga sitokinin tipi ta'siriga ega moddalar qo'shish orqali ko'plab ichki bo'shliqdan chiqqan novdalarning rivojlanishi indutsirlanadi.

Qoida bo'yicha sitokininlar sifatida 6-benzilaminopurin (BAP) yoki 6-furfurilaminopurin (kinetik), shuningdek 2-izopentiladenin (2ip) va zeatindan foydalaniladi. Shunday usulda olingan nihollar birlamchi eksplantndan ajratiladi va ichki meristemalar proliferatsiyasini stimullovchi va nihollarni paydo bo'lishini oshiruvchi yangi tayyorlangan oziqa muhitida yana kulturlanadi. Hozirgi vaqtda bu usul qishloq ho'jalik ekinlar va texnik ekinlar (qand lavlagi, tamaki, yer noki, chirmoviq), shuningdek sabzavot ekinlari (pomidor, kartoshka, bodring, qalampir, qovoq va boshqalar), mevali daraxtlar, butalar (olma, olxo'ri, olcha, nok, uzum, qarag'at, krijovnik va boshqalar) va manzarali o'simliklar (terak, tol, olxa, qayin, chetan, sekvoyya, tuyay, mojjevelnik va boshqalarning virussiz ekish materiallari (ko'chatlar, tugunaklar) olishda keng qo'llanilmoqda (7.3 -rasm. a.b.v).



a)

b)

v)

7.3-rasm. O'simliklarni mavjud meristemalarni faollashtirish usuli yordamida ko'paytirish.

A-kartoshka; b-atirgul; v-maymunjon.

Kartoshka kabi ba'zi qishloq ho'jalik ekinlari uchun klonli mikroko'paytirish texnologiyasi sanoat asosida yo'lga qo'yilgan.

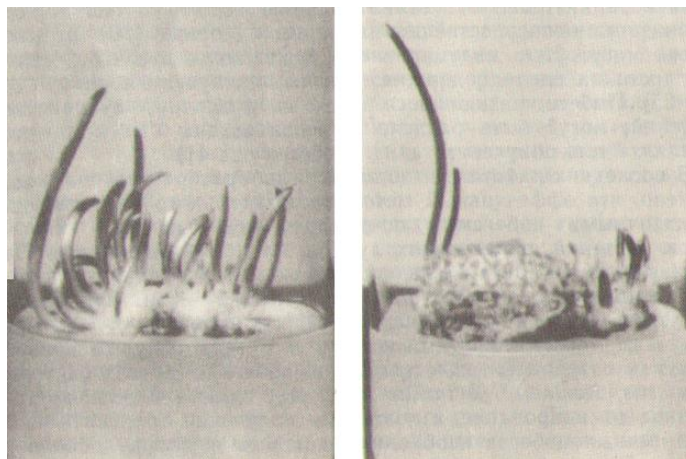
O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish usulini qo'llash orqali kartoshkani bitta meristemasidan 1 yilda 10^5 o'simlik olish mumkin, shuningdek bu texnologiya yordamida probirkalarda qimmatli, virussiz urug'lik materiallar mikrotuganaklar yetishtirish ko'zda tutilmoqda

Ikkichi usul – eksplant to'qimalarida tasodifiy (adventiv) kurtaklar induktsiyasini amalga oshirishga qaratilgan (3.11-rasm).

Bu usul alohida ajratilgan o'simlik qismlarini qulay oziqa muhit sharoitida kulturalab, unda yetishmayotgan a'zolarini tiklash orqali yetuk o'simlik regeneratsiya qilishga asoslangan.

Tasofiy kurtaklarni o'simlikning virusdan holi qilingan har qanday organ va to'qimalarida (alohida ajratilgan murtak, barg, poya, urug' kurtak, piyoz osti qismida, qobig'i, ildiz segmentlarida va gul barglarda) hosil qilish mumkin. Bu jarayon faqat sitokinin yoki uning auksin bilan 10:1 yoki 100:1 nisbatdagi aralashmasini tutuvchi oziqa muhitlarda o'tadi. Bunday xollarda auksin sifatida ko'pincha β -indolil-3 sirka kislota (ISK) yoki α -naftil sirka kislota (NSK)dan foydalaniladi. Bu usul yuksak o'simliklarni klonli mikroko'paytirish bo'yicha keng tarqalgan usul bo'lib, ko'pgina piyozdan ko'payadigan o'simliklar (nartsis, liliya, giatsint, gladiolus lola) piyoz qobig'i, bazal qismi segmentlaridan, barg eksplantlaridan; Brassica turkumi vakillari (gul karam, bosh qaram, broyussel karami, bargli pareli, brokkoli karamlarini) gipokotil segmentlaridan, urug'murtak, barglardan; piyoz,

sarimsoq piyozni piyoz osti to'qimasi uchki meristemasidan; pomidorni apikal va ichki meristemalardan, sikor salatini barg plastinkalari segmentlaridan; petuniya – ildiz segmentlaridan, gloksiniya, binafsha gullarini barg plastinkasi segmentlaridan alohida ajratilgan yetilgan va yetilmagan murtaklardan klonli mikroko'paytirishda foydalaniladi (7.4-rasm).



7-4-rasm. Eksplant to'qimalarida tasofidiy (adventiv) kurtaklar induktsiyasini amalga oshirish. Narcissus o'simligi bargi asosidagi eksplantlarda nihollarning xosil bo'lishi (o'ngda); kallus to'qimasidagi kurtak va nihollar

Klonli mikroko'paytirish texnologiyasi qulupnay o'simligi uchun juday yaxji darajada yo'lga qo'yilgan.

Yosh o'simlikdan virusdan holi, uchki meristema ajratiladi va moslashtirilgan, 0,1 –0,5 mg/l BAP tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitida o'stiriladi, kulturalashning 3-4 haftasidan so'ng, asosida tasofidiy kurtaklar shakllanayotgan meristema o'simalari rivojlanadi. Ular tez o'sib yangi kurtaklar paydo qiladi. 6-8 hafta davomida kurtaklar konglomerati hosil bo'ladi, ular rivojlanishning turli davrlarida bo'lib, bir-birlari bilan biriktiruvchi to'qimalar orqali birikkan bo'ladi. Kalta novdalarda barglar paydo bo'ladi, pastki qismida yangi adventiv kurtaklar shakllanadi. Bu kurtaklar ajratiladi va yangi oziqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. Sitokinin tutuvchi oziqa muhitda yon novdalarning paydo bo'lishi davom etadi, gormonsiz oziqa muhitda esa 4-6 hafta davomida bargli, ildizli normal o'simlik paydo bo'ladi. Eksplantning morfogenetik faolligi 3-4 yilgacha saqlanib qoladi. Shunday qilib, bir boshlang'ich o'simlikdan yiliga bir necha million o'simlik olish mumkin.

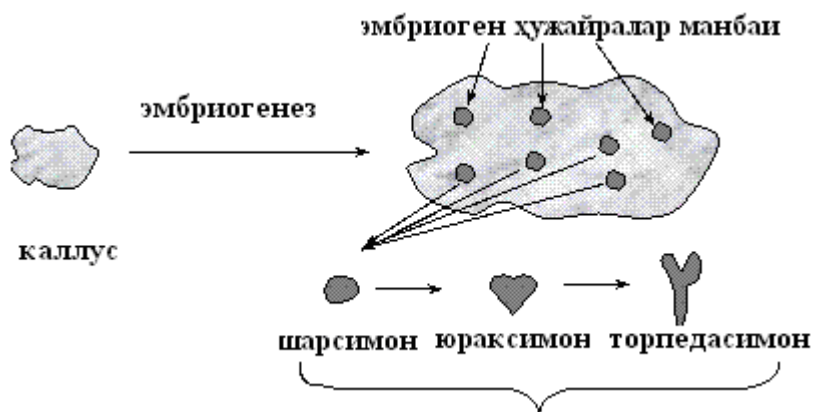
Albatta, tadqiqotchilarda adventiv kurtaklar paydo bo'lishida hujayraning qaysi qatlami meristemalar differentsiatsiyasida ishtirok etishi haqidagi savol paydo bo'ladi. Bu savol bo'yicha hozirgacha aniq bir javob yo'q. Tamaki to'qimalari bo'yicha olib borgan ishlarida, Tran Tan Van aynan epidermisning faol to'qima ekanligini va oziqa muhitidagi gormon balansiga

bog'liq holda kurtak, kallus yoki ildiz hosil qilishga qodir ekanligini ko'rsatdi. Sitologik izlanishlarni ko'rsatishicha, lola va nartsis piyozi bazal qismi segmentlarida adventiv novdalar piyoz tagiga yopishib turuvchi meristema hujayralarining ustki qatlamlarida shakllanar ekan, gloksiniya o'simligida adventiv kurtaklarni shakllanish jarayoni, barg plastinkalarining subepidermal hujayra qavatlarida sodir bo'ladi.

Shuningdek, daraxtsimon o'simliklar ustida ish olib borayotgan tadqiqotchilar ham bu savol yuzasidan bir fikrga kelganicha yo'q. Aniqlanishicha, kulturalanayotgan archa nina barglari eksplantining epidermis qavatida, psevotsugada esa subepidermal qavatida kurtaklar paydo bo'ladi, qarag'ay urug' murtagi faqat sitokinin (BAG) tutuvchi oziqa muhitda kulturlanganda bu jarayon bir vaqtning o'zida ham epidermal, ham subepidermal qatlamlarda yuzaga keladi.

Uchinchi usul, somatik hujayralarda murtaksimon strukturalarni differentsiatsiyasiga asoslanadi va *somatik embriogenez* deb ataladi. Murtaklarni invitro va invivo hosil bo'lishidagi asosiy farqi shundan iboratki, somatik murtaklar murtak xaltasidan tashqarida aseksual ravishda rivojlanadi va o'zining tashqi ko'rinishidan bir vaqtning o'zida ham poyaning ham ildizning apikal meristemi rivojlanayotgan qo'sh qutbli strukturalar ko'rinishini eslatadi.

Stevard fikriga asosan, somatik murtaklar rivojlanishning uchta bosqichidan o'tadi: sharsimon yuraksimon, torpedasimon va jarayon so'nggida o'simtalarning rivojlanish tendentsiyasiga ega bo'ladi. (7.5-rasm)



7.5-rasm. Embrioidlarning rivojlanish bosqichlari

Bunday holat sabzi hujayra to'qimalarida o'tgan asrning 50 yillarida aniqlangan bo'lib, hozirgi kunda bu usul ko'pgina Orchidaceae va Rutaceae oilasiga mansub o'simliklar, ba'zi boshoqli o'simliklar (bug'doy, arpa), beda, rediska, uzum, shuningdek, turli daraxtlarni (tog'terak, evkalipt, eman, qora qarag'ay) ko'paytirishda foydalaniladi.

To'qimalar kulturasida embrioidlarni shakllanishi ikkita bosqichda boradi. Birinchi bosqichda eksplant hujayralari oziqa muhit tarkibiga auksin, 2,4-dixlorfenosirka kislota (2,4-D) qo'shilishi hisobiga differentsiyalanadi

va murtakka aylanadi. Keyingi bosqichda shakllangan hujayralardan embrioidlar rivojlanishini amalga oshirish lozim, bunga oziqa muhiti tarkibidagi auksinlar miqdorini kamaytirish yoki umuman yo'qotish orqali erishiladi. Somatik embriogenez rivojlanishini birlamchi eksplant to'qimalarida, shuningdek kallus kulturalarida kuzatish mumkin. Yuqorida bayon qilingan usul klonli mikroko'paytirishda kam qo'llaniladi, chunki bu usul bilan olingan ekish materiallari donor-o'simlikka nisbatan genetik barqaror emas. Ma'lumki, kallus hujayrasi (suspensiyasi) suyuq oziqa muhitda kulturalanganda somatik embriogenez hosil bo'ladi va ancha qiyin operatsiya bo'lib, hujayralarga xos bo'lgan totipotentlikni har doim ham (realizatsiya) yuzaga chiqarib bo'lmaydi. Ammo, ko'paytirishning bu usuli o'zining afzallik tomonlariga ham ega bo'lib, klonli mikroko'paytirishning so'nggi, uchinchi bosqichini, ildiz chiqarishning maxsus sharoitini tanlash, probirka o'simliklari adaptatsiyasi (moslashishi) kabilarni qisqartirish imkonini beradi, chunki somatik embrionlar to'liq shakllangan o'simlikni o'zida namoyon qiladi. Ularni kapsulalashda maxsus texnikadan foydanilsa, balki bu embrioidlardan ham sun'iy urug'lar olish mumkin bo'lar edi.

Klonli mikroko'paytirishning to'rtinchi usuli – birlamchi va ko'chirib o'tkazilgan kallus to'qimalarida adventiv (tasodifiy kurtaklarni) differentsiylanishidir. Bu usul invitro ekish materiallari olishda kam qo'llaniladi. Bunga sabab, kallus to'qimalarini yangi oziqa muhitlarga muntazam ravishda ko'chirib o'tkazilganda, mikroko'paytirish uchun noo'rin holatlar kuzatiladi bular: kulturalanayotgan hujayralar tomonidan ploidlignini (karralik) o'zgarishi, xromosomalarni strukturaviy qayta tuzilishi va genlar mutatsiyasini to'planishi kulturalanayotgan hujayralarning morfogenetik potentsiallarining yo'qotilishidir. O'simliklarni genetik o'zgarishlari bilan bir qatorda: pakanalik, barglarining noto'g'ri tomirlanishi va ularni poyada joylashishi, bo'g'in oralig'ini kalta va qalinlashishi, kasalliklar va zararkunandalarga chidamliligini kamayishi kabi morfologik o'zgarishlar ham kuzatiladi. Shuningdek, kallus hujayralarini uzoq vaqt davomida kulturalash bu o'zgarishlarni yanada chuqurlashtiradi, shuning uchun klonli mikroko'paytirishda uyushmagan o'sish davrini iloji boricha qisqartirish lozim.

Ammo, ba'zi kamchiliklarga qaramay, yuqoridagi usul o'zining ijobiy tomonlariga va afzalliklariga ham ega. Birinchidan, bu usul samarali va iqtisodiy foydalidir, chunki ko'paytirish jarayonida har bir kallus hujayrasidan kulturalashning qulay sharoitida o'simlik paydo qiluvchi tasodifiy kurtaklar shakllanishi mumkin. Ikkinchidan, ba'zi hollarda o'simliklarni to'qimalar kulturalasidan ko'paytirishning yagona usulidir. Uchinchidan bu usul orqali olingan o'simliklar genetik va morfofiziologik farq qilishi tufayli seleksionerlarda qiziqishi uyg'otadi. Bu seleksionerlarga ho'jalik ahamiyati muhim bo'lgan xususiyatli o'simliklarni tanlash va ularni dala sharoitlarida o'sishini baholash imkoniyatini beradi. Bu usul kallus to'qimalarning genetik barqaror ekanligi ko'rsatilgan o'simliklar uchun

qo'llaniladi. Bunday o'simliklarga amarillis, pomidor, sparja va ba'zi ko'p yillik o'simliklar kiradi. Kallus to'qimasi orqali, qand lavlagi, Brassica turkumini ba'zi vakillari, makkajo'xori, sholi, bug'doy, kungaboqar, zig'ir o'simliklari ko'paytirilgan, bodring, kartoshka va pomidorning kallus to'qimalaridan o'simliklarni regeneratsiyalash usullari ishlab chiqilgan.

Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish. Klonli mikroko'paytirishning afzalligi genetik bir xil virussiz ekish materiallari olish mumkinligidir. Bunga apeks to'qimalari va poyaga xos kurtaklar meristemasidan foydalanib erishish mumkin. Meristema o'sish konusi va bir yoki ikki barg asosidan (primordiy) iborat bo'lib, virusdan holi bo'ladi (7.6-rasm).



7.6-rasm. Uzunasiga kesilgan poyaning uchki o'sish nuqtasi – apikal meristemi

Virus bilan zararlangan o'simliklarning meristema to'qimalari virusdan holi ekanligi birinchi bo'lib Chung (1938) va P.R.Uayt (1943) tomonidan aniqlangan, XX asrning 50 yillarda georginiya o'simligini o'sish nuqtasidan virussiz o'simlik olish bo'yicha birinchi muvaffaqiyatli tajriba amalga oshirildi. Bu usul mualliflari J.Morel va S.Martinlarning taxminicha, kasallangan o'simliklarda viruslar tarqalishi bo'yicha tez o'sayotgan yosh organlardan orqada qoladi, ayniqsa differentsiyalanmagan yosh to'qimalarda virusning miqdori yo'q darajada bo'ladi. Bu usul asosiga qo'yilgan nazariy kontsepsiya sababi keyingi vaqtlarda aniqlana boshladi.

Amaliyotda qo'llaniladigan holatida strukturaviy asos bo'lib, o'simlik o'sish nuqtasi tuzilishining spetsifikasi xizmat qiladi; uning apikal meristema deb ataluvchi distal qismi turli o'simliklarda turlicha o'lchamga ega bo'lib, o'rtacha 200 mkm diametriga va 20-150 mkm uzunlikka ega bo'ladi. (4.13-rasm) Differentsiyalanayotgan meristemani hujayralarni pastroq qatlamida o'tkazuvchi sistema bog'lamlarini paydo qiluvchi prokambiy hosil qiladi. Ma'lumki, klonli mikroko'paytirishdagi muvaffaqiyat meristema eksplantini

o'lchamiga bog'liq, barg asoslari va poya to'qimalari qancha katta bo'lsa, morfogenez jarayoni shuncha yengil kechadi va normal probirka o'simligi hosil bo'lishi bilan tugaydi. Shu bilan birgalikda, virus zarralaridan holi zona turli viruslar uchun turlichadir. Bu o'simlikning turlari va navlariga bilan bog'liq. Donli ekinlar koleoptilida, masalan, o'tkazuvchi naylardan holi uchki qismining o'lchami 250 mkm ga yetishi, mumkin. Apikal meristemani bunday o'ziga xos tuzilishi o'tkazuvchi tizimlar orqali viruslarni tez tashilishini istisno qiladi, lekin plazmodezma orqali biriktiruvchi meristema hujayralariga sekin tarqalish imkoniyatiga yo'l qo'yadi. Kartoshkani 200 mkm o'lchamdagi apikal meristemasini oziqa muhitda kulturalash va keyinchalik regenerant o'simlik olishda aniqlanishi, olingan o'simliklardan faqat 10 % gina X- virusdan, ammo 70 % U-virusdan holi ekan.

Elektron mikroskop orqali, ba'zi viruslar bilan o'simliklar meristemalarining ham zararlanganligi aniqlangan bo'lib, bu zararlangan o'simlikning meristemalariga ham virusning yetib borganligidan dalolat beradi.

Shunday qilib, apikal meristemalarni virus bilan zararlangan o'simliklarni sog'lomlashtirish usulida qo'llash ham kam samara berar ekan. CarMV va CarVMV viruslari bilan zararlangan chinnigul, simbidium o'simliklar apikal meristemalaridan invitro sharoitida zararlangan (infektsiyaga uchragan) meriklonlar olingani tajribalarda ko'rsatilgan.

Umuman olganda, zararlangan o'simlikdan virussiz apikal meristemalar olish mumkin, buning uchun sog'lom to'qimaga virusning tushish havfininolgacha pasaytirish lozim. Buning uchun boshlang'ich o'simlikoldindan termoterapeya yoki xemoterapeya usullari yordamida virusdan tozalanishi kerak.

Termoterapeya usuli invivo sharoitida, shuningdek invitro sharoitida ham qo'llanilib, quruq, issiq xavodan foydalanishga asoslangan. Termoterapeya jarayoni orqali o'simliklarni virusdan holi qilish mexanizmi haqida turli nazariyalar mavjud. Ulardan biri yuqori harorat virus zarrachalariga to'g'ridan-to'g'ri ularning ribonuklein kislotalari va oqsil qobig'i orqali ta'sir etib, ularning fizik parchalanishiga va virus zarrachalarining zararlash qobiliyatini yo'qolishiga olib keladi degan fikr bersa, ikkinchi nazariya esa, yuqori harorat viruslarga o'simliklarni metabolizmi orqali ta'sir etadi, degan taxminni ilgari suradi. Yuqori harorat ta'sirida virus zarrachalarini sintezi va deqratsiyasi orasidagi muvozanat buziladi. Agar sintez amalga ohsa, unda zararlangan to'qimalarda viruslar kontsentratsiyasi oshadi.

Termoterapeya qilinayotgan o'simliklar maxsus termokameralarga joylashtiriladi va birinchi haftada harorat 25⁰ dan 37⁰S gacha har kuni 2⁰S dan oshirib boriladi. Termoterapeyada butun jarayon davomida opimal rejimni yaratish va uni ushlab turish ham muhim bo'lib, harorat 37⁰S, kunduzgi lampa yorug'ligi 5 ming lk, kulturaga qarab, fotodavr bir sutkada 14-16 soat, termokameraning havo namligi 90 % ni tashkil etishi lozim.

Termoterapeyani davomiyligi virus tarkibiga va ularning yuqori haroratga chidamlilik darajasiga bog'liq. Masalan, agar chinnigulga 10-12 haftalik issiqlik ta'siri yetarli bo'lsa, xrizantemani B-virusidan holi qilish uchun esa bu muddat 12 hafta va undan ko'proqni tashkil etadi. Ammo, piyozli o'simliklar, simbidium, atirgullar va boshqa shu kabi o'simliklarga uzoq vaqt in vivo teromoterapeya qilish salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bunday o'simliklar uchun termoterapeyani in vitro regenerant o'simliklarda o'tkazish maqsadga muvofiqdir.

Termoterapeyani o'simliklarni virusdan tozalashdagi ijobiy ta'siri bilan birga yuqori xaroratning in vitro sharoitida ba'zi o'simliklarni o'sish nuqtasiga va morfogenez jarayoniga ham yaxshi ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Termoterapeyani qo'llash orqali ko'paytirish koeffitsientini 50-60% ga oshirish, probirka regenerant o'simliklarini tuproq sharoitiga moslashishini yaxshilash va shuningdek, boshlang'ich virussiz o'simliklar sonini ko'paytirish imkonini beradi.

Termoterapeyani meristema kulturasida bilan birgalikda qo'llash orqali nina barglilarni regenerant o'simliklarini 70%ini xloroz virusidan, qulupnay o'simligini 90%i, qizil va qora qarag'at (smorodina) 20%i, maymunjonning 50%i, kartoshka o'simliklarining 80% sog'lomlashtirilgan, virusdan xoli o'simliklarini olish mumkin.

O'simliklarda virusning mavjudligini immunoferment tashxisi, elektron mikroskop va o'tchil indikator – o'simliklar yordamida aniqlash mumkin.

Virussiz, o'simliklar olishning boshqa usuli – **xemoterapeya** usuli bo'lib, bu usul apikal meristemalar kultralanayotgan oziqa muhitga guanozinni analogi–1 β –D–ribofuranosil–1,2,4–triazol-3 – karboksimid (virozol deb ham ataladi) 20-50 mg/l kontsentratsiyada qo'shishdan iborat. Bu virusga qarshi preparat bo'lib keng ta'sir spektriga ega. Virozolni kultural muhitda qo'llanilganda virussiz meristema o'simliklarini olish foizi virus odatiy bo'lib qolgan o'simliklar uchun 80-100 % nazoratda esa 0-41 % ga oshdi. Xemoterapeya usuli olxo'ri, gilos, maymunjon, turli gullar va boshqa o'simliklarga qo'llanilganda yaxshi natijalar olingan. Virussiz ekish materiallari olishning xemo va termoterapeya usullari iqtisodiy kam foyda beradi. Shuning uchun Hozirgi vaqtda transgenoz usullari yordamida o'simliklarni virusga genetik chidamli shakllari yaratilmoqda.

Klonli mikroko'paytirishni turli bosqichidagi o'simliklar to'qimalarini kulturalash texnikasi.

To'qimalarni kulturalashdagi to'rtta bosqichning har birida, muayyan tarkibdagi oziqa muhitidan foydalanish zarur bo'ladi.

I-bosqich. Bu bosqichda yaxshi o'sadigan steril kultura olishga erishish lozim. Buning uchun o'simlik to'qimalari simob tutuvchi eritmalarida (sulema yoki diatsid, 0,1-0,2% ligi) yoki xlor tutuvchi (10-15 % li xloramin, 5-7 % li natriy yoki kaltsiy gipoxloridi) eritmalarida nozik, tez zararlanadigan to'qimalar 5-10 min, qalin, zich po'stli to'qimalar 10-12 minut davomida

sterillanadi. Shundan so'ng o'simlik to'qimalari steril distillangan suvda yaxshilab yuviladi va oldindan tayyorlab qo'yilgan oziqa muhiti yuzasiga joylashtiriladi. Agar eksplantning steril boshlang'ich kulturasini olish qiyin bo'lsa, u holda oziqa muhiti tarkibiga antibiotiklar (tetratsiklin, benzilpenitsillin va boshqalar) 100-200 mg/l miqdorda qo'shiladi. Bu birinchi navbatda daraxtsimon o'simliklarga taalluqli bo'lib, ularda ichki infektsiyani to'planish tendentsiyasini kuzatish mumkin.

Birinchi bosqichda, Murasiga va Skuga retsepti bo'yicha mineral tuzlar, shuningdek, turli biologik aktiv moddalar va o'sish stimulyatorlarni (auksinlar, sitokinlar) ob'ektga qarab turli nisbatda tutuvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Birlamchi eksplantning oziqa muhitga toksin moddalar (fenollar, terpenlar va boshqalar) ajratishi hisobiga, ularning o'sishi to'xtaganligi kuzatilgan hollarda, o'sishni yaxshilash maqsadida antioksidantlardan foydalaniladi. Buni ikki yo'l bilan: eksplantni antioksidantning kuchsiz eritmasida 4-24 soat davomida yuvish: antoksidantni to'g'ridan-to'g'ri oziqa muhitiga qo'shish orqali amalga oshirish mumkin. Antoksidantlar sifatida askorbin kislota (1-60 mg/l), glyutation (4-5 mg/l), ditiotrietol (1-3 mg/l), dietilditiokarbamat (2-5mg/l), polivinilpirrolidon (5000–10000 mg/l) dan foydalaniladi. Ba'zi hollarda oziqa muhitga 0,5 –1 % miqdorda adsorbent-aktivlangan ko'mir qo'shish maqsadga muvofiqdir. Birinchi bosqichning davomiyligi 1 oydan 2 oygacha, natijasida meristema to'qimalarining o'sishi va birlamchi nihollarning shakllanishini kuzatish mumkin.

II bosqich – xususiy mikroko'paytirish. Bu bosqichda meriklonlarning maksimal miqdoriga erishish lozim, lekin shuni unutmaslik kerakki, subkulturalash oshishi bilan g'ayritabiiy morfologiyaga ega regenerant o'simliklar soni ham orta boradi, ba'zi hollarda mutant o'simliklar ham paydo bo'lishi mumkin. Birinchi bosqichdagi singari turli biologik faol moddalar va o'simliklarni o'sish regulyatorlarini tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitidan foydalaniladi. Eksplantlarni kulturalashni optimal sharoitini tanlashda oziqa muhit tarkibiga kiritilgan sitokin va auksinlarni miqdori va nisbati asosiy rolni o'ynaydi. Sitokininlardan BAP 1 dan 10 mg/l, auksinlardan ISK va NSK 0,5 mg/l miqdordagi kontsentratsiyalaridan foydalaniladi. O'simlik to'qimalari auksinning miqdori oshirilgan oziqa muhitlarda uzoq vaqt o'stirilganda, to'qimalarda auksinning asta-sekin to'planib, zarur bo'lgan fiziologik miqdoridan yuqori bo'lganda, zaharli ta'sir etib, morfologiyasi o'zgargan o'simlik paydo bo'lishiga olib keladi. Shuningdek, klonli mikroko'paytirish uchun noxush bo'lgan samarasini ham kuzatish mumkin, bularga uchki meristema hujayralari bo'linishini kamayishi, hujayralari tarkibi suv bilan to'yingan nihollar paydo bo'lishi, o'simlikning ildiz otish va o'sish xususiyatlarining yo'qolishi kabi ta'sir samarasini berishi mumkin. Sitokininlarni nojo'ya ta'sirini bartaraf etish uchun N.V.Kata va R.G.Butenko bergan ma'lumotlardan foydalanib minimal

miqdorda sitokinin tutuvchi oziqa muhitlardan foydalanilganda mikroko'paytirishni turgun koeffitsientiga erishishi mumkin.

III,IV- bosqichlar – mikronihollarni ildiz ottirish, ularni tuproq sharoitiga ko'niktirish va dalaga ekishga tayyorlash kabi nihoyatda ko'p mehnat talab etadi. Qoida bo'yicha uchinchi bosqichda oziqa muhitining asosiy tarkibi o'zgartiriladi: Murasiga va Skuga bo'yicha qo'shiladigan mineral tuzlar miqdori ikki, uch barobar kamaytiriladi yoki Uayt muhiti bilan almashtiriladi, qand miqdori 0,5 – 1% gacha kamaytiriladi va gormonlardan faqat auksinishtirok etadi, sitokinindan umuman foydalanilmaydi. Ildiz hosil bo'lish stimulyatori sifatida β -indolil –3-moy kislota (IMK), ISK yoki NSK dan foydalaniladi: Mikronihollarda ildiz hosil qilish ikki xil usul yordamida amalga oshiriladi: 1) mikronihollar bir necha soat davomida (2-4 soat) steril, miqdori oshirilgan (kontsentrlangan) auksin eritmasiga (20-50 mg/l) solib qo'yiladi va gormonsiz agarli muhitda yoki bevosita mos keluvchi tuproq substratida (impulsli ishlov) kulturalanadi;

2) mikronihollarni 3-4 hafta davomida kam kontsentratsiyada (1-5 mg/l) auksin tutuvchi oziqa muhitda to'g'ridan-to'g'ri kulturalash. So'nggi vaqtlarda probirka o'simliklarini gidroponika sharoitida ildiz ottirish usulidan ham foydalanila boshladi. Bu usul ildiz otish jarayonini bir oz osonlashtirib, bir vaqtning o'zida tabiiy sharoitga moslashgan o'simlik olish imkonini beradi. Kartoshka uchun substratsiz gidroponikani qo'llab, kichik tugunaklar olish mumkin. Kultural idishlarning pastki qismi qalin qora mato bilan o'raladi yoki oziqa muhit tarkibiga aktivlangan ko'mir kiritilganda mikronihollarni ildiz otishiga imkon beradi.

Regenerant o'simliklarni substratga ko'chirib o'tkazish ma'suliyatli bosqich bo'lib, mikroko'paytirish jarayonini yakunlaydi. Probirka o'simliklarini ko'chirib o'tkazish uchun eng qulay vaqt bahor va yozning boshlang'ich davri hisoblanadi. Ikki yoki uch bargli va ildiz tizimi yaxshi rivojlangan o'simliklar kolba yoki probirkalardan uzun uchli pintset yoki ilmoqlar yordamida chiqarib olinadi. O'simlik ildizlari agar qoldiqlaridan yuvib tozalanadi va oldindan 85-90⁰S da 1-2 soat davomida sterillangan tuproqli substratga ekiladi. Ko'pchilik o'simliklar uchun substrat sifatida torf, qum (3:1); torf, tuproq, perlit (1:1:1); torf, qum perlit (1:1:1) dan foydalaniladi. Oldindan tayyorlangan tuproqli substrat bilan quti yoki torfli idishlar to'ldiriladi va unga o'simliklar ekiladi. O'simliklar ekilgan idishlar harorati 20-22⁰S, yorug'ligi 5 ming lk dan ortiq bo'lmagan, namligi 65-90 % bo'lgan issiqxonalar (teplitsa)ga joylashtiriladi. O'simliklarni yaxshi o'sishi uchun sun'iy tuman yaratiladi. Bunday sharoitlarni yaratish imkoni bo'lmagan hollarda o'simliklar o'sayotgan idishlar shisha bankalar yoki polietilen plenka xaltalar bilan yopiladi, so'ng o'simlik batomom ko'nikkuniga qadar asta – sekinlik bilan ochib boriladi.

Yaxshi ildiz otgan o'simliklar ko'chirib o'tkazilgandan 20-30 kundan so'ng Knudson, Murasige va Skuga, Chesnokov, Knoplar tomonidan taklif etilgan tarkibdagi o'simlik turiga bog'liq holda mineral tuzlar eritmalari bilan

yoki kompleksli mineral o'g'itlar bilan oziqalandiriladi. O'simliklar o'sa borishi bilan ularni yangi substrat solingan kattaroq idishlarga ko'chirib o'tkazish lozim.

Akklimatizatsiyalangan o'simliklarni bundan keyingi o'sishi har bir individual turdagi o'simliklar uchun qabul qilingan agrotexnikasiga mos ravishda bo'ladi.

Probirka o'simliklarini tuproq sharoitiga moslashish jarayoni ancha qimmatli va ko'p mehnat talab qiladigan operatsiyadir. Ko'pincha o'simliklar tuproqqa ko'chirib o'tkazilganda o'sishdan to'xtashi, barglarini to'kishi va o'simlikning nobud bo'lishi kuzatiladi. Bu birinchi navbatda probirka o'simliklarini barg og'izchasi (og'izcha) apparati faoliyatining buzilishi natijasida katta miqdordagi suvning yo'qolishi bilan bog'liq.

Ikkinchidan, ba'zi o'simliklarda in vitro sharoitida ildiz popuklari hosil bo'lmaydi, bu o'z navbatida tuproqdagi mineral tuzlar va suvning yutilishini buzilishiga olib keladi. Shuning uchun klonli mikroko'paytirishni ikkinchi yoki uchinchi bosqichida o'simliklarni sun'iy mikorizatsiyalashni (mikrotrوفرlar uchun) qo'llash maqsadga muvofiqdir. Ular o'simliklarni mineral va organik oziqa moddalar, suv, biologik faol moddalar bilan ta'minlashda va shuningdek o'simliklarni patogenlardan himoya qilishda ijobiy rol o'ynaydi. O'simliklarni mikoriza hosil qiluvchi zamburug'lar bilan zararlashning ikki xil usuli mavjud; 1) in vitro (steril sharoitida); 2) in vivo (tabiiy sharoitda). Birinchi usul qulay usul hisoblanib, bu holatda tuproqning boshqa mikroorganizmlar bilan zararlashining oldi olinadi. Bundan tashqari in vitro sharoitida mikorizani normal shakllanishi uchun kulturalash sharoitini (yorug'lik, harorat, namlik) nazorat qilish va substrat tanlash (rN, aeratsiya) imkoniyati bor. In vitro sharoitida ko'paytirilgan o'simliklar agar ularning ildiz tizimi mikoriza hosil qiluvchi zamburug'lar bilan aloqada bo'lsa yaxshiroq rivojlanadi. Bunday xollarda ularning azot bilan ta'minlanishi yaxshilanib, o'simliklarni tuproqqa ko'chirib o'tkazilganda ularning tutib ketishi 1,5-2 barobarga ortadi, shuningdek, yer usti massasining o'sishi yaxshilanadi. Bunday tajribalar qayin, evkalipt, kashtan, qoraqarag'ay, lox va olxani turli klonlarida o'tkazilgan.

Hind olimlari tomonidan in vitro o'stirilgan o'simliklarni dala sharoitiga ko'chirib o'tkazilgan o'simlik barglarining tez suvsizlanib qolishini oldini olishning oddiy usuli taklif etilgan. Usulning mohiyati shundan iboratki, o'simlik barglari butun akklimatizatsiya davrida 50% li glitserinning suvli eritmasi, yoki parafin aralashmasi, yoki dietil efirdagi moy (1:1) bilan purkalishi lozim. Bu usulni qo'llash orqali probirka o'simliklarini chiniqtirishdek uzoq va qiyin jarayonlardan qutulish mumkin va o'simliklarning 100% yashab ketishi ta'minlanadi.

Rossiya olimlari tomonidan tokning probirka o'simligi adaptatsiyasini soddalashtirish usuli ishlab chiqilgan. Bu usul shundan iboratki, o'simliklarni adaptatsiyasi probirkalarda o'tadi, ya'ni buning uchun probirka ichidagi o'simlikning bo'yi probirka tiqiniga yetganda, tiqinlar olib tashlanadi.

Shunday holatda o'simlik 1,2 haftaga qoldiriladi. Bu davrning oxirida probirka ustida o'simlikni ikkita bargi paydo bo'ladi va bunday o'simlik tuproqqa o'tkazishga tayyor hisoblanadi. O'simliklar steril tuproqli substratga agar bilan birgalikda ekiladi, bunda o'simlik ildiz tizimi mexanik tarzda zararlanishining oldi olinadi. Nihollar tuproq substratiga ekilganda bir-ikki bargli poya tuproq ustida ko'milmay qoladi. Tok o'simligini tuproqda o'sishiga moslashishida bu usulining qo'llanilishi, o'simliklar aklimatizatsiyasi texnikasini soddalashtiradi va arzonlashtiradi. Bu hollarda tuman hosil qiluvchi qurilmadan foydalanilmaydi (B. A. Burgutin 1988).

O'simliklarning klonli mikroko'paytirish sharoitini optimallashtirish.

Alohida ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalashning muhim shart-sharoiti – oziqa muhitdagi mineral tuzlar, uglevodlar, fitogormonlar va boshqalarni balanslash-tirishdan iboratdir.

Kulturaga yangi turdagi o'simlik kiritilganda tadqiqotchilar uniturli oziqa muhitlarida sinaydilar. Bu jarayon uzoq bo'lib, ko'pincha kerakli natijani bermaydi. Optimal tarkibdagi oziqa muhitni aniqlash uchun, tajribani matematik rejalashtirish usulidan foydalaniladi. Bu usul kam hajmdagi tajribalar yordamida ko'paytirishning yuqori tezligini ta'minlovchi kulturalash sharoitini aniqlash, mikroko'paytirish jarayonga ta'sir etuvchi omillar yig'indisiga bog'liqligining o'rganish, shuningdek omillararo o'zaro bog'liqlikni borligini va samaradorligini o'rganish imkonini beradi. Oldinga qo'yilgan maqsadga muvofiq holda tajriba butun yoki kasriy reja asosida o'tkaziladi.

Optimizatsiyaning muvaffaqiyati, optimallashtirish kriteriysining qanchalik to'g'ri tanlanganiga bog'liq. Mikroko'paytirishni birinchi bosqichida keyinchalik yetuk o'simlik organizmini hosil qilishga qodir eksplantning har qanday morfogenetik reaksiyasini miqdoriy baholash kriteriysi bo'lib xizmat qiladi. Masalan, niholning uzunligi, differentsiyanayotgan poya apekslari, nihollar, embrioidlarning soni. Ikkinchi bosqichda rivojlanayotgan nihollarni, embrioidlarni, umumiy soni hisobga olinadi. Uchinchi bosqich optimizatsiyasi kriteriysi bo'lib, ildiz otgan o'simliklar foizi, ildiz tizimini uzunligi, bir mikronihol uchun ildizlar soni xizmat qiladi. Bunda ham o'simlikning uzunligi, umumiy holati va uning tuproqqa ko'chirib o'tkazilgandagi tutuvchanligini hisobga olish zarur.

Matematik rejalashtirishni o'rganilayotgan jarayonga (X_1 , X_2 , X_3 va yan) ta'sir etuvchi omillarni tanlashdan, ularni eng asosiy ahamiyati (yuqori va past darajasi) va tajriba sxemasi (matritsa) dan boshlashi zarur. Shundan so'ng tajribada foydalaniladigan eksplantlar ajratib olinadi. Bunda boshlang'ich o'simlik materialini xilma-xilligini, va kulturalanayotgan to'qimalarni geterogenligini hisobga olish lozim. Shuning uchun, o'simlik materiallarini tajribaning turli variantlari orasida teng taqsimlash kerak. Kulturalashni optimal sharoiti barcha eksplantlarni o'sishini qoniqarli darajada ta'minlashi shart.

Ko'p omilli tajribalar natijalariga statistik tarzda ishlov beriladi va regressiya tenglamasini olish uchun quyidagi ko'rsatgichlar hisoblanadi: 1) erkin a'zo regressiyasi koeffitsienti; 2) o'rganilayotgan omillar regressiyasi koeffitsienti; 3) omillararo hamkorlik regressiyasi koeffitsienti; 4) qatorli dispersiyalar; 5) Koxren kriteriysiniahamiyati; 6) natijalar adekvatligi.

Masalan, pomidorning oltita genotipi gipoktiliysini (urug'palla osti) kulturalash sharoitini optimallashtirishda 24/16 to'liq omilli tajriba matritsasi bo'yicha birinchi tartibli tajriba qo'yilgan. 2- omillar sinalgan tenglamalar soni; 4- tajribada o'rganilayotgan omillar soni; (X_1 -inozit, X_2 –saxaroza, X_3 –zeatin, X_4 -ISK); 16–eksperiment sxemasi bo'yicha tajribalar soni.

Statistik hisoblash natijasida regressiyaning quyidagi tenglamasi olingan. $Y + 3,756 + 1,619X_2 - 0,419 X_1X_2 - 0,244 X_2X_3X_4$ (kallus o'lchami bo'yicha);

$Y_{1+} 2,438 + 0,738X_2 - 0,662X_3 - 0,43X_4 + 0,433 X_2X_3 + 0,462 X_1X_2X_3 + 0,437 X_1X_4 + 0,537 X_1X_2 X_4 - 0,312 X_1X_2 X_3X_4$ (bitta kallusdagi kurtaklar soni bo'yicha).

Tenglamadan ko'rinib turibdiki, X_1 dan tashqari barcha omillar o'rganilayotgan jarayonlarga ijobiy yoki salbiy ta'sir ko'rsatadi. Demak, ikkala tenglamadagi X_2 omilning ahamiyati shundan iboratki, bu omil oziqa muhitga qo'shilganda unda o'sayotgan kallus to'qimalarining o'sishini va tasodifiy kurtaklarni paydo bo'lishini stimullaydi, zeatin va ISK (X_3 va X_4 omillar) miqdorining kamayishi esa bir kallusdan tasodifiy kurtaklarning paydo bo'lishini oshiradi. Shunday tarzda bitta tajriba orqali kallus va tasodifiy kurtaklarning paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi omillar va pomidorning birlamchi kallusi orqali klonli mikroko'paytirishning boshlang'ich etapi uchun oziqa muhitning optimal tarkibi aniqlandi. Keyingi yillarda qand lavlagi, dukkaklilar, rauvolfiya, jenshenning kallus to'qimalarini kulturalashning sharoitini optimallashtirish uchun, gerberiya, freziya, kaperslar, shuvoq, oddiy qarag'ay va boshqa ba'zi o'simliklarni klonli mikroko'paytirish jarayoni sharoitlarini optimallashtirish uchun ko'p omilli tajribalardan foydalanilmoqda. Matematik rejalashtirish usuli o'simlik to'qimalarini invitro kulturalash va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishni optimallashtirishda samarali va iqtisodiy jihatdan foydali usul hisoblanadi.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga genetik fiziologik gormonal va fizik omillar ta'siri. Klonli mikroko'paytirish usullarini yaratishda albatta, genetik, fiziologik, gormonal va fizik omillarnig ta'sirini hisobga olish zarur. Ma'lum bir turning kloni uchun ishlab chiqilgan usul, har doim ham shu turning boshqa vakillarini yoki boshqa turdagi o'simliklarni ko'paytirishda qo'llanilmasligi mumkin. Mikroko'paytirishga genotip, boshlang'ich o'simlikni yoshi, ajratilgan mavsumi, shuningdek birlamchi eksplantni o'lchami ta'sir ko'rsatadi. Gormonal ta'sirlardan sitokinin va auksinlarni nisbati, oziqa muhitni mineral moddalar, vitaminlar, saxaroza bo'yicha tarkibi, fizik omillardan esa muhit konsistensiyasi (suyuq yoki agarlanganligi), kislotaliligi, yoritish sharoiti, shuningdek, harorat rejimi va havoning namligi ta'sir ko'rsatadi.

Genetik va fiziologik omillar. Klonli mikroko'paytirishni muvaffaqiyatini belgilovchi omillardan biri, boshlang'ich o'simlikning genotipi katta ahamiyatga ega. Ikki pallali o'tchil o'simliklar bir pallali o'simliklar, daraxtlarga nisbatan katta morfogenetik potentsiyaga ega, ya'ni ularning adventiv kurtaklar paydo qilishga, nihollarni o'sishi, ildiz otishi va ko'paytirishni yuqori koeffitsientiga ega bo'lishi tajribalarda aniqlangan. Masalan, qand lavlagi, tetraploid shakldagi duragaylardan eng ko'p regenerant o'simliklar olingan, eng kam diploidlardan, triploid duragaylardan olingan o'simliklar soni oraliq holatni egallaydi.

Mikroko'paytirish jarayonida morfogenetik potentsialni amalga oshishida boshlang'ich eksplantning nav va turkum xususiyatlari ham muhim ta'sir ko'rsatadi. Ma'lumki, vegetativ ko'paytirishga yaxshi beriladigan o'simliklar in vitro kulturada odatda yuqori regeneratsion qobiliyatini namoyon qiladi. Yuqori morfogenetik potentsialga ega bo'lgan turkumlar orasida Solanaceae, Umbelliferae, Cruciferae, Compositae oilasi vakillari misol bo'ladi, Gramineae oilasiga mansub o'simliklar qiyin regeneratsiyalanadi. Ona o'simlik genotipi ham klonli mikroko'paytirishga katta ta'sir ko'rsatadi.

Xmel o'simligi turli navlaridan ajratilgan, apekslari oziqa muhitidagi gormonlarning ishtirok etishiga turlicha sezgirlik namoyon qilishi aniqlangan. Smolistiy navi uchun BAPni optimal kontsentratsiyasi 1 mg/l, Istrinskiy-15 navi uchun 0-5-1,5 mg/l, va ISKani optimal kontsentratsiyasi 0,05 mg/l deb topilgan. Smolistiy navi apekslariga oziqa muhitga ISK va 2,4-D, qo'shilishi ta'sir ko'rsatmadi. Istrinskiy – 15 navida esa 0,05 mg/l ISK va 0,05 mg/l 2,4-D solingan oziqa muhitda nihollar bo'yicha o'sishi tezlashishi kuzatiladi. Shuningdek, krijovnik o'simligi navlarining ajratilgan apekslari ham kulturalash sharoitiga morfogenetik reaksiyasi turlicha bo'lishi aniqlandi.

Morfogenetik potentsialning o'simliklar turkumining o'ziga xosligiga bog'liqligi boshqali o'tlarda aniqlangan. Tajribalar natijasida makro va mikroelementlar, organik komponentlar (aminokislota, kazein gidrolizati, achitqi ekstrakti, biotin), o'sish regulyatorlarlariga nisbatan ularning ehtiyoji turlicha ekanligi aniqlandi. Boshlang'ich onalik shakllarga nisbatan duragaylar yuqori morfogenetik faollikni namoyon qilishi tasdiqlangan. Mikronihollarni ildiz ottirishda ham navlarning xususiyati yuzaga chiqishi mumkin, masalan, gilosni mikronihollariga IMK bilan ishlov berilganda Shubina navini 52 %, Vladimirskaya navini 18 %, Lyubskiy navini esa 13 % ildiz otganligini Rossiya olimlari tomonidan aniqlangan. Qora smorodinani turli navlari mikronihollarining ildiz otishidagi farqi o'rganilgan.

Boshlang'ich eksplantning yoshi ham morfogenezni namoyon qilish qobiliyati jihatidan ahamiyat kasb etadi. Yetilgan murtaklar, 20-30 kunlik o'simtalar yoki ularning turli qismlari (yuvenil material) yetuk o'simlik to'qimalariga nisbatan yuqori morfogenetik potentsialga ega va katta miqdorda adventiv kurtaklarni hosil qiladi, kelgusida yaxshi o'sadigan va ildiz hosil qiladigan nihollar paydo qiluvchi ichki meristemalarni

rivojlanishini stimullaydi. Bunday hollarda bitta murtakdan bir yilda 10-100 ming o'simlik olinsa, yetilgan o'simlikning ichki yoki apikal meristemasidan ko'payish ko'effitsenti 1-2 barobarga kamayadi.

Birlamchi eksplantning yoshi in vitro ko'paytirilgan mikronihol-larning ildiz otishiga ham muhim ta'sir ko'rsatadi. Boshlang'ich materialning yoshi kattalasha borgan sari nihollar va qalamchalarning ildiz otishi qobiliyati pasayadi.

Masalan, olmaning 8 ta turi bilan ish olib borilganda nihollarni ildiz otishi yuvenil materialdan olingan mikrotuganaklarning ildiz otishi 80-90 %, 2-3 yillik o'simliklardan ajratilgan apikal kurtaklardan 50 %, undan kattaroq o'simliklardan 20-30 % ni tashkil qilgan.

Amaliy jihatdan o'simliklarni, ayniqsa, daraxtlarni 20 yildan so'ng ya'ni ho'jalik ahamiyati muhim belgilari baholanganidan so'ng ko'paytirish maqsadga muvofiqdir. Lekin ulardan bunday qari o'simliklarni in vitro ko'paytirish katta qiyinchiliklar tug'diradi. Birinchidan, katta yoshdagi o'simliklarni barcha to'qima va organlari zamburug', bakteriyalar bilan endogen zararlangan bo'lib, bu aseptik kultura olishda qiyinchiliklar tug'diradi. Ikkinchidan, yetuk daraxtlarning kurtaklari yoki boshqa organlari o'tchil o'simliklarga nisbatan in vitro sharoitini turlicha qabul qiladi. Bu kulturaga qayta o'tkazilgan eksplantlarning yaxshi o'sishi va rivojlanishini ta'minlovchi optimal sharoitni tanlash bo'yicha maxsus tajribalar o'tkazishni taqazo qiladi.

Hozirgi vaqtda o'simliklar yoshi bilan bog'liq bo'lgan to'siqni bartaraf etish uchun, reyuvenilizatsiya yo'li bilan ya'ni in vivo va in vitro ishlarini birgalikda olib borish orqali amalga oshiriladi.

Reyuvenilizatsiyani (qayta yoshartirish) bir necha usullar bilan amalga oshirish mumkin: 1) eksplant olishdan avval o'sayotgan daraxt yoki alohida shoxlarini sitokinin eritmasi bilan qayta-qayta ishlov berish orqali; 2) takroriy qalamchalash; 3) daraxt tanasidan nihollarning hosil bo'lishini induktsiyalash va ildiz otishini stimullash uchun daraxtlar tez-tez butab turiladi; 4) takroriy payvandlash; 5) subkulturalarni (in vitro) seriyalash usuli orqali; 6) quyuq daraxtzorlar hosil qilish orqali yon shoxlarning o'sishini to'xtatish va tinim holatidagi kurtaklarning rivojlanishini stimullashdan iborat.

Abo El Nil taklif etgan reyuvenilizatsiya texnologiyasining birinchi bosqichida tinim holatidagi daraxtlarni qayta-qayta sitokinin bilan ishlov berishni taklif etgan. Lekin bu ishda kinetin, 2 ip dan foydalanish mumkin. Sitokininning miqdorini ishlov berilayotgan daraxtning ta'sirlanish darajasiga ko'ra tajribalar natijalarini hisobga olgan xolda amalga oshirish lozim.

Sitokinga boshqa o'sish regulyatorlaridan qo'shib ham foydalanish mumkin. Masalan BAP bilan N-dimetilaminoqahrabo kislotani kam miqdori birgalikda qo'llanilganda ba'zi o'simlik turlarining ta'sirlanishi ortganligi aniqlangan. In vivo o'suvchi barcha daraxtlar va alohida shoxlariga ishlov berish mumkin. O'simliklarning kesilgan shoxlari sitokinin eritmasiga solib

qo'yiladi yoki daraxtning o'tkazuvchi tizimlari orqali, masalan, shoxning kesilgan tomonidan in'ektsiya qilish yo'li bilan ishlov berish mumkin. Bunday ishlov natijasida kurtak va nihollarning hosil bo'lishi tezlashadi va ular yosh asosning morfologiyasi kabi morfologiyaga ega bo'ladi. Nihollar yoki kurtaklarga ega kalta poya qirg'malari, kurtaklari va nihollarini o'sishini induktsiyalash uchun in vitro oziqa muhitga joylashtiriladi. So'ng shakllangan nihollar ko'paytirish uchun, yoki ildiz chiqarish uchun moslashtirilgan oziqa muhitlarga o'tkaziladi. Bunda oraliq bosqich yangi hosil bo'lgan kurtaklarning ochilishi va undan nihollarning rivojlanishiga imkon beruvchi muhit hisoblanadi.

Fiziologik omillarga eksplantni ajratish davri ham kiradi. O'simliklarni vegetatsiya davrida ajratilgan to'qima va organlar, majburiy va chuqur tinim davrida ajratilganlariga nisbatan, oziqa muhitning tarkibiga ta'sirchanligi va adventiv kurtaklar paydo qilish, nihollarining shakllanish va ildiz otish qobiliyati yuqori bo'ladi.

Eksplantlar o'lchami ham muvaffaqiyatli mikroko'paytirishni belgilovchi omillardan biridir. Eksplant qanchalik kichik bo'lsa, regeneratsiyalanish xususiyati shunchalik kam bo'ladi yoki aksincha, parenxima, o'tkazuvchi to'qimalar va kambiydan tashkil topgan yirik o'lchamdagi eksplantlar oziqa muhit tarkibidagi fitogormonlar nisbatidan qat'iy nazar, kurtaklar hosil qiladi. Lekin boshqa tomoni ham borki, katta o'lchamdagi eksplant hujayralarida virus va boshqa patogenlar paydo bo'lish ehtimoli yuqori bo'lib, bu invitro o'simliklar to'qimasini sog'lomlashtirilishiga to'siq bo'ladi.

Eksplantlarni optimal o'lchami birlamchi eksplant manbai bo'lib xizmat qiluvchi donor o'simlikning turiga xos xususiyatlariga va organlari xususiyatlariga bog'liq. Malina uchun birlamchi eksplant o'lchami 2 mm deb qabul qilingan, bunda o'simlikning apikal uchlarining 60%i Morel muhitida regeniratsiyalangan. Xmel uchun bu ko'rsatkich 0,1 dan 0,2 mm, piyoz va sarisoq piyoz uchun meristemalarning optimal o'lchami 0,5-0,8 mm ni tashkil qiladi.

Qator o'simliklarda ajratilgan to'qimalari va meristema to'qimalarining morfogenetik qobiliyati nihollarda kurtaklarni joylashishiga bog'liq.

Gormonal omillar. Klonli mikroko'paytirishni muvaffaqiyatli amalga oshishida oziqa muhitining gormon muvozanati ham muhim omillardan biri hisoblanadi. Gormonlarning nisbati (tsitokinin auksin) yuqori bo'lganda ichki meristemalar yoki adventiv kurtaklar rivojlanadi, past bo'lganda ildiz hosil bo'lishi indutsirlanadi, o'rtacha bo'lganda esa kallus to'qimalari hosil bo'lishi va proliferatsiyasi kuzatiladi.

Klonli mikroko'paytirishda auksin komponentlari sifatida ISK, ba'zi hollarda NSK, sitokinin sifatida esa kinetin va BAP qo'llaniladi.

O'simliklarni mikroko'paytirishda foydalaniladigan sitokinin-larni uning faolligi bo'yicha quyidagi tartibda joylashtirish mumkin: kinetin < 6 benzil aminopurin (BAP) < 2-izopentiladenin (2 ip) < zeatin.

Sitokinin va auksinlardan tashqari oziqa muhitga ba'zida gebberal kislotasi ham qo'shiladi, u shakllangan kurtaklarni o'sishini va cho'zilishini (elongatsiyasi) stimullaydi va yer ustki qismi yaxshi rivojlangan o'simlik olish imkonini beradi.

Umuman olganda, to'qimalar kulturasida turli morfogenetik ta'sirlanishini kam miqdordagi ekzogen fitogormonlari yordamida induktsiyalash va stimullash mumkin va gormonlar bilan to'yingan oziqa muhitlarda o'simlik to'qimalarining umumiy faolligini batomom yo'qotishi yoki to'qimalarni nobud qilish mumkin. O'simliklarni kultralanayotgan organ va to'qimalarini fitogormonlarga nisbatan ta'sirlanish xususiyatini o'simliklarni o'stirish maqsadida o'sish regulyatorlaridan foydalanganda hisobga olish kerak.

Klonli mikroko'paytirishga gormonlar bilan bir qatorda mineral tuzlar, vitaminlar va uglevodlar ham ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklarni in vitro mikroko'paytirish uchun Murasiga va Skuga, Linsmaer va Skuga, Gresxof va Dou, Nich, Xeller, Shenk va Xildebrandt va boshqa bir-biridan ammoniyli va nitratli azot nisbati bilan farq qiluvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Ko'pincha tadqiqotchilar yuqori miqdorda anorganik moddalar tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitlaridan foydalanishni afzal biladilar. Azot bilan boyitilgan oziqa muhitlardan foydalanilganda, nafaqat kallus to'qimasi hosil bo'lishiga, balki organogenez va ayniqsa somatik embriogenez jarayonlarini stimullanishiga ham erishish mumkin. Masalan, NH_4NO_3 Brassica ni har xil turlari murtaklarini morfogenetik potentsialiga ta'sir etadi. Murtaklarni yashovchanlik foizi va nihollar hosil bo'lish chastotasi NH_4NO_3 ning muhitdagi miqdori kamaytirilganda oshadi, nihollarning va murtaklar shakllanishini maksimal darajasiga NH_4NO_3 ishtirok etmaydigan oziqa muhitida erishish mumkin. KNO_3 va NH_4NO_3 ning miqdori 6,7 mM gacha kamaytirilganda krijovnikning ba'zi navlarini morfogenezini yaxshilanadi. Pomidor uchun mineral azotning miqdori oshirilgan oziqa muhitda kallus hosil bo'lish jarayoni to'xtashi va eksplantlarni nobud bo'lishi tajribalarda aniqlangan. Gloksiniya uchun vegetativ va reproduktiv tuzilmalarning hosil bo'lishi oziqa muhit tarkibidagi komponentlarga bog'liq ekanligi aniqlangan. KNO_3 (20 mM) va saxarozaning (100 mM) yuqori miqdorida ko'pincha vegetativ kurtaklarni rivojlanishi, gul kurtaklarning rivojlanishi esa faqat 28 % eksplantlarda kuzatilgan. Oziqa muhitda KNO_3 (2 mM) va saxarozaning (15 mM) kam miqdorida barcha eksplantlarda faqat gul kurtaklar hosil bo'ladi.

Mikroko'paytirish jarayonlariga gormon tabiatiga ega bo'lmagan biologik faol moddalar, shuningdek uglerodli oziqlantirish ham sezilarli ta'sir ko'rsatadi. Ma'lumki, kallus to'qimalari hosil bo'lishi, undan nihollarning regeneratsiyalanishi va embriodlarning paydo bo'lishi uchun, oziqa muhiti tarkibida vitaminlar, aminokislotalar, o'simlik ekstraktlari, kazein gidrolizati ishtirok etishi zarur. Agar nihollarning rivojlanishi mavjud ichki meristemalar hisobiga yoki shakllangan kurtak va embriodlar hisobiga bo'lsa, u holda biologik faol moddalarni zaruriyati yo'q, chunki bunday nihollar o'zining

xayot faoliyati uchun zarur bo'lgan moddalarni o'zi sintezlash qobiliyatiga ega. Biologik faol moddalarning yuqori kontsentratsiyasi gipervitaminoz keltirib chiqaradi, natijada o'sish cheklanadi, barglarini qorayishi va qurishi, o'simlik morfologiyasining o'zgarishiga olib keladi

Klonli mikroko'paytirishning barcha bosqichlarida uglevod manbai sifatida 3 % li saxarozadan foydalaniladi. Lekin, bu miqdorni barcha o'simliklarni invitro o'stirish uchun optimal deb bo'lmaydi. Qora qarag'ayning ajratilgan murtaqlarini o'sishida saxarozaning yuqori miqdori (23 %) adventiv kurtaklarni paydo bo'lishiga salbiy ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Ikkinchi passajda bu jarayon amalga oshmaganligi va to'rtinchi passajda barcha eksplantlar nobud bo'lganligi kuzatilgan. Oziqa muhitdagi saxaroza kontsentratsiyasining kamligi nafaqat adventiv kurtaklarni paydo bo'lishini, balki uning rivojlanib nihol hosil qilishini ham stimullaydi. Nihollar saxarozaning 0,5 – 1 % li miqdorida 2-3 oy kulturalanganida 1-1,5 sm uzunlikka ega bo'ladi, ulardan ko'paytirish yoki ildiz ottirish uchun foydalanilgan.

Uglerod manbai sifatida saxaroza bilan bir qatorda glyukoza, fruktoza, galaktoza va boshqalardan ham foydalanish mumkin. Ma'lumki, in vitro o'simliklar to'qimasini kulturalashda uglevodli oziqa sifatida foydalaniladigan manbalardan glyukoza saxarozadan keyingi o'rinni egallaydi. O'rganilgan 38 ta o'simlik kulturalaridan (o'tchil va yog'och poyali o'simliklar) 85 %li glyukozali muhitda ham juda yaxshi o'sgan. Glyukozadan keyingi o'rinni fruktoza egallaydi. Minoxning fikricha, kulturalanayotgan o'simliklarning $\frac{2}{3}$ qismi o'sishida fruktozadan muvaffaqiyatli foydalanilgan. Ajratilgan o'simlik to'qimalariga ta'siri bo'yicha, galaktoza glyukoza va fruktozaga nisbatan farq qiladi. O'rganilgan o'simlik kulturalardan deyarli yarmi galaktozali muhitda yomon o'sgan yoki umuman o'smagan. Lekin o'simliklar organ va to'qimalarining o'sishida galaktozaning ijobiy roli haqida ham ma'lumotlar bor. Shunday qilib, gormonlar, biologik faol moddalar va mineral tuzlardan foydalanish muommosini tayyor retseptlar asosida, oziqa muhit tarkibiga bu birikmalarni kiritish orqali emas, balki, mikroko'paytirishda foydalanilayotgan u yoki bu o'simlik turlarining aniq morfogenetik reaksiyasini hisobga olgan holda hal etilishi lozim.

Fizik omillar. Oziqa muhitning qattiq, suyuq holatda bo'lishi ham ekasplantlarni o'sishi va adventiv kurtaklarni paydo qilish jarayonlariga ta'sir etuvchi muhim omillardan biri hisoblanadi. Ma'lumki, nihollarni uchki qismidan olingan eksplantlar suyuq oziqa muhitlarda roller tipidagi apparatlarda kultralanganda ularning o'sishi sezilarli darajada stimullanadi, nihollarni apikal dominantligi aniq namoyon bo'lmaydi, o'sish davri va qayta ekishlar soni qisqaradi, bu o'simliklarga oziqa moddalar bilan yaxshi ta'minlanish imkonini beradi. Boshqa tomonidan qaraganda, bu sharoitda anomal, egri –bugri nihollarning paydo bo'lish extimoli ortadi. Agarli oziqa muhitlardan foydalanish orqali bu muammolarni yo'qotish mumkin, lekin

shu bilan birga bu usul eksplantlarni oziqlanishi sharoitini yomonlashtiradi va metabolism mahsulotlari chiqib ketishiga to'sqinlik qiladi.

Shuningdek o'simliklarni klonli mikroko'payishi va o'sishida oziqa muhitining rN ham ta'sir etadi. Ma'lumki, kuchli kislotali yoki ishqoriy muhitda ba'zi elementlar masalan, fosfor, temir erimaydi, bundan o'simliklarni o'sishi cheklanadi. Lekin, yuqori kislotali muhitda bu elementlarni eruvchanligi oshishi, ko'p miqdorining eritma holatiga o'tishi eksplant uchun zaharli ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklarni organ va to'qimalari rN 5,6-5,8 bo'lgan oziqa muhitlarda kulturalanadi. Ammo bu sharoit har doim ham optimal bo'lavermaydi. Masalan, oddiy qarag'ay murtaqlari uchun oziqa muhitining kislotalik darajasi 4,7 dan 5,2 gacha o'zgartirilganda murtaqlarning 2,3 – 3 marotaba ko'p adventiv kurtaklar hosil qilishi aniqlangan, oddiy qoraqarag'ay uchun esa, muhitning eng optima rN 5,2 –5,6 oralig'ida deb topilgan. Bu natijalar yuqorida nomlari keltirilgan o'simlik turlari o'sadigan tuproqning kislotalik darajasi bilan deyarli mos keladi.

Odatda ajratilgan o'simlik to'qimalari boshlang'ich o'simlikning intensivlik va fotojarayonga bo'lgan talablarini hisobga olgan holda, lyuminescentli lampalar yorug'ligi ostida o'stiriladi. Murasiga o'simliklarni klonli mikroko'paytirishning birinchi va ikkinchi bosqichlarida to'qimalarni 1-5 ming lkda 14-16 soatli fotojarayonda o'stirishni tavsiya qiladi, yoritishning bu sharoiti ko'pchilik o'simliklarning nihol va ildizlarining paydo bo'lishiga yordam beradi.

Ko'pchilik tadqiqotchilarning fikricha, yoritish intensivligi organogenez induktsiyasida muhim rol o'ynar ekan. Begonya o'simligi kulturasida yoritishni 3 dan 6 ming lk gacha oshirilishi nihol hosil bo'lish intensivligini ortishiga olib kelgan. Asparagus to'qimalarda esa 1 ming lk yorug'likda (16 soatlik fotojarayon) maksimal darajada nihollar va ildizlar hosil bo'lganligi aniqlangan, yoritish intensivligini oshirilishi yoki kamaytirilishi to'qimalarning orgogenez qobiliyatini pasayishiga yoki nobud bo'lishiga olib kelgan.

Ajratilgan to'qimalar o'sishining intensivligi va xarakteri yorug'likning spektral tarkibigaham bog'liq. Demak, Heloniopsisorientalis to'qimalarida kurtaklarni paydo bo'lishini oq, qizil, ko'k nurlar yashil rang nurga nisbatan tezroqindutsiraydi. qizil nur tamaki to'qimalarida gul kurtaklarni, qorong'ulik esa ildiz hosil bo'lishini stimullaydi. Tamaki kallusida adventiv kurtaklar paydo bo'lishini ultrabinafsha, ko'k, binafsha nurlarlar tezlashtiradi. Salat o'simligi eksplantlarida qizil nurlar nihollar hosil bo'lishini tezlashtiradi. Probirkadao'stirilgan kartoshka o'simliklarida ko'rsatilishicha, oziqa muhit tarkibida NSK va ISKni ishtirok etishi ko'k nurga nisbatan qizil nurda tugunak hosil bo'lishini stimullaydi, BAP yoki kinetin tugunak hosil bo'lishini qizil nurga nisbatan ko'k nurda ko'proq stimullaydi (T.N.Konstaninova va boshqalar,1988). Qayin nihollarining ildiz otishiga, mavjud meristemalarni faollashtirish-ga qizil nur yaxshi ta'sir

ko'rsatadi, bunda deyarli 100 % mikroqalamcha-lar ildiz hosil qiladi. Oq nur ta'sirida bu jarayon sekinroq kechadi, ko'knurda faqat qalamchalarning yarmi, qorog'ida esa undan ham kamrog'i ildiz hosil qiladi. Qizil nur ostida oziqa muhit tarkibida ISK ishtirokida ildiz hosil bo'lish jarayoni tezlashadi va nihollarning o'sish tezligi ortadi, ko'k nur o'simlik to'qimalarida sitokinin miqdorining ortishiga ta'sir qilib, nihollarning hosil bo'lishini stimullaydi.

Lekin o'simliklarning haroratga bo'lgan ehtiyoji turlicha bo'lishi mumkin. *Lilium auratum* o'simligi piyozlari hosil bo'lishiga 20⁰S harorat yaxshi ta'sir ko'rsatadi. *Gladiolus*ning eksplant to'qimalari muzlatilganda, uning regeneratsiyalanish qobiliyati oshadi. *Begonia* o'simligi qalamchalari kulturasida nihollarning hosil bo'lishini past haroratda (15-18⁰S) ikki hafta davomida induktsiyalash lozim.

Harorat rejimi birinchi navbatda, o'simlik turiga bog'liq. Masalan, tropik o'simliklar uchun o'stirishning optimal harorati 27⁰S atrofida, boshqa ko'pchilik o'simliklar uchun esa -25⁰Sdir. Klonli mikroko'paytirishda probirka o'simliklari klimatik kameralarda 16 soatli fotodperiodda va havoning namligi 70 % bo'lgan sharoitda o'stiriladi.

Shunday qilib, o'simliklarni ko'paytirish koeffitsientini oshirishda, har bir tur uchun, uning tabiiy o'sish sharoitini hisobga olgan holda kulturalashning individual sharoitini yaratish zarur. Demak, klonli mikroko'paytirish usuli o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi istiqbolli usuli bo'lib, genetik bir xil sog'lomlashtirilgan ekish materiallari olish, ko'paytirishning yuqori koeffitsientiga erishish, seleksion jarayonlarni qisqartirish, butun yil davomida ish olib borish, o'simliklarni o'stirish uchun zarur bo'lgan maydonlarni qisqartirish imkonini beradi. Dunyoning ko'pgina mamlakatlarida klonli mikroko'paytirish bioindustriyasi oqimi sanoat asosiga qo'yilgan va o'nlab korxonalar faoliyat yuritmoqda. Masalan, Frantsiyada gulli o'simliklar mahsulotlarining 94% ini ajratilgan to'qimalar kulturasida usuli yordamida, AQShda 100 ga yaqin tijorat korxonalari manzarali, mevali va o'rmon o'simliklari, sabzavotlarning ekish materiallarini klonli mikroko'paytirish usuli yordamida olinadi. Dunyo bozorida sog'lomlashtirilgan ekish materiallari yetishtirish bo'yicha Gollandiya, olma, olxo'ri va shaftoli ko'chatlarini (xar yili 250-500 mingtagagacha) yetishtirish bo'yicha Italiya yetakchilik qiladi.

Nazorat savollari

1. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish qanday amalga oshiriladi?
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishning asosiy bosqichlari.
3. O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni faollashtirish orqali o'simliklarni ko'paytirishni qanday amalga oshiriladi?
4. Eksplantada adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini induktsiyalash usulidan o'simliklarni ko'paytirishda foydalanish to'g'risida ma'lumot bering.
5. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishda gormonlarning roli nimadan iborat?

Mavzu: Qishloq xo'jalik ekinlarini sog'lomlashtirish va virusdan holi qilishning biotexnologik asoslari

Reja:

1. Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish.
2. Termoterapeya usuli
3. Xemoterapeya usuli

Tayanch iboralar: apeks to'qimalari, klonli mikroko'paytirish, morfogenez jarayoni, differenesiya, prokambiy, termokamera, regenerant o'simliklar, elektron mikroskop, ribonuklein kislotalar.

Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish

Klonli mikroko'paytirishning afzalligi genetik bir xil virussiz ekish materiallari olish mumkinligidir. Bunga apeks to'qimalari va poyaga xos kurtaklar meristemasidan foydalanib erishish mumkin. Meristema o'sish konusi va bir yoki ikki barg asosidan (primordiy) iborat bo'lib, virusdan holi bo'ladi. (8.1-rasm)



8.1-rasm. Uzunasiga kesilgan poyaning uchki o'sish nuqtasi – apikal meristemi

Virus bilan zararlangan o'simliklarning meristema to'qimalari virusdan holi ekanligi birinchi bo'lib Chung (1938) va P.R.Uayt (1943) tomonidan aniqlangan, XX asrning 50 yillarda georginiya o'simligini o'sish nuqtasidan virussiz o'simlik olish bo'yicha birinchi muvaffaqiyatli tajriba amalga oshirildi. Bu usul mualliflari J.Morel va S.Martinlarning taxminicha, kasallangan o'simliklarda viruslar tarqalishi bo'yicha tez o'sayotgan yosh organlardan orqada qoladi, ayniqsa differentsiyanmagan

yosh to'qimalarda virusning miqdori yo'q darajada bo'ladi. Bu usul asosiga qo'yilgan nazariy kontsepsiya sababi keyingi vaqtlarda aniqlana boshladi.

Amaliyotda qo'llaniladigan holatida strukturaviy asos bo'lib, o'simlik o'sish nuqtasi tuzilishining spetsifikasi xizmat qiladi; uning apikal meristema deb ataluvchi distal qismi turli o'simliklarda turlicha o'lchamga ega bo'lib, o'rtacha 200 mkm diametrga va 20-150 mkm uzunlikka ega bo'ladi. (8.1-rasm) Differentsiyalanayotgan meristemani hujayralarni pastroq qatlamida o'tkazuvchi sistema bog'lamlarini paydo qiluvchi prokambiy hosil qiladi. Ma'lumki, klonli mikroko'paytirishdagi muvaffaqiyat meristema eksplantini o'lchamiga bog'liq, barg asoslari va poya to'qimalari qancha katta bo'lsa, morfogenez jarayoni shuncha yengil kechadi va normal probirka o'simligi hosil bo'lishi bilan tugaydi. Shu bilan birgalikda, virus zarralaridan holi zona turli viruslar uchun turlichadir. Bu o'simlikning turlari va navlariga bilan bog'liq. Donli ekinlar koleoptilida, masalan, o'tkazuvchi naylardan holi uchki qismining o'lchami 250 mkm ga yetishi, mumkin. Apikal meristemani bunday o'ziga xos tuzilishi o'tkazuvchi tizimlar orqali viruslarni tez tashilishini istisno qiladi, lekin plazmodezma orqali biriktiruvchi meristema hujayralariga sekin tarqalish imkoniyatiga yo'l qo'yadi. Kartoshkani 200 mkm o'lchamdagi apikal meristemasini oziqa muhitda kulturalash va keyinchalik regenerant o'simlik olishda aniqlanishi, olingan o'simliklardan faqat 10 % gina X- virusdan, ammo 70 % U-virusdan holi ekan.

Elektron mikroskop orqali, ba'zi viruslar bilan o'simliklar meristemalarining ham zararlanganligi aniqlangan bo'lib, bu zararlangan o'simlikning meristemalariga ham virusning yetib borganligidan dalolat beradi.

Shunday qilib, apikal meristemalarni virus bilan zararlangan o'simliklarni sog'lomlashtirish usulida qo'llash ham kam samara berar ekan. CarMV va CarVMV viruslari bilan zararlangan chinnigul, simbidium o'simliklar apikal meristemalaridan invitro sharoitida zararlangan (infektsiyaga uchragan) meriklonlar olingani tajribalarda ko'rsatilgan.

Umuman olganda, zararlangan o'simlikdan virussiz apikal meristemalar olish mumkin, buning uchun sog'lom to'qimaga virusning tushish havfininolgacha pasaytirish lozim. Buning uchun boshlang'ich o'simlikoldindan termoterapeya yoki xemoterapeya usullari yordamida virusdan tozalanishi kerak.

Termoterapeya usuli invivo sharoitida, shuningdek invitro sharoitida ham qo'llanilib, quruq, issiq xavodan foydalanishga asoslangan. Termoterapeya jarayoni orqali o'simliklarni virusdan holi qilish mexanizmi haqida turli nazariyalar mavjud. Ulardan biri yuqori harorat virus zarrachalariga to'g'ridan-to'g'ri ularning ribonuklein kislotalari va oqsil qobig'i orqali ta'sir etib, ularning fizik parchalanishiga va virus zarrachalarining zararlash qobiliyatini yo'qolishiga olib keladi degan fikr bersa, ikkinchi nazariya esa, yuqori harorat viruslarga o'simliklarni metabolizmi orqali ta'sir etadi, degan taxminni ilgari suradi. Yuqori harorat

ta'sirida virus zarrachalarini sintezi va deqratsiyasi orasidagi muvozanat buziladi. Agar sintez amalga ohsa, unda zararlangan to'qimalarda viruslar kontsentratsiyasi oshadi.

Termoterapeya qilinayotgan o'simliklar maxsus termokameralarga joylashtiriladi va birinchi haftada harorat 25⁰ dan 37⁰S gacha har kuni 2⁰S dan oshirib boriladi. Termoterapeyada butun jarayon davomida opimal rejimni yaratish va uni ushlab turish ham muhim bo'lib, harorat 37⁰S, kunduzgi lampa yorug'ligi 5 ming lk, kulturaga qarab, fotodavr bir sutkada 14-16 soat, termokameraning havo namligi 90 % ni tashkil etishi lozim.

Termoterapeyani davomiyligi virus tarkibiga va ularning yuqori haroratga chidamlilik darajasiga bog'liq. Masalan, agar chinnigulga 10-12 haftalik issiqlik ta'siri yetarli bo'lsa, xrizantemani B-virusidan holi qilish uchun esa bu muddat 12 hafta va undan ko'proqni tashkil etadi. Ammo, piyozli o'simliklar, simbidium, atirgullar va boshqa shu kabi o'simliklarga uzoq vaqt in vivo teromoterapeya qilish salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bunday o'simliklar uchun termoterapeyani in vitro regenerant o'simliklarda o'tkazish maqsadga muvofiqdir.

Termoterapeyani o'simliklarni virusdan tozalashdagi ijobiy ta'siri bilan birga yuqori xaroratning in vitro sharoitida ba'zi o'simliklarni o'sish nuqtasiga va morfogenez jarayoniga ham yaxshi ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Termoterapeyani qo'llash orqali ko'paytirish koeffitsientini 50-60% ga oshirish, probirka regenerant o'simliklarini tuproq sharoitiga moslashishini yaxshilash va shuningdek, boshlang'ich virussiz o'simliklar sonini ko'paytirish imkonini beradi.

Termoterapeyani meristema kulturasida bilan birgalikda qo'llash orqali nina barglilarni regenerant o'simliklarini 70%ini xloroz virusidan, qulupnay o'simligini 90 %i, qizil va qora qarag'at (smorodina) 20%i, maymunjonning 50%i, kartoshka o'simliklarining 80% sog'lomlashtirilgan, virusdan xoli o'simliklarini olish mumkin.

O'simliklarda virusning mavjudligini immunoferment tashxisi, elektron mikroskop va o'tchil indikator – o'simliklar yordamida aniqlash mumkin.

Virussiz, o'simliklar olishning boshqa usuli – **xemoterapeya** usuli bo'lib, bu usul apikal meristemalar kultralanayotgan oziqa muhitga guanozinni analogi–1β–D–ribofuranosil–1,2,4–triazol-3 – karboksimid (virozol deb ham ataladi) 20-50 mg/l kontsentratsiyada qo'shishdan iborat. Bu virusga qarshi preparat bo'lib keng ta'sir spektriga ega. Virozolni kultural muhitda qo'llanilganda virussiz meristema o'simliklarini olish foizi virus odatiy bo'lib qolgan o'simliklar uchun 80-100 % nazoratda esa 0-41 % ga oshdi. Xemoterapeya usuli olxo'ri, gilos, maymunjon, turli gullar va boshqa o'simliklarga qo'llanilganda yaxshi natijalar olingan. Virussiz ekish materiallari olishning xemo va termoterapeya usullari iqtisodiy kam foyda beradi. Shuning uchun Hozirgi vaqtda transgenoz usullari yordamida o'simliklarni virusga genetik chidamli shakllari yaratilmoqda.

Nazorat savollar

1. Ekish materiallarini virusdan xoli qilish usullari.
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishning an'anaviy usullarga nisbatan qanday afzallik tomonlari bor?
3. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishni ta'minlovchi sharoitlari nimalardan iborat?

9- Ma'ruza

Mavzu: Fermentlar va ularni ishlab chiqarish biotexnologiyasi

Reja:

1. Fermentlar injenerligining asosiy vazifasi.
2. Mikroorganizmlardan ferment preparatlarini ajratib olish usullari
3. Tozalanmagan, kompleks ferment preparatlarining olinishi.
4. Cho'ktirish usullari va uning nazariyasi.
5. Fermentlarni tozalash usullari.
6. Fermentlarni immobillash va barqarorlash texnologiyasi

Tayanch iboralar: ferment preparatlari, cho'ktirish, tuzlar, tozalash metodlari, organik erituvchilar, dializ, baromembrana. immobillash, uning metodlari, tashuvchilar, ularning tasnifi, adsorbsiya, gellar, yarimo'tkazgich membranalar, DEAE-sellyuloza, substrat.

Fermentlar injenerligining asosiy vazifasi – biologik sistema yoki tirik hujayralardan ajratib olingan fermentlarning katalitik xususiyatlaridan foydalangan holda biotexnologik jarayonlarni yaratishdir. U yangi mahsulotlarni olish, ularning sifatini yaxshilash va iqtisodiy ko'rsatkichlarini ko'tarish bilan bog'liq bo'lgan masalalarni yechadi. Hozirgi kunda amaliyotda fermentlar keng qo'llanadi.

Ma'lumki, fermentlardan organik sintezlarni katalizatori sifatida foydalaniladi. Shunga qaramay, fermentlarning "nozik" tomoni ham bordir, ya'ni ularning buzilishidir. Ular kam chidamli moddalar bo'lib, nozik makromolekulyar strukturali oqsillardir. Ular tashqi ta'sir ostida osongina o'z xossasini yo'qotadi.

Fermentlar katalizatorligida kechadigan reaksiyalar murakkab mexanizmga ega. Ularning aktivligini tashqi muhitning o'zgarishi, uning kislotaliligi, ularni aktivlashtiruvchi yoki susaytiruvchi qo'shimcha moddalar qo'shish bilan boshqarish mumkindir.

Fermentlar manbai turli hayvon, o'simliklarning to'qimalari, mikroorganizmlar bo'lishi mumkin. Fermentlar qaysi biri kerakligi va qaysi birini olish qulayligiga qarab tanlanadi.

Yaqin davrlargacha amaliy maqsadlarda hayvon va o'simlik fermentlaridan foydalanib kelingan. Hayvonlardan olinadigan fermentlar go'sht sanoatining yo'ldosh mahsulotlari hisoblanadi. Barcha to'qima va hujayralar ichida fermentlarga boy organ oshqozon osti bezidir. Undan tarkibida bir qator gidrolitik fermentlar (amilaza, proteaza, lipaza va b.) tutgan kompleks preparatlar olinadi. Masalan, oshqozon osti bezidan pankreatin - quritilgan ekstrakt olinadi.

Hayvon xomashyolaridan ayrim fermentlarning tozalangan preparatlari - pepsin, tripsin, ximotripsin, rennin (ximozin), ribonukleaza, DNKaza, lipaza, gialuronidaza, katalaza ham ajratib olinadi.

O'simliklardan sanoat miqyosida proteolitik fermentlarning ayrim preparatlari - papain (qovun daraxti mevasining sharbatidan), fitsin (anjir bargi va *Ficus* oilasiga mansub o'simliklardan) ajratib olinadi.

Shu bilan birga o'simliklardan ferment ajratib olish iqtisodiy jihatdan samarali emas, chunki sarflanadigan o'simlikka nisbatan olinadigan mahsulot kam miqdorda bo'ladi. Undan tashqari har doim ham istalgan mintaqada kerakli o'simlikni o'stirish imkoni yo'q.

Hayvonlardan fermentlarni ajratib olishda ham ayrim qiyinchiliklar tug'iladi. Shuning uchun hozirda fermentlar manbai sifatida mikroorganizmlardan keng foydalanilmoqda.

Mikroorganizmlar – ferment olish uchun juda qulay manba hisoblanadi, chunki ularning hujayradagi kontsentratsiyasini mikroorganizm o'sishini tezlatish yoki genetik manipulyatsiya hisobiga oshirish mumkin. Mikroorganizmlar tez o'sadi, arzon muhitlarda o'sadi va turli fermentlarga boydir.

Mikrob fermentlari hozirda o'simlik va hayvon fermentlari o'rnini bosmoqda. Qator fermentlar meditsina diagnostikasida ham o'ziga xos o'rin egallab kelmoqda. Masalan, xolesterinoksidaza qon zardobidagi xolesterin, ureaza esa siydik kislotasi miqdorini miqdorini o'lchashda ishlatiladi. Gen injenerligi tadqiqotlarida esa restriktatsion endonukleazalar va ligazalar ishlatiladi.

Mikrobiologik usulda olingan fermentlar plastmassa ishlab chiqarishda ham o'rin egallaydi.

Qattiq yoki suyuq oziqa muhitlarida o'stirilgan mikroorganizmlarning kulturasini va ularning kultural suyuqliklari tarkibida juda ko'p miqdorda ballast moddalap bordir. Fermentlarni ajratish va tozalash - ko'p mehnat va harajat talab qiluvchi jarayondir, agarda ferment preparati mikroorganizm kulturasini ko'rinishida ishlatilsa, u tozalanmaydi. Spirt va terini oshlash tarmoqlarida tozalanmagan mikroorganizmlar kulturasini ishlatish maqsadga muvofiqdir va xuddi shunday mikroorganizmlarni qishloq xo'jaligida yem-xashak tayyorlashda yoki fermalarda yemlarni qayta ishlashda qo'llash mumkin.

Oziq-ovqat sanoatining bir qancha tarmoqlarida (non, pivo, vino, pishloq, kraxmal va sharbat ekstraksiya qiluvchi), hamda tekstil, mo'yna va mikrobiologik sanoatlarda, shu jumladan tibbiyotda ballast moddalardan qisman yoki to'liq tozalangan, ya'ni faqat toza ferment preparatlari ishlatiladi.

Toza ferment preparatlarini olishning boshlang'ich materiali bo'lib filtrlangan kultural suyuqlik, produtsentning biomassasi yoki qattiq oziqa muhitda o'stirilgan kulturaning suvli ekstrakti xizmat qiladi. Ferment preparatlari kukun yoki suyuq kontsentrat ko'rinishida olinishi mumkin. Ajratish jarayonida preparatning ymumiy massasida faol oqsilning nisbiy ulushi, ya'ni uning ulushiy faolligi optadi.

Tozalanmagan, kompleks ferment preparatlarining olinishi. Tozalanmagan ferment preparati - mikroorganizm kulturasini mo''tadil sharoitda namligi 8-12% ga olib kelingan va butun oziqa muhiti qoldiqlari bilan birgalikdagi massasidir.

Tozalanmagan ferment preparati kulturani qattiq yoki suyuq oziqa muhitida o'stirish yo'li bilan olinishi mumkin. Suyuq muhitda o'sgan kultura quritishdan oldin biomassasi va oziqa muhiti qoldiqlaridan qisman tozalangan yoki shundayligicha quritilgan bo'ladi.

Qattiq oziqa muhitida o'stirilgan mikroorganizm kultura odatda 35 dan 58 % gacha namlikka zga bo'ladi. Bunday mahsulot chidamsiz bo'lganligi sababli uni tezda ishlab chiqarishga joriy qilish yoki namligini 10-12% gacha quritib olish kerak. Quritish jarayonidan oldin, o'stirish xonasidan olingan mikroorganizm maydalanadi va keyin quritiladi

Mikroorganizm kulturalarini quritish uchun tasmali, tonnelli, shaxtali, barabanli, javonli (shkafli) va tebranuvchan quritgichlardan foydalanish mumkin. Ishlab chiqarishda, yuqorida qayd qilinganlariga nisbatan ko'proq to'g'ri yo'naltirilgan baraban tipidagi quritgichlar ishlatiladi. Bunda xo'l kultura issiqlik beruvchi qurilma bilan birgalikda 80-85°S da quritgichga tushadi. Bunday yuqori haroratda quritiluvchi xo'l mikroorganizmlarning mayda bo'laklaridagi namni bug'lanishi hisobiga qattiqqizib ketish holati kuzatilmaydi va undagi fermentlarning faolligi to'liq saqlanadi. Ko'pchilik barabanli quritgichlarning ichki tomonida parraksimon kurakchalar mavjud bo'lib, baraban 6-8 min⁻¹ tezlikda aylanishi hisobiga quritilayotgan materialni bir tekisda tarqalishini va quritilishini ta'minlaydi. Shuning uchun bunday tipdagi quritgichda quritilgan mahsulot butun massasi bo'ylab bir xil namlikka ega bo'ladi. Ushbu quritgichda mikroorganizm bo'lakchalari 3-7 min. davomida quritiladi, berilayotgan issiqlik tezligi 2-3 m/s, 80-85°S haroratda hamda chiqishda esa 60-65°S bo'ladi va quritilayotgan material harorati 40°Sdir. Quritish jarayonida atigi 3-10% gacha ferment faolligi yo'qotilishi mumkin.

Mikroorganizmlarni quritishda ishlatiladigan quritgichlarning yana bir turi – germetik berk bo'lgan lentali bug' konveyerli quritgichdir. Bunday qurilmalarda fermentning faolligi ko'p yo'qotiladi, lekin ular ixcham va yuqori samaradorlikka ega.

Qattiq oziqa muhitida o'stirilgan mikroorganizmlarni quritish uchun har xil konstruksiyali quritgichlardan foydalanish mumkin, qaysiki mahsulotning faolligi pasayishini minimumgacha tushirishni, uning quritgichda 5-8 min. davomida bo'lishi va chiqishida 40-42°S dan pastda bo'lishini ta'minlaydi.

Tayyor quruq mikroorganizmlar maxsus qoplash mashinalarida 25-40 kgqilib qoplanadi va tayyor mahsulotlar omboriga yuboriladi.

Ko'pchilik produtsentlar sintez qilgan fermentlarning asosiy qismini suyuq oziqa muhitiga chiqaradilar va to'playdilar. Toza ferment preparatlarini produtsentning biomassasi bilan birgalikda filtrlarda, sentrifugalarda yoki separatorlarda ajratiladi.

Mikrobiologiya sanoatida asosan tashqi tomoni bilan filtrlovchi yacheykali-barabanli to'xtovsiz ishlovchi vakuum filtrlar ishlatiladi. Bu filtrlar yuqori darajada

mexanizatsiyalashtirilgan bo'lib, har xil suspenziyalarni bir xil tezlikda filtrlash imkonini beradi. Barabanning sirti to'rsimon bo'lib, bo'z yoki filtrllovchi sun'iy gazlama bilan o'ralgan va u filtrlanuvchi suyuqlikka cho'ktirilgan bo'ladi. Filtrllovchi sirtida to'plangan har xil erimagan komponent va biomassa maxsus pichoq yordamida tozalanadi.

Baraban filtrlar biomassani ajratish uchun juda qulay, lekin ular past samaradorligi, qo'polligi va aseptika sharoitlarini ta'minlay olmasligi bilan ajralib turadi.

Ferment sanoatida ko'pincha ramali filtr-press ham ishlatiladi. Mahsulot qo'l ishiga asoslangan holda olinadi. Ramali filtr-presslarni filtrllovchi hajmi kichik bo'lganligi sababli barabanli vakuum-filtrga nisbatan ham kam samaradordir. Ramali filtrda filtrlash jarayoni 0,6-0,4 Mpa bosim ostida olib boriladi. Odatda filtratning birinchi qismi tiniq bo'lmaydi va u qayta filtrlanadi.

Filtr-pressning kamchiliklari gorizontali kamerali tipdagi FPAKM da birmuncha bartaraf etilgan. U ustma-ust joylashgan filtrllovchi plitalar va filtrllovchi gazlamadan iborat. Ushbu uskunaning ishi avtomatlashtirilgan va ish yuzasi 2,5 dan 50 m² hajmga zga. Nisbiy samaradorligi boshqalariga nisbatan b-8 marta yuqori va ferment faolligi 4-5% atrofida yo'qotiladi. Ularni ishlab chiqarishga joriy qilish juda istiqbolli va bakteriyalar kultural suyuqligini filtrlashda juda qo'l keladi.

Ferment sanoatida 8SM tipdagi separatorlar ham keng qo'llaniladi. Ular ichiga baraban o'rnatilgan idish ko'rinishida bo'ladi. Barabanlarning ichida silindrik to'siqlar o'rnatilgan bo'lib, yuqori tezlikdagi markazdan qochma kuch hisobiga uning tagida cho'kma holda biomassa va boshqa komponentlar cho'kadi. Separatorning samaradorligi yuqori bo'lib, 2000-5000 l/s gacha yetadi. Bizda ASE-3, ASI, ASE-B tipdagi separatorlar hamda "Alfa-Laval" (Shvetsiya) firmasining soploli separatorlari ishlatiladi.

Biomassani filtrlash samarasi ishlatilayotgan uskuna tipiga, oziqa muhit tarkibiga, ajratilayotgan bo'lakchalar katta-kichikligiga, erimagan fraktsiyalar miqdoriga, filtrllovchi materialning fizik-kimyoviy xususiyatlariga, harorat rejimiga va boshqa omillarga uzviy bog'liqdir. Filtrlash jarayonini yaxshilash maqsadida kultural muhit kimyoviy qayta ishlanadi, ya'ni ishqoriyligi rN 8-8,5 ga keltirib 0,1%li NaCl eritmasi va har xil kizelgurlar (diatomit, radiolit, mikrozil, klargel va x.k.) qo'shiladi. Bu to'ldiruvchilar filtrlash samarasini oshiradi, lekin ferment faolligiga salbiy ta'sir qiladi. Olingan biomassa (bioshrot) sterilizatsiya qilinadi va quritilib chorva mollariga yem sifatida ishlatiladi. Kultural suyuqlik filtrati esa toza ferment preparati olish uchun qayta ishlashga yuboriladi.

Qattiq oziqa muhitida o'stirilgan mikroorganizmlardan fermentlarni ekstraksiya qilish. Barcha fermentlar asosan suvda eruvchandir. Shuning uchun eng yaxshi ekstragent bo'lib suv hisoblanadi. Mikroorganizmlardan fermentlarni olish uchun ular mayda qilinib hujayra devorlari mexanik yoki avtomatik holda buzilib, ekstraksiya jarayoniga jalb etiladi. Bu usulda ham xo'l holdagi, ham quruq holdagi mikroorganizmdan ferment eritmasini olish mumkin. Biomassadan ferment ekstraksiyasini to'liq amalga oshirish uchun harorat, rN, jarayon

davomiyligi, ekstraktsiya uskunasiining konstruktiv xususiyatlari, ajratilayotgan ferment tabiati va boshqa bir qancha omillarga bog'liq. Bu omillar har bir produtsent misolida alohida tadqiqotlar yordamida aniqlanadi va tavsiya etiladi. Masalan, harorat ekstraktsiya jarayoniga katta ta'sir ko'rsatadi, ya'ni juda ko'p fermentlar termolabil bo'lib, hattoki 35-40°S da inaktivatsiyaga uchraydi. Shuning uchun zavod sharoitida iloji boricha suvning harorati 22-25°S da ushlab turiladi va har bir mikroflora o'smasligi uchun antiseptiklardan (formalin, benzol, toluol, xloroform va x.k.dan foydalaniladi. Ko'pchilik holatlarda fermentlarni rN 5-7 ko'rsatkichida to'liq ajratib olish mumkin.

Bioshrot bilan fermentlarni kam isrofgarchiligi asosida quyuqlashtirilgan ekstraktlar olish uchun maxsus ekstraktsiya uskunalarini ishlatish kerak. Bu qurilmada ekstraktsiya qilinayotgan mikroorganizm fermenti nisbatan ko'p faollikni yo'qotadi va qo'l ishiga asoslanadi.

Vakuum-bug'lantirish usulida ferment eritmalarini quyuqlashtirish. Qattiq va suyuq oziqa muhitlarida o'stirilgan mikroorganizmlarning ekstraktlari saqlash uchun chidamsizdir. Tayyor texnik preparat formalarini (P2x va G2x) olish va ularni quyuqlashtirish kerak. Quruq texnik yoki toza ferment ppepatlarini vakuum-bug'lantirish usuli ham bir bosqich bo'lib hisoblanadi.

Odatda fermentlar bug'lantirish haroratiga juda ta'sirchan bo'ladi. Shuning uchun quyuqlashtirishning asosiy sharti past haroratda qaynatish va jarayonni qisqa muddatda olib borish bilan birga, bug'lantirilayotgan suyuqlikni qizib ketishi va fermentlar inaktivatsiyaga uchrashini oldini olishdir. Agarda quyuqlashtirilayotgan eritma qanchalik toza bo'lsa, shunchalik kam miqdorda har xil moddalarni kam tutadi va undagi ferment yuqori haroratga juda ham ta'sirchan bo'ladi. Qattiq oziqa muhitida o'stirilgan organizm ekstraktida juda ko'p miqdorda himoyalovchi birikmalar bo'ladi va ular quyuqlashtirish jarayonida ferment inaktivatsiyasini oldini oladi, lekin kultural suyuqlikni quyuqlashtirishda buning aksini kuzatish mumkin, ya'ni ferment ko'p miqdorda faolligini yo'qotadi. Quyuqlashtirish jarayonida ferment eritmalaridagi moddalarning miqdori va mineral tarkibi birmuncha o'zgaradi, quruq modda hisobiga esa 11-20 %ga kamayadi va quyuqlashgan ekstraktning rN ko'rsatkichi ham o'zgaradi. Prodsentning turiga qarab ularning kultural suyuqliklari ham har xil kimyoviy tarkibga va fermentlar kompleksiga ega bo'lganligi uchun, vakuum-bug'lantirishning harorat rejimlari tadqiqot yo'li bilan aniqlanadi.

Ferment faolligini quyuqlashtirish jarayonida yo'qotilishi nafaqat uni olib borilish rejimiga, balki uskuna yoki qurilmaning konstruktivligiga ham bog'liqdir. Keyingi yillarda vakuum-bug'lantirish uskunalarini ancha takomillashtirilmoqda. Ushbu uskunalar trubka shaklida (gorizontal, vertikal va qiya) bo'lib, jarayonni o'tish muddatini 10 marotabaga yaqin qisqartirdi va fermentni faolligini yo'qotishini bir muncha kamaytirdi. Bular jumlasiga «Alfa-Laval» (Shvetsiya), «Yedinstvo» (Yugoslaviya), «Lyuva» (Shveytsariya), «APV» (Frantsiya) va b. bir qancha firmalar uskunalarini kiritish mumkin va ularning samaradorligi 200 dan 20000 l/s ni tashkil qiladi hamda fermentni faolligi 10% atrofida yo'qotiladi.

Ferment eritmalarini membranalar yordamida tozalash Membranali tozalash usuliga dializ va elektrodializ, baromembranali usulga esa qaytariluvchi osmos, ultrafiltratsiya, mikrofiltratsiya va nozik filtratsiya kabilar kiradi.

Eritmadagi moddalarni dializ usulida ajratish – membranani modda massasiga qarab tanlab o'tkazuvchanlik xususiyatiga asoslangan. Bu jarayon uchun yarimo'tkazgich membrananing har ikki tomonida eritmalar kontsentratsiyasini farqi vujudga kelishi kerak. Dializ jarayonini ushbu tenglik bilan ifodalash mumkin:

$$Q = DdS\Delta C$$

Bunda, Q – ma'lum vaqt ichida membranadan o'tgan modda miqdori, Dd – dializ koeffitsienti, S – membrana sirtining yuzasi, ΔC – membrananing har ikki tomonidagi moddalarning kontsentratsiyasi farqi.

Dializdan ferment preparatlarini kichik molekulali moddalardan tozalashda foydalaniladi. Masalan, ferment eritmalarini shakar, aminokislotalar, mineral tuzlar va boshqalardan 60-100% gacha bo'lgan miqdorda tozalashga erishish mumkin. Ayniqsa, fermentlar yuqori kontsentratsiyali tuzlar bilan cho'ktirilganda dializdan va elektrodializdan unumli foydalanish kerak. Lekin to'rtlamchi strukturaga ega bo'lgan fermentlarni va metallofermentlarni ajratishda elektrodializdan foydalanish mumkin emas, ya'ni ferment ushbu jarayonda o'z faolligini yo'qotadi.

Dializ jarayoni juda sekin o'tuvchi jarayondir, hamda eritmaning miqdori ko'p bo'lganda, juda ko'p miqdorda membrana sarflanadi. Dializda quyidagi har xil ko'rinishdagi yarimo'tkazgich membranalar ishlatiladi, pergament, sellofanning har xil turlari, ultrafiltratsiyada ishlatiladigan membranalar va boshqalardir. Dializ usuli bir qancha kamchiliklarga ega bo'lganligi sababli hozirgi kunda ishlab chiqarishda ishlatilmaydi. Ba'zan ilmiy laboratoriyalarda fermentlarni yuqori tozalikda olish uchun ishlatilishi mumkin.

Baromembrana usuli ishlatiladigan membranalar tirqishlarining katta-kichikligiga qarab sinflanadi. Masalan, qaytariluvchan osmos ($\approx 3 \times 10^{-4}$ mkm); gelfiltratsiya ($15 \times 10,5$ mkm); mikrofiltratsiya (0,2 mkm) va nozik filtratsiya (10 mkm) dir.

Quyuqlashtirish va tozalashning qaytariluvchan osmos va ultrafiltratsiya usullari kimyo, neftni qayta ishlash, oziq-ovqat, farmatsevtika va ferment sanoatlarida juda keng tarqalgan. Eng asosiysi, jarayonni juda ham kam harajatlar va energiya evaziga olib borilishidir. Ultrafiltratsiya jarayonida fermentlarni harorat ta'siridagi inaktivatsiyasi umuman bartaraf qilingan bo'lib, birvarakayiga eritma bir qancha ballast birikmalardan xona haroratida tozalanadi. Ushbu jarayon yuqori bosim ostida o'tganligi uchun samaradorligi ham yuqoridir. Bu usulning ham asosiy elementi bo'lib membranalar hisoblanadi. Hozirgi kunda sellofandan, kauchukdan, polietilendan, polisteroldan, sellyulozadan va b. bir necha xil materiallardan tayyorlangan membranalar ishlatilmoqda.

Membranalar xususiyatiga qarab 0,05-0,2 mkm li bir qavatli – izotrop va ikki qavatli – anizotrop turlariga bo'linadi.

Cho'ktirish usullari va uning nazariyasi. Sanoat uchun zarur bo'lgan ko'pchilik fermentlar suvda eruvchan oqsillardir. Ferment eritmaları olinish

manbalariga qarab mikroorganizmlar lizatleri, ekstraktleri, kultural suyuqlik filtratlari, o'simlik yoki hayvon to'qimalari gomogenatlari bulishi mumkin. Bu ferment eritmalari tarkibi juda murakkab sistemaga ega. Unda fermentlardan tashqari kolloid tabiatiga ega bo'lgan har xil birikma va moddalar ham uchraydi. Bunday murakkab sistemalardan fermentlarni ajratib olish mushkul vazifadir.

Ma'lumki, oqsilning gidrofob guruhlari oqsil molekulasi ichida to'planib harakat joylashadi. Oqsilning har xil erituvchilarda erish darajasi molekula sirtida gidrofob va gidrofil qoldiqlarning tarqalishi bilan belgilanadi. Oqsillarni asosiy erituvchisi bo'lgan suvning ba'zi xususiyatlarini (harorat, rN, ion kuchi, neytral tuzlar, organik erituvchilarni yoki inert birikmalarni qo'shish yo'li bilan) o'zgartirish hisobiga oqsil molekulasining gidrat yoki solvat qatlamiga ta'sir qilib agregatsiyaga uchratish va cho'kmaga tushirish mumkin. Sanoatda asosan organik erituvchilar yoki tuzlar bilan cho'ktirishdan foydalaniladi. Bu usullar bir-biridan cho'ktirish mexanizmi bilan farqlanadi.

Neytral tuzlar yordamida cho'ktirish. Bu jarayon asosan oqsil molekulasining gidrofobligi darajasiga bog'liq. Tipik oqsil molekulasi sirtida bir qator aminokislotalar (tirozin, triptofan, leytsin, izoleytsin, metionin, valin va fenilalanin) zanjiri shaklida yopishgan gidrofob qismlarga ega. Oqsil molekulasining gidrofob qismi suv bilan to'qnashganda suv molekulalari bilan orientirlangan qavat hosil bo'ladi va shu joylar «muzlatilgan» holatda bo'ladi. Bunday tartibli strukturalar termodinamik jihatdan chidamli emasdir. Agar suv molekulalarini oqsil tabiatiga o'xshamagan moddalar bilan immobilizatsiya qilinsa, oqsil molekulalari o'zaro ta'sirlashib agregatlar hosil qila boshlaydi. Ma'lumki, tuzlarning ionlari gidratlanadi. Agar oqsil eritmasiga ma'lum miqdorda suv qo'shilsa u suv bilan bog'lanadi va suvdan bo'shagan oqsil molekulalari agregat hosil qiladi. Tuz ionlari qancha ko'p bo'lsa, oqsillarning agregatlanishi ham shuncha kuchayadi va cho'kmaga tushishi ortadi.

Tuzlar bilan cho'ktirish jarayoni ta'siriga ko'ra har xil oqsillarga har xil bo'ladi. Bu birinchidan, oqsil molekulasi sirtidagi gidrofob qismlarning miqdori va razmeriga bog'liq. Qancha shunday qismlar ko'p bo'lsa, oqsil shuncha tez cho'kmaga tushadi. Ba'zi oqsillar borki, tuzlarning eng yuqori konsentratsiyalarida cho'kmaga tushmaydi. Cho'ktirish jarayonida oqsillar yonida turgan boshqa oqsillar bilan ham agregat hosil qilib cho'kmaga tushishi mumkin. Bunda bir qancha fermentlar kompleksini olish mumkin. Lekin fraktsiyalarga bo'lib cho'ktirilsa bir muncha yuqori natijaga erishish mumkin.

Oqsillarni tuzli eritmalarda eruvchanligi Konning empirik tenglamasiga bo'ysunadi:

$$\lg S = \lg S_o - k_s \mu$$

bunda S , S_o - oqsilning tuzli eritma va toza suvdagi eruvchanligi; k_s – tuzlash konstantasi, μ – eritmaning ion kuchi.

Tuzlar bilan cho'ktirish jarayonini unumli o'tkazish uchun $k_s \mu$ ko'rsatkichi iloji boricha katta bo'lishi kerak. k_s ko'rsatkichi tuzning tabiatiga bog'liq bo'lib,

vodorod ionlari kontsentratsiyasiga bog'liq emas. Ushbu jarayon gidrofob o'zaro ta'sirga asoslangan bo'lsada uning borishiga ta'sir qiluvchi boshqa omillar ham mavjuddir. Ular: muhit rN i, harorat. Ferment eritmasi tozaligi darajasi, jarayonni o'tkazish muddati va boshqalardir.

Tuz bilan cho'ktirishda asosan ishqoriy metallarning neytral tuzlari ishlatiladi. Har xil ionlarning cho'ktirish effekti ularning ion kuchiga bog'liq. Natriy tuzlari anionlarini tuzlash ta'siri kuchiga qarab quyidagicha joylashtirish mumkin: $\text{SO}_4^{2-} > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{J}^- > \text{CNS}^-$, hamda kationlarni esa quyidagicha $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+ > (\text{NH}_4)^+$.

Ferment preparatlarini tuz yordamida cho'ktirilganda ularning tarkibida 60-85% gacha har xil ballast qo'shimcha moddalar uchrashi mumkin. Ushbu jarayonning eng qiyin bosqichi, bu - tuzni qo'shish va uni eritishdir. Eritmada tuzning lokal kontsentratsiyasini oshirib yubormaslik uchun u avval maydalanib, sekin astalik bilan ma'lum bir qismdan qo'shib boriladi va tinmay aralashtirib turiladi. Aralashtirish davomida ko'pik hosil bo'lishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Jarayon erigan na agregatlangan oqsillarning muvozanati hosil bo'lguncha 20-40 min, ba'zida bir necha soat davom etadi.

Tuz bilan cho'ktirish juda ham ko'p omillarga bog'liq bo'lgan murakkab texnologik jarayondir. Shuni esda tutish kerakki, tuz hech qachon fermentni butunlay cho'ktirmaydi, balki uning eruvchanligini pasaytiradi, xolos. Agar eritmada 1 mg/ml oqsil bo'lsa uning 90%i cho'kmaga tushishi mumkin, lekin zritmada bor-yo'g'i 0,1 mg/ml oqsil bo'lsa hech qanday ferment preparatini olishning iloji bo'lmaydi.

Neytral tuzlar bilan oqsillarni cho'ktirib ferment preparatlarini olish usullari asosan chet ellarda keng tarqalgan.

Organik erituvchilar yordamida cho'ktirish. Fermentlarni suvda eruvchan organik erituvchilar bilan cho'ktirish usullari sanoat miqyosida keng ko'lamda qo'llaniladi. Oqsillarni cho'ktirish samarasi organik erituvchilar ta'sirida suvning faolligini kamayishi bilan uzviy bog'liqdir. Erituvchining kontsentratsiyasi ortishi bilan fermentning zaryadlangan gidrofil molekulalarini suv ta'sirida solvatlanish qobiliyati pasayadi. Oqsilning gidrofob qismidagi suv molekulalari organik erituvchi tomoniga o'ta boshlaydi va natijada fermentning eruvchanligi pasayadi. Oqibatda oqsil molekulalari agregatlanadi va cho'kmaga tushadi.

Oqsillarni agregatlanishi elektrostatik va Van-der-Vaals kuchlari ta'sirida, alohida joylashgan oqsil molekulalari o'rtasida yuzaga keladi.

Oqsillarni agregatlanishi jarayoni va cho'kma hosil bo'lishi cho'ktirishning bir qancha omillariga bog'liqdir. Shulardan biri oqsil molekulasining razmeridir. Cho'ktirish jarayonida oqsil molekulasining razmeri qanchalik katta bo'lsa, erituvchining salbiy ta'sir qiluvchi kontsentratsiyasi shunchalik past bo'ladi. Bu bog'liqlikka molekulaning gidrofoblik darajasi, solvat qavatiga chidamliligi na boshqa omillar ta'sir qilishi mumkin.

Cho'ktirish uchun ishlatiladigan organik erituvchi suv bilan to'liq aralashishi va ferment bilan esa aloqada bo'lmasligi kerak. Asosan bu jarayon uchun etil spirti, atseton va izopropil spirti keng qo'llanilsa, metanol, n-propanol, dioksan, 2-

metoksietanol va boshqa spirtlar, ketonlar, efirlar va ularning aralashmalari kamroq ishlatiladi. Erituvchilarni tanlashda ularning toksikligiga, portlash xavfidan xolisligiga va pegeneratsiya bo'lish qobiliyatiga e'tibor berish kerak. Ishlab chiqarish uchun eng yaroqlilari bo'lib etil spirti va izopropanol hisoblansa, atsetonning ko'rsatkichlari esa sal pastroqdir. Bular orasida eng istiqbollisi izopropanoldir. Bu erituvchilar yordamida fermentlarni komplekslarga ajratish yoki fraktsiyalar holida cho'ktirib olish mumkin.

Ferment preparatlarini cho'ktirish uchun nafaqat erituvchining tabiati va kontsentratsiyasi, balki elektrolitlarning ishtiroki, cho'ktirish harorati, muhit rN ko'rsatkichi, quruq moddalarning tarkibi na miqdori kabi bir qancha omillarga e'tibor berish kerak. Cho'ktirish eritmasida ba'zi ionlarning uchrashi ferment mo''tadilligiga ta'sir qilishi mumkin. Masalan, Ca^{2+} ionlari a-amilaza, proteinaza, glyukoamilaza fermentlari faolligiga ijobiy ta'sir qilsa, magniy, marganets, kobalt kabi metall ionlari himoya vazifasini bajaradi. Shular bilan birgalikda ba'zi metallarning (Fe^{2+} , Pb^{2+} , Si^{2+} , Ag^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} , Hg^{+} va x.k.) ionlari salbiy ta'sir ko'rsatadi va ularning eritmada bo'lishi maqadra muvofiq emasdir. Eritmada elektrolitlarning bo'lishi erituvchi sarfini kamaytirishga va cho'kma strukturasi yaxshilashga xizmat qiladi.

Ferment eritmasi va erituvchining harorati ferment cho'ktirish jarayonida past bo'lishiga harakat qilish kerak. Spirt va fermentning suvli eritmasi aralashtirilganda issiqlik ajralib chiqishi va aralashma harorati 5-10⁰S ga ko'tariladi. Agarda spirt oldindan sovutilgan bo'lmasa fermentlarning inaktivatsiyasini kuzatish mumkin. Bu hodisa nafaqat termoinaktivatsiyaga, hattoki ferment molekulasini denaturatsiyagacha olib keladi.

Ferment preparatlarini cho'ktirishda rN ko'rsatkichi juda katta ahamiyatga ega. Bir xil ferment eritmasidan har xil rN ko'rsatkichi ta'sirida bir-biridan cho'kmasi miqdori va ferment faolligi bilan farqqiluvchi preparatlar olish mumkin. Ma'lumki, fermentlar o'zlarining izoelektrik nuqtalarida oqsil agregatlari hosil qilib to'liq cho'kmaga tushadilar. Oqsillarni izoelektrik nuqtalarida cho'ktiruvchi reagentlar ishlatmay cho'ktirish jarayoni izoelektrik cho'ktirish deyiladi. Organik cho'ktiruvchilarni izoelektrik nuqta rNiga yaqii rN da qo'llash fermentlarni oson cho'ktirish va erituvchini kam miqdorda sarflash uchun xizmat qiladi. rN ko'rsatkichi izoelektrik nuqtadan chetga chiqsa cho'kma unumi va ferment faolligi 30-50% gacha yo'qotiladi.

Faol fermentni preparat yoki mo''tadil strukturali cho'kma holida olish uchun eritmada 10-12% atrofida quruq modda miqdori bo'lishi kerak. Ko'p tadqiqotlardan ma'lumki, fermentlarni cho'ktirishda, ayniqsa proteolitik fermentlarni, quruq moddaning eng optimal miqdori 10% bo'lishi kerak.

Yuqorida qayd qilingan omillar qatorida ferment zritmalarini erituvchi bilan aloqada bo'lish muddati ham katta ahamiyatga zga. Ferment sanoatida to'xtovsiz ishlaydigan cho'ktiruvchilarda ushbu vaqtni juda ham qisqartirishga erishilgandir, bu albatga ferment faolligini kamayishini oldini oladi.

Organik erituvchilar bilan cho'ktirish samaradorligi shu jarayonga mo'ljallangan uskunaga ham uzviy bog'liqdir. Bunday uskunalar asosan ferment

zritmalarini qabul qilgich, to'xtovsiz aralashtirgich, ferment eritmasi va erituvchini to'xtovsiz ravishda uzatuvchi konturlar, separator va avtomatizatsiya tizimlaridan tuzilgan bo'ladi. Silindr shaklidagi aralashtirgichdan ferment eritmasi va erituvchi murakkab harakat yo'nalishi bo'ylab qisqa vaqt ichida aralashib o'tadi va natijada hosil bo'lgan aralashma separator qismiga uzatiladi. Separatorida cho'kmaga tushgan oqsil molekulalari ajratib olinadi. Bunday qurilmada ferment bilan erituvchining aloqa muddati o'n marotabagacha qisqartiriladi. Bunda fermentning cho'kmaga tushish unumi 15-20% gacha ortadi. Separatorida ajratilgan cho'kma har xil usullar bilan mo'tadil sharoitda quritib olinadi. Cho'kma tepasida qolgan suyuqlik tarkibida 50-75% gacha erituvchi ulushi bo'ladi va rektifikatsiya bo'limida regeneratsiya qilishga yuboriladi.

Organik erituvchilar bilan cho'ktirish unumi produtsent o'stirilgan oziqa muhiti tarkibiga va ferment preparatini quyushtirilganlik darajasiga ham bog'liqdir.

Fermentlarni tozalash usullari.

Fermentlar va boshqa oqsil moddalari har xil erimaydigan adsorbtsiya (surilish) qobiliyatiga ega. Bu xususiyat oqsil aralashmalarini birikmalarga ajratishda va ayniqsa fermentlarni laboratoriya sharoitida tozalashda, hamda gomogen bo'lgan ferment preparatlarini olishda ishlatiladi. Adsorbtsiya usuli, shu bilan birga kolonkali xromatografiya usullari fermentlarni yuqori darajada toza va ko'p miqdorda olish imkonini beradi.

Oqsillarning muhim adsorbentlari bo'lib, hap xil ionalmashuvchilar, ya'ni kaltsiy fosfat, alyuminiy gidroksid gellari va ma'lum tipdagi fermentlar uchun maxsus bo'lgan har xil affin adsorbentlar hisoblanadi. Fermentlarni tozalash va oqsillarni ajratish texnologiyasi qanday tipdagi usulda bo'lishiga qaramay quyidagilarga asoslanadi. Ferment mahsulotini o'z tarkibiga olgan oqsillar aralashmasi ma'qul bo'lgan erituvchida (buferda) eritiladi va shu erituvchi bilan muvozanatlangan kolonkaga yuboriladi. Keyin shu kolonkadan ma'lum tarkibga ega bo'lgan buferni yoki kontsentratsiyasi o'sib boruvchi gradientli yuvish eritmasi, yoki bo'lmasa ushbu ferment uchun maxsus bo'lgan bog'lovchi (ligand) yordamida oqsil bosqichma-bosqich yuvib olinadi. Kolonkadan yuvib olingan ferment preparatlari fraktsiyalar to'plamida yig'iladi va fermentni toza preparatini olish uchun boshlang'ich material bo'lib xizmat qiladi.

Ionalmashuv xromatografiya usuli. Bu usulda oqsillar elektrostatik kuch yordamida bog'lanadilar, ya'ni bu hodisa zaryadlangan oqsil sirtlari va zaryadlangan ionalmashuv birikma guruhlarining zich qatlami o'rtasida yuzaga keladi. Tipik ionalmashuvchi sifatida bo'ktirilgan dietilaminoetil (DEAE-) yoki karboksimetil (KM) sellulyozani ko'rsatish mumkin. Ular bo'ktirilgan holatda zaryadli guruhlarining 0,5 M kontsentratsiyasiga zga bo'ladi. Bu zaryadlap kolonkada qapama-qarshi bo'lgan ionlarni (metall ionlari, xlor ionlari, bufer va h.k. neytrallaydi. Odatda oqsilning umumiy zaryad belgisi ion almashuvchiga o'tirgan ion belgisi bilan bir xil bo'ladi va kolonkadan o'tish jarayonida aynan uni siqib chiqaradi. Shuning uchun ham bu jarayon xususiyatiga qarab "ion almashuv" jumlasini qo'llaniladi.

Kolonkada adsorbtsiyalangan kepakli oqsilni yuvish uchun affin usulidan tashqari ikki usuldan foydalaniladi. Birinchi usul - buferning rN ko'rsatkichini ma'lum darajaga o'zgartirish bilan ion kuchini oshirib, adsorbent va oqsil o'rtasidagi elektrostatik o'zaro ta'sirni kamaytirishdir. Bu usul umuman yaxshi natija bermaydi. Chunki bufer hajmini kichik bo'lganligi uchun rN

ko'rsatkichini birdaniga o'zgar-tirish oqsil aralashmalariga va boshqa birikmalarning yomon ajralishiga sabab bo'ladi. Keyingi yillarda bu usul L.L.Slyuyterman va boshqalar (1981) tomonidan xromatofokus usuliga o'tkazish yo'li bilan takomillashtirilmoqda. Bunda yuvish jarayonida amfolit tipidagi bufer hajmi yuqori bo'lgan buferlardan foydalaniladi va shu usul keyinchalik sanoat miqyosida o'z o'rnini topishi mumkin.

Ikkinchi usul keng miqyosda foydalanilayotgan kaliy yoki natriy xlorid tuzlari yordamida gradient tuzishga asoslangan. Tuz ionlari ishtirokida mustaqil oqsil na adsorbentlar o'rtasidagi o'zaro tortish kuchi kamayadi. Tuz ionlari kontsentratsiyasini oshishi bilan adsorbentga bog'langan oqsillar o'z o'rinlarini ularga bo'shatadilar va o'zlari kolonkadan yuvilib chiqa boshlaydilar. Shu bilan birga tuz ionlari ta'sirida adsorbentlar o'zaro yaqinlashib oqsil harakati uchun tor yo'lkalar hosil qiladi va bu hodisa fermentlarni kolonkadan chiqishida fraktsiyalarga ajratib olish imkonini beradi.

Ion almashuvchiga bog'langan fermentni affinli yuvish yordamida ajratish mumkin. Buning uchun kolonkaga oqsil bilan bog'lanadigan maxsus ligand yuboriladi. Bunda oqsil ligand bilan birgalikda tezda kolonkadan yuvilib chiqadi. Lekin kerakli oqsilni taniydigan va uni sorbentdan ajratib oladigan ligandni topish juda mushkul vazifadir. Shu bilan birga ligandni qanday zaryadlanganligi va kontsentratsiyasiga alohida e'tibor berish kerak. Bo'lmasa qarama-qarshi holatda ligand o'zi ionalmashuvchiga bog'lanib qolishi mumkin.

Affinli xromatografiya usuli. Bu usul oqsil va fermentlarni tozalash va ajratishning adsorbtsiya hodisasiga asoslangan usullari ichida alohida o'rinni egallaydi. Ko'pincha uni affinli xromatografiya yoki bioaffinli yoki bo'lmasa biospetsifik xromatografiya deyiladi.

Ma'lumki, barcha biologik faol birikmalar, xususan fermentlar ham ligandlar yoki affinli ligandlar deb nomlanadigan birikmalarga maxsus bog'lanish xususiyatlariga egadir. Agarda shunday ligandlarni inert matritsaga kovalent bog'lasa faqat kerakli fermentni ushlovchi va qolgan oqsil va moddalarni o'tkazib yuboruvchi maxsus adsorbentni olish mumkin.

Maxsus yuvuvchilardan yoki jarayon sharoitlari farqi asosida ligandni fermentga bo'lgan xususiyatini o'zgartirish yo'li bilan oqsilni desorbtsiyaga uchratib, tozalash natijasida bitta yuqori tozalikka ega bo'lgan fermentni olish mumkindir. Lekin ligand va uni ushlab turuvchini tanlash juda qiyin vazifadir. Ko'pchilik hollarda affinli adsorbentlarni sintez qilishda tozalanayotgan fermentning xususiyatlarini e'tiborga olish kerak. Affinli xromatografiya uchun har xil turdagi erimaydigan sorbentlardan foydalanadi, lekin eng ko'p tarqalgani ko'ndalang qilib ulangan agaroz donachalaridir. Ular yuqori bosimda o'z shaklini saqlaydi va buferlarni hamda erituvchilarni almashtirishga bardoshlidir.

Ligandlar esa matritsaga shunday bog'langan bo'lishi kerakki, oqsillar hech qiyinchiliksiz ularga kelib bog'lanishi va buning uchun matritsa bilan ligand o'rtasida ko'prikcha bo'lishi kerak. Bulardan tashqari ligand boshqa birikmalar bilan o'zaro bog'lanmasligi, fakat matritsaga bog'langan va yuvish, regeneratsiya jarayonlariga chidamli bo'lishi shartdir.

Gelxromatografiya usuli. Gelfiltratsiya jarayonini amalga oshirish uchun dekstran asosida olingan gellardan foydalaniladi va ular yordamida razmeriga qarab har xil makromolekulalarni tez ajratish mumkin. Gel ochiq holdagi ko'ndalang tikilgan uch o'lchamli molekula turi bo'lib, kolonkalarni oson to'ldirish uchun yumaloq donachalar (granula) ko'rinishida bo'ladi. Donachalarda kichik teshikchalari bo'lib, ularga faqat juda kichik molekulali birikmalar kiradi va yirik molekulalar esa kirmaydi. Bu usul gellarning aynan shu xususiyatiga asoslangandir.

Bu usul fermentlarni tozalash va ajratishda nafaqat laboratoriya, balki sanoat miqyosida ham keng qo'llaniladi. Gelfiltratsiya uchun ko'ndalang tikilgan dekstran (sefadekslar va sefakrillar) gellaridan, ko'ndalang tikilgan poliakrilamid gellaridan (biogellar), akrilamid polimer zanjiri yopishtirilgan agaroz gellardan (ultragellar) va b. agaroz gellaridan foydalaniladi.

Kolonkada ferment eritmasining bir qismi gel donachalar orasida va bir qismi esa donachalarning teshikchalari ichida joylashadi. Gelfiltratsiya – bu tarqaluvchan xromatografiyaning bir shakli bo'lib, eritilgan moddalar eritmaning bir muncha yuzada joylashgan harakatchan va ichki tomonida joylashgan kam harakatli qismlarida tarqalgan bo'ladi. Kolonkada eritilgan moddaning ushlab qolinish darajasi uning gel teshikchalariga kira olish qobiliyatiga bog'liqdir. Shuning uchun gelfiltratsiya jarayonida kolonkadan avval yuqori molekulali moddalar va keyin esa kichik molekulalilari birin-ketin chiqa boshlaydi. Bunda gel molekulyar to'r vazifasini bajaradi Bu jarayon ideal ravishda olib borilishi uchun gel tayyorlangan material erigan birikmalar ta'siriga juda ham inert bo'lishi kerak. Afsuski bugungi kunda ishlatilayotgan barcha gellar inert emas va ba'zan ma'lum pN ko'rsatkichida ular surish qobiliyatini namoyon qilishi mumkin, masalan, shunday gellarga sefakrillarni kiritish mumkin. Gelfiltratsiya usuli bilan mayda gel donachalarida yuqori bosim ostida juda ko'p har xil moddalarning, shu jumladan oqsillarning aralashmalari ajratilmoqda. Bu yangi yuqori bosim ostida suyuq xromatografiya uslubi qisqa vaqt ichida yuqori darajali ajratish imkonini beradi va u fermentlarni tozalashning oxirgi bosqichlarida juda ham unumlidir.

Oxirgi 15-20 yillar mobaynida kimyoviy enzimologiyaning rivojlanishi natijasida biologik katalizatorlarning yangi tipi – **immobillangan fermentlar** yaratildi. Ma'lumki toza fermentlar, birinchidan, uzoq vaqt saqlanmaydi, hamda turli ta'sirlarga, ayniqsa issiqlikka chidamsiz, hamda ikkinchidan, ularni qaytadan ishlatish imkoni yo'q. Immobillangan fermentlarning yaratilishi bilan sanoat ishlab chiqarishida toza fermentlar foydalanishda yuzaga keladigan qiyinchiliklar bartaraf etildi.

Immobillangan fermentlar fermentativ jarayonni uzluksiz o'tkazish va reaksiya tezligini boshqarish imkonini beradi. Fermentlarni immobillash bilan

tashuvchining xususiyatini o'zgartirish hisobiga ularning katalitik faolligi boshqariladi.

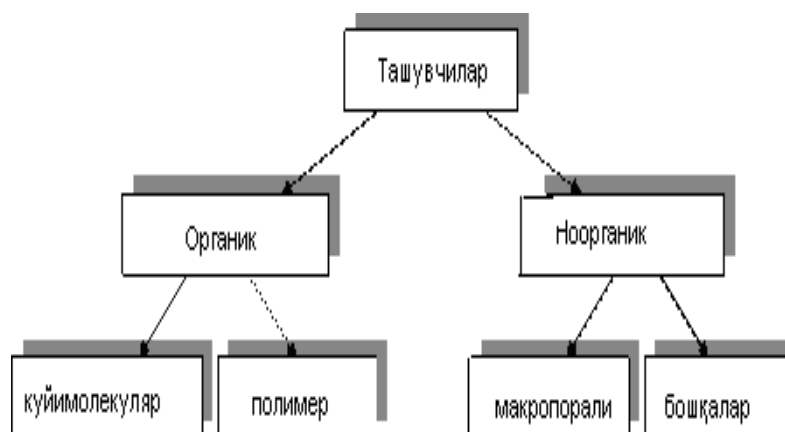
“Immobilangan fermentlar” atamasi fazoda oqsil molekulari harakatlanish erkinligini istalgan cheklanishini anglatadi.

Fermentlarni immobilashda ishlatiladigan tashuvchilar.

Fermentlarni immobilash uchun organik va noorganik tashuvchilar ishlatiladi. Ularga qo'yiladigan asosiy talablar:

- yuqori kimyoviy va biologik turg'unlik;
- yuqori kimyoviy mustahkamlik;
- ferment va substratlar uchun yetarli darajada o'tkazuvchan, g'ovakliligi, solishtirma sirti yuqori bo'lishi;
- texnologik jihatdan qulay shakllarda olinishi (granulalar, membranalar);
- oson aktivlanishi;
- yuqori gidrofillik;
- arzon narxda bo'lishidir.

Quyidagi rasmda tashuvchilarning klassifikatsiyasining sxematik ko'rinishi keltirilgan:



Organik (past va quyimolekulyar) tashuvchilar tabiiy yoki sintetik bo'lishi mumkin. Tabiiy polimer organik tashuvchilar o'z navbatida biokimyoviy klassifikatsiyasiga ko'ra 3 guruhga bo'linadi: polisaxaridli, oqsilli va lipidli.

Sintetik polimerlarni makromolekulasining asosiy zanjirini kimyoviy tuzilishiga ko'ra polimetilenli, poliamidli, poliefirli guruhlarga bo'lish mumkin.

Fermentlarni immobilash uchun tabiiy polisaxaridlar va polimetil tipidagi sintetik tashuvchilar ko'proq ishlatiladi. Buning sababi ularda kimyoviy reaksiyalarga oson kirisha oladigan reaksion xususiyatli funktsional guruhlari mavjud, hamda ularning gidrofilligidir. Kamchiligi esa mikroorganizmlarning ta'siriga chidamsiz va qimmatroqdir.

Polisaxaridli tashuvchilardan sellyuloza, dekstran, agaroza va ularning hosilalari ishlatiladi. Sellyuloza gidrofil xossali, unda gidroksil guruhi ko'p bo'lib, shu guruh xisobiga uni modifikatsiyalaydi. Sellyulozani qisman gidrolizlab (bunda amorf uchastkalari buziladi) granula xoliga keltiriladi va natijada uning mexanik mustahkamligi oshiriladi. Ularning o'rniga g'ovakliligini saqlab qolish maqsadida kristall uchastkalari orasiga kimyoviy chok kiritiladi. Granulalangan sellyulozani DEAE-tsellyuloza, KMS va b. singari turli ionalmashuvchilarning hosilalariga aylantirish mumkin.

Dekstran asosida ishlab chiqilgan "Sefadekslar" deb nomlanuvchi tashuvchilar ham keng ishlatiladi. Quritilganda ular oson siqiladi, suvda kuchli shishadi. Ushbu tashuvchilardagi poraning razmeri "choklilik" darajasi bilan boshqariladi. Dekstranlarning mazkur guruhiga kraxmal ham kiradi. Kimyoviy modifikatsiyalangan kraxmal agentlar bilan "tikiladi", masalan formaldegid bilan. Shunday yo'l bilan gidrolizga, fermentlarga nisbatan chidamli bo'lgan g'ovak kraxmal olingan. Dekstran asosida yaratilgan suvda eruvchan preparatlar tibbiyotda dorivor vositalar tashuvchi sifatida ishlatiladi.

Agar ham yaxshi tashuvchi hisoblanadi. Uni diepoksid birikmalar bilan kimyoviy tikib xossasini oshirish mumkin. Bunday agar issiqlikka chidamli, pishiq va oson modifikatsiyalanadi.

Oqsillar tashuvchi sifatida bir qancha afzalliklarga egadir: sig'imli, biodegradatsiyaga uchraydi, yupqa membrana (qalinligi 80 mkm) sifatida foydalanish mumkin. Oqsillar fundamental biologik tadqiqotlarda, tibbiyotda ishlatiladi. Kamchiligi esa yuqori immunogenlikka egaligidir. Immobillash uchun ko'proq strukturali (keratin, fibrin, kollagen), harakatchan (miozin) va tashuvchi (albumin) oqsillardan foydalaniladi.

Sintetikpolimertashuvchilarfermentlarni kovalentvasorbtsionnoy immobillashda, gel va mikrokapsulalarni olishda ishlatiladi. Sorbtsion immobillashda stirol asosidagi polimerlar ishlatiladi. Ular makroporali, izoporali struktura, hamda geteroporali strukturaga ega bo'ladi. Polimer gidrofil tashuvchilar olish uchun akril kislotasining hosilasi – akrilamiddan olinadi.

Ferment va hujayralarni fazoviy to'rtli strukturali poliakrilamid gelga kiritish metodi hozirda keng qo'llanilmoqda. Poliakrilamidgeli kimyoviy ta'sirotlarga chidamlidir. Poliamid tashuvchi guruhi ham qiziqarlidir. Bu amid guruhi (-S(O)-NH-) qaytarilib keladigan turli geterozanjirli polimerlar guruhidir. Masalan, N-vinilpirrolidon asosidagi polimerlar organizmda sekin parchalanadigan fermentlarni immobillash uchun ishlatiladi. Bundan tashqari ular biologik inert bo'lganligi uchun tibbiyotda ham ishlatiladi. Kamchiligi esa uning organizmda to'planib qolishidir. Bu jihatdan fermentlar ta'sirida gidrolizlanadigan tabiiy polimerlar ahamiyatlidir. Shuning uchun dlori vositalariga dekstran, sintetik tashuvchilardan N-vinilpirrolidon asosida polimerlar qo'shiladi.

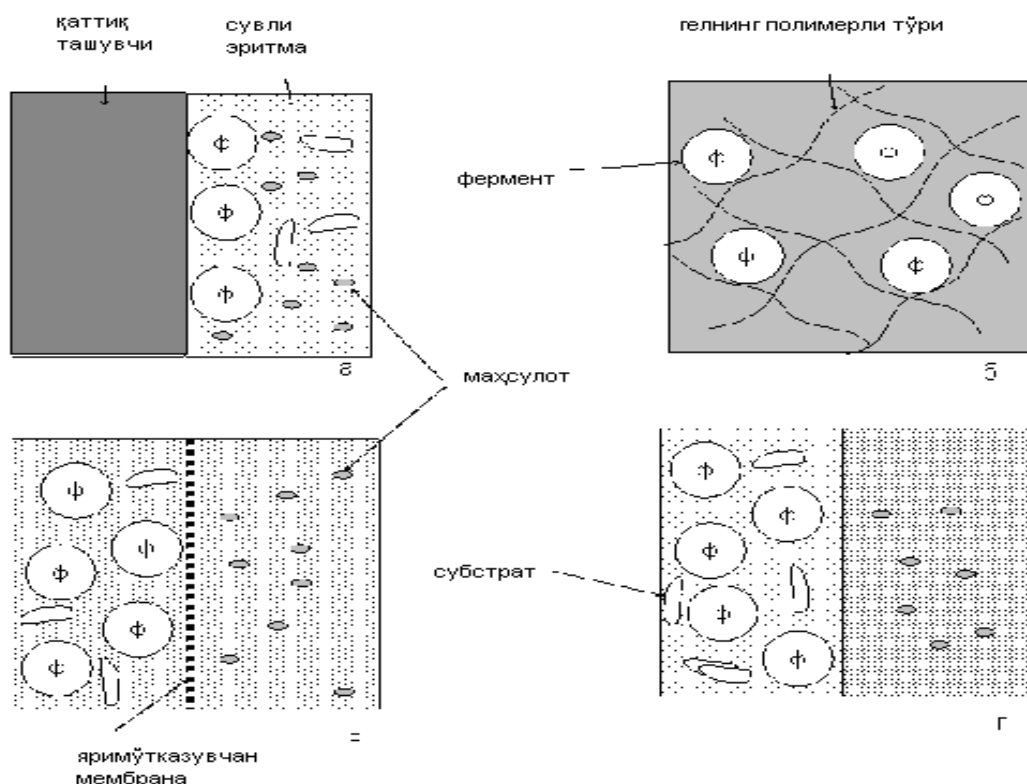
Fermentlarni immobillash metodlari.

Fermentlarni immobillash ikki xil metod bilan amalga oshiriladi: fizikaviy va kimyoviy.

Fermentlarni fizikaviy immobillash – bu fermentni shunday bir muhitga joylashtirish bo’lib, bunda ferment umumiy xajmning bir qismigina kira oladi. Fizikaviy immobillashda ferment bilan tashuvchi kovalent bog’ bilan bog’lanmaydi. Fermentlarni bog’lashni 4 tipi ma’lum:

- erimaydigan tashuvchilarda adsorbtsiyalanish;
- gel porasiga kiritish;
- yarimo’tkazgich membrana yordamida fermentni reaktsion sistemaning qolgan xajmidan fazoviy ajratish;
- ikki fazali muhitga o’tkazish, bu yerda ferment eriydi va fazalardan biridagina joylashishi mumkin.

Bu usullar quyidagi rasmlarda keltirilgan.



Fermentlarni immobillash usullari: a - erimaydigan tashuvchilarda adsorbtsiyalanish; b - gel porasiga kiritish; v - yarimo’tkazgich membrana yordamida fermentni reaktsion sistemaning qolgan xajmidan fazoviy ajratish; g - ikki fazali muhitga o’tkazish, bu yerda ferment eriydi va fazalardan biridagina joylashishi mumkin.

Adsorbtsion immobilizatsiya fermentlarni immobillashning qadimgi usuli bo’lib, unga 1916 yili asos solingan. Bu usul juda oson va u fermentning suvli eritmasi bilan tashuvchi orasidagi kontakt hisobiga amalga oshadi. Adsorbtsiyalanmagan oqsil yuvib tashlangandan so’ng ferment ishlatishga tayyor bo’ladi. Tashuvchining yuzasida fermentning adsorbtsiyalangan molekulasini tashuvchi va oqsilning yuzaki guruhlarining Van-der-vaals o’zaro ta’sirlashuvi, vodorod bog’lari, elektrostatik va gidrofob o’zaro ta’sirlashuvlar hisobiga

ushlanishi mumkin. Har bir bog'lanish tashuvchining kimyoviy tabiati va ferment molekulasining yuzasidagi funktsional guruhlarga bog'liqdir.

Tashuvchi bilan ferment o'rtasidagi ta'sir kuchli bo'lib, biokatalizatorning sorbtsiyasi uning strukturasi buzishi mumkin. Masalan, ba'zi o'simlik hujayralarini sitodeks granularida adsorbtsiyalanishida hujayra devori tashuvchi zarrachasi yuzasining relefeni takrorlab deformatsiyalanishi mumkin. Adsorbtsion immobilizatsiyaning afzalligi uning qulayligi va sorbentlarning arzonligidir. Ularga istalgan konfiguratsiyani berish va kerakli darajada g'ovak qilish imkoniyati mavjud. Eng muhimi - bu metodning oddiyligidir. Adsorbtsion bog'lanishda fermentni tozalash ham mumkin. Ushbu metodning kamchiligi tashuvchi, hamda aniq bir fermentni immobilash uchun optimal sharoitni to'g'ri tanlay imkonini beradigan umumiy yo'riqnomaning yo'qligidir.

Ko'rsatilgan kamchiliklarni immobilashgan fermentlarni gelga kiritish bilan bartaraf qilish mumkin. Ushbu metodning maqsadi – ferment molekulasini polimer zanjirlaridan to'qilgan 3 fazali to'rga (gelga) o'tkazishdir. Geldagi qo'shni zanjirlar orasidagi o'rtacha masofa kiritilgan ferment molekulasining razmeridan kichikdir. Shuning uchun u polimer matritsani tark etolmaydi va atrofdagi eritmaga chiqolmaydi, ya'ni immobilashgan holatga bo'la olmaydi.

Fermentlarni gelda immobilashning 2 ta asosiy usuli ma'lum. Birinchisida ferment monomerning suvli eritmasiga solinadi, keyin polimerizatsiyalanadi. Natijada polimerli gel hosil bo'ladi. Reaktsion aralashmada ko'pincha polimerga uch o'lchamli to'r strukturasi beruvchi bifunktsional (molekulasida 2 ta qo'sh bog'i bor bo'lgan) agentlar qo'shiladi. Ikkinchi holatda ferment tayyor polimer eritmasiga solinadi va unga gelsifat holatga o'tkaziladi. Fermentlarni polimer gelga kiritish bilan immobilash preparatga istalgan geometriya konfiguratsiya berish bilan birga tashuvchida biokatalizatorlarni tekis taqsimlash mumkin. Metod universal hisoblanadi, deyarli barcha fermentlar, poliferment sistemalar, hujayra fragmentlari va hujayralarni immobilash uchun qulay. Gelga kiritilgan ferment bakteriyalar bilan zararlanishdan himoyalangan.

Membranalar yordamida fermentlarni immobilashning mohiyati shundaki, bunda fermentning suvli eritmasi substratning suvli eritmasidan yarimo'tkazuvchan membrana yordamida ajratiladi. Yarimo'tkazuvchan membrana substratning kichik molekulalarini oson o'tkazadi, katta molekulalarni esa o'tkazmaydi.

Membrana tipidagi sistemadan foydalanish tarkibida ko'p miqdorda ferment bo'lgan immobilashgan preparatlarni olish imkonini beradi. Bu metod ham universal va qulay.

Ikki fazali muhit yordamida fermentni immobilashda ferment sistemaning bir fazasidagina eriydi. Substrat va mahsulot qaysi fazada erishiga qarab ikkala fazaaro taqsimlanadi. Fazalarning tabiati mahsulot qaysi fazada to'planishi va u yerda ferment bo'lmasligiga ko'ra tanlanadi. reaksiyi yakunlangandan so'ng bu fazani ajratib undan mahsulot ajaratib olinadi. Fermentli fazani esa navbatdagi jarayonda qayta ishlatish mumkin.

Kimyoviy metod bilan immobillashda ferment molekulasi, xususan oqsil, bilan tashuvchi o'rtasida yangi kovalent bog' hosil bo'ladi. Ushbu yo'l bilan immobillangan fermentlarning preparatlari 2 ta muhim yutuqqa ega. Birinchidan, tashuvchi bilan ferment o'rtasidagi kovalent bog' hosil bo'lgan kon'yugatning mustahkam bo'lishini ta'minlaydi, tashqi muhit omillari, masalan rN, harorat o'zgarganda ferment tashuvchidan desorbtsiyalanmaydi, olinayotgan mahsulotlarni ifloslantirmaydi. Bu esa tibbiyot va oziq ovqatga mo'ljallangan jarayonlarni amalga oshirishda juda muhim. Ikkinchidan, fermentlarni kimyoviy modifikatsiyalab ularning katalitik faolligi, barqarorligi kabi xossasini o'zgartirish mumkin. Bunda fermentning faol markazini iloji boricha saqlab qolish kerak.

Nazorat uchun savollar:

1. Fermentlar injenerligining asosiy vazifasi tushintiring?
2. Mikroorganizmlardan ferment preparatlarini ajratib olish usullari tushintiring?
3. Tozalanmagan, kompleks ferment preparatlarining olinishi tushintiring?
4. Cho'ktirish usullari va uning nazariyasini tushintiring?
5. Fermentlarni tozalash usullarini tushintiring?
6. Immobillangan fermentlar nima?
7. Fermentlarni immobillashda ishlatiladigan polimerlar haqida tushintiring?
8. Polimerlarga qo'yiladigan talablar haqida tushintiring?
9. Fermentlarni fizikaviy immobillash haqida tushintiring?
10. Fermentlarni kimyoviy immobillash haqida tushintiring?
11. Mikroorganizm hujayralarini immobillash haqida tushintiring?
12. O'simlik hujayralarini immobillash haqida tushintiring?

Mavzu: O'simliklarni o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi moddalar

Reja:

1. Fitoregulyatorlar va fitogormonlar
2. Fitogormonlar ta'sirining molekulyar mexanizmi
3. Fitogormonlar klassifikatsiyasi, strukturasi va funktsiyasi.
4. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar.

Tayanch iboralar: Jinsiy va jinssiz yo'l bilan ko'payish, o'simliklarda jinsiy va jinssiz usulda ko'payish.

O'simliklarni o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar, yoki fitoregulyatorlar o'simliklar ontogenezi boshqarishda qudratli vosita hisoblanadi. Shuning uchun ulardan qishloq ho'jalik o'simliklari biotexnologiyasida va amaliy o'simlikshunoslikda keng foydalaniladi.

Fitoregulyatorlar - hujayralarning differentsirovkasi, bo'linishini boshqarishda, yangi to'qima va organlarni hosil bo'lishida, o'simliklarni

o'sishi hamda rivojlanishini tezlashtirishda. hosildorligini oshirishda, sifatini yaxshilashdagi zarur moddalardir.

O'simliklar gen muxandisligi ham fitoregulyatorlar xaqidagi bilimlarga tayanib ish ko'radi.

Zamonaviy o'simlikshunoslikda fitoregulyatorlar agrotsenozlar-ning hosildorligini va muhitning noqulay omillariga chidamliligini oshirishda qo'llaniladi, qator texnologik operatsiyalarni birmuncha osonlashtirish imkonini beradi. Hozirgi vaqtda fitoregulyatorlarning o'simliklarga minimal (1ga ekinlarga bor yo'g'i 1 necha milligram) miqdorda ta'sir etuvchi yangi avlodlari yaratilmoqda. Bu esa alohida ekologik ahamiyat kasb etadi.

Fitogormonlar - deb o'simlikda sintezlanuvchi, uning butun organlari bo'ylab tashiluvchi va ozgina miqdori o'simlikning bo'yiga o'sishi yoki shakllanishiga sintezlangan joyidan yoki masofadan turib ta'sir etuvchi moddalarga aytiladi.

Fitogormonlarning birinchi xususiyati, ularning endogen kelib chiqqanligidir. Ko'pchilik fitogormonlar organik kislotalardan, ko'pincha aminokislotalardan hosil bo'ladi. U yoki bu fitogormonning sintezlanishi ichki yoki tashqi sabablar ta'sirida o'zgarishi natijasida o'simlikning bo'yiga o'sishi yoki shakllanish jarayonidagi o'zgarishi bilan uning javob reaksiyasini yuzaga keltiradi.

Fitogormonlarning ikkinchi xususiyati, ularning o'simlikni butun organlari bo'ylab harakatidir. Bir organda hosil bo'lgan fitogormon, boshqa organning o'sish va rivojlanish jarayonlarini boshqarishi mumkin. Aynan shunday tarzda, organlarning o'zaro ta'siri va o'simlikning yaxlitligiga erishiladi. Yuqori regulyatorlik qobiliyatiga ega ba'zi moddalarni, masalan, ba'zi fenolli birikmalarni fitogormonlar deb bo'lmaydi, chunki ular o'simlik organlari bo'ylab tashilmaydi va faqat sintezlangan joyigagina ta'sir eta oladi.

Uchinchi xususiyati, bu moddalarning kam miqdorda ham o'simlikni bo'yiga o'sishiga yoki shakllanishiga ta'sir etishidir. Fitogormonlarning juda kam kontsentratsiyasi o'simliklarga ta'sir etadi (10^{-13} - 10^{-7} M). Ular o'simliklar poyasining bo'yiga o'sishini tezlashtirishi yoki sekinlashtirishi, barglarini to'kishiga ham ta'sir etishi mumkin.

To'rtinchi xususiyati, fitogormonlarning faqat sintez bo'lgan joyidagina emas, masofadan turib ham ta'sir etishidir.

Hayvon gormonlari bilan o'simlik gormonlari bir-birlaridan farq qiladi. Hayvon gormonlari maxsus organlar - ichki sekretiya bezlari orqali sintezlanadi, o'simliklarda esa bunday maxsus shakllangan to'qima va hujayralar yo'q. Hayvonlarning gormonlari o'zi sintez bo'lgan joyiga ta'sir etmaydi, fitogormonlar o'zi sintezlangan hujayralarga ham ta'sir ko'rasata oladi. Fitogormonlarning bu xususiyati hayvonlarni gistogormonlariga o'xshashdir.

Fitogormonlar ta'sirining molekulyar mexanizmi. Fitogormon-larning amalda qo'llanilishi, ular ta'sirining molekulyar mexanizmi haqidagi bilimlarga asoslanadi. Hozirgi vaqtda, fitogormonlar hosil bo'lishining umumiy asoslangan sxemasi, ularning o'tmishdoshlari biosintezini o'z ichiga oluvchi regulyatorlik ta'sirining amalga oshishi, shu gormonga tegishli bo'lgan oqsil retseptori bilan bog'lanishi va faollashgan gormon-retseptor kompleks hosil qilishi, bu kompleksning o'simliklar genomiga yoki muayyan fermentlar tizimiga ta'siri aniqlangan.

Fitogormonlar o'simliklarda organik kislotalardan sintezlanadi, ba'zi hollarda bir nechta gormonlar bir xil asosdan sintezlanadi. Masalan, mevalon kislotasi fitogormonlarning 4 ta sinfi-gibberlinlar, sitokininlar, brassinosteroidlar va ingibitor abstsiz kislota uchun boshlang'ich modda bo'lib xizmat qiladi. (4.1-. rasm)

Tashqi muhit sharoitining o'zgarishi u yoki bu fitogormon sintezidagi o'zgarishiga sabab bo'ladi. Fitogormonlarni biosintez yo'llari tarmoqlanishiga ta'sir etuvchi kalit fermentlar muhit omillarining (yoritish, harorat va boshqalar) o'zgarishiga yuqori sezuvchanlik namoyon qiladi, bu esa muayyan oqsillar sintezining tezlashishiga olib keladi. Tashqi muhitning bunday ta'siriga misol bo'lib, yorug'likning davomiyligi ortganda gibberlinlar sintezining oshishi, sho'rlanishni miqdori yuqori bo'lganda esa auksin sintezi oshishi, aksincha bo'lganda esa kamayishi va o'sishda fenol ingibitorlari darajasi ortishi xizmat qiladi.

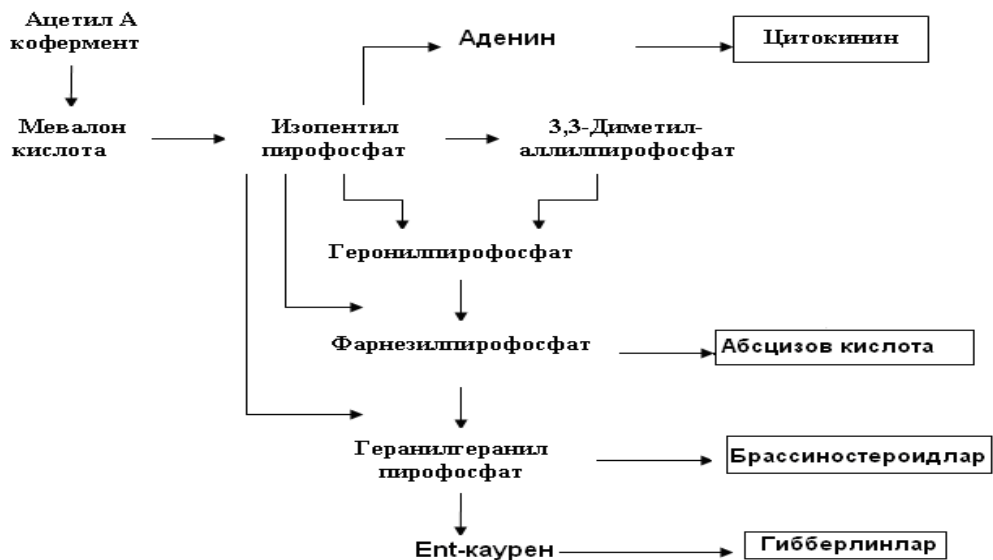
Hosil bo'lgan fitogormon molekulasini o'simlik bo'ylab o'zining sintez bo'lgan joyidan nishon-hujayralarga, ya'ni shu fitogormonlarga nisbatan yuqori sezuvchanlik namoyon qilgan hujayralarga tashiladi.

Fitogormonlarni tashilishi o'simliklarning o'tqazuvchi tizimi va hujayralararo masofasi orqali amalga oshiriladi.

Fitogormon molekulasini nishon -hujayraga ikki xil yo'l bilan;

1. Yonma-yon hujayralarni biriktiruvchi protoplast kanallari-plazmodesmalari bo'yicha gradient kontsentratsiyasiga mos ravishda aralashish orqali;

2. Hujayraning chegara membranasi plazmalemmasi orqali tashilish yo'li bilan kira oladi.



10.1- rasm. Fitogormonlar biosintezi sxemasi

Gormonlar o'z ta'sirini hujayradagi strategik muhim bo'lgan oqsil molekulalarining konformatsiyasini o'zgartirish yo'li bilan amalga oshirishi aniqlangan. Bunday oqsillar fitogormonlarning retseptori, muayyan ferment tizimi va retseptorlar orasidagi signallarni qayta xosil qiluvchi, shuningdek, fermentlarning faolashtiruvchilari yoki ingibitorlari, transport tizimi membranasining komponenti sifatida faoliyat yuritishi mumkin. Barcha ta'sirchan hujayralarda gormonlar ta'sirini mazkur hujayraga xos bo'lgan ko'pgina oqsil shakllarining moslashib o'zgargan zanjiri sifatida ko'rish mumkin.

Oqsilning birlamchi strukturasi (aminokislotalarning muayyan ketma ketligi) oqsil molekulasining ikkilamchi va uchlamchi strukturalarini hosil qilish uchun zarur bo'lgan axborotga ega bo'ladi.

Hujayralarda fitogormon molekulalari o'ziga xos oqsil-retseptorlar bilan o'zaro hamkorlik qiladi va ular bilan birlashib, gormon-retseptor kompleksini hosil qiladi (GRK), natijada retseptor oqsil molekulasining fitogormon bilan o'zaro hamkorligi uning faollashishi hisobiga amalga oshadi.

Fitogormonlarning retseptorlari hozirgi kunga qadar to'liq o'rganilmagan. Adabiyotlarda berilgan ma'lumotlarga qaraganda ularning ko'pchiligi globulyar oqsillardir. Bir hujayrada bitta fitogormonning bir necha xil retseptori mavjud bo'lishi, o'simlikning shu fitogormonga nisbatan turli xil reaksiyalariga sabab bo'ladi.

Gormon-retseptor kompleksi hosil bo'lgan vaqtda fitogormon faolligi namoyon bo'lishining 2 xil yo'li paydo bo'ladi:

Birinchi yo'li - yangi fermentlar xosil bo'lishi yoki oldindan mavjud bo'lgan fermentlar miqdorining o'zgarishi bilan bog'liq. Bu fitogormonlarni genetik jarayonlarga ta'sir etishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun, genlarni qayta qurilishi boshlanadi va yangi oqsillar sintez bo'ladi, fitogormonlar

kontsentratsiyasi o'zgargan vaqtdan fitogormonning ta'sir samarasi paydo bo'lguniga qadar o'tgan vaqt bir necha o'n minutlardan bir necha soatgacha bo'lishi mumkin.

Ikkinchi yo'li - hujayrada fitogormonlar kontsentratsiyasi o'zgarasdan oldin mavjud bo'lgan oqsillar, fermentlar faolligining o'zgarishi, ular konformatsiyasining o'zgarishi hisobiga amalga oshadi. Ikkinchi yo'li yangi oqsillarning sintezi bilan bog'liq bo'lmagani uchun fitogormon samarasining yuzaga chiqish vaqti ancha tez bo'lib, bor yo'g'i bir necha minutni tashkil qiladi.

Genlar ekspressiyasini boshqarish. Genlar ekspressiyasini fitogormonlar orqali boshqarish, o'simlik hujayrasi hayotidagi differentsirovka va dedifferentsirovka, o'sish va yangi metabolitik sharoitga moslashishi kabi muhim jarayonlarni boshqarishi bilan bog'liq. Fitogormonlarning genom ishini boshqarishiga ketgan vaqti bir necha soatni tashkil qiladi. Shu bilan bir vaqtda o'simlik bir necha o'n minutlar ichida ba'zi gormonlar darajasiga javob berishga qodir. Bu kabi «tez» javoblar fitogormonlarning o'simlik hujayrasida mavjud bo'lgan fermentlar faolligini boshqarish xususiyati bilan bog'liq.

Fementlar faolligini boshqarish. Fitogormonlarning ikkilamchi vositachilari. Fitogormonlarga javob reaksiyasi uning kontsentratsiyasi keskin oshgan vaqtdan boshlab bir necha minut davomida paydo bo'ladi. Bunday ta'sirlar fermentlar faolligining o'zgarishi bilan bog'liq, chunki u yoki bu fermentning molekulalari soni deyarli o'zgarmaydi, lekin allosterik samara natijasida ularning faolligi oshadi yoki pasayadi, bunday rolni fitogormon yoki uning metaboliti bajarishi mumkin va fermentlar bilan substratning o'xshashligini o'zgartirishi mumkin. Shunday qilib, fitogormonlar ta'siriga nisbatan o'simlikning tez javob reaksiyasi hujayrada mavjud bo'lgan fermentlar faolligining o'zgarishi bilan bog'liq ekan. Masalan, koleoptil hujayralari auksin bilan ishlov berilganda 5 minut o'tgandan so'ng, hujayralarning cho'zilishi boshlanishida o'simliklarning fitogormonlar ta'siriga javobini ko'rish mumkin. Buni shunday izohlash mumkinki, auksin o'zining plazmolemmada joylashgan retseptori bilan o'zaro hamkorlikka kirishganda, plazmolemmadagi protonlarni hujayradan hujayra devori sohasiga tashilishini amalga oshiruvchi fermentning transport tizimi proton pompasi ishini faollashtiradi. Hujayra devori tarkibiga kiruvchi gemitsellyuloza va pektin moddalarining kislotalik darajasining oshishi natijasida, vakuola yaratgan turgor bosim hisobiga, uning komponentlari orasidagi bog'lar zaiflashadi va hujayra cho'ziladi.

Keyingi vaqtlarda fitogormonlarning ikkilamchi vositachilarini (messenjerlari) o'rganish ishlari ham jadal davom etmoqda.

Ikkilamchi vositachilar ta'sirining umumiy ko'rinishi shundan iboratki, uncha ko'p bo'lmagan gormon molekulalarining soni, hujayrada ikkilamchi vositachining ko'p sonli molekulalari mahsulotlarini ishlab chiqarishni yuzaga keltiradi, bu esa o'z navbatida oqsil molekulalari faolligiga ijobiy

yoki salbiy ta'sir ko'rsatadi. Shunday tarzda gormonning retseptor bilan bog'lanishi natijasida paydo bo'ladigan signalning oshishi amalga oshiriladi.

Fitogormonlar klassifikatsiyasi, strukturasi va funktsiyasi.

Hozirgi vaqtda fitogormonlarning 7ta guruhi aniqlangan bo'lib, bular auksin, sitokinin, gibberlin, etilen, abstsiz kislota, brassinosteriod va fiziukoktsinlardir. Bu moddalar o'simliklarda juda kam miqdorda uchraydi, shuning uchun, yangi fitogormonning ochilishi kamdan kam holdir. Shunga qaramasdan, o'simlik regulyator tizimlarini o'rganishdagi izlanishlar, ularni aniqlash usullarining takomillashishi bilan bog'liq taraqqiyoti e'tibordan xoli emas.

Auksinlar. 1920 yilda o'simliklarning tropizmiomili sifatida topilgan. 1930 yilda F.Kegl tomonidan toza holda ajratilib, uning kimyoviy tarkibi – indolil 3-sirka kislota (ISK) ekanligi aniqlangan.

Auksinlarning asosiy sintezlanadigan joyi poyaning apikal meristemi va yosh barglari bo'lib, u yerdan boshqa organlarga tashiladi.

Hujayralar tomonidan auksinning yutilish mexanizmi ikki fazadan iborat:

1. Tez qaytariluvchi reaksiya, diffuziya mexanizmiga yaqin mexanizm asosida hujayra va uni o'rab turgan muhit orasida auksin miqdori bo'yicha muvozanat paydo bo'lganda sodir bo'ladi. Bu muvozanatga erishish nafaqat hujayradagi va eritmadagi ISK miqdorining farqiga, shuningdek eritma va sitoplazmaning rNiga ham bog'liqdir. ISKning hujayraga tushishida spetsifik o'tkazuvchilar ham qatnashishi mumkin, rN neytralga yaqin bo'lganda ularning roli yanada yuqori bo'ladi. Bu fazaning davomiyligi 25 – 30 min.

2. Metabolitik to'planish. Bu vaqtda auksin ko'pincha hujayralarning turli komponentlari bilan glyukoza efiri yoki indolil 3-atsetilasparagin kislota hosil qilib bog'lanadi. Birikkan auksin hujayralar boshqarilishida qatnashmaydi va gormonning zahira shaklini namoyon qiladi.

Auksinning fiziologik samarasi, hujayra darajasidagi ta'siri bilan bog'liq bo'lib, hujayraning cho'zilishi, bo'linishi va differentsiyanishini amalga oshiradi.

Yuqorida ta'kidlanganidek, auksin ta'sirida hujayralarning cho'zilish mexanizmi hujayra devori rNining kislotaligining oshishi, vakuolaning turgor bosimi hisobiga cho'zilishi, proton pompalarining faollashishi bilan bog'liq.

Auksin faollashtiruvchi proton pompalari ta'sirida hujayralarning cho'zilishi va hujayra devorlarining yumshatilishi, hujayra dedifferentsirovka va uning keyingi bo'linish jarayonlarida, hujayra devorini shishishida ishtirok etuvchi fermentlar sellulaza va pektinaza bilan bir qatorda muhim rol o'ynashi mumkin.

Auksin tomonidan hujayralar bo'linishining induktsiyanishi ham nafas olish jarayonini stimullanishi uchun, RNK va oqsil sintezlanishini o'z ichiga oluvchi DNK replikatsiyasi uchun zarur bo'lgan sharoitni yaratilishi bilan bog'liq.

Auksin nafaqat dedifferentsirovkani yuzaga keltiradi, u meristema hujayralarining yoki o'tkazuvchi to'qimalardagi dedifferentsiyalangan hujayralarning differentsiyalanishini stimullash hususiyatiga ham ega.

Auksin ta'sirida kallus to'qimalarida o'tkazuvchi floema va ksilema elementlarining shakllanishi ham kuzatilgan bo'lib, bu biotexnologiya va o'simlikshunoslik uchun katta ahamiyatga egadir.

Auksinning oziqa moddalarni hujayralarga tortish xususiyati, o'simliklar uchun muhim xususiyat bo'lgan apikal dominantlikni amalga oshirishi bilan belgilanadi. Bu fitogormonni ishlab chiqaruvchi apeks oziqa moddalar va boshqa gormonlar (gibberlinlar, sitokininlar) oqib keluvchi markazga aylanadi. Buning natijasida oziqa moddalar va fitogormonlar yashirin kurtaklarga yetib bormaydi, shuning uchun ular uchki kurtaklarga nisbatan sekinroq o'sadi yoki umuman o'smaydi. Auksinlarni o'ziga tortish (attragirlash) mexanizmi Hozircha to'liq o'rganilmagan, lekin ularning proton pompalarni faollashishi bilan bog'liq ekanligiga asoslar yetarli.

Sitokininlar – 1955 yilda hujayralar bo'linishini stimullovchi omil sifatida topilgan. Birinchi tabiiy sitokinin zeatin deb atalgan, bu moddalar makkajo'xorining pishib yetilmagan donlaridan ajratib olingan. Hozirgi kunda 12 ta sitokinin aniqlangan bo'lib, ularning kimyoviy tuzilishi zeatinning tuzilishiga yaqin. Difenilmochevina va ularning qator mahsulotlarining ham yuqori sitokininlik faolligi aniqlangan.

Sitokininlar asosan ildiz apikal meristemasida sintezlanib, undan ksilema bo'ylab o'tkazuvchi naylar orqali, o'simlikning barcha organlariga transport qilinadi. Shuning uchun sitokininlarning harakat tezligi auksinlarnikiga nisbatan yuqori. Tashilish yo'nalishi-o'simlikning yuqori qismiga qaratilgan bo'lib, ayniqsa faol meristemalar va urug'larda sitokininning miqdori ko'p bo'ladi.

O'simliklarda sitokininlarning turg'unligi unchalik yuqori emas, zeatinning yarim parchalanish vaqti o'simlikning turiga qarab 6-20 soatni tashkil etadi. Yosh to'qimalarda uning parchalanish tezligi qari to'qimalarga nisbatan kam, ildizda esa bu jarayon yanada sekinroq ketadi. Sitokininlarning destruksiya saxaroza (riboza, glyukoza) va alanin aminokislota bilan kon'yugatsiyasidan so'ng boshlanadi. Bunda sitokininlarning O-glyukozidlarini hosil bo'lish yo'lini gormonning zahiralanishi sifatida, boshqalarini esa-qaytarilmas destruksiya sifatida ko'rish mumkin. Yaqinda sitokininni oldindan glikozidlamadan oksidlovchi sitokininoksida fermenti aniqlandi. Bunda oksidlanish alifatik qismning adenina birlashgan joyida sodir bo'ladi.

Sitokininning asosiy fiziologik ta'siri-hujayralar bo'linishini faollashtirishdan iboratdir. Sitokinin mitoz uchun zarur sharoitni yaratish uchun RNK – polimeraza faoliyatini, RNK hosil bo'lishi va oqsil sintezi jarayonlarini faollashtiradi. Bu ta'sirlar sitokininning oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyati bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin. Fitogormonning bu xususiyati, boshqa yana bir qancha ta'sirlar bilan ham bog'liq bo'lib, bularga

barg va urug'kurtak hujayralari o'sishining stimullanishi, apikal dominantlikdan xoli qilinishi, barglar qarishini to'xtatilishi va o'simliklardagi moddalarning qayta harakatlanishini boshqarilishi shular jumlasidandir.

Sitokinin ontogenezni boshqarishda muhim rol o'ynaydi. Bu toifa gormonlarning yuqori miqdori ildiz hosil bo'lishini to'xtatadi va poyada kurtaklarning paydo bo'lishini tezlashtiradi. Shuningdek ular fotoperiodning noqulay sharoitlarida ba'zi turdagi o'simliklarning ba'zi turlarining gullashini indutsirlaydi. Sitokinin ta'sirida urug' va tugunaklar tinim davridan chiqadi. Bu gidrolitik fermentlar faollashishi bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin. Sitokininlar barglarning qarishini to'xtatibgina qolmay, shuningdek ular rivojlanishini boshlang'ich davrida xloroplastlarining shakllanishi, xloroplast RNKsi va oqsillarning sintezini stimullanishi hisobiga, o'sishi va bo'linishini boshqaradi.

Bu fitogormon barglardagi og'izchalarni ochish orqali suv bug'lanishi regulatsiyasida ham ishtirok etish orqali xloroplastlar shakllanishini stimullanishi va barglarni qarishini to'xtatilishi natijasida fotosintez jarayonini faollashtiradi.

Sitokininlarning juda muhim xususiyatlaridan yana biri, ular o'simlik hujayralarining past yoki yuqori harorat, suv tanqisligi, sho'rlanish, rentgen nurlari, pestitsidlarning fitotoksinlik ta'sirlari kabi tashqi noqulay ta'sirlarga chidamliligini oshiradi. Himoya ta'sirining mexanizmi hali yaxshi o'rganilmagan. Lekin o'simliklar hayotidagi noqulay sharoitlarda—tsitokininlar miqdorining oshishi natijasida hujayrani himoyalovchi stress oqsillar sintezining stimullanishi aniqlangan.

Gibberlinlar 1926 yilda aniqlangan bo'lib 1938 yilda Yaponiyada patogen zamburug' Gibberella fujicuroining prdutsenti sifatida ajratib olingan. 1955 yilda uning kimyoviy strukturasi va qator o'simliklar hujayralarida ishtirok etishi aniqlangan. Gibberlinlarni o'rganish ishlari Hozirgi kunda ham jadal davom etmoqda. Hozirda bu moddalarning 100 ga yaqin vakillari ma'lum bo'lib, ulardan 45 tasi o'simliklardan ajratilgan.

Gibberlinlar biosinteziga to'sqinlik qiluvchi qator birikmalar ham aniqlangan. Bu moddalarning deyarli hammasi retardant ta'sirga ega, ya'ni o'sishni to'xtatuvchi moddalardir. Gibberlinlarning biosintezini muayyan fermentlar faoliyatiga ta'sir etish orqali to'xtatish mumkin.

Gibberlinlar transporti qarama-qarshi tomonga yo'nalgan emas. Ular akropetal va bazipetal ravishda ksilema va floema naylari bo'ylab suvli eritmalar oqimga qo'shilib ketadi. Shuning uchun bu fitogormonning tashilishi va tarqalish tezligi nisbatan yuqori.

Gibberlinlarning fiziologik ta'siri, o'simlik hujayralarining cho'ziluvchanligi va meristema to'qimalarining mitotek faolligini oshishi hisobiga, o'sish jarayonlarini stimullanishida namoyon bo'ladi. Gibberlinlar ta'sirida hujayralar cho'zilishining stimullanishi, auksinlardagi kabi proton pompalarining faollashishi hisobiga emas, balki, hujayra qobig'i materiallari sintezining oshishi bilan bog'liq.

Gibberlinlarning ko'pchiligi kislotalar bo'lgani uchun, ularni o'ziga mos indeks bilan Gibberal kislota (G) deb belgilash qabul qilingan. Masalan: GK₂₄, GK₅₃ va hakazo.

Turli oilalarga mansub o'simliklarning o'sish reaksiyasida u yoki bu gibberlinga nisbatan muayyan spetsifikligini kuzatish mumkin. Masalan, qovoqdoshlar va butguldoshlar oilasiga kiruvchi o'simliklarning o'sishiga GK₃ ta'sir etmaydi, lekin uning boshqa ba'zi oilalarga mansub o'simliklar o'sishiga ta'siri kuzatilgan, GK₄ ta'sirida esa ularning bo'yiga o'sishidagi sezilarli ta'sirini kuzatish mumkin. Gibberlinlar darajasini oshishiga o'simlik turlarining spetsifikligidan tashqari, turli organlarning turlicha spetsifik reaksiyasini ham kuzatish mumkin. Gibberlin poyaning o'sishini tezlashtirib, barglar o'sishiga deyarli ta'sir etmaydi va ildiz o'sishini to'xtatadi. Gibberlinlarning ildizga salbiy ta'siri oziqa moddalarni qayta taqsimlanishi natijasida o'simlikning yer ustki qismining o'sishi tezlashishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

Gibberlinlarning tanqisligi o'simlikning pakanaligiga ko'ra aniqlanadi. O'simliklarning pakana bo'lishining sababi, ushbu fitogormonlarning ferment biosintezi tizimi ishining buzilishi bilan bog'liqdir.

Gibberlinlar o'simliklarning generativ organlarining shakllanishi va gullashga o'tish jarayonlarida katta rol o'ynaydi. Ko'p yillik o'simliklarda meristemalar rivojlanishini generativ yo'li determinatsiyasi davrida gibberlinlar darajasining oshishi generativ organlarning hosil bo'lishiga salbiy ta'sir etadi. Shu bilan bir vaqtda gibberlinlar darajasining kamayishi ham meristemada gul elementlarining shakllanishini so'nggi bosqichida generativ rivojlanishga salbiy ta'sir ko'rsatadi.

Ba'zi to'p bargli o'simliklarga gibberlin bilan ishlov berilganda, hatto kunning noqulay sharoitida ham, uning gullashi tezlashadi. Uning bu xususiyati akademik M. X. Chaylaxyanga (1988y.) gibberlinni gipotetik gormon florigenining zaruriy qismi deb aytishiga asos bo'ldi. Taxmin qilinishicha, florigen tarkibiga gibberlindan tashqari, hali ajratilmagan fitogormon- antezinlar ham kirar ekan.

Gibberlinlarni tashqaridan kiritilishi ko'pincha urug'lar rivojlanishini to'xtatadi va partenokarpik mevalar shakllanishini ta'minlaydi.

Gibberlinlar yordamida o'simliklarning jinsini o'zgartirish bo'yicha 1970 yilda bodring va kanop o'simliklarida tajribalar o'tkazilgan. Bodringda changchi ham urug'chi gullarini bitta o'simlikda joylashadi, kanop esa ikki uyli o'simliklarga kiradi. Gibberlin bilan ishlov berilganda, kanop o'simligida changchi o'simliklarning, bodring o'simligida esa erkak gullarning paydo bo'lishi ortgan.

Gibberlinlar urug' va tugunaklarni tinim holatidan chiqarish xususiyatiga ham egadir. Ular zahira kraxmallarni parchalab murtaklarning oziqalanishi uchun qulay shaklga keltirib beruvchi fermentlar, asosan α -amilaza fermentining sintezini indutsirlaydi. Bu jarayon g'alla ekinlari (bug'doy, javdar, arpa)da yaxshi o'rganilgan. Ularning donlari murtak, endosperm va

urug' qobig'idan iborat. Zahira moddalar endospermida kraxmal xolatida to'plangan. Don pishish vaqti yaqinlashganda kraxmal qavatida tirik hujayralar qolmaydi, faqatgina endospermning ustki qismida zahira oqsillarga boy hujayralar yupqa aleyron qavatida qoladi. Boshqoq zarodishi endosperm bilan qalqoncha orqali aloqa qiladi (qalqoncha oziqa moddalarni endospermidan olib, murtakka berib turish uchun xizmat qiladi). Qalqoncha o'sganda gibberlin ajratadi. Bu murtakning– uyg'onganidan va unga oziqa moddalar zarurligidan dalolat beradi. Gibberlinlar endospermning kraxmal donachalari zonasidan endosperma qavatiga diffundirlanadi. Tirik hujayralarda aleyron qavatidan kraxmallarni parchalovchi ferment amilazaning sintezi uchun axborot RNKsi sintezi boshlanadi.

Gibberlinlarning oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyatiga yana bir misol, uning urug'siz mevalarni rivojlanishini stimullashidir. Ularning bu hususiyati ayniqsa, urug'siz uzum navlarini yetishtirishda juda muhimdir.

Gibberlin qo'llanilganda mevalar yiriklashadi va hosildorlik oshadi. Gibberlinlar nafaqat boshqoli o'simliklarni, shuningdek, boshqa o'simliklarning ham o'sishini stimullaydi. Kungaboqar va qovoq o'simliklarida bu gormonlar zahira yog'larni parchalaydi va ularni qandgacha oksidlaydi, dukkaklilarda zahira oqsillar granularini va boshqalar moddalarning tashilishini amalga oshiradi. Shuning uchun ham urug', tugunak va piyozlarga ekishdan oldin gibberlin bilan ishlov berilsa, urug'larning unuvchanlik darajasi ortadi va o'sishi jadallashadi.

Etilen moddasi. 1901 yilda Sankt-Peterburg universiteti laboratoriyasida tajriba uchun no'xat o'simligi o'stirilganda, urug'dan qing'ir-qiyshiq, uchki qismi pastga qarab qarmoq shaklida egilgan kalta o'simtalar o'sgan. Issiqxonalarda va ochiq yerlarda o'sayotgan o'simliklar esa o'suvchan, to'ppa-to'g'ri bo'lib o'sgan. Nelyubov bu fiziologik ta'sirni chaqiruvchi omil laboratoriyada ekanligini taxmin qilgan. O'sha vaqtlarda xonalar gaz yordamida yoritilar edi. Havosi tozalangan sharoitda issiqxonadagi o'simliklar normal ravishda rivojlana boshlagan. Aynan qaysi moddalar ta'sir etishini o'rganish maqsadida Nelyubov yorug'lik gazining turli komponentlarini navbatma-navbat berib, etilenning ta'sirida:

- 1) o'simtalar bo'yiga va eniga o'sishida sekinlashishi;
- 2) qayta to'g'rilanmaydigan poya uchining pastga egilishi;
- 3) o'simtalar o'sish yo'nalishidagi o'zgarish kabi fiziologik reaksiyalarini aniqladi va buni o'simtalarning etilenga uch karra javobi deb atadi.

Shuningdek, etilenning o'simlik barglarini to'kilishidagi, mevalarning pishib yetilishidagi ta'sirlari ham aniqlangan. Etilen moddalari o'simliklarda ham sintezlanadi. Bu moddalar yagona gazsimon fitogormon bo'lib, oddiy tuzilishga ega. Etilenni dezaktivatsiyasi uning atrof muhitga ajralishidan tashqari etilen oksidi hosil bo'lish yo'li bilan ham boradi. Etilenning maksimal faolligi uning maksimal oksidlanish vaqtiga to'g'ri keladi, oksidlanishni sun'iy to'xtatilishi fitogormonning ta'sirini yo'qotadi.

Bularning hammasi etilenning oksidlanish uning fitogormonal faolligini amalga oshirishi bilan bog'liq ekanligi haqida taxmin qilish imkonini beradi.

O'simlikning deyarli barcha tirik hujayralari etilenni biosintez qilishga qodir. Bu fitogormonning hosil bo'lish xarakteri ontogenezda keskin o'zgaradi. Yuvenil davrdagi o'simliklarda etilen asosan meristema to'qimalarida sintezlanadi. Keyinchalik pishib yetilayotgan mevalarda uning miqdori ortadi. Shuningdek, etilenning biosintezi o'simlik shikastlanganda yoki stress ta'sirlarda keskin oshadi.

O'simlikliklarda etilen biosinteziga metionin aminokislotasi asos bo'lib xizmat qiladi.

Etilen o'simlik hujayralarining izodeametrik cho'zilishini (yo'g'onlashishi) oshirish xususiyatiga ega.

Etilenning qator ta'sirlari uning antiauksinlik ta'sirlari bilan ham belgilanadi. Auksindan farqli, etilen ajratuvchi qavat hosil qiladi, ya'ni barglarni, gullarni, mevalarni to'kilishiga olib keladi. Bu uning hujayra devorlarini parchalovchi fermentlar endopoligaluktoronaza va sellyulazaning sintezini indutsirlashi bilan bog'liq. Etilen ta'sirida auksin tomonidan indutsirlangan hujayralar cho'zilishdan to'xtaydi, mitotik faolligi pasayadi. Shuningdek, etilen auksinning transportini ham to'xtatadi.

Etilen mevalarni to'kibgina qolmay, shuningdek ularning pishishini tezlashtiradi. Bu fitogormon kauchuk beruvchi o'simliklarda lateks (tabiiy kauchuk) ni chiqishining oshishiga ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklar o'sishiga etilen turlicha ta'sir ko'rsatadi. Ko'pchilik o'simliklarda hujayralarning bo'linishi va cho'zilishi jarayonlarini sekinlashtirish orqali vegetativ o'sishni to'xtatadi. Ammo ba'zi hollarda, masalan, sholi nihollarida etilen miqdorining oshishi, uning o'sishini jadallashtiradi.

Etilenning himoya ta'siri ham katta qiziqish uyg'otadi. Yuqorida aytilganidek, etilenning miqdori stress ta'sirlar va mexanik shikastlarda keskin oshadi. Bu o'simlikning potentsial havfga nisbatan birinchi javobi bo'lishi mumkin. Stress etilenni fitoaleksinlar (himoyalovchi moddalar) patogen zamburug'lar hujayra qobig'ini va ba'zi fenol birikmalarni parchalovchi xitinaza fermenti sintezini indutsirlaydi. Fitoaleksinlarni kimyoviy tabiati o'simlikning sistematik holatiga bog'liq. Masalan: kartoshka seskviterpenoidli fitoaleksinlar hosil qiladi, dukkaklilarda fitoaleksinlar fenolli birikmalar asosida sintezlanadi.

O'simlikning shikastlangan joyidan fitoaleksinlar va xitinazadan tashqari proteazalarning ingibitorlari ham tashilib, u o'simlikning shikastlangan joyidagi hujayra oqsillarini parchalanishdan himoya qiladi. Bundan tashqari, etilen miqdorining ortishi o'simliklar himoyasida ishtirok etuvchi boshqa gormon-abstsiz kislotaning sintezlanishini ham stimullaydi.

Abstsiz kislota (ABK). 1965 yilda AQSh olimlari Lyu va Kareslar tomonidan g'o'zani yashil ko'sagidan ajratib olingan. O'simliklarda mevalon kislotasidan sintezlanadi. ABK ksantofil violaksantinining yorug'lik ta'sirida

ajratilgan mahsulotidan yoki lipoksigenaza fermentidan ham hosil bo'lishi mumkin. Stress ta'sirlarda bu fitogormon sintezining keskin oshishini aniqlangan. ABK o'simliklarning deyarli barcha organlarida sintezlanadi. Uning hosil bo'lish intensivligi o'simlikning qarishi, noqulay ta'sirlar, ayniqsa namlik yetishmasligi natijasida keskin oshadi. U qari barglar, pishgan mevalar, tinim holatidagi urug' va kurtaklarda ko'p miqdorda bo'ladi. O'simlikning urug'ning murtagi pishib yetila borishi bilan o'zi ABK sintezlash xususiyatiga ega bo'lishi orqali, o'zining tinim va chidamlilik jarayonlarini boshqaradi. ABKning sintezi kunduziga nisbatan kechasi 50-60 marta yuqori bo'ladi. ABKning miqdoriga haroratning pasayishi, yorug'lik tarkibida ko'k va ultrabinafsha kvantlarining kam bo'lishi stimullovchi ta'sir ko'rsatadi.

ABK akropetal va bazipetal ravishda floema va ksilema bo'ylab transport qilinadi. Harakat tezligi juda yuqori ABK uchun oziqa moddalarni tortuvchi markaz bo'lib, faol bo'linayotgan meristema xizmat qiladi. ABK metabolizmi qand moddalari bilan kon'yugathosil qilish orqali amalga oshishi, ular qaytariladigan va qaytarilmaydigan bo'lishi mumkin, shuningdek fazeev kislotalari orqali oksidlanishi ham mumkin.

ABKning fiziologik samarasi xilma-xildir. Ular ta'sirida muhim fiziologik jarayonlar ingibirlanishi ham yoki aksincha stimullanishi ham mumkin. Abstsiz kislota kuchli ingibitor ta'sirga ega fitogormondir. Ular nuklein kislotalar, oqsillar va xlorofillar parchalanishini tezlashtiradi, proton pompaning faolligini pasaytiradi. ABK ta'sirida og'izchalar yopiladi va fotosintetik fosforlanish to'xtaydi.

ABK tomonidan urug', kurtak va tugunaklarning tinim davriboshqariladi, atirgulning partenokarpik mevalari rivojlanishi va kartoshka tugunaklarini hosil bo'lishi, bodring gipoktilini cho'zilishi, loviya qalamchalarida ildiz hosil bo'lishi stimullanadi. Bu fitogormon g'alla ekinlari hujayralaridagi zahira oqsillar tarkibining o'zgarishiga ham ta'sir etadi.

O'simliklarning stresslarga chidamliligini oshishida abstsiz kislotalarning roli juda muhim. U ham sitokinin kabi stress oqsillar, shuningdek, oqsillarning o'ziga xos guruhi, sinikatsiya oqsillarining sintezini induksionlaydi. Bu moddalar urug' tarkibidagi namlikni tutib turishga javobgar bo'lib, bu uning tinim davriga o'tishida juda muhimdir. Bu gormonni o'zi sintezlash qobiliyatiga ega bo'lmagan o'simliklar tezda nobud bo'ladi.

Brassinosteroidlar. Bu fitogormonlar 1979 yilda Grouv va boshqa olimlar (Grouv et al.) tomonidan raps (*Brassica napus*) o'simligi changining yog'dagi ekstrakti nihollarining bo'yiga o'sishini stimullashi aniqlangan, 10kg raps changidan 4 milligrammregulyator ta'sirga ega moddalar ajratib olingan. Bu moddalarning steroid birikmalar ekanligi aniqlangan. Rapsning lotincha nomidan kelib chiqib brassinolid deb, boshqa shunga o'xshash fiziologik faol moddalar brassinosteroidlar deb atalgan. Keyinchalik ma'lum brassinosteroidlar soni ortib bordi. Haqiqiy kashtandan (*Castanea sativa*) – kastasteron, atirguldandan (*Typha*) – tifasterol, choydan (*Thea*) – teasteron,

katarangusdan (*Catharanthus*) – kamasteron va boshqalar ajratib olingan. Hozirgi kunga qadar 60 ga yaqin brassinosteroidlik faollikka ega birikmalar aniqlangan.

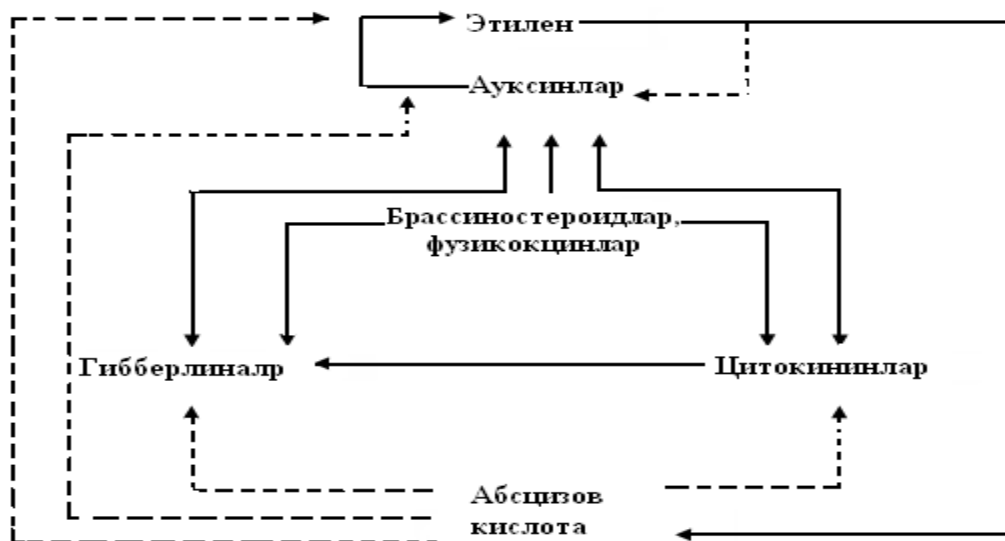
Brassinosteroidlar biosintezi mevalonat yo'li bilan boradi va boshqa terpenli birikmalar uchun umumiy bo'lgan bosqichlar: izopententilpirofosfat, geranilpirofosfat, farnezilpirofosfat va skvalendan iborat bo'ladi.

Ma'lumki, o'simliklarning gul to'qimalari, barglari va yosh poyalarida bu fitogormonlar kam miqdorda bo'ladi. Brassinosteroidlarning maksimal kontsentratsiyasi gul changida bo'ladi.

Brassinosteroidlarni fiziologik ta'siri boshqa fitogormonlar ta'siriga yaqin. Ular auksin kabi hujayralar cho'zilishini, gibberlin kabi bodring urug'pallasi o'sishini stimullaydi. Shuningdek brassinosteroidlar etilenga xos xususiyatlarga ham ega. Bu fitogormonlarning spetsifik ta'siri urug' kurtakning o'sishini boshqarishdir. Brassinosteroidlarningozgina miqdori chang bilan birgalikda urug' kurtakka tushib, uning rivojlanishi va urug' hosil bo'lishini stimullaydi. U o'simliklarni stresslar va zamburug'li kasalliklardan ham himoya qiladi. Bunday ta'sirning sababi, o'simlikning fitoimmunitet tizimistress oqsillari, shuningdek fitoaleksinlari va boshqa komponentlari sintezining oshishi bilan bog'liq. Ko'p miqdordagi brassinosteroidlar o'simliklarning bo'yiga o'sishini to'xtatib, atrof muhitning noqulay ta'sirlari (past yoki yuqori xarorat, qurg'oqchilik, infeksiyalar) ga chidamliligini oshiradi. Hozirgi vaqtda ko'pgina mamlakatlarda brassinosteroidlardan qishloq ho'jalik ekinlarini hosildorligi, chidamliligini oshirish maqsadida foydalanish uchun izlanishlar ishlari olib borilmoqda.

Fuzikoktsinlar. Fuzikoktsinlar steroid moddalardir. Ilgaridan zamburug'lar hayot faoliyatining mahsuloti sifatida ma'lum bo'lgan, bu fitogormon o'simliklarda ham sintezlanadi va uning o'sish jarayonini boshqaradi. (G.S.Muromtsev, 1996). Fuzikoktsinning muhim fiziologik ta'siri uning hujayralarning cho'zilishini stimullashi, qorong'uda og'izchalarni ochishi, suv bug'lanishini kuchaytirishi, urug'larni tinim holatidan chiqarishi va o'sishni jadallashtirishi bilan bog'liqdir.

O'simliklarda fitogormonlarning o'zaro hamkorligi. O'simlik gormonlari bir-birlarining sintezi, parchalanishi va tashilishiga faol ta'sir ko'rsatadi. Fitogormonlar tizimining biror komponenti miqdorining o'zgarishi, butun tizimning o'zgarishiga olib keladi (4.2- rasm).



10.2- rasm. Gormonlarning o'zaro ta'siri natijasida u yoki bu fitogormonlar miqdorining oshishi (tekis chiziqlar bilan) yoki pasayish (punktir chiziqlar bilan)

O'simliklarni gormon statusi. O'simliklarni ontogenez davridagi fitogormonal tizimining holati, hosil bo'lish jarayonlarida fitogormonlar miqdori va ular orasidagi nisbat, ularning tashqi ta'sirga javoban hosil bo'lishi, harakatlanishi, foydalanilishi va inaktivatsiyalanishi-o'simliklarning gormon statusidir.

O'simliklarning gormon statuslari fitogormonlarni miqdoriy aniqlashning murakkabligi sababli kam o'rganilgan.

O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar.

Fitogormonlarni boshqarish mexanizmlari haqidagi bilimlarga ega bo'lish, o'simliklarning hosildorligini, chidamliligini oshirishga erishishda, ularning o'sishi va rivojlanishini boshqarishda katta imkoniyatlar beradi.

O'simliklarning fitogormon tizimiga yo'naltirilgan ta'sirlar o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlari (fitoregulyator) yordamida amalga oshiriladi.

Fitoregulyator - o'simliklarning bo'yiga yoki eniga o'sishiga ta'sir etuvchi, qo'llanilayotgan miqdoriga ko'ra, oziqa manbai va fitotoksin bo'lmagan tabiiy yoki sun'iy moddalardir. Demak, o'simliklarni o'sishiga ta'sir etuvchi har qanday modda ham, agar u o'simliklar o'sishini o'g'it kabi stimullamasa va gerbitsid kabi o'simliklarning nobud bo'lishiga sabab bo'lmasa, u holda fitoregulyatoridir. Hozirgi kunda regulyator faollikka ega 5 mingga yaqin birikmalar aniqlangan bo'lib, amaliyotda ularning faqat 1% gina qo'llaniladi.

Ko'pchilik fitoregulyatorlarning fiziologik faolligi, ularning fitogormon tizimini qaysidir komponentiga ta'sir etish xususiyati bilan bog'liq. Bunga

hujayraga tashqaridan uning analogini kiritish orqali fitogormonlar miqdorini oshirish; fitogormonning biosinteziga ta'sir etish (stimullash yoki to'xtatish); fitogormon transportini to'xtatish; fitogormonning inaktivatsiya tizimiga ta'sir etish (stimullash yoki to'xtatish); fitogormonning retseptoriga ulanishi uchun raqobat hosil qilish; fitogormon-retseptor kompleksining inaktivatsiyasi hisobiga erishiladi.

Sun'iy regulyatorlarning o'simliklarning gormon tizimiga ta'siri. *Auksinning analoglari va antogonistlari.* Auksinga ta'sir etuvchi regulyator birikmalar orasida, bu fitogormonning sun'iy analoglaridan indolil-3-sirka kislota (ISK), indolil-3-moy kislota (IMK), 1-naftilsirka kislota (NSK) hamda ularning tuzlari va amidlari ildiz hosil qilishni stimullashda keng qo'llanadi. Bu birikmalardan o'simliklarni qalamchalash usuli orqali vegetativ ko'paytirishda, biotexnologik jarayonlarda va an'anaviy o'simlikshunoslikda keng foydalaniladi. Ular bilan ishlov berish- preparatni oziqa muhiti tarkibiga 1-100 mg/l kontsentratsiyada kiritish, qalamchani bazal qismini shu preparatning 200 mg/l kontsentratsiyadagi spirtli eritmasiga solish yoki qalamchalar preparatning 25-50 mg/l kontsentratsiyadagi suvli eritmasida 12-14 soat ushlab turish usullari orqali amalga oshiriladi. Bu birikmalarning zaharlilik ta'siri kam bo'lib, ularni odamlar tomonidan iste'mol qilinadigan ekinlarga qo'llash mutlaqo havfsizdir.

Auksin analoglari orasida 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D); 4-xlorfenoksisirka kislota (4-X); 2,4,5-uchxlorfenoksisirka kislota (2,4,5-T); 2(2,4,5-uchxlorfenoksi) propion kislota (2,4,5-UP) muhim o'rinni egallaydi. Bu birikmalar auksin ta'sir etadigan xududda yuqori auksin faolligiga ega bo'lib, proton pompasini faollashishi va tropizm, hujayralarning cho'zilishi va dedifferentsiallashtirish jarayonlarini amalga oshiradi. Bu moddalar past kontsentratsiyalarda kallus to'qimalarini olish uchun (0,5-2,0 mg/l), yuqori kontsentratsiyalarda esa, gerbitsid sifatida qo'llaniladi. Bu guruh auksin analoglarining zaharlilik ta'siri boshqa guruh vakillarinigacha nisbatan kam, ammo ular kuchli mutagen ta'sirga ega bo'lganligi uchun ekologik havf tug'diradi.

Antiauksin ta'sirga ega qator fitoregulyatorlar ham mavjud. Ularning ta'siri bu gormonlar transportini to'xtatishi bilan bog'liq: morfaktinlar, naftilftalamin kislota va uning tuzlari, shuningdek 2,3,5-uchyodbenzoy kislota (UYBK)dir. UYBKning ta'siri auksin tomonidan yaratilgan apikal dominantlikning buzilishida namoyon bo'ladi. Buning natijasida ba'zi o'simliklar kurtaklarining uyg'onishi ortadi, masalan: soya o'simligida xosildor novdalar sonini oshirish hisobiga hosildorligi yuqori bo'ladi.

Sitokinin analoglari va antogonistlari. Keyingi vaqtlarda sitokinin preparatlarining antistress ta'sirlari aniqlanganidan so'ng, ularga bo'lgan qiziqish tobora ortib bormoqda. Zeatin qatori (kinetin, 6-benzilaminopurip) sitokininlarini sun'iy analoglari shunday xususiyatga ega. Sitokininlar qatori analogi, difenilmochevina-dropp (tidiazuron)ning antistresslik xususiyati kam.

Sitokininlar o'simliklar biotexnologiyasida kallus to'qimalari olishda, hujayralar bo'linishini faollashtirishda, kallusda paydo bo'lgan nihollarning differentsiyalanishini induktsiyalashda, shuningdek apikal dominantlikni bartaraf etishda va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda, ularning ko'payish koeffitsientini oshirishda qo'llaniladi. Bunday maqsadlar uchun ayniqsa 6-BAP va kinetinlardan ko'proq foydalaniladi.

Sitokinin analoglari oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyati tufayli, mevali daraxt ko'chatlarining apikal dominantligini bartaraf etish, ko'chatzorlardagi daraxtlarning shoxlari va barglarining tez va sifatli hosil bo'lishi, shuningdek urug'siz uzum navlarining mevalarini yiriklashtirish va massasini oshirishda qo'llaniladi. Buning uchun sitokinin analoglari sun'iy gibberlinlar bilan birgalikda qo'llanilda yaxshi natija berishi mumkin.

Dropp preparati g'o'za defolianti sifatida muhim ahamiyat kasb etadi. Uning ta'sirida endogen etilenning sintezi stimullanishi natijasida barglar to'kiladi.

Sitokinin analoglari cheklangan miqdorda sabzavotlarni saqlashda, jinsni boshqarishda, shuningdek urug'larni tinim davridan chiqarishda va o'stirishda qo'llaniladi.

Sitokininlarning antaginistlari aniqlangan, lekin ular amaliyotda qo'llanilmaydi va hozircha faqat ilmiy ahamiyatga ega.

Gibberlinlarning analoglari va antagonistlari. Gibberlinlar analoglari patogen zamburug' Gibberella fujicuroidan mikrobiologik sintez yo'li bilan olinadi. Ular o'simlik tomonidan sintezlanadigan gibberlinlarning aniq nusxalaridir. Ulardan ayniqsa, GK₃, GK₄, GK₇ keng qo'llaniladi. Bu moddalardan asosan urug'siz uzum navlari mevasining o'sishi va pishishini stimullashda foydalaniladi. Bundan tashqari, gibberlinlar urug'lar va tugunaklarni tinim holatidan chiqarish va ularning unib chiqishini tezlashtirishda ham qo'llaniladi.

O'simliklar biotexnologiyasida gibberlinlardan virussiz ekish materiallari olish uchun apikal meristema hujayralarining cho'zilishi va bo'linishini stimullashda foydalaniladi.

Gibberlinlarning antagonistlari analoglariga nisbatan qishloq xo'jaligida kengroq qo'llaniladi. Uning deyarli barcha antagonistlari retardant ta'sirga ega.

Brassinosteroidlar analoglari va antagonistlari. O'simlik hujayralaridan brassinosteroidlar ajratilishi bilan bir vaqtda, uning analoglarini ham sintezlash ishlari amalga oshirila boshlandi. Hozirgi kunga qadar sintezlangan brassinosteroid analoglari ularning tabiiy fitogormonlaridan yon zanjir strukturasi bilan farq qiladi. Brassinosteroid analoglarining ko'proq tarqalgan turlariga 22S, 23S-izomerlari, gomobrassinolid, norbrassinolid birikmalari kiradi (V.A.Xripach va boshq. 1993).

Brassinosteroidlar va ularning analoglarining ekdisteroidlar bilan antiekdizonlar roliga kirib, ekdizonli retseptorlarga bog'lanish ko'ra o'zaro muvaffaqiyatli raqobatlasha olishi haqida ham ma'lumotlar mavjud.

Brassinosteroidlarga ekdizonlar bilan bir qatorda gomoksisteroidlar sinfining boshqa ba'zi vakillari (xiogasterinlar, azeraraxol) ham strukturasi bo'yicha yaqindir.

Brassinosteroidlar va auksinlar o'simliklar ildiz tizimiga ta'siriga ko'ra farq qiladi. Auksinlar yon ildizlarning xosil bo'lishini stimullaydi, brassinosteroidlar esa ularning o'sishiga ingibitorlik ta'sir ko'rsatadi. Brassinosteroidlarning yuqori me'yori o'simliklar o'sishini to'xtatib, uning tashqi noqulay omillar (sovuq urishi, qurg'oqchilik, issiq xarorat va infektsiyalar) ga chidamliligini oshiradi.

Fuzikoktsinlarning analoglari va antagonistlari. Fuzikoktsinlarning gibberlinlar bilan analogiyasi kuchli bo'lib, ularning ikkalasi ham har tomonlama yuqori regulyator faollikka ega, fitopatogen zamburug'lar tomonidan sintezlanadi va kimyoviy birikmalarning bitta guruhi - diditerpenlarga kiradi.

Terpenoidlarga brassinosteroidlar va abstsiz kislota ham mansub bo'lib, bu fitogormonlar fitopatogen zamburug'lar tomonidan sintezlanadi. Shu ma'lumotlar asosida G.S.Muromtsev (1987) fuzikoktsinning gormon tabiatli modda ekanligi haqidagi o'zining taxminlarini keltirgan va ularni o'simlik hujayralarida ham aniqlagan.

A.Ballio va boshqa hammualliflar tomonidan (Ballio et al, 1979) plazmatik membranada molekulyar og'irligi 40 ming dalton bo'lgan fuzikoktsinning retseptori – glikoprotein aniqlandi. Fuzikoktsin plazmolemmada joylashgan faol protonlar tashilish tizimini boshqaruvchi nafas olish zanjiri bilan ham o'zaro hamkorlik qiladi.

Etilen analoglari va antagonistlari. 2-xloretilfosfon kislota (2-XEFK, etefon) $rN > 4,0$ bo'lganda etilen ajratib parchalanish xususiyati aniqlanganidan so'ng, o'simlikshunoslikda etilen analoglaridan foydalanish imkoniyati paydo bo'ladi.

2-XEFK asosida ko'plab preparatlar : etrel, kampoza, flordimeks, gidrel, digidrel, deksrel ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. 2-XEFK va uning asosidagi preparatlar issiq qonli organizmlar uchun umuman zararsizdir. Gidrel va digidrel bundan mustasno bo'lib, ularning sintezi uchun simmetrik bo'lmagan dimetilgidrazindan foydalaniladi, uning mazkur preparatlardagi juda kam miqdori ham ularning zaharli va mutagenlik ta'siri yuzaga keltiradi.

Etilen produtsentlari turli ta'sirlar uchun: ajratuvchi qavatni hosil bo'lishi (barg bilan poya, poya bilan meva o'rtasida), o'simliklarni tinim holati va chidamliligini stimullash va induktsiyalash uchun retardant sifatida qo'llaniladi.

So'nggi yillarda organikkremniyasosida qator etilen produtsentlari yaratilgan bo'lib, ular orasida stirel katta ahamiyatga ega, u 2-XEFK ga hos bo'lgan kamchiliklardan xoli, bundan tashqari, issiq qonli organizmlar uchun uning zaharli ta'siri kam.

Ba'zi hollarda, mevali daraxtlarni mevasini to'kishini kamaytirishda va ba'zi bir biotexnologik tadqiqotlarda o'simlikdagi endogen etilenning miqdorini kamaytirish zarur bo'ladi. Buning uchun etilen biosintezini to'xtatuvchi Ag^+ aminosirka kislota (ASK) rizobiotoksin va aminoetoksivinilglitsin (AVG) kabi moddalardan foydalaniladi. Lekin bupreparatlarning narxi qimmat bo'lgani uchun unchalik keng qo'llanilmaydi.

Abstsiz kislota analogi va antagonistlari. Abstsiz kislotaning fiziologik faol strukturaviy analoglari narxi yuqori bo'lgani uchun qishloq xo'jaligida kam qo'llaniladi. Lekin uning hosil bo'lishini follashtirish orqali o'simlikdagi miqdorini oshirish mumkin. Abstsiz kislota hosil bo'lishining induktori va stimulyatori sifatda boshqa fitogormon-etilen yoki uning produtsentlari xizmat qiladi.

Abstsiz kislota miqdorining oshishi, bu fitogormon tomonidan suvni bog'lab turishga javobgar stress oqsillar sintezining induksiyanishi, shuningdek o'simlik tinim holatini stimullash xususiyati bilan bog'liq xolda mahsulotlarining isrof bo'lishini kamaytirishni ta'minlaydi.

Abstsiz kislotaning spetsifik antagonistlari hali aniqlanmagan, nospetsifik antagonistlari ro'yxatiga esa stimulyatorlik ta'sir xarakteriga ega barcha gormonlarni kiritish mumkin.

Biotexnologiyada o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi fitogormon va sun'iy regulyatorlar

O'simliklar biotexnologiyasida fitoregulyatorlar kallus hosil qilish, hujayralarning differentsiyanishi, regenerant-o'simliklar o'sishi va rivojlanishi jarayonlarini boshqarish imkonini beruvchi asosiy vositadir.

Ontogenezni boshqarish. Yu.Saks 1880-yillardayoq o'simliklarning asosiy organlari - ildiz, poya, barglarining differentsirovkasi va rivojlanishini boshqaruvchi moddalar mavjudligi haqida o'z taxminlarini aytgan, hamda ularni mos ravishda rizokolin, kaulikolin va faliokolinlar deb atagan edi. O'sha paytda uning zamondoshlari tomonidan qo'llab quvvatlanmagan bunday g'oyalar vaqt o'tishi bilan o'z isbotini topdi. Ularning bundan keyingi rivojlanishi buyuk olim M. X. Chaylaxyan (1988) tomonidan taklif etilgan florigen nazariyasi bilan davom etdi. Florigenlarni qidirish bo'yicha ishlar hali tugallanmagan bo'lsada, auksin ta'sirida ildizning o'sishi va rivojlanishi, niholning sitokinin ta'sirida o'sishi va rivojlanishini boshqarilishi haqidagi hozirgi kundagi ma'lumotlar Saks g'oyalarining haqqoniyligini tasdiqlagani kabi, bu nazariyaning qonuniy huquqqa ega ekanligini ham ko'rsatdi.

Qishloq ho'jalik o'simliklari biotexnologiyasi rivojlana borishi bilan fitogormonlarning organozonezni boshqarishi haqidagi ma'lumotlarning ahamiyati tobora ortib bormoqda, chunki aynan fitogormonlar in vitro o'simlik to'qimalar va hujayralari kulturasida turli muolajalarni amalga oshirishda asosiy qurol bo'lib xizmat qiladi.

Ildiz hosil bo'lishi. O'simlikshunoslikda novda, barg yoki poyalarda ildiz hosil bo'lishini sun'iy ravishda boshqarish hamma vaqt ham keng qo'llanilgan, lekin bu usul ko'p sarf-xarajat va mehnat talab etganligi uchun ko'paytirishning bu usulidan barcha xollarda ham foydalanib bo'lmaydi. 1930 yillar boshlarida auksinning kashf etilishi, uning adventiv ildiz hosil bo'lishini indutsirlash va ildiz tizimning rivojlanishini stimullash xususiyatlari aniqlangandan so'nggina deyarli barcha turdagi o'simliklarni yoppasiga qalamchalab ko'paytirish imkoniyati paydo bo'ldi.

Hozirgi kunda fan- texnikaning yuksak taraqqiyotiga qaramasdan o'simliklarni ko'paytirishda - qalamchalarga ekishdan oldin auksinning analogi bilan ishlov berish orqali ildiz ottirish usulining mohiyati o'zgarmasdan qoldi.

Adventiv ildizlar kambiy hujayralaridan hosil bo'ladi. Ayniqsa kambiy to'qimalari bo'linishining maksimal faollashgan davrida bu jarayonning samarasi yuqori bo'ladi. Meristema to'qimalari hujayralaridan ildizlarning shakllanishi genetik determinlangan bo'ladi. Rizogeneza olib keluvchi genetik dasturlarning transkripsiyasidagi o'zgarishlar auksin tomonidan nazorat qilinadi. Auksin muayyan retseptor bilan o'zaro aloqasidan so'ng va mos gormon – retseptor kompleksi hosil bo'lgandan keyin, ildiz hosil bo'lishiga olib keluvchi va metabolizmni o'zgartiruvchi fermentlar genlarining operonlaridan repressor qurshovini yo'qotishga olib keluvchi javob tizimini ishga tushiradi.

Auksinning barcha sun'iy analoglari ham ildiz hosil bo'lishini indutsirlash xususiyatiga ega emas. Lekin auksinning indolil-3-moy kislota (IMK) va naftilsirka (NSK) kislota kabi sun'iy analoglari ta'siri haqiqiy tabiiy gormon ISKning ta'siridan birmuncha kuchliroqdir. Buning sababi sun'iy analoglarning hujayradagi turg'unligining yuqoriligi va ularning gormonlarni dezaktivatsiyalovchi fermentlarga kam o'xshashligidir. Shu bilan bir vaqtda auksinning boshqa analogi 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D) rizogeneza chaqirish xususiyatiga deyarli ega emas, va bu moddadan uzoq vaqt foydalanilganda to'qimalar ildiz morfogeneza bo'lgan qobiliyatini yo'qotadi.

Sun'iy auksinlarning ildiz hosil qilish faolligi vitaminlar va ko'pincha askorbin kislotasi bilan birgalikda qo'llanilganda stimullanadi.

Boshlang'ich o'simliklarga retardantlar bilan oldindan ishlov berish ham ildiz hosil bo'lishini sezilarli darajada stimullaydi. Regulyatorlarning bunday ta'siri zemlyanika, kartoshka, olma, olcha, qoraqat, krijovnik va boshqa o'simliklarda aniqlangan. Barcha holatlarda ham boshlang'ich o'simlik qalamchalar kesilishidan oldin, yoki meristemalar ajratilishidan oldin, retardantlar bilan ishlov berilgan o'simliklarning ildiz tizimi yaxshi shakllangan. Bunday ta'sirni bir qancha sabablar bilan tushuntirish mumkin, ulardan eng xaqiqatga yaqini, auksin va gibberlinlarning ildiz hosil bo'lishi jarayoniga ta'siri bo'yicha ular orasidagi antagonizmidir. Antigibberlinlik

hususiyatiga ega bo'lgan retardantlar, gormonlar nisbatini auksinning foydasiga o'zgartirish orqali rizogenez jarayonini stimullaydi.

Nihol hosil bo'lishi. Niholning organogenezi sitokinin guruhi fitogormonlari tomonidan nazorat qilinishi, barcha turdagi o'simliklarning kallusli kulturalarida aniqlangan. Sitokininlarning oziqa muhitida ishtirok etishi kallusda kurtak hosil bo'lishini indutsirlaydi. Kallusda vegetativ kurtaklar shakllanishini stimullashga yo'naltirilgan da oziqa muhitidagi auksin va sitokininlarning absolyut darajasiga va bu fitogormonlarning nisbatiga e'tibor qaratish lozim.

F.Skuga va K.O.Miller tomonidan tamakining differentsiyalan-magan kallus to'qimalari ontogenezini boshqarishda sitokininlar qatnashishi aniqlangan. Tajribalarda ISK va kinetin yordamida kallusda ildiz va nihollar hosil bo'lishi chaqirilgan.

Nihol organogenezidagi doimiy hollardan biri qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishda muhim ahamiyatga ega tugunaklarning hosil bo'lishidir. Bu jarayon auksinlar tomonidan to'xtatiladi, kallus kulturalarida organogenez bilan parallel o'tkazishga yo'l qo'yadi auksinlarning oshirilgan me'yori ta'sirida ildiz hosil bo'ladi va tugunaklarning shakllanishi to'xtaydi.

M. X. Chaylaxyan va boshqa tadqiqotchi olimlarning fikriga ko'ra ildiz hosil qilishni fitogormonlar orqali boshqarish gibberlinlar va abstsiz kislota yordamida (ABK) quyidagi tartibda amalga oshiriladi: oldin gibberlinlar ta'sirida nihollarni hosil bo'lishi va o'sishi stimullanadi, navbatdagi bosqichda ABK ta'sirida nihollar o'sishi to'xtatilishi natijasida ular yo'g'onlashadi va nihollarda tugunaklar shakllanadi. Kartoshka o'simligiga ABK bilan ishlov berilganda tugunaklar massasini oshishi hisobiga hosildorligi ancha yuqori bo'ladi.

Kallus hosil bo'lishini gormonlar orqali boshqarish. O'simliklar biotexnologiyasi ishlarining asosiy bosqichlaridan biri, nihol, barg va ildizning differentsiyalangan to'qimalaridan kallus to'qimasini olish bilan bog'liq. Kallus to'qimalari olishning asosini o'simlik eksplant hujayralarining dedifferentsiyalanishi, ularni meristematik, bo'linayotgan holatiga qaytarish tashkil etadi. Buning uchun 1) hujayralarning bo'linish jarayoniga to'sqinlik qilayotgan hujayraning struktura elementlari modifikatsiyasi (ikkilamchi qalin hujayra qobig'ining yupqalanishi); 2) mitoz jarayoniga javobgar genlarning ekspressiyasi amalga oshishi zarur.

O'simliklarning shikastlangan joyi kallus to'qimasi bilan tez qoplanib, so'ng differentsiyalanadi. Ko'p hollarda kallus meristema to'qimalaridan, asosan kambydan hosil bo'ladi. Bunday hollarda hujayra strukturalarining modifikatsiyasiga ehtiyoj paydo bo'lmaydi.

Ko'pincha in vitro sharoitida kallus hosil qilish uchun eksplant differentsiallashtirish jarayonini stimullovdchisi sifatida tarkibidayuqori miqdorda auksinning sun'iy analogi 2,4-D tutuvchi oziqa muhitiga ekiladi. Bunday stimullashning mexanizmini auksinning: "nordon o'sish" samarasi hisobiga hujayra qobiqlarining yupqalashishi bilan bog'liq bo'lgan proton

pompalarining faollashishi, hujayra qobig'ining qisman gidrolizlanishini yuzaga keltiruvchi qator fermentlar sintezining induktsiyasi, shuningdek, DNK replikatsiyasini induktsiyalash kabi regulatorlik ta'sirlari bilan tushuntirish mumkin. Bundan tashqari, shuni ham ta'kidlab o'tish lozimki, aynan 2,4-D sitokininning ta'siri kabi bilan nuklein kislotalar sintezini kuchaytirish orqali hujayralar bo'linishini stimullaydi.

Kallus to'qimalari uzoq vaqt o'stirilganda ular shish to'qimalariga ya'ni o'sishi organizm tomonidan nazorat qilinmaydigan to'qimalarga aylanishi mumkin. Buning sababi, to'qima o'zining bo'linishi uchun zarur bo'lgan fitogormonlar (auksin va sitokinin) ni boshqa organlardan olmay, o'zini ichida sintezlash xususiyatiga ega bo'lishidir. Tashqi muhitdagi fitogormonlar kontsentratsiyasining o'zgarishiga ta'sirlanmaydigan in vitro kulturasidagi shish to'qimalari, gormonga bog'liq bo'lmagan yoki "moslashgan" to'qimalar deyiladi.

Gormonga bog'liq bo'lmaslik holatining paydo bo'lishi o'simliklar biotexnologiyasi imkoniyatlarini chegaralab qo'yadi, chunki bu xususiyatga ega to'qima hujayralari differentsiyalanish, so'ngra yetuk o'simlik regeneratsiyalashga umuman qodir emas. Gormonga qaram bo'lmaslik sabablari va mexanizmini o'rganish juda muhim bo'lib, nafaqat qishloq ho'jalik biotexnologiyasi muammolarini hal qilishda, shuningdek insonlardagi onkologik kasalliklarni davolash yo'llarini topishda ham yordam berishi mumkin.

Kallus to'qimalarini uzoq vaqt o'stirilganda gormonga bog'liq bo'lmasligini yengish uchun fitogormonlar va ularning retseptorlarining ortiqcha sintezini to'xtatish lozim. Nemis tadqiqotchilari tamakining auksinga bog'liq bo'lmagan morfogenezni induktsiyalash bo'yicha juda qiziqarli natijalar olishgan, oziqa muhitiga boshqa fitogormonlar – brassinosteroidlar kiritilganda, kallus embrioid strukturalar paydo qilish qobiliyatini paydo qilgan. Kallusning morfogen qobiliyatini oshirishning yana boshqa yo'li, kallus to'qimalari o'sayotgan oziqa muhitga etilen hosil bo'lishini to'xtatuvchi sifatida kumush nitratning kiritilishi empirik ravishda topilgan.

Gormon statusi o'zgartirilgan transgen o'simliklar olish

Tabiatda gormon statusi o'zgartirilgan transgen to'qimalar paydo bo'lish jarayonlari insoniyat aralashuvisiz sodir bo'ladi.

Evolutsiya jarayonida agrobakteriyalarning ikki turida (*Agrobacterium tumefaciens* va *A. rizogenes*) nafaqat ho'jayin o'simlik genetik apparatidan foydalanib zarur oqsillarni sintezlash, balki shikastlangan hujayralarga plastik moddalarning doimiy oqib kelishi, zararlangan hujayralarning dedifferentsiyalanishi va proliferatsiyasini amalga oshirish mexanizmlari ham shakllangan.

Agrobakteriyalar parazitlik mexanizmining asosini-ularning bakteriya oqsillarini spetsifik genlari (nopalini va oktapini) bilan bir qatorda, auksin va sitokinin fitogormonlari sinteziga javobgar fermentlari genlarini ham tutuvchi va o'simlik xromosoma DNKsiga ulanuvchi plazmidalarni o'simlik hujayrasiga kiritilishi tashkil etadi. Natijada bu fitogormonlar darajasi ortadi, ixtisoslashgan o'simlik hujayralari dedifferentsiyalanadi va to'xtovsiz bo'linib, *A. tumefaciens* bilan zararlangan hujayralar gallar (shishlar), *A. rizogenes* bilan zararlangan hujayralar esa ko'plab ipsimon yengil ildizlar hosil qiladi. Agrobakteriya plazmidasi ho'jayin o'simlik genomiga birikkanida, o'simlik hujayrasiga hos bo'lgan fitogormonlarning sintezi to'xtatilishi haqidagi yangi ma'lumotlar ham mavjud.

Agrobakteriy plazmidalari asosida o'simlikning xromosoma genomiga genlarni kiritish uchun vektor tizimlar yaratilgan.

Hozirgi vaqtda o'simliklar gen muhandisligi sohasidagi ishlar gerbitsidlar, patogenlar yoki zararkunanda hasharotlarga chidamli o'simliklarning boshlang'ich shakllarini olish bilan bog'liq. Bunday tor darajadagi yo'naltirish asosan 2 ta sababga bog'liq deb ko'rsatish mumkin: Birinchidan, o'simliklarga yuqorida qayd etilgan xususiyatlarni berish zaharli kimyoviy moddalarni qo'llanish zaruratini ancha qisqartiradi, o'simlikshunoslikda katta ekologik havfsizlikni ta'minlaydi; Ikkinchidan, o'simliklar genetik muhandisligini rivojlanish darajasi bugungi kunda o'simlik genomiga genlarni kiritish va ularning ekspressiyalanishini amalga oshirish imkoniyatini beradi.

Sanoat o'simlikshunosligi amaliyotida nafaqat serhosil hosilli va chidamli o'simliklar, shuningdek o'sishning muayyan xarakteriga ega, ob-havo va agrotexnika sharoitlariga hamda qishloq ho'jalik texnikasiga moslashtirilgan o'simliklarni yaratish juda muxim bo'lib qoldi. Bu hosilni yig'ish jarayonini mexanizatsiyalashda muhim ahamiyatga ega. Bunday xollarda o'simliklarning fitogormon statusini fermentlar genlari "me'yorini", sintezini o'zgartirish yoki uning promotorini almashtirish hisobiga u yoki bu fitogormon mahsulotini oshirish yoki kamaytirish orqali boshqarish maqsadga muvofiqdir.

Fitogormon statusi o'zgartirilgan o'simliklar yaratishning istiqbolli ahamiyati bilan bog'liq holda dunyoning ko'pgina mamlakatlarida bu ishlar bajarilmoqda. Masalan: Rossiya olimlari I. V. Korneeva, V. V. Mazin, M. N. Agafodorova (1999) bedaning gormonal statusi o'zgartirilgan transgen o'simligini olishgan. Transformant o'simliklar boshlang'ich shakllaridan yer ustki qismi, barglarining yashil rangini uzoq vaqt saqlashi, nihollarining uzunligi, butadagi shoxlar oralig'ini yaqinligi va sonining ko'pligi, ildizining massasi, rizogenezga bo'lgan qobiliyati, reproduktiv organlarining morfofiziologik xarakteristikalari bo'yicha, erkinprolinning miqdori bo'yicha, protein, xlorofill va karotinoidlarni yuqori miqdorda tutishi bo'yicha farqlanadi. Mualliflar bu farqlarni o'simliklardagi fitogormonlar va gormonsimon moddalarning nisbati va kontsentratsiyasidagi siljish va

genlarning geterologik ekspressiyasiga o'simliklarning korrelyatsion va adaptatsion jarayonlari bilan javobi ekanligini ta'kidlashadi. Barglarining yashil rangni uzoq vaqt saqlashi, ulardagi barglarning qarishi va xlorofillning parchalanishini to'xtatuvchi sitokinlar miqdorining yuqoriligi bilan bog'liq.

Transformatsiyalangan o'simliklardan ho'jalik ahamiyati qimmatli xususiyatlar manbai sifatida: bedaning oziqalik sifatini yaxshilanishi, urug' mahsuldorligining va stresslarga chidamliligining oshishi, ularning yaylovlarda o'sishga moslashgan, raqobatbardosh navlarini yaratishda qimmatli seleksion material sifatida foydalanish mumkin.

Fitogormon va fitoregulyatorlarni olishning biotexnologik usullari

Mikroorganizmlar yordamida fitogormonlarni yaxlitligicha yoki qisman sintezlash mumkin. Aynan shu yo'l bilan gibberlinlar, fuzikoksinlar olinadi, abstsiz kislota ishlab chiqarish yo'lga qo'yilmoqda, brassinosteroidlarni sintezlash uchun zarur mahsulotlar ishlab chiqarilmoqda.

So'nggi vaqtlarda mikroorganizmlardan, ayniqsa, vizikulyar-arbuskulyar mikoriza kompleksi komponentlaridan ajratilgan, umumiy stimulyatorlik ta'sirga ega, yuqori samarali fitoregulyatorlar paydo bo'ldi. Bunga *simbiont-2* va *emistim* preparatlarini misol qilib keltirish mumkin. Bu birikmalar auksinlar va sitokinlar tipi bo'yicha ta'sir etib, u yoki bu o'simlik kulturasida turlicha namoyon bo'luvchi qator xususiyatlarga ham ega. Ko'pchilik mikrobiologik sintez qilingan preparatlar vitaminlar kabi ta'sir etib, bir qator biokimyoviy reaksiyalarni faollashtirish natijasida hosildorlikni oshiradi yoki boshqa ijobiy xususiyatlarni namoyon qiladi. Bunday preparatlarning jiddiy kamchiliklariga ularning ko'p tarkiblilik sababli ta'sir etuvchi asosini ajratish, ularning regulyator aralashmalari komponentlarining zaharli ta'sirini aniqlash, butun preparat va ularning qoldiqlari aralashmasini nazorat qilish qiyinligidir.

O'simlikshunoslikda fitogormon va o'sishni boshqaruvchi regulyatorlar

O'simliklar o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlar 1950-1960 yillardan ko'p yillik o'simliklar qalamchalarida ildiz hosil qilish, so'ngra g'alla ekinlarining yerga yotib qolishini oldini olishda qo'llanila boshlandi, hozirgi kunda esa regulyator moddalar qishloq xo'jaligi o'simliklarini ko'paytirishning barcha intensiv texnologiyalarida foydalaniladi. Fitoregulyatorlar yordamida o'simliklarning tashqi noqulay ta'sirlarga chidamliligini oshirish, ba'zan yuqori hosilli navlarning kamchiliklarini yo'qotish mumkin.

Ontogenezni boshqarish. *Tinim davri va uni boshqarish usullari.* O'simliklarni tinim davri bu organizmning tashqi noqulay sharoitga bardoshlilikining evolyutsion moslashishdir. Shuningdek u qish kunlarining past haroratiga chidamlilik hosil qilib, yashash usuli sifatida ham shakllangan. Tinim davri shakllanishining boshqa sharoitlari ham ma'lum bo'lib, ularga

yarim cho'llardagi qurg'oqchilikni kiritish mumkin. Bunday sharoitlarda o'sishga efemer-o'simliklar moslashgan bo'lib, ularning vegetativ davri juda qisqa, zahiralovchi organ (piyozdan) dan unib, urug' hosil qilgunga qadar o'tgan vaqt bor yo'g'i bir necha o'n kunni tashkil etadi. O'simliklarning tinim davriga o'tishini endogen omillar bilan bir qatorda tashqi omillar ham indutsirlaydi.

Tinim davriga butun o'simlik va uning alohida qismlari yoki organlari o'tishi mumkin. Bunday holatga misol qilib, o'simlikning yer ustki qismi va ildizi jadal o'sishi davom etayotgan vaqtda piyoz, tugunaklari, kurtaklari va urug'larining tinim davriga o'tishini keltirish mumkin.

Kuz boshidan to bahor oylarigacha cho'ziladigan tinim davri uzoq davomli tinim davri deb ataladi. O'simlikning tinim davrida moddalar almashinishi butunlay to'xtab qolmaydi. Uzoq davomli tinim davri chuqur va majburiy tinim davrlaridan iborat:

Chuqur (fiziologik) tinim davrini kartoshka va daraxt kurtaklarida kuzatish mumkin. Daraxtlar yoz, kuz fasllari davomida ya'ni o'sish uchun juda qulay bo'lgan sharoitda tinim davridagi himoyasini ta'minlovchi tangachalar bilan qoplangan urug' va qishlovchi kurtaklar hosil qiladi. O'simliklarning chuqur tinim davridan chiqishi ko'pincha ularning past haroratli ($0-5^{\circ}\text{S}$) sharoitda yetarli darajada uzoq vaqt (250-1000 soat) bo'lishi bilan bog'liqdir. Ma'lum muddat o'tgandan so'ng sharoit noqulay bo'lishiga qaramay, kurtak va tugunaklarda o'sish jarayoni boshlanganini kuzatish mumkin.

Tashqi noqulay omillar ta'sirida o'simliklar o'sishdan to'xtashi va o'sish sharoiti yaxshilanganda esa, darhol yana o'sishga o'tishini majburiy tinim davri deyish mumkin. Ko'pchilik o'tchil o'simliklar, masalan turli boshqoli va ikki pallali begona o'tlar qishda vegetatsiya uchun past bo'lgan 0°S ga yaqin harorat ta'sirida majburiy tinim davriga o'tadi. Harorat ko'tarilganda esa bunday o'simliklar yana o'sishni davom ettiradi.

O'simliklarning tinim davrini boshqarib-o'simliklar o'sishi uchun qulay sharoitlar yuzaga kelganda ularning o'sishini ta'minlash orqali ularning yaxshi rivojlanishi va hosildorligini oshirishga erishish mumkin.

Urug'lar unishi va o'sishini regulyator moddalar va yana bir qancha ta'sirlar hisobiga stimullash mumkin. Masalan, ra'noguldoshlar oilasiga mansub mevali daraxtlar urug'larining tinim davri davomiyligi urug' qobig'ining o'tkazuvchanligi bilan belgilanadi. Ularning urug' qobig'ini eritishga qodir moddalarni ajratish faoliyati yuqori mikroflorada uzoq vaqt bo'lishi natijasidagina urug'lar unishi tabiiy sharoitda stimullanadi. Bunday xollarda urug'lar unishini skarifikatsiya qilish, ya'ni urug'lar qobig'ini qandaydir yo'l bilan parchalash orqali tezlashtirish mumkin.

Urug'lar sekin unishining asosiy sababi, uning tarkibidagi ingibitor tabiatli moddalarning ishtirok etishidir. Urug'kurtak shakllana borishi bilan o'sishni ingibirlovchi moddalar unda, yoki uni o'rab turuvchi to'qimalarda to'planib boradi. Ular bu yerga urug'kurtakning moddalarni o'ziga tortish

xususiyati orqali yoki urug'kurtakni o'rab turgan to'qimalarda sintezlanishi orqali asta-sekin assimlyantlar bilan tushadi. Urug'lar unishining tabiiy ingibitorlariga abstsiz kislota, jasmin kislota kabi fitogormonlar, shuningdek, hozirgi kunga qadar to'liq o'rganilmagan qator fenolli birikmalar kiradi.

Urug'larning unuvchanligi pastligining boshqa sababi, urug'kurtakning o'sishi uchun zarur bo'lgan zahira moddalarni oson eruvchi monomerlarga parchalovchi gidrolazalar faolligini oshiruvchi stimulyator moddalar, ayniqsa, gibberlinning va hujayralarning bo'linish jarayonlarini faollashtiruvchi sitokininlarning tanqisligidir. Stimulyator moddalarning tanqisligining sababi, urug'kurtakning ona o'simlikdan erta ajratilishi, uning fitogormonlar sintezlash qobiliyatining yo'qligi, fitogormonlarni zahira shaklidan faol shaklga o'tkazuvchi fermentlar faolligining pastligi, gormonlarni parchalovchi ferment komplekslarning yuqori faolligi bilan bog'liqdir.

Stimulyator moddalar miqdorini oshiruvchi yoki ingibitor moddalar miqdorini kamaytiruvchi fitoregulyatorlar urug'lar unishini tezlashtiradi va aksincha.

Urug'lar unishini fitoregulyatorlar yordamida stimullash o'simliklarda keng qo'llaniladi. Ular ta'sirida urug'kurtaklarning tuproq namligidan foydalanish, begona o'tlar bilan raqobatlashish qobiliyati ham ortadi va xosildorligi oshadi. Ayniqsa sabzavotlardan bu yo'nalishda yaxshi natijalar olingan.

O'sishni to'xtatish orqali urug'larning tinim davrini uzoqroq cho'zish ham mumkin. Bu tinim davri sust bo'lgan o'simliklar uchun katta ahamiyatga ega bo'lib, xosil yig'im –terim vaqtida namlikning yuqori bo'lishi ularda enzym mikoz tanqisligining paydo bo'lishi (EMT) ga, yoki ularning ona o'simlik ichida o'sishi hosilning kamayishiga sabab bo'ladi. Yuqorida qayd etilgan kamchiliklarga qarshi kurashda bu fitogormonlar miqdorini kamaytiruvchi yoki faolligini oshiruvchi, gidrolitik fermentlar faolligini oshiruvchi antigibberlin ta'siriga ega fitogormonlarni qo'llash, shuningdek, o'sishni to'xtatuvchi ingibitorlar miqdorini oshiruvchi fitoregulyatorlar, masalan, etilen mahsulotlaridan foydalanish katta ahamiyat kasb etadi. EMT ga qarshi fitoregulyatorlar bilan ishlov berish ham donni saqlashdagi yo'qotishlarning oldini olishda qo'shimcha ijobiy ta'sirga ega bo'ladi.

Urug'larning tinim holatini stimullanishi qishloq ho'jalik o'simliklarini kuzda ekilishida ham ahamiyatga ega. Kuzda ekilgan urug' erta bahorda unib chiqadi, bunda nihollar erigan qorning namligidan o'zining o'sishi va rivojlanishi uchun foydalanish imkoniyatiga ega bo'ladi, bu esa yuqori hosilni ta'minlaydi. Shu bilan bir vaqtda kunlar iliy boshlashi bilan chuqur tinim holatidan chiqqan urug'lar unib o'sa boshlaydi, lekin kunning takroriy sovishi bunday ekinlarga tuzatib bo'lmas zarar keltirishi mumkin. Bunday hollarda urug'ning chuqur tinim davrining davomiyligini boshqarish, urug'larning vaqtdan oldin unishini oldini olish, tuproq namligidan maksimal darajada foydalanishining optimal sharoitini topish imkonini beradi. Buning uchun, ekish oldidan urug'larga gidrofob plenklar qoplash

bilan birgalikda o'sishga ingibitor ta'sir ko'rsatuvchi fitoregulyatorlarning qo'llanishni yaxshi samara beradi.

O'simliklarning vegetativ organlari va urug'larini tinim holatiga o'tishi va o'sishini boshqarish mexanizmi deyarli bir xil. Bunday boshqarishning maqsad va usullari ham bir xildir.

Bizning mamlakatimizda kartoshkadan bir yilda ikki marta hosil olish uchun tugunaklarning tinim holatidan chiqishini o'sishini stimullovchi fitoregulyatorlardan foydalanish orqali amalga oshirish mumkin. Buning uchun tugunaklar gibberlin va tiomochevina eritmalarida qisqa vaqt ivitiladi.

Askincha, chuqur tinim holati stimullanganda, tugunaklarni unishini keskin ravishda to'xtaydi va qishloq ho'jalik ekinlarini saqlash uchun qo'yilgan ildiz mevalar, piyozlarning sifati buzilmaydi va yoz oylarigacha deyarli to'liq saqlanadi. Tinim davrini cho'zish uchun tugunaklarni saqlash uchun joylashtirishdan oldin yoki o'simlik hosili yig'ib olinishidan oldin etilen produtsentlari bilan ishlov beriladi. Etilen tinim holatiga javobgar fitogormon-abstsiz kislotaning biosintezini stimullaydi. Shuningdek, etilen tomonidan fitoaleksin moddalarning hosil bo'lishi indutsirlanadi. Bu moddalar yordamida o'simlik patogen zamburug'larga qarshi kurashadi, shuningdek, patogen zamburug'larning hujayra qobig'ini parchalovchi xitinaza fermentining faolligini oshiradi. Tinim davriga o'tkazish va tinim davridan chiqarishni boshqarish usullari ko'p yillik daraxtlar uchun ham muhim ahamiyatga ega. Bu o'simliklarni qishning noqulay sharoitidan saqlash o'simliklarning tinim holatda bo'lishi bilan bog'liq. Hozirgi kunda mevali daraxtlarning tinim davrini stimullash usullarini yaratish ishlari olib borilmoqda.

Poyaning o'sishini stimullash. O'simliklar o'sishi- hujayralar-ning bo'linish va cho'zilish jarayonlaridan tashkil topgan bo'lib, nafas olish, fotosintez, o'simliklardagi moddalarning transporti, suv va mineral oziqaning tushishini ta'minlovchi biologik jarayonlar yig'indisidir. Har qanday fitoregulyator qo'llanilganda o'simliklar o'sishiga qandaydir ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklar olamida gigantizm va pakanalik faktlari kuzatilib, ulardan o'simlikshunoslik amaliyotida keng qo'llaniladi. Bunday holatning asosiy sababi fitogormonlarni boshqarish tizimiining buzilishi bo'lib, natijada o'simlik bo'yining xaddan ziyod o'sib ketishi yoki pakana bo'lishi kuzatiladi.

O'simliklarning ildiz tizimi auksinlar, poyasi gibberlinlar, generativ a'zolari brassinosteroidlar, gibberlinlar va sitokinlar tomonidan stimullanadi.

Ko'pchilik o'simlik nihollarining o'sishi subapikal zonadagi hujayralarning bo'linishi va cho'zilishini faollashtiruvchi gibberlinlar tomonidan stimullanadi, etilen, abstsiz kislota va ba'zi fenolli moddalar, tomonidan to'xtatiladi (ingibirlanadi). Niholning o'sish xarakteri apikal dominantlikni stimullovchi auksinlar tomonidan va bu jarayonni to'xtatuvchi sitokinlar tomonidan belgilanadi. O'simlik hujayralariga gibberlin analoglari kiritilganda, gibberlinlar miqdorining ortishi natijasida, uning

o'sishi bo'g'in oraliq'i masofasining cho'zilishi hisobiga stimullanadi. Ammo, bunda poya ingichkalashadi, uning mexanik mustahkamligi va yogochlanish darajasi pasayadi. Turli xil oilalarga mansub o'simliklarning gibberlinlarga ta'sirchanligi turlichadir. Masalan qovoqdoshlar oilasi vakillari nihollarining o'sishi faqat GK₄ va GK₇ tomonidan, g'alladoshlarda esa GK₁ va GK₃ tomonidan stimullanadi. Gibberlin analoglarining narxi qimmatligi sababli amaliyotda nihollarning vegetativ o'sishini stimullash hozircha keng tarqalmagan. Bu preparatlarni olishning arzon texnologiyalari ishlab chiqarilsa, o'simliklarni yashil massasini o'stirishda qo'llash muhim ahamiyat kasb etish mumkin.

O'simliklarga brassinosteriod va fuzikoktsinlar analoglari bilan ishlov berish orqali ham ularning o'sishini tezlashtirish mumkin, lekin bu preparatlar qimmatligi uchun ulardan bu maqsadda kam foydalaniladi.

Shuningdek, nihollar o'sishini tezlashtirish uchun gumin va fulvokislota preparati eritmalaridan, shuningdek simbiotik bakteriyalar va zamburug'lardan mikrobiologik sintez qilingan bir qator preparatlardan foydalanish ham mumkin. Bu preparatlarning ta'sir mexanizmi hozirgacha to'liq o'rganilmagan.

O'simlikshunoslik amaliyotida niholning bo'yiga o'sishini to'xtatishni ham boshqarish mumkin. Fitoregulyatorlar orasida o'simliklarning vegetativ o'sishini to'xtatuvchi *retardantlar* ham muhim o'rinni egallaydi. Bu sinf fitoregulyatorlarining birinchi preparati 1950 yilda AQSh professori Tolbert tomonidan sintezlangan va bug'doyning yerga yotib qolishini oldini olishda samarali qo'llanilgan sanoat ahamiyatiga ega bo'lgan. Keyingi yillarda bu fitogormonlar sinfi o'sishni boshqaruvchi faollikka ega boshqa kimyoviy birikmalar guruhlariga to'ldirildi.

Retardantlarning ta'sir mexanizmidagi farq, bu preparatlar komponentlarining sinergik ta'sirga ega kompozitsiyalarini yaratish imkonini berdi. Etilen produtsentlari bilan ammoniyning to'rtlamchi tuzlari, triazol va gidrazin mahsulotlari aralashmasi sinergizm xususiyatiga ega komponentlarning muayyan kontsentratsiyalari va nisbatlarida sinergizm namoyon bo'ladi va aralashma tarkibiga kiruvchi preparatlar, gibberlinlarning fitogormonal faolligining amalga oshishi yoki biosintezning turli bosqichlariga ta'siriga asoslangan.

Retardantlar eritmasi purkalgan g'alla ekinlarida poyasining qisqaradi va yo'g'onlashadi, yerga yotib qolish xodisalari kuzatilmaydi.

Fotosintezni boshqarish. Fitogormon tizimining barcha komponentlari fotosintezga qandaydir ta'sir ko'rsatadi. Lekin bu jarayon asosan sitokinlar va abstsiz kislotatomonidan nazorat qilinadi.

Sitokinlar xlorofill sintezini, xloroplastlarning differentsiyalanishini stimullaydi va og'izchalar ochilishini ta'minlaydi. Abstsiz kislota esa og'izchalarni yopilishiga javobgardir.

Fitoregulyatorlarning fotosintez jarayoniga ta'siri morfologiya bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin, masalan fotosintezning mahsuldorligi barg plastinkasi qiyalik burchagining poyaga nisbatan o'zgarishi bilan o'lchanadi.

Fotosintez jarayoniga retardantlar ham ta'sir ko'rsatadi. Bu preparatlar o'simliklarning vegetativ o'sishini qisqartirish va generativ organlar paydo bo'lish jarayonlarini stimullash maqsadida qo'llanilganda, ko'pincha, barglar maydoni, xlorofill miqdori, bargdagi qand miqdorini oshishi bilan birga borishi kuzatilgan.

Fotosintezning umumiy mahsuldorligini oshiruvchi preparatlar orasida, fotonafasolish regulyatorlari alohida o'rinni egallaydi. Fotonafas olishni pasaytiruvchi fitoregulyatorlar (mikstalol va boshqalar) ning ta'sir mexanizmi yetarlicha o'rganilmagan.

Moddalar tashilishini va hosilning sifatini boshqarish. O'simliklarda moddalarning transportini gormonlar orqali boshqarilishi kam o'rganilgan. Bu jarayonni boshqarishda auksinlar, gibberlinlar va sitokinlar hamkorlikda qatnashishi ham aniqlangan.

Fotosintez mahsulotlarining bargdan zahira organlarga tashilishini stimullovchi qator sun'iy fitoregulyatorlar yaratilgan. Ular orasida 3,6-dixlor-2-metoksibenzoy kislota metil efiri (dizugran yoki rakuza) va N,N-bis (fosfometil) glitsin (glifosin yoki polaris) ning samarasi yuqoridir. Bulardan birinchisi qand lavlagida, ikkinchisi esa shakarqamishida yaxshi samara berganligi xaqida ma'lumotlar olingan. Fitoregulyatorlar bargdan assimilyantlarning tashilishini faollashtirib, fotosintezning umumiy mahsuldorligini oshiradi, hosilning sifatini yaxshilaydi.

O'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini boshqarish. Yerda xaroratning ko'tarilishi qurg'oqchilikning ortishiga sabab bo'ladi va natijada qishloq ho'jalik mahsulotlarini yetishtirishning kamayishiga olib kelishi mumkin. Bunga yo'l qo'ymaslik uchun o'simliklarning suv tanqisligiga chidamli navlari selektsiyasi olib borilmoqda. Yuqori xaroratning noqulay ta'sirlarini yengishga yo'naltirilgan choralar ishlab chiqilmoqda. Bunda antistress ta'sirga ega fitoregulyatorlar yaratishga katta e'tibor qaratilmoqda.

Ma'lumki, sitokin, abstsiz kislota va brassinosteriod fitogormonlar o'simliklarni stress ta'sirlarga chidamliligini oshiradi. Fitogormonlarning bu xususiyati, ularning o'simlik hujayralarida stress oqsillar sintezini stimullashi bilan bog'liq.

Stress oqsillar – tirik organizmning stress ta'sirlardan o'z – o'zini himoya qilishining maxsus mexanizmidir. Bu moddalar organizm tomonidan tashqi muhit sharoitining keskin o'zgarishiga javoban ishlab chiqariladi, shu bilan birga stressning tabiatiga qarab, maxsus ya'ni aynan shu ta'sir turiga xarakterli stress oqsillarni paydo qilishi mumkin. Stress oqsillarni o'rganish 1980 yillarni ikkinchi yarmidan boshlandi. Bu moddalarning strukturasi va hujayralardagi roli haqida ba'zi ma'lumotlar olingan. Bu oqsillar orasida issiqlik shoki oqsillari (IShO) ko'proq o'rganilgan.

IShO 1974 yilda hayvonlarda, sal keyinroq o'simliklarda aniqlangan. IShOning mikroorganizmlar, o'simliklar, xasharotlar, parrandalar va sut emizuvchilarda ham bir xil ekanligi e'tiborni tortadi. Bu oqsilning kelib chiqishi barcha organizmlar konservatiligidan va qadimiyligidan dalolat beradi. IShO organizmda stress xarorat yuzaga kelganda ya'ni xarorat normadan 8-10⁰S yuqori bo'lganda sintezlana boshlaydi. Uning sintezlanish xarorati turli o'simliklarda turlicha bo'lib, masalan, arabidopsida – 37⁰S, bug'doyda – 40⁰S, sholida – 45⁰S ni tashkil etadi. IShO ning sintezi juda tez amalga oshadi. IShO ning axborot RNKsi stress boshlangandan 5 daqiqa o'tganidan so'ng paydo bo'ladi, yana 10 diqiqadan so'ng esa IShOning o'zini aniqlash mumkin. Stress boshlangandan 1,5-2 soat o'tganidan so'ng, hujayrada IShO ning maksimal kontsentratsiyasi yuzaga keladi va bu miqdor 2-4 soat davomida ushlab turiladi. Stress ta'sir davom ettirilganda organizm nobud bo'ladi. Stress ta'sir to'xtatilganidan 2 soat o'tgandan so'ng esa IShO biosintezi to'xtaydi, IShOni o'simliklarda taxminan ikki kungacha aniqlash mumkin.

IShOni biosintezini boshqarilishi gen darajasida IShO genlarining promotorixududida maxsus regulyator elementlar (RE) yordamida, shuningdek trans – omil (tF) regulyator oqsillar yordamida amalga oshiriladi. Stress yuzaga kelganda trans omil regulyator elementlar bilan qaytarhamkorlikka kirishadi va bu bilan IShO sintezini amalga oshiradi.

IShO kelib chiqishining umumiyliigi va qadimiyligining isboti oddiy organizmlar, o'simlik, hayvonlar regulyator elementlari va trans omillarning tuzilishidagi o'xshashlikdir.

Hujayrada IShO sintezi boshlanishi bilan boshqa oqsillarning sintezi sekinlashadi yoki umuman to'xtaydi. Bu uning quyidagi xususiyatlari bilan bog'liq: qoida bo'yicha IShO genlarida intronlar mavjud emasligi, protsessingga ketadigan vaqt va energiya sarflarini keskin qisqartiradi, polisomalar hosil bo'lishida IShO matritsasi boshqa oqsillarning axborot RNKsiga nisbatan ustunlik qiladi. Bu ularning 3'-uchidagi lider izchilliklarning tuzilishi bilan bog'liqdir.

IShO va boshqa stress oqsillarning absolyut miqdori xatto ularning eng yuqori kontsentratsiyasida ham juda kam bo'lib, faqat radioaktiv nishon yordamidagina aniqlanishi mumkin. Hozirgi kunga qadar hammasi bo'lib 100 ga yaqin individual IShOlar o'rganilgan.

O'simlik hujayralarida sitokinlar va brassinosteriodlar tomonidan sintezi stimullanadigan oqsillarga, IShOdan tashqari, stress oqsillarning yana qator guruhlarini kiritish mumkin, ular orasida sintezi abstsiz kislota tomonidan faollashtiriladigan sinikatsiya oqsillari (SO) ham olimlarning e'tiborini tortmoqda. Bu oqsillar o'simlik urug'larining namligini saqlashi, osmotik va tuz stresslariga chidamliligi, kuchli suv bug'lanishida suvni keskin yo'qotilishi kabi jarayonlarda suvning saqlanishini ta'minlaydi. SO IShO oqsillariga nisbatan kam o'rganilgan. Ular haqida faqat yuqori darajadagi gidrofil oqsillarni namoyon qilishigina ma'lum. Bu ularning

kolloid eritmalar hosil qilish orqali hujayrada gubka kabi suv zahirasini yaratish xususiyati bilan bog'liq.

Osmotik yoki sho'rlanish stresslariga javob tariqasida hosil bo'ladigan SONing darajasidan ko'pincha o'simliklarning qurg'oqchilik va sho'rlanishga chidamlilik ko'rsatkichi sifatida foydalaniladi.

O'simlikshunoslik amaliyotida o'simlikga tashqi omillarni asta – sekin ta'sir ettirish orqali ularni noqulay sharoitida o'sishga chiniqtirish ishlari amalga oshirilmoqda. Chiniqtirishning fiziologik mohiyati stress-oqsillar miqdorini sekinlik bilan oshirish orqali organizmning o'zgargan tashqi muhitida yashashini ta'minlashdan iboratdir. Fitogormonlarning bu xususiyati aniqlanishi bilan o'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini oshirishning qo'shimcha imkoniyati paydo bo'ldi.

Hozir butun dunyoda o'simlik kimyogarlari va fiziologlari antistress ta'sirga ega preparatlarni izlab topish ishlarini olib bormoqdalar. Aniqlanishicha, sitokinin analoglari shunday ta'sirini paydo qilishi mumkin ekan. Ammo, sitokininlarning yaqin strukturaviy analoglari (6-BAP, kinetin) tannarxining qimmatligi uchun keng foydalanilmaydi. Sitokininlarning uzoq struktural analogi kartolinlarning topilishi yuzaga kelgan vaziyatdan chiqishga sabab bo'lsa ajab emas.

Kartolinlardan avval o'simlik hujayralari kulturasida o'sishini boshqarish uchun sitokininlarning o'rnini bosuvchi sifatida foydalanilgan. Keyingi izlanishlar natijasida bu moddalarning keng ta'sir spektriga ega ekanligi aniqlandi, masalan, g'alla o'simliklari (arpa, bug'doy, sulis) kartolinlar bilan ishlov berilganda ularning suv tanqisligicha, yuqori va past xaroratga, shuningdek zamburug' patogenlarga chidamliligi oshganligi aniqlandi.

Bunday ko'p funktsiyalik kartolingga xos bo'lgan turli stress oqsillar sintezi, genomining faolligi va o'simliklar metabolizmini stimullashi kabi xususiyatlari bilan bog'liq. Kartolin bilan ishlov berish bilan bug'doy va arpaning sovuqqa chidamliligini oshirishga, quruq massasining xo'l massasiga nisbatan, hujayradagi bog'langan suvning erkin suvga nisbatan nisbatining oshishi, shuningdek, uglevodlar va suvda eruvchi oqsillarning hujayrada to'planishi hisobiga erishiladi. Bu shundan dalolat beradiki, biosun'iy jarayonlar intensifikatsiyasi natijasida hujayralarning cho'zilish orqali o'sish vaqtincha to'xtaydi, ularning vakuolizatsiyasi, sitoplazma hajmining ortishi va to'qimalarning qattiq sovuqqa chidash imkonini beruvchi strukturaviy va fazoviy tashkillanishi amalga oshiriladi.

Kartolin bilan ishlov berilgan o'simliklarda qurg'oqchilikka chidamlilikning rivojlanishida metabolizmning faollashishi ham aniqlangan. U suv tansiqqligini boshdan kechirayotgan hujayralardagi RNK- polimeraza faolligi, oqsillar sintezining tezlashishi va ularning denaturatsiyalanish xaroratining oshishi, polisomalarning parchalanishini to'xtatilishi, xlorofillar biosintezini va uning fotokimyoviy faolligini ta'minlovchi xloroplastlar membrana tizimining turg'unligini stimullanishi natijasi hisoblanadi,

O'simliklarni himoya qilish tizimida fitoregulyatorlar. 1940-1950 yillarda fitoregulyatorlardan qishloq ho'jalik o'simliklarining zararkunanda va kasalliklariga qarshi kurashda foydalanishi mumkinligi aniqlangan, lekin faqat, hozirga kelib, regulyator moddalar haqidagi bir tomondan patogen yoki zararkunandalar orasidagi hamkorlik va ikkinchi tomondan, ho'jayin-o'simlik bilan o'zaro aloqasi haqidagi zamonaviy tasavvurlar rivojlanishi natijasida fitoregulyatorlardan o'simliklar tizimini himoya qilishda samarali va yo'naltirilgan foydalanish imkoniyati paydo bo'ldi.

Zararkunandalar va kasallik chaqiruvchi organizmlar o'zi uchun qulay sharoit yaratish orqali ho'jayin o'simlikka regulyatorlik ta'sir ko'rsatadi.

Juda ko'p parazit organizmlar sitokinin analoglarini sintezlaydi, ular hujayralarni zararlab sitokinin bilan boyitadi, o'zining rivojlanayotgan joyiga o'simlikning boshqa qismlaridan oziqa moddalarning tushishini ta'minlaydi. Masalan, sarg'aygan bargning zamburug'lar bilan zararlangan qismi «yashil orolchalar» ko'rinishida bo'ladi, chunki sarg'aygan qismidan oziqa moddalarni o'ziga tortib oladi. Shunday «yashil orolchalar» o'simlik bargida xasharotlarning lichinkalarini paydo qiladi, bu lichinkalar barg hujayralariga so'lak bezlaridan sitokininlarni yuboradi. Parazit o'simlik zarpechak (*Cuscuta reflexa*) ham yuqori miqdorda sitokinin tutadi, bu unga ho'jayin o'simlik hujayrasidan oziqa moddalarni olishiga yordam berishi extimoldan holi emas.

So'nggi yillarda o'tkazilgan qator izlanishlar natijasida xasharotlarning o'zining rivojlanishi uchun o'simliklarning ba'zi gormonlariga extiyoj sezishi, bu gormonlar xasharotlar organizmida o'simliklarning regulyator moddalariga aylanishi ko'rsatilgan. Bu birinchi marta cho'l chigirtkasining normal jinsiy yetilishi uchun oziqa bilan birgalikda gibberlin GK_3 ning normada tushishi talab etilishi orqali aniqlangan. Boshqa fitogormon brassinolid xasharotlarning tullashini tezlashtiradi, bu brassinosteriodlar va ekdizonlarning kimyoviy tuzilishi o'xshashligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Shuningdek, abstsiz kislotaning hasharotlarning yuvenil gormonlari va tuban zamburug'lar jinsiy rivojlanish gormoni trispora kislotasi bilan ham o'xshash tuzilishga ega ekanligi aniqlangan.

Zararkunandalar o'zlarining normal rivojlanishi uchun oziqa bilan birga o'simlik gormonlarini ham olish zarurati tadqiqotchilarning bu yoki tuzilishi jihatidan shunga yaqin boshqa shu kabi moddalardan insektitsidlarning yangi avlodlarini yaratishda foydalanish haqidagi fikrlarining paydo bo'lishiga turtki bo'ldi. Bu preparatlardan foydalanilganda hasharotlar sonini kamaytirish yoki ular keltirgan zararini qisqartirishga metabolizmning qaysidir zaruriy zvenosini to'xtatish hisobiga emas, balki metamorfoz boshlanish vaqtini o'zgartirish yoki jinsiy yetilishga ta'sir etish orqali erishish mumkin.

O'simliklar evolyutsiya jarayonida patogen va zararkunandalarga qarshi o'zining himoya tizimini yaratgan. Bu tizimning signal va regulyator markazi etilen fitogormoni hisoblanadi. Patogen va zararkunandalar ta'sirida paydo bo'lgan jaroxatlarda etilen biosintezi keskin oshadi. Etilen sintezining avtokatoliz xususiyati bu fitogormonning miqdori faqatgina shikastlangan

joyida emas, balki butun o'simlikda oshishiga olib keladi.

O'simlik hujayralaridagi etilenning yuqori miqdori fitoaleksinlar (o'simliklarda antibiotik rolini boshqaruvchi moddalar)ning hosil bo'lishini stimullaydi, xitinazaning (hasharotlar ovqat hazm qilish tizimida xitinni va patogen zamburug'lar giflari qobig'ini tashkil etuvchi xitinsimon moddalarni parchalovchi fermentlar) faolligini oshiradi, hujayralarning bo'linish va o'sish jarayonlarini to'xtatuvchi va stress oqsillar sintezini stimullovchi fitogormon – abstsiz kislotaning sintezini stimullaydi. Etilen ba'zi o'simliklarda ko'pgina hayvonlar uchun zararli bo'lgan va o'simliklar o'sishini ingibirolovchi fenolli moddalar miqdorini oshiradi.

Etilenning himoyalovchi ta'siridan qishloh ho'jalik ekinlari mahsulotlari (kartoshka, piyoz, ildizmevalar)ni saqlashdagi kasalliklardan himoya qilishda qo'llaniladi. Bunday maqsadlar uchun o'simlik mahsulotlari saqlashga qo'yishdan oldin etilen produtsentlari eritmalarini purkash yoki ularda ivitish orqali ishlov berish mumkin. Brassinosteroidlar bilan kartoshka o'simligiga vegetatsiyalanayotgan shonalash davrida va tugunaklarini yig'ish davrida ishlov berilganda fitoaleksinlar hosil bo'lish intensivligini oshishi hisobiga ham shunday samara berishi aniqlangan.

Yangi ma'lumotlarga qaraganda, o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlari o'simliklarning bo'yiga o'sishi va shakllanishiga regulyatorlik ta'sir etishi bilan bir qatorda ularning zararkunanda organizmlarga nisbatan chidamliligini ham oshirar ekan. Bu quyidagi sabablar bilan bog'liq bo'lishi mumkin: 1) preparat regulyatorlik ta'siri bilan birga qaysidir parazitga nisbatan zaharli ta'sirga ham ega bo'ladi. Paklobutazol retardanti (kultar) olma va nokning un shudring va parsha kasalligini keltirib chiqaruvchilariga nisbatan shunday xususiyatga ega;

2) fitoregulyatorlar ta'sirida o'simlikning qaysidir morfologik ko'rsatkichlarining va umumiy holatining yaxshilanishi, uning kasallik va zararkunandalar ta'siriga chidamliligini oshirdi. Masalan, g'alla ekinlari xolinxlorid bilan ishlov berilganda poyasining qisqarishi, yo'g'onlashishi natijasida yerga yotib qolmaydi zamburug'li kasalliklar bilan zararlanishi kamayadi;

3) fitoregulyator ta'sirida ho'jayin o'simlik metabolizmidagi o'zgarishning parazit organizmlar uchun nomuqobilligi;

4) ho'jayin-o'simlik rivojlanish fazasining parazit fazasiga nisbatan o'zgarishi, oziqlanish davrining qisqarishi, shuningdek zararkunanda ta'sirining kamayishini ta'minlaydi (shu kabi ta'sirlar natijasida urug'lar unishi va nihollar o'sishi boshlang'ich bosqichlarida stimullanishi hisobiga madaniy o'simliklarning o'sishi tezlashgani kuzatilgan).

Umuman olganda, o'simliklarning o'sish va rivojlanish regulyatorlarini qishloq ho'jalik o'simliklarining kasalliklari va zararkunandalardan himoya tizimida qo'llash va o'rganish borasidagi izlanishlar rivojlanishinig boshlang'ich davrida turibdi, yaqin kelajakda o'simlik mahsulotlarini yetishtirish va saqlashdagi nobudgarchililarni sezilarli darajada qisqartirish imkoniga ega bo'lamiz.

O'simlikshunoslik va biotexnologiyada fitoregulyatsiyani o'rganish va qo'llashning rivojlanish istiqbollari

Fitoregulyatorlar paydo bo'lganidan so'ng, ular qisqa vaqt ichida o'simliklar biotexnologiyasida, o'simlikshunoslikda, oziq-ovqat va dori-preparatlar ishlab chiqarish tarmoqlarida muhim o'rinni egallay boshladi. So'nggi yillarda jamoatchilikning qishloq xo'jaligini kimyolashtirishga qarshi e'tirozi fitoregulyatorlarni qo'llashga ham qaratilgan bo'lsa ham, bu preparatlarning tavsiya etilayotgan me'yori zaharlilik ta'sir juda kam va o'simliklarda to'planmaydi shubhasiz kelgusida istiqbolga ega bo'ladi. Mazkur moddalar o'simliklarning hosildorligini, chidamliligini oshiradi, o'simlik mahsulotlarini ishlab chiqarishni ko'paytiradi. Fitoregulyatorlarning o'simlikning hayot faoliyatini boshqarishdagi rolining ahamiyati kun sayin ortib bormoqda.

Yaqin kelajakda o'simliklarning o'sishni boshqaruvchi regulyatorlarni o'rganishning rivojlanishi quyidagi yo'nalishlar bo'yicha amalga oshirilishi ko'zda tutilmoqda (bashorat):

o'simliklarni o'sishini boshqarishda tabiiy regulyatorlarni qo'llash, ularning gormon balansi va ta'sir mexanizmini o'rganish;

zaharlilik ta'siri kam, samarali, tor doirasidagi ta'sirga ega preparatlarni sintez qilish;

o'simliklarning o'sishini boshqaruvchi regulyatorlarni hujayralar seleksiyasida va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda qo'llash;

o'simliklarni o'sishini boshqaruvchi regulyatorlarni o'g'itlar, pestitsidlar va mikroba preparatlar bilan birgalikda qo'llash texnologiyasini yaratish;

o'simlik o'sishini boshqaruvchi fitoregulyatorlarni o'simliklar himoyasida qo'llash;

ekinlarning holatini baholash usullari va kriteriyalarini ishlab chiqish;

fitoregulyatorlar qo'llanilishining ekologik va genetik nazorati.

Nazorat savollari:

1. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini genetik boshqarish qanday amalga oshiriladi?
2. Qanday mexanizmlar yordamida fitogormonlar sintezini boshqarish mumkin?
3. Muayyan organdagi fitogormonlar miqdori qaysi jarayonlarga bog'liq?
4. Fitogormonal boshqarish bilan bog'liq bo'lgan qanday sabablar o'simliklarning pakanaligini yuzaga keltiradi?
5. Ildiz, poya va barg hujayralarining auksining bir xil kontsentra-tsiyasiga ta'sirchanligi turlicha bo'lishining sababi nimada?
6. Fitogormon va fitoregulyatorlar tushunchalari orasidagi farq nimada? O'simliklarning gormonal statusi va uning monitoringi usullari.

Mavzu: Tuproq unumdorligini oshirishda biotexnologiya

Reja:

1. Simbiotik azotni o'zlashtirilishida biotexnologiyaning genetik asoslari
2. Azotni o'zlashtiruvchi tizimlarning xilma-xilligi va o'ziga xosligi
3. Dukkakli o'simliklar va tugunak bakteriyalar (rizobiylar)ning simbioz munosabati
4. Azotni o'zlashtiruvchi simbiotik biotizimlar genetik asoslari va evolyutsiyasi kontseptsiyasi

Tayanch iboralar: mikroorganizmlar , mikroob-azotfiksator, tugunak bakteriyalar, azotfiksator, anaerob, grammanfiy va grammusbat eubakteriyalar, sianobakteriyalar, aktinomisetlar, arxebakteriyalar, diazotrof

Simbiotik azotni o'zlashtirilishida biotexnologiyaning genetik asoslari

O'simliklar rivojlanishining cheklovchi asosiy omillardan biri ularning azotli birikmalar bilan yetarli darajada ta'minlab turilmasligidir. Faqat ba'zi tuproqlar, masalan qora tuproqlarda harakatchan azot birikmalarining miqdori o'simliklar ehtiyojini to'liq qondirishi mumkin. Bunday holatda, ya'ni azot tanqisligi sharoitida o'simliklar atmosfera havosining qariyb 80% ini tashkil etadigan molekulyar azot (N_2) qurshovida bo'ladi.

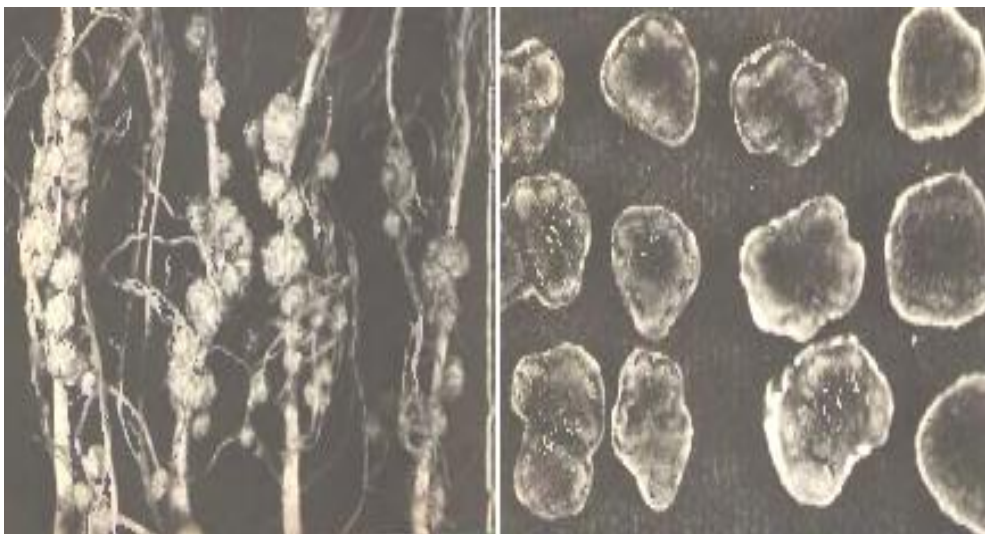
Biologik bog'langan azotning ahamiyati, birinchidan, uni olish iqtisodiy jihatdan arzon, tejimli jarayon ekanligiga asoslanadi. Texnik azotni ishlab chiqarish yuqori harorat ($300\text{ }^{\circ}\text{S}$) va yuqori bosim (350 atm)ni talab qilsa, atmosfera azotini o'zlashtirilishi oddiy harorat va bosimda amalga oshadi. Azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar tomonidan olinadigan azot, mohiyati jihatidan mutlaqo «tekin» hisoblanadi. Ikkinchidan, mikroorganizmlar tomonidan havodan o'zlashtirilishi hisobiga hosil bo'ladigan biologik azotning ahamiyati va uning miqdori juda kattaligidadir.

Ilmiy adabiyotlardagi ma'lumotlarda butun yer yuzidagi qishloq xo'jaligi ekinlari tuproqdan bir yilda 100 mln tonna azotni o'zlashtirilishi; undan mineral o'g'itlar bilan birga 12 mln tonnasining qaytarilishi, qolgan yetishmaydigan 88 mln tonna azotfiksator mikroorganizmlar hisobiga kompensatsiya qilinishi qayd etiladi.

Ko'plab mikroorganizmlar biologik azotni o'zlashtirish xususiyatiga egadirlar. Keyingi yillarda olib borilgan tadqiqotlar mikroob-azotfiksatorlar guruhi to'g'risida ma'lumotlarni boyitdi. Ular taxmin qilingandan ko'ra ko'proq bo'lib chiqdi. Hozirda tugunak bakteriyalar va azotobakterdan tashqari anaerob azot to'plovchi (*Clostridium pasterianum*), shuningdek bir qator mikobakteriyalar, ba'zi termofil bakteriyalar, ko'pgina zamburug'lar, alvon rang bakteriyalarning ham uchrashi isbotlangan.

Ko'pgina tadqiqotchilarning erkin yashovchi azotfiksatorlarning bir yilda 1 ga yerga 10-15 kg atrofida azot to'plashiga oid fikrlari o'xshash bo'lib, dukkakli o'simliklar va tugunak bakteriyalar faoliyati natijasida turli o'simliklarning ildiz va

yer usti qismlarida yiliga har gektariga 75-100 kg va undan ortiq azot to'planishi isbotlangan. Dukkakli o'simliklarning turli xil turlari fosfor va kaliy bilan to'liq ta'minlanganda yiliga har bir gektar yerga: sebarga-150-160, bo'ri dukkagi-160, beda-300 kg gacha azot to'play oladi (5.1 - rasm).



11.1 - rasm. Dukkakli o'simliklar tugunaklarining umumiy ko'rinishi

Ma'lumki, azot o'simliklar tomonidan bevosita o'zlashtirilmaydi. Uning o'zlashtirilishi uchun nitrogenaza fermenti zarur bo'lib, o'simliklarda boshqa eukariot organizmlar singari bu ferment uchramaydi. Faqat ba'zi prokariotlar – molekulyar azot - N_2 ni o'zlashtirish xususiyatiga ega bo'lib, ular bilan ko'plab o'simliklar simbioz munosabatiga kirishadilar. Simbiotik azotfiksatsiya tizimlari genetikasi tizimini ishlab chiqilishi ularning yo'naltirilgan konstruktsiyalarini tuzish va qishloq xo'jaligida keng foydalanish imkonini beradi.

Azotni o'zlashtiruvchi tizimlarning xilma-xilligi va o'ziga xosligi

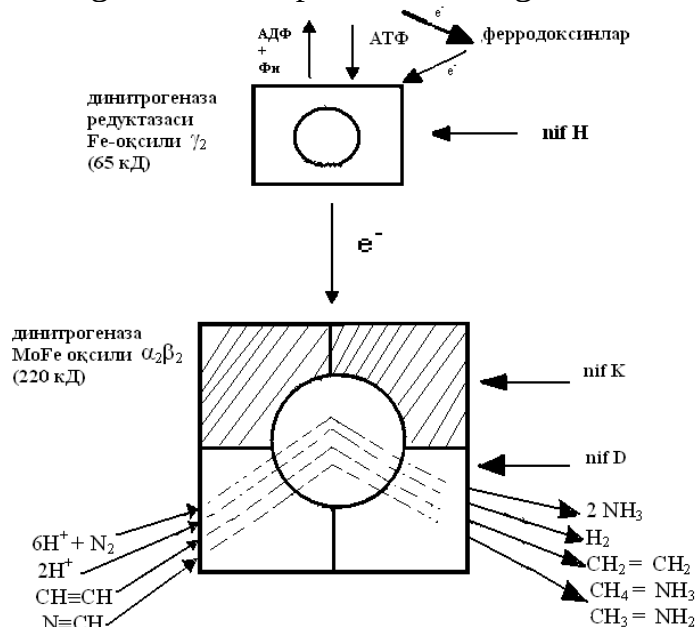
Azotfiksatorlar mikroorganizmlarning alohida taksonomik birligini tashkil etmaydi. Ular prokariotlarning deyarli barcha asosiy guruhlari: grammanfiy va grammusbat eubakteriyalar, sianobakteriyalar, aktinomitsetlar va arxebakteriyalar orasida uchraydi. Azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlarning ko'pchiligi diazotroflar bo'lib, molekulyar azot (N_2 ni azotning yagona manbai sifatida o'zlashtira oladilar. Shu bilan birga ba'zi azotfiksatorlar N_2 ni faqatgina o'simliklar bilan (*Rhizobium*, *Frankia*) simbioz munosabatdagina o'zlashtiradilar.

Shuningdek, qator mikroorganizmlar (*Azorhizobium*, *Anabaena*, *Nostoc*) diazotrofiya va o'simliklar bilan simbioz munosabatga kirishish xususiyatining ikkalasini ham o'zida mujassamlashtirgan bo'ladi.

Nitrogenaza reaksiyasi. Molekulyar azotni qaytarilishi nitrogenaza fermenti bilan katalizlanadi (5.2 - rasm). Mazkur ferment uch xil tipdagi oqsillar (α , β , va χ) va ikkita kofaktor: molibden-temir-(MoFe) saqlovchi omillardan iborat. Nitrogenaza ikkita subbirlilik, tarkibiga- Mo-Fe- kofaktor kiruvchi katta-denitrogenaza (uni II komponent deb ham yuritiladi) va Fe-kofaktor saqlovchi

kichik-reduktaza (I komponent) dan tashkil topgan. N_2 molekulalarining qaytarilishi uning MoFe-kofaktori bilan o'zaro ta'siri natijasida, ya'ni denitrogenazada amalga oshadi.

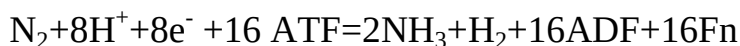
Reduktazaning vazifasi elektronlarni denitrogenazaga o'tkazish bilan yakunlanadi. Temir ionlari geminli (dinitrogenazalar reduktazasi) yoki geminsiz (denitrogenaza) shakldagi ikkala komponent tarkibiga kiradi.



11.2-rasm- Nitrogenazaning tuzilishi va vazifalari

O'zining murakkab tuzilishiga qaramasdan nitrogenaza past darajadagi substrat spetsifikligiga: u uch bog'li birikmalarning keng spektrini qaytarish, shuningdek atsetilenni etilenga aylantirish xususiyatiga ega. Bu reaksiya nitrogenaza faolligi bilan aniqlanadigan, atsetilen va etilenning xromotografik ajratilishi osonligiga asoslangan "atsetilenli usul" bilan tahlil qilinadi. Ba'zi bir cheklanishlar (atsetilen bilan ta'sirlashganda nitrogenazaning katalitik xususiyatlari o'zgarishi; mikrob-o'simlik simbioz munosabatlarida – atsetilenning o'simlik to'qimalarini fiziologik xususiyatiga ta'siri)ga qaramasdan, atsetilenli usul genetik va seleksion tadqiqotlarda keng qo'llanilmoqda.

Nitrogenaza katalizlaydigan umumiy reaksiya tenglamasini quyidagicha ifoda etish mumkin:



Reaksiya tenglamasidan ko'rinib turibdiki, nitrogenaza reaksiyasining energiya sarfi juda yuqori. Bundan tashqari nitrogenazalar sintezi va unga xizmat qiladigan fermentlar (nitrogenaza oqsilini shakllanishini nazorat qiluvchi kofaktorlar sintezi, elektronlarni uzatish va azotfiksatsiya mahsulotlarini assimilyatsiya qiluvchi fermentlar) hosil bo'lishi uchun katta energiya sarflanishi talab etiladi. Aniqlanishicha, 1g azot o'zlashtirilishi uchun 100-200g glyukoza sarf qilinarkan. Bundan aniq xulosaga kelish mumkinki, mikroblar nitrogenaza

kompleksini bog'langan azotning qat'iy tanqis bo'lgan va energiya bilan yetarli darajada ta'minlangan sharoitidagina sintez qila oladilar.

Mikroorganizmlar uchun samarali energiya manbai - oksidlanuvchi fosforillanish va fotosintez jarayonlaridir. Biroq azotfiksatsiyani bu jarayonlar bilan bog'lash qiyinligi shundaki, nitrogenaza erkin kislorodga nisbatan juda sezgir bo'lib, u O₂ ning juda kam kontsentratsiyalarida ham inaktivatsiyaga uchraydi. Buning uchun turli xil mexanizmlar mavjud, ular azotofiksator - mikroblarda vujudga keluvchi «kislorodli paradoks», ya'ni nitrogenazani kisloroddan himoya qilishda energiya olishning yuqori intesivligini saqlab qolgan holda, nitrogenazani erkin kisloroddan himoya qiladi. Bu erkin yashovchi diazotroflarda nitrogenazani kodirlaydigan genlarning faqat anaerob yoki mikroaerofil sharoitlarda faollashuvi hisobiga (erkin yashovchi eubakteriyalar, arxebakteriyalar), yokiazot to'plovchi hujayralarda kislorodni juda qiyin o'tkazadigan qalin qobiq (tsianobakteriyalarning geterotsistalari) hosil bo'lishi hisobiga amalga oshadi. O'simlik va azotfiksator-mikroblar bilan simbiozda nitrogenazani kisloroddan himoya qilish vazifasini, odatda ho'jayin o'simlik bajaradi.

Nitrogenazaning sintezi va yetilishi ko'pchiligi barcha azotfiksatorlar uchun umumiy bo'lgan *nif* – genlarning murakkab tizimi orqali kodirlanadi. Ularning ichida eng ko'p o'rganilgani – *Klebsiela pneumoniae* enterobakteriyalari hisoblanib, bu tizim bitta klasterga joylashgan yettita transkripsiya birliklariga birlashgan 25 ta gendaniborat.

nifH, *nifD*, *nifK* genlari nitrogenazaning γ , α va β oqsillari strukturasini; *nifM*, *nifS*, *nifU*, *nifY* – mazkur oqsillarning protsessingini kodirlaydilar. Genlarning maxsus guruhi (*nifB*, *nifE*, *nifN*, *nifV*) Mo – Fe – kofaktori sintezini nazorat qiladi. Nitrogenaza kompleksi komponentlari strukturasini kodirlaydigan genlardan tashqari *Klebsiella* ning *nif* operonini ikkita reguliyator gen tutadi. *nifA*, *nifHDK* genlari va boshqa *nif* genlar transkripsiyasini faollashtiruvchi oqsilni kodirlasa, *nifL* geni mahsuloti *nif* – genlarning kislorod yoki bog'langan azot ishtirokidagi transkripsiyasini repressorlaydi. Biroq ko'pchilik azotfiksatorlarda *nifL* mavjud bo'lmaydi, uning vazifasini boshqa genlar bajaradi.

O'simliklarning azotfiksatorlar bilan simbiozi. Mikroblar orasida azotni o'zlashtirish qobiliyatini keng tarqalishini ta'minlaydigan asosiy omillardan biri - bunday xususiyatiga ega bo'lmagan va natijada azotga muhtoj bo'lgan organizmlar bilan simbioz munosabat hosil qilishi hisoblanadi. Azotfiksatorlar bilan simbioz yashashga eng muhtoj organizmlar o'simliklar hisoblanadi, ular azotli birikmalarni boshqa birikmalardan (hayvonlar kabi) yoki organik qoldiqlardan (zamburug'lar kabi) o'zlashtira olmaydilar.

Axebakteriyalardan tashqari deyarli barcha azotfiksatorlar o'simliklar bilan uzviy munosabatga kirishish xususiyatiga egadir.

O'simliklar bilan simbioz munosabatga kirishadigan azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar uch guruhga bo'linadi: hujayra ichki simbiiontlari (*Rhizobium-Frankia*, *Nostoc-Gunnera* bilan simbiozda); 2) o'simlik ichida joylashgan, lekin hujayra ichiga kirib bormaydigan mikroblar (*Azolla* bilan simbiozda-Anabaena yoki *Nostoc*; *Acetobakter* va *Azoarcus* - endofit bakteriyalari); 3) ildizda

yashovchi assotsiativ diazotroflar (*Azospirillum* *Flavobakterium*). Azot o'zlashtiriladigan simbioz munosabatlarda sheriklarning o'zaro ta'siri umumiy maqsadlar bilan ta'riflanadi: a) mikrobnining azotfiksatsiya mahsulotlarini ho'jayin hujayrasi (to'qimasi) ga eksport qilishi, natijada uning bog'langan azotga nisbatan qaramligi susayishi hisobiga ekologik potentsiali sezilarli darajada ortadi; b) ho'jayin mikrosimbiont uchun ekologik bo'shliq yaratib beradi (bunda u erkin yashovchi mikroorganizmlar bilan raqobatdan xalos bo'ladi), shuningdek azot o'zlashtirish uchun sarflanadigan energiyani mikroorganizm hisobiga qoplaydi.

Azotni o'zlashtiruvchi mikroblarning fototrof organizmlar bilan simbiozida ikki xil fundamental biokimyoviy jarayon azotfiksatsiya va fotosintezning simbiogen birikmasi hosil bo'ladi. Lekin simbiotik munosabatni N - metabolitlarni fotosintatlarga «tabiiy almashinuvi» deb qarash noto'g'ri bo'lar edi. Ko'pgina o'simliklarning azotfiksatsiyalovchi bakteriyalar bilan munosabatga kirishishida sheriklarning uzviy strukturaviy – funktsional integratsiyasi kuzatiladi, u o'simlik va bakteriya genlarining o'zaro regulatsiyasi va yo'naltirilgan muvofiqlashgan ekpressiyasiga asoslanadi. U sherik hujayralarning chuqur differentsiallashtiruvchi, shuningdek ular orasida uzviy regulatör munosabatlari shakllanishi bilan borishi ham mumkin.

Dukkakli o'simliklar va tugunak bakteriyalar (rizobiylar)ning simbioz munosabati

Dukkakli o'simliklar (*Fabaceae* oilasi) bilan tugunak bakteriyalar (rizobiylar) orasidagi simbioz munosabati eng yaxshi o'rganilgan organizmlar aro tizimlar hisoblanadi. Buning bir qancha sabablari mavjud. Rizobiylar (*Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*) fakultativ simbiontlar hisoblanib, ex-planta sharoitida oson o'sa oladi va barcha zamonaviy molekulyar genetik usullar bilan tadqiq etish uchun qulay hisoblanadi. Dukkakli ekinlarning tugunaklari o'simliklarning muhim funktsiyalari: signal jarayonlari va genlar ekpressiyasi, hujayralarning differentsiylanishi va organogenez, azot va uglerod almashinuvini tahlil qilish uchun juda qulay model hisoblanadi. Dukkakli – rizobial simbiozni o'rganishda asosiy omil uning amaliy ahamiyati, ya'ni ko'plab dukkakli o'simliklar muhim qishloq ho'jalik ekin turlariga kirib, ularning hosildorligini oshirishi dolzarb muammo hisoblanishi bilan bog'liq.

Rizobiylar va o'simliklarning o'zaro ta'siri juda yuqori spetsifiklikga (o'ziga xoslikka) ega (5.1-jadval). Bu birinchidan, simbiozning deyarli faqat dukkakdoshlar oilasiga xos bo'lib cheklanganligi, biroq bunga istisno ravishda faqat *Parasponia* o'simligi (*Ulmaceae* oilasi) dukkakdoshlarga mansub bo'lmasa ham rizobiylar bilan tugunaklar hosil qilishi orqali ifodalanadi. Ikkinchidan, rizobiylarning ko'pchiligi dukkakli o'simliklarning chegaralangan qismi bilan bitta avlod (*R. galegae*, *R. leguminosarum* bv. *Trifoli*) ga mansub yoki bir necha taksonomik avlodlari bilan (*Rhizobium meliloti*, *R. leguminosarum* bv. *viceae*) simbioz munosabatga kirishadi.

Dukkakli – rizobial simbioz ko'p bosqichli murakkab jarayon bo'lib, u to'rt xildagi jarayon: erta (preinfeksion) ta'sir; tugunaklar morfogenezi;

endosimbiontlar taraqqiyotini boshqarish; tugunaklarning azot to'plovchi a'zo sifatida faoliyat yuritishi kabilarni ichiga o'z oladi. Bu jarayonlarning barchasi bakteriyalar, shuningdek ho'jayin-o'simlik tomonidan qat'iy nazorat ostida bo'ladi.

Preinfeksion (signal) ta'sirlar. Har qanday simbioz munosabatda sheriklar o'rtasida molekulyar signallar bilan almashinuv sodir bo'ladi. Simbiozning dastlabki bosqichlarida signalling organizmlarning erkin yashash tarzidan simbioz holatiga o'tishini, keyingi bosqichlarida – simbiozning faoliyatini ta'minlashga xizmat qiladigan metabolitik va morfogenetik jarayonlarni kechishiga sabab bo'ladi. Signallar ko'pincha nishon–genlarning transkripsiyasi va translyatsiyasi darajalarida ta'sir ko'rsatib, simbioz munosabatlarni yuksak o'simliklarda genlarning differentsial ekspressiyasini o'rganish uchun qulay modelga aylantiradi.

11.1. Jadval

Dukkakli o'simliklar va tugunak bakteriyalar o'zaro ta'sirining o'ziga xosligi

B a k t e r i y a l a r	O ' s i m l i k l a r
Rhizobium meliloti	Medicago (beda), Melilotus (qashqarbeda), Trigonella (yo'ng'ichqa)
R. leguminosarum bv. trifolii	Trifolium (sebarga)
R. leguminosarum bv. viceae	Pisum (no'xat), Vicia (vika), Lathyrus (ko'k no'xat), Lens (yasmiq)
R. leguminosarum bv. phaseoli (R. etli),	Phaseolus (loviya)
R. tropici	Galega (galega)
R.galegae	Glycine (soya)
Sinorhizobium fredii	Lotus (lyadvinets), Lupinus (bo'ri dukkagi)
Mezorhizobium loti	
Bradyrhizobium japonicum	Glycine (soya)

Signallarning sinteziva ajralib chiqishi. Tugunak bakteriyalar va o'simliklar orasidagi simbioz munosabati rizobiylarning bakteriya virulentlik genlari faollashtiruvchisini (nod-ingliz tilidan nodulation-tugunak hosil bo'lishi) o'simlik flavanoidlariga ta'sir reaksiyasidan boshlanadi. Bunday genlar nazorati ostida rizobiylar tugunaklar shakllanishining ilk bosqichlarini boshlab beruvchi lipo-xito-oligosaxaridli Nod-omillarni sintezlaydilar. (11.2-rasm) Hozirgi vaqtda rizobiylarda 50 dan ortiq virulentlik genlari aniqlangan. Ularning bir qismi barcha rizobiylar uchun «umumiy» (strukturaviy-funksional jihatdan o'xshash) bo'lsa, boshqalari – har bir tur yoki shtamm uchun spetsifikdir. «Umumiy» nod –genlar (nod A, nodB, nodC) dagi mutatsiyalar simbioz taraqqiyotining ilk bosqichlaridayoq o'zgarishlar-ildiz tukchalarining buralishi kelib chiqishiga sabab bo'ladi.

Ho'jayinga tegishli genlar (*nodH*, *nodF*, *nodQ*, *nodZ*, *nodX*) mutatsiyalari natijasida o'zaro ta'sir etishning so'nggi, ya'ni infeksiyon iplar hosil bo'lishi va tugunak meristemalari shakllanishi bilan bog'liq bosqichlari izdan chiqadi. Bunday virulentlik genlari guruhlarida orasidagi muhim tafovutlar ularni rizobiylarning turli xil turlariga ko'chirib o'tkazilganda ham kuzatiladi. Ho'jayinga xos o'ziga xoslik genlarini ko'chirib o'tkazish retsipient shtammlar donor-shtammning ho'jayin-o'simliklarida tugunaklar shakllanishiga olib keladi. Bunday samara «umumiy» *nod* genlari ko'chirilib o'tkazilganda kuzatilmaydi, agar retsipient sifatida o'zining «umumiy» *nod*-genlari buzilgan avirulent mutant qo'llanilsa, unda dastlabki ho'jayin-o'simliklarda tugunak hosil qilish xususiyati tiklanadi.

Har ikkala guruh genlari indutsibel hisoblanadi: ularning faolligini faqat rizobiylarning o'simlik rizosferasiga tushganidan so'ng qayd etishga muvaffaq bo'lingan. Bunda, dukkakli o'simliklar urug'i yoki ildizlaridan tuproqqa ajralib chiqadigan flavanoidlar bakteriyalarning NodD oqsili bilan o'zaro ta'sirlanadi, natijada u qolgan *nod*-genlar (*nodD* -rizobiylarning yagona konstitutiv faoliyat yurituvchi geni) ning transkripsiyasini faollashtirish xususiyatiga ega bo'ladi. *nodD* geni transkripsiyani boshqaruvchi oilaning vakili hisoblanib, bu oilaga yaxshi o'rganilgan, *lysR* va *araS* genlari ham kiritiladi. NodD oqsilida ikkita domen: DNK bilan bog'lanadigan birmuncha konservativ bo'lgan, taxminlarga ko'ra, flavonoidlar bilan o'zaro ta'sirga kirishadigan S-qism aniqlangan. NodD oqsili rizobial hujayraning flavanoidlar o'tadigan ichki membranasi bilan bog'langan bo'ladi. Ular bilan o'zaro ta'sirlashgan NodD oqsili o'zining konformatsiyasini o'zgartiradi, natijada uning virulentlikning indutsibel genlari promotorlarida joylashgan konservativ «*nod – box*» ketma – ketligi bilan bog'lanish imkoniyatiga ega bo'ladi. Buning oqibatida mazkur promotorlarning DNK –polimeraza bilan o'xshashligi ortadi va ularning transkripsiyasi indutsirlanadi.

Virulentlik genlarining ta'siri natijasidagi oxirgi mahsulot Nod-omillar hisoblanadi, ularni sintez qilish qobiliyati rizobiylardagi eng nodir xususiyatdir. Bu omillar modifikatsiyalangan lipo – oligosaxaridlar bo'lib, ular – atsetilglyukozaminning 3 – 6 qoldig'i va 16 – 20 tagacha uglerod atomlarini saqlovchi to'yingan yog' kislotasi radikallaridan iborat (5.3 (a) - rasm). Bu omillarning biosintezi quyidagi jarayonlarni o'zichiga oladi. (5.4- rasm):

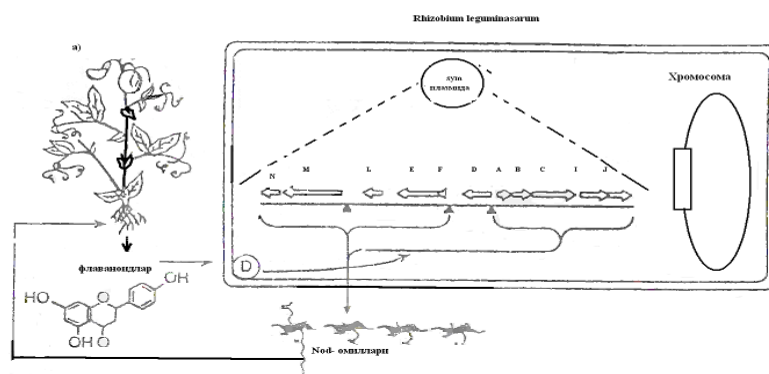
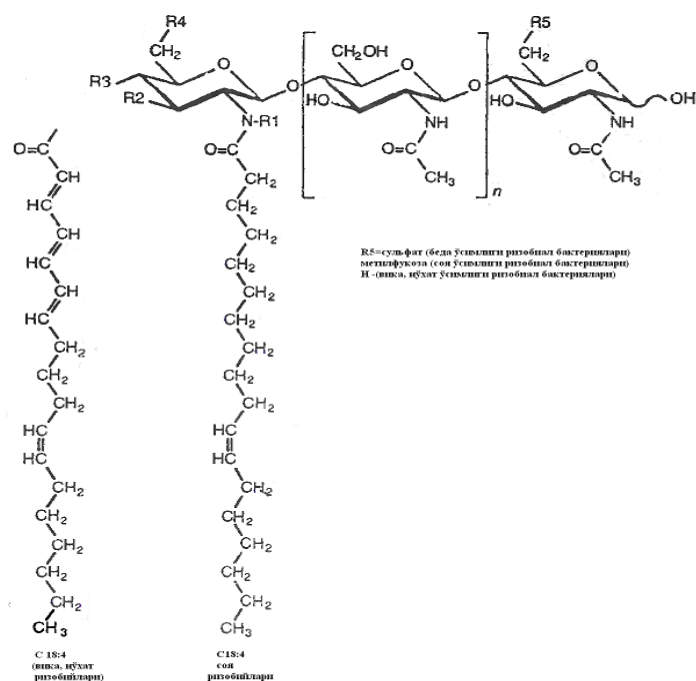
1) 1-4- β -glikozidli bog'lar hosil bo'lishi bilan bog'liq N-atsetilglyukozaminning polimerizatsiyasi (NodM oqsili nazorati ostidagi fukozadan sintezlanadi). NodC oqsili katalizlaydigan ushbu reaksiya xitin oligomerlarining hosil bo'lishiga olib keladi;

2) glyukozaminning oxirgi (NodV bloki tomonidan katalizlanadigan) qoldig'ini «reduktsiyalamaydigan» R1 holatda deatsetillanishi va moy kislotasi qoldig'ining azot atomiga birikishi (NodA oqsili bilan katalizlanadi);

3) hosil bo'lgan lipo-xito-oligosaxarid(Nod – omilning po'stloq qismi) modifikatsiyasi; «reduktsiyalovchi» va «reduktsiyalamaydigan» qismlaridagi

vodorod atomlari turli xil radikal (fukozil, sulfat, metil, atsetil va h.k.) larga joylashadi.

Shuni ta’kidlash lozimki, Nod – omili biosintezining ushbu bosqichlari *nod*-genlarning turli guruhlari tomonidan nazorat qilinadi: po’stloq qismining sintezi «umumiy» *nod*-genlari nazorati ostida bo’lsa, uning modifikatsiyasi esa - ho’jayinga xos genlar nazoratida bo’ladi.



11.3. rasm. Dukkakli o’simliklar va tugunak bakteriyalarning o’zaro signal munosabatlari tizimi:

a-rizobiylarning Nod-omillari strukturasi(eng muhim o’rindoshlar ko’rsatilgan: reduksiyanmagan qism (S18:1yoki S18:4) dagi atsil guruhlar va R5 yo’nalishdagi o’rindoshlar reduksiyanadigan qismda; b- Rhizobium leguminosarum bakteriyasi bilan no’xat o’simligi orasidagi signal molekulalari bilan almashinish sxemasi (o’simlik ildizlari spetsifik flavanoidlarni ajratadi, ular bakterial NodD oqsili bilan kompleks ravishda bakteriyalarning signal molekulalari – Nod-omillarni faollashtiradi. Oxirgi mahsulotlarning biosintezi Sym- plazmidada joylashgan genlarda kodirlanadi.

sulfatlanishi beda o'simligining rizobiylari (*R. meliloti*) uchun xos bo'lib, u «gomologik» ho'jayin (beda)da kechadigan boshlang'ich simbiotik reaksiyalar induktsiyasi uchun zarur bo'ladi, sulfat guruhlarning uchramasligi esa (vika o'simligida) xuddi shu reaksiyalarning induktsiyasiga sabab bo'ladi. Sulfatlanish jarayonini katalizlaydigan inaktivlashtiruvchi *NodN* oqsili mutatsiyalarida *R. meliloti* bedaga nisbatan virulentligini yo'qotadi, biroq uning simbiotlari (*R. leguminosarum* bv. *viceae*) *nodN* geni yo'qotilgan vikaga nisbatan virulentlikka ega bo'ladi.

Nod-omil modifikatsiyalarining ho'jayinga xoslik belgisini nazorat qilishdagi ishtirokining eng ko'p o'rganilgan misoli bu – *nodX* geni katalizlaydigan R6 holatining «reduktsiyalanuvchi qism»ining atsilirlanishidir. Bunday modifikatsiya no'xat tugunak bakteriyalari (*R. leguminosarum* bv. *viciae*) ga «afg'on» no'xatlarini zararlash (infektsiyalash) xususiyatini beradi. «Afg'on» no'xatlarining mazkur bakteriyalar bilan inokulyatsiyalanishiga moyilligi bo'lmaydi, chunki bu o'simliklar *sum2* allellari bo'yicha gomozigot bo'ladi. *nodX* genini undan holi bo'lgan shtammlarga ko'chirib o'tkazilganda ular atsetillangan *Nod*-omilni sintezlash qobiliyatiga ega bo'ladi va «afg'on» no'xati o'simligida tugunak hosil qiladi. Rizobiylarga R6 holatini fukozillanishini belgilovchi *nodZ* genini ko'chirib o'tkazilganda, o'simliklarning *sym2*-genlari nazorat qiladigan chidamliligini yengish xususiyatini hosil bo'lishi kutilmagan hodisa bo'lib chiqdi. Bu gen soya tugunak bakteriyalaridan ajratib olingan bo'lib, ular «afg'on» no'xatlarida simbiozning eng dastlabki reaksiyalarni ham chaqira olmaydilar.

Signallar retseptsiyasi va protsessingi. *Nod*-omillarning sintezi va fenotipik samarasi (effekti) yaxshi o'rganilgan, chunki ular bakteriyalar tomonidan oziqa muhitiga ajralib chiqariladi, shuningdek, ular faoliyatini in vitro tizimida oson modellashtirish mumkin. Bakterial signallar retseptsiyasi va uning o'simlikka ketma-ket uzatilish jarayonlarini o'rganish birmuncha qiyin. O'simlik lektinlari retseptorlari *Nod*-omillarning retseptori hisoblanadi. Ularning simbiozdagi rolini o'rganishga bo'lgan qiziqish o'tgan asrning 70-yillari oxiriga kelib ortdi. Bu davrga kelib ildiz tukchalari yuzasiga rizobial hujayralarning adsorptsiyalanishi natijasida tugunaklarning rivojlanishi, rizobiy hujayralari tashqi yuzasida uchraydigan polisaxaridlarning dukkakli o'simliklarning lektinlari bilan o'zaro ta'siri bilan bog'liq ekanligi aniqlandi. O'simlik va bakteriya hujayralarining yuza strukturalari o'zaro komplementar ta'sirining natijasi sifatida simbiozning o'ziga xos xususiyatini izohlaydigan «lektinli» nazariya (gipoteza) 1980 yillar boshida taqdim etildi.

Bugungi kunga kelib ildiz lektinlarining ba'zi fraktsiyalari sintezini nazorat qiluvchi genlarni turli xil dukkaklilar o'rtasida ko'chirib o'tkazilishi simbiotik xususiyatlarning kengayib borishi bilan o'z tasdig'ini topdi. In vitro sharoitlarida *Nod*-omillar bilan o'ziga xos bog'lanish hosil qiladigan dukkaklilarning ildiz lektinlari fraktsiyalari aniqlandiki, ular simbioz munosabat hosil bo'lishida muhim hisoblanadi (mazkur lektinlarga qarshi antitanalar bilan ishlov berilgan ildizlarda tugunak hosil bo'lishi blokirovkasi kuzatilgan). Bundan shunday xulosa kelib

chiqadiki, o'simlik lektinlari Nod-omillar retseptsiyasi tizimining komponentlaridan kamida bittasi bo'lib hisoblanadilar.

Nod-omillar tuzilmasining va tugunak hosil bo'lishining o'ziga xosligi o'rtasidagi bog'liqlikni izohlaydigan nazariyalardan biri - o'simlik xitinazalari ta'siriga chidamliligini mazkur omillarning modifikatsiyalari degan g'oyani ilgari suradi. Dukkaklilar ildizi bir qator xitinazalarni (shuningdek xitioligosaxaridlarni parchalaydigan boshqa xil litik fermentlarni ham) sintezlashi aniqlandi. Bunda: a) ba'zi xitinazalarning sintezi Nod-omillar tomonidan faollashishi, b) xitinazalarga chidamlilik Nod-omillar tuzilmasiga bog'liqligi kabilar kelib chiqdi. Yuqorida misol qilib, keltirilgan *R.leguminosarum* bv *viciae* ning «afg'on» no'xati bilan o'zaro ta'siri shuni ko'rsatadiki, Nod-omilning o'simlik xitinazalariga chidamliligi R6 holatning modifikatsiyasi natijasida birikuvchi qoldiq qismining tuzilishi (atsil yoki fukozil guruhga mansubligi)dan qat'iy nazar ortishi aniqlandi. Aynan shu mo'tadillanish R6-modifikatsiyalangan signallarni hosil qiladigan bakteriyalarning *sym-2* allellar kodlaydigan chidamlilikni yengishni belgilaydi. Shuningdek, o'simlik retseptorlari bilan Nod-omilning o'zi emas, balki litik fermentlar ta'siri nishon-hujayralarda hosil bo'ladigan uning protsessingi mahsulotlari o'zaro munosabatga kirishishi ehtimoli juda yuqoridir.

Simbiozning tuzilmaviy asosi taraqqiyoti. Dukkakli o'simliklarning tugunaklari bir qator kompleks o'zaro bog'liq vazifalarni bajarib, endosimbiontlar uchun ekologik makon, sheriklar o'rtasida metabolitlar almashinuvi uchun strukturaviy asos bo'lib, bakteriyalarning fiziologik faolligi va sonini nazorat qilishga xizmat qiladi. Bu a'zolar o'simlikning taraqqiyoti genetikasini o'rganish uchun ajoyib model bo'lib hisoblanadi. Tugunaklar taraqqiyoti, boshqa a'zolar singari genlarning differentsial (ixtisoslashgan) ekspressiyasini chaqiruvchi signal jarayonlariga asoslanadi. Biroq simbioz munosabatlarda bu jarayonlar o'simlikka sherik orqali tushadigan ekzogen signallar bilan bog'liq, bu esa signallar ta'sirini qator holatlarda laboratoriya sharoitlarida, shu bilan birga in vitro tizimidan foydalanish orqali ham nisbatan oson o'rganish mumkin. Bundan tashqari, tugunaklarning hosil bo'lishi o'simliklar uchun normal o'sish va ko'payishda shartli bo'lmagan, ya'ni, fakultativ holat hisoblanib, bu rivojlanish jarayonining genetik o'zgaruvchanligi to'g'risidagi keng, batafsil ma'lumot olish imkonini beradi. Tugunaklar morfogenezi uchun zarur asosiy genetik ma'lumot simbioz munosabatning o'simlik sherigi genomida joylashgan. Shunga qaramasdan, morfogenlarning bir qismi rizobiylarning genomida saqlanadi. Bu esa tugunaklar taraqqiyotini genetik tahlil qilishda genomi tuzilmasiga aralashtirmagan holda, o'simlik a'zosi taraqqiyotining irsiy dasturini o'rganish va modifikatsiya qilishning yanada kengroq imkoniyatlarini ochadi.

Tugunaklar morfogenezi. Bu qismda no'xat, sebarga va beda kabi dukkaklilarning xos «no determinatsiyalangan poya» tipiga mansub ancha batafsil o'rganilgan tugunaklari misolida simbiozning strukturaviy asosi taraqqiyotini ko'rib chiqiladi.

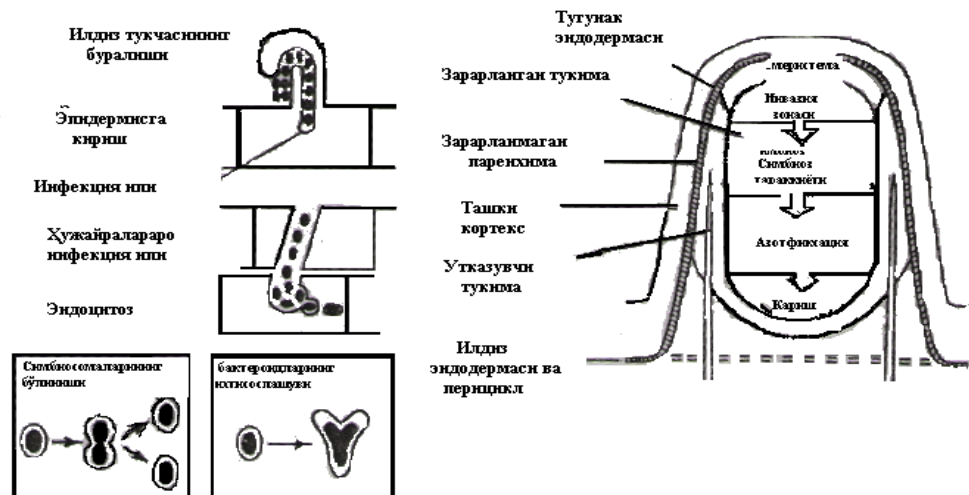
Mazkur dukkakli o'simliklarning rizobiylar bilan zararlanishi ildiz tukchalari orqali boradi natijada ildiz tukchalari buralib «soyabon ushlagichi» shaklini oladi

(Nas bosqichi, ingliz tilida hair curling). Tukchalarning keskin buralishi bilan birga ildiz tukchasi hujayrasi gidrolizi va plazmolemmaaning chuqur invaginatsiyasi sodir bo'ladi, bunda o'simlik hujayrasining membrana strukturalari (Golji apparati, endoplazmatik to'r) ishtirok etadi. Shunday qilib bakteriyalarning ildiz tukchalariga nafaol kirib borishi va tez orada mikrosimbiontni to'liq qamrab olishi kuzatiladi. Natijada bakteriya hujayralari atrofida o'ziga xos tunnel – infektsiya ipi (II) hosil bo'lib, uning devorlari o'simlik hujayralari devori bilan o'xshash, ichki bo'shlig'i esa matriks bilan to'lgan bo'lib, uning hosil bo'lishida ikkala sherik ham ishtirok etadi (*Itf*- bosqichi, ingliz tilidan Infection thread formation).

II taraqqiyoti bilan bir vaqtda tugunak meristemi hosil bo'lishiga zamin tayyorlana boradi, u mitoz jarayonlari reaktivatsiyasi, Nod-omil orqali indutsirlanuvchi korteks hujayralarining dedifferentsiatsiyasi va proliferatsiatsiyasi (*Ced* bosqichi, ingliz tilidan Cortical cell division) bilan bog'liq bo'ladi. Hosil bo'lgan tugunak primordiyalarida gistogenez jarayonlari boshlanadi (*Ntd* jarayoni, ingliz tilidan Nodule tissue differentiation), unda tugunaklarning qoplovchi, o'tkazuvchi va azot to'plovchi to'qimalari shakllanadi. II inokulyatsiyadan 2-3 sutka o'tgach, ildiz tukchalari asosigacha yetib boradi va korteksiga o'tib, o'sib kelayotgan tugunak ichiga kirib oladi va shu yerda rivojlanib, shoxlanadi (5.5.-rasm).

Endosimbioz taraqqiyotidagi asosiy bosqich bakteriyalarning II dan o'simlik hujayrasiga o'tishi hisoblanadi, u endotsitoz yo'li bilan amalga oshadi (Bar bosqichi, ingliz tilidan Bacterial release). II ning o'simlik hujayrasiga botib kirish joyida vaqtinchalik tuzilmalar – infektsion tomchilar shakllanib, ulardan bakteriya saqlovchi membrana pufakchalari o'sib chiqadi. Shunday qilib, bakteriyalar hech qachon o'simlik sitoplazmasida erkin joylashmasdan, Golji apparati va endoplazmatik to'r ishtirokida hosil bo'lgan «peribakteroid» membranalari (PBM) ichida joylashadi, lekin ular alohida bakterial oqsillarga ham ega. PBM bilan qoplangan bakteriya hujayrasi (hujayralar to'plami) simbiozning asosiy subhujayraviy birligi – simbiosoma hisoblanadi.

Rizobiylar II dan ajralib chiqqach o'zlarining o'lchamlarini va tayoqchasimon shaklini ma'lum vaqtga qadar saqlab qoladi, shundan so'ng alohida shakl – bakteroid shaklida (*Bad* bosqichi, ingliz tilidan Bacteroid differentiation) ixtisoslashadi. Bakteroidlar erkin yashovchi bakteriyalarga nisbatan ancha yirik (3-5 barobar) bo'lib, ularning shakli sebgada sharsimon va noksimondan tortib, no'xatda Y va X simongacha bo'ladi.



11.5.-rasm. No'xat o'simligi azot to'plovchi tugunaklari tuzilishi va taraqqiyoti.
a-endosimbiotik birlashmalar tizimining shakllanishi asosiy bosqichlari;
b-tugunakning gistologik tuzilmasi (nodeterminatsiyalangan tip).

Shuni ham qayd etish lozimki, bakteriyalarning ixtisoslashuvi ularning avtonom o'sishi uchun zarur bo'lgan ko'plab genlarning repressiyasi bilan bog'liq. Ko'plab mualliflarning fikricha, bu repressiya shunchalik chuqur davom etadiki, bakteroidlar shakllangan erkin yashaydigan tugunaklarga aylana olmay qoladilar va tugunaklar nobud bo'lgach, ular ham nobud bo'ladilar. Bakteroidlarda N_2 ni NH^+ ga qaytarilishini katalizlovchi nitrogenaza, shuningdek, nitrogenaza reaksiyasi uchun xizmat qiladigan boshqa fermentlar sintezi faollashadi va shundan so'ng atmosfera azoti o'zlashtirilishi jarayonlari (Nif - ingliz tilidan Nitrogen fixation) boshlanadi. Shunday qilib, bakteroidlarni ho'jayin o'simlikni bog'langan azot bilan ta'minlab beradigan o'simliklarning vaqtinchalik organellalari sifatida qarash mumkin.

Simbiosomalarning shakllanishi bilan parallel bir vaqtda infitsirlangan o'simlik hujayralari ixtisoslashuvi ham ro'y beradi. U ichki PBM shakllanishi va biosintetik jarayonlarda ishtirok etadigan ichki membrana tuzilmalari soni ortishi bilan ifodalanadi. Infitsirlangan (zararlangan) hujayralar uchun xromatinning transkripsion faolligi ortishi bilan bog'liq poliploidizatsiyasi va dekontensatsiyasi xosdir. Biokimyoviy jihatdan ularning ixtisoslashuvi denovo sharoitida bir qator oqsillarning sintezi sifatida aks etadi.

Ko'rsatib o'tilgan jarayon «nodeterminatsiyalangan» tipga mansub murakkab tuzilgan tugunakning shakllanishi bilan yakunlanadi. Uning asosiy tuzilmalari: a) molekulyar azotni o'zlashtirilishi kechadigan bakteriyalar bilan zararlangan to'qima; b) o'simlik fotosintatlari kelib tushadigan va azotfiksatsiya mahsulotlari chiqib ketadigan o'tkazuvchi tolalar; v) tugunakning o'sishi amalga oshadigan apikal meristema kabilar hisoblanadi. Apikal meristema azotfiksatsiya qiluvchi to'qimalarning doimiy yangilanib turishini ta'minlaydi, uning natijasida simbiozning turli bosqichlariga mos zonalarga tugunakning markaziy qismlarining

ixtisoslashuvi kuzatiladi. Tugunaklar morfogenezi asosiy natijasi simbiotik sheriklar (kompartimentlar) ning uyg'unlashgan tizimini shakllanishi hisoblanadi, bu esa bakteriyalarning hujayralararo (infektsiya ishlaridagi) shaklidan hujayra ichi (simbiosomalardagi) shakliga o'tishini ta'minlaydi.

Genetik tahlil. Hozirgi vaqtda dukkakli o'simliklar «simbiotik» genlarining ikki guruhi chuqur o'rganilmoqda. Birinchi guruh genlarini formal genetika usullarini qo'llash – simbioz taraqqiyoti uchun defektli mutantlarni olish va tahlil qilish orqali aniqlanadi. Ikkinchi guruh genlarini «teskari genetika» - simbiozda sintez bo'ladigan gen mahsulotlari (oqsillar, mRNK) ni tahlil qilish usullari orqali o'rganiladi.

O'simlik mutantlarini tugunak hosil qila olmaydigan (Nod) yoki ularda azotfiksatsiya faolligini indutsirlash xususiyatiga ega bo'lmagan azotsiz muhitda o'sa olmaslik xususiyatiga qarab tanlab olinadi. Ko'plab dukkaklilar (no'xat, soya, beda, yo'ng'ichka, loviya, nut, xashaki dukkaklilar, qashqarbeda, sebarga) da bunday mutantlarni qo'llash orqali simbiozning hosil bo'lishi va faoliyatida bevosita ishtirok etadigan 100 dan ortiq genlar identifikatsiya qilingan. Simbioz munosabatning genetikasini o'rganishning qulay ob'ekti hisoblanilgan – ekiladigan no'xat (*Pisium sativum* L) da 40 dan ortiq genlar aniqlangan. O'simliklarni tugunak hosil qilish xususiyatiga ega bo'lmasligini nazorat qiluvchi mutant allellar, kamdan-kam hollarda, ba'zi istisnolarni inobatga olmaganda retsessiv bo'ladilar. Azotfiksatsiya qilish xususiyatiga ega bo'lmaslikni nazorat qiladigan allellar retsessiv (no'xat, sebarga, bedada) ham dominant (soyada) ham bo'lishi mumkin. Simbioz taraqqiyotiga zarar keltiradigan mutantlar o'simliklarning morfologiyasi, rivojlanish tezligi va yetilishi (fertillik) ga ta'sir ko'rsatadilar.

11.2. jadval.

Simbioz taraqqiyotining asosiy bosqichlarini nazorat qiladigan dukkakli o'simliklarning genlari

Taraqqiyot bosqichlari	Kodlar	Ma'lum bosqichni nazorat qiluvchi genlar (dukkaklilar turlari)
Preinfektsiya (infektsiya oldi bosqichi)		
Rizobiylarning virulentlik genlari induktsiyasi	<i>Ngi</i>	Aniqlanmagan
Ildiz tukchalari deformatsiyasi	Nas	<i>sum8</i> , <i>sum9</i> , <i>sum19</i> , <i>sum30Ps</i> ; <i>rj1=nodI</i> (Gm); <i>rnI</i> (Ca) <i>nn1</i> , <i>nn2</i> (Ms); <i>sum3</i> (Ma)
Tugunaklar morfogenezi		
Infektsiya iplarining shakllanishi	Itf, Iti, Ith	<i>sum7</i> , <i>sum14</i> , <i>sum35</i> (Ps), <i>sumI</i> , <i>sum5</i> (Ma), <i>r</i> , <i>t</i> (Tp) <i>sum 2</i> , <i>sum 36</i> (Ps)
Kortikalhujayralarbo'linishiinduktsiyasi	Itr, cd	<i>sum5</i> , <i>sum34</i> (Ps) <i>sum5</i> (Ps)

Tugunak to'qimalari ixtisoslashuvi	Ntd	<i>sum35</i> (Ps)
O'simlik sitoplazmasiga bakteriyalarning endotsitozi	Bar, Itn, Idd	<i>sum33</i> (Ps), <i>d, Ii, ie</i> (Tp) <i>sum40</i> (Ps)
Bakteroidlar ixtisoslashuvi	Bad	<i>sum31, sum32</i> (Ps), <i>in₁, in₂, in₄, in₅</i> (Ms)
Endosimbiontlar taraqqiyotining boshqarishi		
Tugunak hosil bo'lishi avtoregulyatsiyasi	Aut	<i>nod3, sum28, sum29</i> (Ps), <i>sum5</i> (Vf); <i>nod</i> (Pv), <i>ntsI-nod 2</i> (Gm)
Tugunaklar faoliyati		
Azot o'zlashtirilishi	Nif	O'simliklarning mazkur bosqichi izdan chiqqan mutantlar Bar ⁻ , Bad ⁻ , yoki Nop ⁻ fenotiplariga ega bo'ladi
Tugunaklar barqarorligi	Nop	<i>sum13, sum25, sum26, sum27</i> (Ps)

*Ca – Cicer areatinum L., Gm – Glycine max (L.) Merr., Ma – Melilotus albus Medik, Ms – Medicago sativa L., Pv – Phaseolus Vulgarus L., Ps – Pisum sativum L., Tp – Trifolium pratense L., Vf – Vicia faba L.

Simbioz taraqqiyoti genetik tahlillarining ko'rsatishicha, «yovvoyi tip» dagi tugunaklarni o'rganish natijasida aniqlangan yirik bosqichlarni birmuncha mayda («elementar») bosqichlarga bo'lish mumkin, ularning har qaysi kam miqdordagi (hatto yakka) genlar bilan nazorat qilinadi. Masalan, *Itf* bosqichi 3 ga bo'linadi: *Iti* (infektsiya ipi shakllanishi initsiatsiyasi), *Ith* (ildiz tukchasidagi ipning o'sishi) va *Itr* (*II*ning ildiz korteksida o'sishi; *Var* esa ikki bosqichga: *Itn* (*II*ning tugunak hujayralari va to'qimalaridagi taraqqiyoti va *Idd* («Infektsiya tomchisi»)ning differentsiallashtirish - ixtisoslashuvi).

Dukkaklilarning simbiotik genlarini, ularning mahsulotlarini identifikatsiyasi (ko'pincha o'sha mahsulotlarning o'zini) aniqlash orqali (agar ular tugunaklarda de novo sharoitida faollashsa) ularni nodulinlar yoki (ularning ildizga nisbatan tugunaklardagi faolligi sezilarli orta bors *Nst*-genlar) deb ataladi. Mazkur genlarni aniqlash tugunak yoki steril ildizlarda, yoxud azotni o'zlashtiradigan yoki o'zlashtirilmaydigan tugunaklarda sintezlanadigan oqsil (RNK) spektrlarini taqqoslash yo'li bilan o'rganiladi.

Nodulinlar va *Nst* genlarni mos ravishda «ertangi» (azotfiksatsiya boshlangunga qadar faollashadigan) va kechki (azotfiksatsiya boshlanishi bilan yoki azotfiksatsiya davrida faollashadigan) turlarga bo'linadi.

11.3-jadval

Dukkaklilarning ertangi nodulinlari

Genlar	O'simliklar	Nodulinlarning tasnifi	Tugunaklardagi joylashuvi	Taxmin qilinadigan faoliyati
ENOD2	No'xat, soya, vika, beda, sebarga	Hujayra devorining ekstensinlari tipiga xos boy oqsil-gidroksiprolin	Parenxima	Kislorodli to'siqning shakllanishi
ENOD5	No'xat	Signal ketma-ketliklari va prolin-domeni	Infektsiya iplari oxirini saqlovchi hujayraning infektsiya zonasi	Infektsiyada (zararlanish) ishtirok etish
ENOD12	No'xat, loviya, beda, mosh, nut, dukkaklilar	Prolingaboy uchastkalargaega	Infektsiya zonasi	Infektsiya iplari va hujayra devorini qurish
ENOD40	Soya, no'xat	Strukturasi jihatidan RNK-boshqaruvchi (regulyator) ni eslatadi	O'tkazuvchi bog'lamlarning peritsikli	Gormonal muvozanatni aniqlash (muvofiglash-tirish)

Ko'pgina tugunakka xos oqsillar uchun subhujayraviy joylashuv (o'simlik hujayrasi sitozoli, bakteroid oldi membranasi, infektsiya ipi devori) yoki fermentativ faollik (ko'plab «kechki» nodulinlar azotli yoki uglerodli ferment almashinuvining izoformasi hisoblanishi) aniqlangan. Ba'zi nodulinlar simbiozning tuzilmaviy asosini shakllanishida ishtirok etadi (4.3 rasm). Ularning qatoriga tugunak parenximalarida faol sintezlanadigan ertangi ENOD2 nodulini va II devorlarida to'planadigan ENOD5 va ENOD12 ni kiritiladi. Endotsitoz davrida sintez bo'ladigan nodulin - N-26, PBM tarkibiga kiradi, u sheriklar o'rtasidagi regulyator yoki trofik omillarning transporti uchun zarur bo'lsa kerak, deb taxmin qilinadi.

Tugunaklar taraqqiyotida fitogormonlarning rolini o'rganish juda katta qiziqish uyg'otadi. Aniqlanishicha, ildizlarga auksinlar transportining ingibitorlari bilan ishlov berish tugunaksimon tuzilmalarning hosil bo'lishiga olib kelar ekan. Tugunak o'sishining gormonal statusini belgilashda ishtirok etadigan ENOD40 nodulini ham aniqlangan. Uning vazifasi endosimbiont ta'sirida o'zgaradigan auksin va sitokininlar muvozanatining nazorati bilan bog'liq va u tugunaklar gistogenezi hamda tugunakli primordiyalar shakllanishida asosiy o'rin tutadi. Shuni ham qayd etish lozimki, ko'plab nodulinlarning vazifasi to'g'risidagi g'oyalar oldindan aniqlangan oqsillar va aminokislota qismlarini solishtirish orqali tahlil qilishga asoslanadi. Nodulinlar simbioz taraqqiyotida ko'p hollarda aynan shu vazifalarni bajaradi degan to'g'ridan-to'g'ri dalillar hanuzgacha aniqlangan emas.

Endosimbiontlar taraqqiyotining boshqarilishi. Simbiozning tuzilmaviy asosi sheriklarning boshqaruvchilik o'zaro aloqalari bilan bog'liq bo'lib, ularning natijasi simbiotik tuzilmalarning taraqqiyoti optimallasuvi, shunga mos ravishda rizobiylar soni va ko'payish tezligining ortishi bilan izohlanadi. Bunday regulatsiya juda muhim, chunki bakteriyalarning potentsial bo'linish tezligi o'simliklarga nisbatan ancha yuqoridir. Endosimbiont mikroorganizmlarning nazorat qilinmaydigan ko'payishi ho'jayin o'simlik uchun ko'p hollarda zararlidir, uning simbiotlar ko'payishini qat'iy nazorat qilish xususiyati mutualitik simbiozning parazitizmdan asosiy farq bo'lib hisoblanadi.

Simbiotlarning ho'jayin organizm himoya tizimlari bilan o'zaro munosabati. Dukkakli o'simliklarda simbiozning shakllanishida patogen mikroblar kirishi natijasida sodir bo'ladigan vaqtdagi kabi bir qator himoyaviy jarayonlarning indutsirlanishi kuzatiladi. Bu flavonoidlar, fenollar, xitinazalar, kallozalar va peroksidazalar sintezidir. Biroq tugunaklarda bu reaksiyalar patogenlar bilan zararlanishga nisbatan kuchsiz ifodalanadi, bu reaksiyalarning natijasi mikroorganizmlarning inaktivatsiyasiga emas, balki metabolitik faolligi va ko'payishini boshqarilishi hisoblanadi. Bu bakteriyalarning o'simlik himoya tizimlari bilan simbiotik tizim taraqqiyotida nozik o'zaro muvofiqlashgan ta'siri natijasida sodir bo'ladi.

Sheriklarning o'zaro muvofiqlashgan munosabatlari rizobiylardagi bir qator genlarning ho'jayin o'simlik himoya tizimi bilan o'zaro muloqoti orqali ifodalanadi. Mazkur genlardagi mutatsiyalar simbioz taraqqiyotini to'sib qo'yadi, natijada odatdagi tugunaklar o'rniga «soxta tugunaklar» hosil bo'ladi, ular bakteriya hujayralari va infektsiya iplariga ega bo'lmasdan, shakllanmagan to'qima bilan to'lgan bo'ladi (bunday mutantlarning fenotipi *Nod⁺Inf⁻* belgilar bilan belgilanadi). Ho'jayin organizm bilan «munosabatni aniqlash» ga javobgar bakteriya genlari ichida eng ko'p o'rganilganlari hujayra tashqarisidagi turli komponentlar – ekzopolisaxaridlar va siklik glyukanlar sintezini kodirlaydigan genlar hisoblanadi. Mazkur genlar bo'yicha mutantlarni dastlab koloniyalari morfologiyasining o'zgarishlari, shuningdek fluorestsialovchi bo'yoq kalkofluorni adsorbtsiya qila olmasligi bo'yicha tanlab olinadi.

Rizobiylarning ancha chuqur o'rganilgan, o'simlik himoya tizimlari bilan o'zaro munosabatiga javobgar hujayra sirti komponentlaridan biri kislotali ekzopolisaxarid yoki suksinoglyukan (EPS-1) hisoblanadi. Uning sintezi beda o'simligi rizobiylari (*Rhizobium meliloti*) da 20 dan ortiq yexo-genlar bilan nazorat qilinadi, ularning katta qismi mazkur bakteriyalarda mavjud bo'lgan 2 ta megaplazmidalarning birida klaster bo'lib joylashadi. Bir qator yexo-genlar uchun ekspressiya mexanizmi va birlamchi struktura aniqlangan bo'lib, bu EPS-1 sintezining bir qadar to'liq chizmasini beradi. U o'z ichiga: oraliq mahsulotlar shakllanishi, ulardan (sakkiz monosaxarid qoldiqlaridan tashkil topgan) monomerlar sintezi, ularning modifikatsiyasi (suktsinil, piruvil va atsetil guruhlarning birikishi), polimerizatsiyasi va periplazmaga ko'chib o'tishi kabilarni oladi.

Tugunaklar hosil bo'lishining avtoregulyatsiyasi. Dukkakli o'simliklarning himoya tizimlari orqali amalga oshiriladigan simbioz taraqqiyotining boshqariluvchi endosimbiont mikroorganizmlar rivojlanishini nazorat qilishda o'simliklarga yordam beradigan barcha mexanizmlarning ko'p xilligini istisno etmaydi. Shuningdek, dukkakli o'simliklarga xos tugunak hosil bo'lishi avtoregulyatsiyasi mexanizmlari ham katta qiziqish uyg'otadi, ular o'simliklarda ortiqcha tugunaklar hosil bo'lishini oldini oladi, bu esa o'z navbatida simbioz jarayonida hamisha tanqis bo'lgan energiyani tejash imkonini beradi. Dukkakli o'simliklar tugunak hosil bo'lishini birmuncha qat'iy avtoregulyatsiya qilish xususiyatiga ega, u "sistemali" xarakterga ega bo'lib, yer ustki qismlari vositasida amalga oshiriladi.

Ko'plab dukkaklilarda tugunak hosil bo'lishining avtoregulyatsiyasini buzilishi bo'yicha mutantlar olingan. Ularni tanlab olishda o'ta ko'p tugunaklar hosil qilish (Nod^{++}) fenotipik belgisi, ya'ni, tugunaklarni «yovvoyi tipga» nisbatan 2-10 barobar ko'p hosil qilish xususiyatiga ko'ra tanlab olinadi. Odatda bunday mutantlar dastlabki o'simliklarda simbioz taraqqiyotini to'xtatadigan nitratlarning yuqori dozalari ishtirokida ko'plab tugunaklar hosil qiladi (Nts -fenotipi – Nitrate tolerant symbiosis). Nod^{++} mutantlarda umumiy nitrogenaza faolligi (bitta o'simlikka nisbatan hisoblanganda) oshgan bo'lsa, spetsifik nitrogenaza faolligi (tugunaklar massasiga nisbatan) kamaygan bo'ladi.

Shuni ham ta'kidlash lozimki, ko'plab Nod^{++} mutantlarda o'simliklarining yer ustki massasining pasayishi kuzatiladi. Bu energiyaning katta qismini azotfiksatsiya qiluvchi juda ko'plab tugunaklarga sarflanishi bilan izohlanadi. Shunday qilib, mazkur mutantlar misolida endosimbiontlarning miqdorini nazorat qilish o'zaro munosabatning mutualitik xarakterini saqlab turishda muhim shart-sharoit ekanligi oydinlashadi. Agar sheriklar orasidagi bunday nazorat kamaytirilsa, garchi asosiy biokimyoviy jarayon, ya'ni simbiozning asosi (N_2 ning o'zlashtirilishi) buzilmasa-da, bu munosabat parazitizmga o'tishi mumkin.

Azotning o'zlashtirilishi. Simbiozning yakunlovchi bosqichi, ya'ni, rizobiylarning azotni faol o'zlashtirishi va jarayon mahsulotini o'simlikka eksporti ko'plab dukkakli o'simliklarda bakteriyalarning endotsitozi va bakteroidlarning shakllanishidan so'ng boshlanadi. Bakteroidlarda nitrogenaza fermenti sintezi faollashib, u umumiy oqsilning 30% gacha bulgan miqdorini tashkil etishi mumkin. Biroq nitrogenazaning hosil bo'lishi tugunaklarning simbiotik azotfiksatsiya a'zosi sifatida faoliyat yuritishida asosiy, lekin yagona jarayoni emas. Jarayonning boshqa xil ahamiyatlilari sifatida: nitrogenazaning molekulyar kisloroddan himoya tizimini shakllanishi, nitrogenaza kompleksining energetik ehtiyojlarini qondirilishi va azotfiksatsiya mahsulotlari assimmilyatsiyasini ko'rsatish mumkin. Bu jarayonlarning barchasi o'simlik va bakteriyalar bilan birga amalga oshirilganligi uchun simbiozning sheriklari o'rtasida strukturaviy va funktsional uyg'unlashuvni ta'minlanadi.

Nitrogenaza kompleksining biogenezi. Azotni o'zlashtiruvchi boshqa mikroorganizmlar singari rizobiylarda nitrogenaza oqsili tarkibini kodiraydigan *nifNDK* genlari, shuningdek, uning kofaktorlari shakllanishi, sintezi va yetilishi

jarayonlarini boshqarilishiga boshqa xil *nif*-genlar mavjud. Rizobiylarda va simbiotik bo'lmagan azotfiksatorlarda nitrogenaza tarkibi genlari transkripsiyasi *nifA*- geni orqali faollashadi.

11.4-jadval

Simbiotik azotfiksatsiyani ta'minlaydigan asosiy biokimyoviy jarayonlar

Jarayonlar	Sheriklarning hissasi	
	mikrosimbiont	ho'jayin
Nitrogenaza jarayoni biogenezi	Nitrogenazaning kofaktorlari va oqsillari sintezi (<i>nif</i> -genlar), regulyator kaskadi (<i>FixLJ</i> + <i>FixK</i>) shakllanishi	Nitrogenaza genlarining boshqarilishi ehtimoli (turli o'simliklarda <i>nif</i> -genlar induktsiyasining o'ziga xosligi to'g'risidagi dastlabki ma'lumotlar mavjud)
Nitrogenazaning kisloroddan himoyalaniishi	Ikki komponentli regulyator tizimi <i>FixLJ</i> va transkripsion aktivator <i>nifA</i>	Leggemoglobin oqsili va kislorodli to'siq
Tugunak energetik ehtiyojlarining qondirilishi	Dikarbon kislotalar (<i>dct</i> -genlarning) bakteroidlarga transporti, tugunakka xos sitoxromoksidaza <i>cbb₃</i> ning sintezi (<i>fixNOQ</i> , <i>fixGHIS</i> -genlari)	Ko'p miqdordagi fotosintat (saxaroza) larning tugunaklarga tomon transporti, S-metabolizmining tugunakka xos izofermentlari sintezi
Azotfiksatsiya mahsulotlari assimilyatsiyasi	Ammoniyning o'simlik hujayrasiga eksporti (qisman alanin shaklida)	N-metabolizmning tugunakka xos izofermentlari sintezi

Shu bilan birga rizobiylarda simbiotik azotfiksatsiyaga xos bo'lgan, ya'ni, *fixL*, *fixJ* va *fixK* genlaridan tashkil topgan boshqaruv tizimi aniqlangan. *fixLJ* genlari ikki komponentli regulyator tizimi (*fixL* membrananing oqsil-sensori, kinaza va fosfataza faolliklariga ega, *FixJ* –transkripsiyaning sitoplazmatik fosforillangan regulyatori) ni kodirlaydilar. Bunday boshqaruv tizimining faolligi faqat mikroaerofil sharoitlarda amalga oshadi, chunki *FixLO₂* sensori vazifasini bajaradi, bu gem ishtirokidagina amalga oshadi. *FixK* oqsili -Crp-Fnr oilasiga kiradigan transkripsion regulyator. Rizobiylarda azotfiksatsiyani boshqaruv tizimi, nitrogenazaning tarkibiy genlaridan tashqari, *dctABD* (ular azotfiksatsiya jarayonining asosiy energiya manbai bo'lgan dikarbon kislotalarning bakteroidlarga transportini kodirlaydilar), *fixNOPQ* va *fixGHIS* (bakteroidlarning nafas olish zanjirida elektronlar transportini ta'minlaydigan *cdd₃* tipdagi bakteroid sitoxromoksidazasi sintezini kodirlaydigan) genlarning ekspressiyasini va genning biosintezini nazorat qiladilar.

nif – genlar boshqaruv tizimidan farqli ravishda simbiotik bo'lmagan azotfiksatorlar rizobial tizimi *nif*-genlarning bog'langan azot bilan repressiyasi

uchun javobgar, ya'ni *Klebsiella* ning *nifl*- geniga xos bo'lgan elementlarni saqlamaydi. Bu tugunaklardagi azotni o'zlashtirish jarayoni bog'langan azot miqdori ortiqcha bo'lgan sharoitlardagina amalga oshishi bilan bog'liq, tugunaklarning hosil bo'lishini va bog'langan azot miqdori me'yoridan oshiq bo'lganda, azotfiksatsiya jarayonini boshqarishni ho'jayin-o'simlik amalga oshiradi.

Nitrogenazaning kisloroddan himoya qilinishi. Tugunaklarning faoliyat yuritishi uchun zaruriy sharoit ularda anaerob muhitning saqlab turilishidir, chunki bakteriyalar tomonidan sintezlanadigan nitrogenaza kislorod ta'sirida tez va qaytmas darajada faolligini yo'qotadi.

Biroq oksidlangan fosforillanishning yuqori darajasida anchagina ko'p miqdorda energiya talab qiladigan azotfiksatsiya jarayoni sodir bo'ladi, uning uchun bakterial sitoxromoksidazalarga O_2 ning katta miqdori kelib tushishi zarur. Ikkala sheriklar genetik tizimlarining muvofiqlashgan faoliyati natijasida hosil bo'ladigan «kislorodli paradoks» masalasi yechiladi. Bakteriyalarda nitrogenaza sintezining kislorodga sezgirligi FixLJ va NifA tizimlari darajasida amalga oshiriladi. O'simliklar, shuningdek, azotfiksatsiyani «kisloroddan himoyalash» ikki xil mexanizm: a) tugunaklarning kisloroddan himoyalanişida po'stloq ichi muhim rol o'ynab, qoplovchi to'qimalarida ko'p komponentli diffuzion to'siqqa; b) kislorodni bog'lab va simbiosomalarga tashilishini ta'minlaydigan gemoglobinsimon oqsil – legoglobin (u tugunaklar umumiy oqsillarining 30%gacha miqdorini tashkil etadi) ga ega.

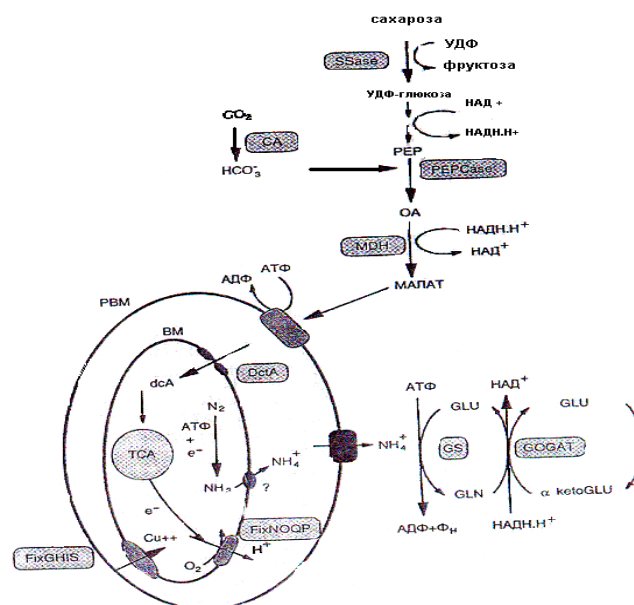
Uzoq vaqt legoglobin sintezini simbiozning molekulyar darajasi sifatida qaralgan. Polipeptidli (globin) qismi o'simlik genlari, gen qismi – mikrosimbiont genlari tomonidan kodirlanadi, deb hisoblab kelingan. Bu fikr rizobiylarning azotfiksatsiya qilish xususiyatiga ega bo'lmagan aminolevulin kislotasi sintezi bo'yicha defektli mutantlari, gem yoki uning oraliq shakli, to'g'risidagi ma'lumotlarga asoslangan edi. Biroq keyingi tadqiqotlarning ko'rsatishicha, legoglobinning ikkala qismi ham o'simlik hujayralari tomonidan sintezlanar ekan. Tugunaklarda joylashgan bakteroidlar ham gemni sintezlaydi, lekin uning azotfiksatsiyadagi ishtiroki nitrogenazaga elektronlar transportini ta'minlovchi sitoxromlar biogenevizidan iborat bo'ladi.

Dukkakli o'simliklarda legoglobin sintezi o'zaro birikkan bir nechta Lv-genlari oilasi ishtirokida kodirlanadi. Hozirgi vaqtda mazkur genlarning strukturaviy – funktsional tashkillashuvi o'rganilgan: ularning intron – ekzon strukturasi aniqlangan, promotorlarning tashkillanishini kodirlaydigan va kodirlamaydigan uchastkalarining joylashuvi o'rganilgan. Lb-genlarning tugunaklarga ekspressiyasi, ko'p hollarda, ikkala sheriklarning regulyator signallariga asoslanadi. Bu haqda ba'zi bakterial promotorlarda gomologik va signal molekulalarga nishon bo'lib xizmat qiladigan, o'simlik ho'jayralariga bakteriyalardan kelib tushadigan mazkur genlar ketma-ketliklarining promotorlarda mavjud bo'lishi dalolat beradi. Shuningdek, legoglobin genlari promotorlari bilan munosabatga kirishadigan, bakterial DNKni bog'lovchi oqsillarni ham aniqlashga erishilgan.

Endosibiotik bakteriyalar tugunaklardagi mikroaerofil sharoitlarga bog'liq ravishda intensiv nafas olish (busiz simbiotik azotfiksatsiyaning yuqori faolligiga erishib bo'lmaydi) va nitrogenazaning faol ishlashi kabi jarayonlarni uyg'unlashtirish muammosiga duch keladi. Bu rizobiylarda tarmoqlanib ketgan elektron transport zanjiri borligi tufayli ta'minlanadi, unda ba'zi komponentlar aerob sharoit (exp-lanta) da ishlasa, ba'zilar anaerob (mikroaerofil) sharoitlarda, shuningdek tugunaklarda faoliyat yuritadi. Simbioz uchun bu zanjirlarda fixNOQ va fix GHIS genlari kodirlaydigan sitoxromoksidaza sbb_3 muhim rol o'ynaydi. Bu genlardagi mutatsiyalar simbiotik azotfiksatsiyaning izdan chiqaradi, lekin erkin yashovchi bakteriyalarning nafas olish faolligiga ta'sir ko'rsatmaydi. Shu bilan bir vaqtda, rizobiylardagi boshqa xil sitoxromoksidazalar shakllanishini izdan chiqaradigan mutatsiyalar simbiotik azotfiksatsiyaga ta'sir o'tkazmaydi.

Azotfiksatsiyaning energetik ta'minoti. Simbiotik azotfiksatsiya-ning asosiy energiya manbai o'simlikning yer usti qismlarida amalga oshiriladigan fotosintez jarayonidir. Fotosintatlar tugunaklarga saxarozaga o'xshash shaklda transport qilinadi. Shundan so'ng o'simlik saxaroza katabolizmini anaerob bosqichi (glikoliz) ni amalga oshiradi, bu jarayon davomida ko'p miqdorda energiya ajralib chiqadi. Mikrosimbiont-ning ulushiga katabolizmning anchagina energetik samarador qismi – uch karbon kislotalar sikli (UKS) ni amalga oshirish to'g'ri keladi. Bakteroidlarga ho'jayin – o'simlikdan tushadigan asosiy uglevodlar S_4 dikarbon kislotalari (asosan suksinat va malat) hisoblanadi, ular UKS da bevosita ishtirok etadilar. Shuning uchun bakteroidlarning nitrogenaza tizimi intensiv faoliyati bakteroidlarga dikarbon kislotalarning tashilishini ta'minlaydigan genlar bilan ma'lum darajada bog'liqdir. Bu jarayonda uchta gen *dctA* (membranaviy suksinat permeazani kodirlaydigan), *dctB* va *dctD* (*dctA* transkripsiyasini belgilaydigan, ikki komponentli regulyator tizim oqsillarni kodirlaydigan) genlari asosiy o'rin egallaydi. DctB oqsili sensor hisoblanib, u bakteroidlar membranasi joylashib olib dikarbon kislotalarga sezgirdir. *dctD* geni esa *dctA* geni promotori bilan munosabatga kirishib, unga RNK-polimerazaning o'rnashishini osonlashtiradi. Shuni ta'kidlash lozimki, dikarbon kislotalar transporti tizimi simbiotik azotfiksatsiyaning intensivligi miqdorini cheklovchi «nozik nuqta»lardan biridir. Bu haqda azotfiksatsiyaning faolligi va simbiozning samradorligini rizobiylarga *dct*-genlarini qo'shimcha nusxalarini kiritish orqali sezilarli darajada oshirish mumkinligi dalolat beradi.

Tugunaklarning energetikasi ho'jayin-o'simlik tomonidan S-metabolizmining tugunakka xos ferment izoformalari sintezi tufayli ta'minlanadi. Ular orasida saxarozani uridindifosfat ishtirokida gidrolizlaydigan saxarozasintetaza (SS) markaziy o'rinlardan birini egallaydi. Soya o'simligi tugunaklarida eruvchan sitozol oqsillari umumiy miqdorining 3-4%ini SS tashkil etadi. Gidroliz natijasida hosil bo'lgan geksoza (glyukoza va fruktozalar) katabolizmning oddiy yo'li – glikolizga uchraydi. Bunda muqobil-pentozofosfat sikli ikkilamchi ahamiyatga egadir (5.6-rasm).



11.6 – rasm. Azot o'zlashtiriluvchi simbioz munosabat shakllanishida sheriklarning metabolitik integratsiyasi

Ssase-saxarozosintetaza, PEP-fosfoenolpiruvat, PEPCase-fosfoenolpiruvat-karboksilaza, OA-oksalokatsetat, MDH- malatdegirogenaza, DctA-suktsinatpermiyaza, GS-glutaminsintetaza, GOGAT-glutaminsitaza, dcA-dikarbonkislotalar (suktsinat, malat), TCA-uch karbon kislotalar sikli, GLU-glutamin, GLN-glutamat, α keto- GLU α -ketoglutarat, FixGHIS va FixNOQP-bakteoidlar uchun maxsus sitoxromlar, PBM-peribakteroid membrana, BM – bakteroid membranasi.

Tugunaklarda azotning o'zlashtirilishi miqdorini belgilaydigan - asosiy omillardan biri tugunaklardagi uglerod miqdori bo'lib hisoblangani uchun fosfoenolpiruvatkarboksilaza (PEPCase) katalizlaydigan CO_2 ning nofotosintetik (qorong'udagi) o'zlashtirilishi muhim ahamiyat kasb etadi: fosfoenolpiruvat + $\text{CO}_2 =$ malat. Bu reaksiya bakteroidlarga malat va boshqa energetik substratlar tarkibidan kelib tushadigan uglerod atomining 25 % iga yaqin miqdorining manbai hisoblanadi. Shunday qilib, PEPCase faoliyati tufayli tugunaklarda faol kechadigan, nafas olish jarayonida ajralib chiqadigan karbon kislotalarning asosiy qismi retsiklga uchraydi.

O'zlashtirilgan azotning assimilyatsiyasi. Tugunaklarga kelib tushadigan S (uglerod)-birikmalari azotfiksatsiya uchun faqat energiya manbai bo'libgina qolmay, balki fiksatsiya qilingan azotning assimilyatsiyasi uchun uglerodli «skelet» vazifasini ham o'taydi. Azotfiksatsiya jarayonida hosil bo'lgan ammoniy bakteroidlardan tugunaklarning o'simlik hujayralari sitoplazmasiga erkin shaklda yoki alanin (bu bakterial alanin – degidrogenaza faolligi natijasida hosil bo'ladi) tarkibidan kelib tushadi. O'zlashtirilgan azot o'simlik hujayralari metabolizmiga o'tadi. Bunda azotning dastlabki assimilyatsiyasi (ammoniyning hujayra metabolizmiga qo'shilishi), o'zlashtirilgan (tugunaklardan ildizning o'tkazuvchi

qismiga o'tadigan) azotning transport shakllarining hosil bo'lishi va o'zlashtirilgan azotning translokatsiyasi (uning o'simlik turli a'zolari o'rtasida qayta taqsimlanishi) kabi bosqichlar farqlanadi. Dastlabki assimilyatsiya va o'zlashtirilgan azotning transport shakllari hosil bo'lishida o'simlik tomonidan sintezlanadigan azotli almashinuvning tugunakka xos ferment shakllari muhim rol o'ynaydi.

11.5-jadval

Azotfiksatsiya qiluvchi tugunaklarga xos o'simlik fermentlari

Fermentlar	O'simliklar	Tugunaklarda faollikni oshiradigan mexanizmlar
Uglerodli almashinuv		
Saxarozosintetaza	Soya	Yangi izo shakl (nodulin N-100) sintezi
Malatdegidrogenaza	Bo'ri dukkagi, no'xat	Yangi izo shakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi
Alkogoldegidrogenaza	Lyupin (bo'ri dukkagi)	To'rt xil yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi
Laktatdegidrogenaza	Lyupin (bo'ri dukkagi)	To'rt xil yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi
Fosfoenolpiruvat-karboksilaza	No'xat, dukkaklar, loviya, beda, bo'ri dukkagi	Yangi izo shakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi
fosfofruktokinaza	Bo'ri dukkagi	Nst-shakllar sintezining kuchayishi
Azotli almashinuv		
Glutaminsintetaza	Loviya, beda, no'xat, soya	Yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi
NADH ga bog'liq glutamatsintaza	Loviya, bo'ri dukkagi	Yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi
Asp-aminotransferaza	Beda, no'xat, bo'ri dukkagi	Nst-shakllar sintezining kuchayishi
Gln ga bog'liq asparaginsintetaza	Bo'ri dukkagi, soya, beda, dukkaklilar, no'xat	Nst shakl AS1 va AS2 sintezi kuchayishi
Urikaza	Soya, loviya	Yangi izoshakl (nodulin) sintezi

O'simlik hujayralarida ammoniyni birlamchi assimilyatsiyasi «glutamatsintaza sikli» glutaminsintetaza (GS) va NADH ga bog'liq glutamatsintaza (NADH-GOGAT) fermentlari bilan nazorat qilinadigan reaksiyalar bilan boshlanadi. GS loviya o'simligi tugunak bakteriyalaridan ajratib olingan bo'lib, molekulyar og'irligi bir xil – 40 kD ga yaqin subbirliklardan tashkil topgan oktamer fermentdir. Uch xil izoferment (GS_{N1} , GS_{N2} , GS_{L2}) aniqlangan bo'lib, ularning ikkitasi sitoplazmada, uchinchi zararlangan o'simlik hujayralarining plastidalarida joylashgan. Bunda faqat GS_{N1} aniqlanishi uning subbirliklaridan faqat bittasi tugunakka xos izoshakl (nodulin) hisoblanadi.

Tugunakka xos GS dan farqli o'laroq glutamatsintetaza siklining ikkinchi fermenti o'simlik hujayralari plastidalarida joylashgan NADH-GOGAT hisoblanadi. Shunday qilib, tugunak bakteriyalar hujayralarida glutamatsintetaza sikli fermentlarining alohidalanishi (GS-sitoplazmada, NADH-GOGAT plastidalarda) aniqlangan. Ko'plab ma'lumotlarning ko'rsatishicha, fiksatsiya qilingan azot assimilyatsiyasi miqdorini belgilovchi bosqich aynan NADH-GOGAT tomonidan katalizlanadigan reaksiya hisoblanadi: NADH-GOGATning eng faol tugunaklarda ham aktivligi yuqori emas. Nofaol tugunaklarda ham mazkur fermentning aktivligini (shuningdek uning m-RNKsini) aniqlashga ko'pincha muvaffaq bo'linmagan. Tugunak hosil bo'lishida indutsirlanadigan beda va no'xat tugunagining NADH-GOGAT og'irligi 200 kD dan ortiq birgina molekula sifatida qayd etilgan. Loviya tugunaklarida NADH-GOGATning ikkita izofermenti sintezlanib, ularning bittasi tugunak-stimulovchi hisoblanadi.

Glutamindan tashqari, mo'tadil iqlim mintaqalarida tarqalgan ko'plab dukkakli o'simliklar (masalan, beda va no'xat) da azotning tashiladigan shakli amidlar, asosan – asparagin hisoblanadi. Bu dukkaklilarni «amidli» tipga kiritiladi. Boshqa dukkaklilar (loviya, soya, vigna) da azotning tashilishi ureidlar - allatoin va allatoin kislota shaklida amalga oshiriladi. Bu dukkaklilarni ureidli tipga kiritiladi.

«Amidli» dukkaklilarda o'zlashtiriladigan azotning barcha asosiy assimilyatsiya reaksiyalari simbiosomalar saqlaydigan hujayralarda kechadi. Bunda aspartatning oraliq mahsuloti-asparagin hosil bo'lishi reaksiyasini katalizlaydigan aspartataminotransferaza (AAT) alohida rol o'ynaydi. «Ureidli» tugunaklar metabolizmida urikaza fermenti muhim ahamiyat kasb etadi. U ureidlar biosintezining oxirgi bosqichlaridan biri – purinlar oksidlanganda hosil bo'ladigan siydik kislotasining oksidlanishi natijasida allatoin hosil bo'lishini amalga oshiradi.

O'simliklarning sianobakteriyalar bilan simbioz munosabati

Azotni o'zlashtiruvchi sianobakteriyalar bir qator o'simliklar, jumladan, yopiq urug'lilar, ochiq urug'lilar, qirqquloqlar, yo'sinlar va hatto bir hujayrali dengiz diatom suv o'tlari bilan ham simbioz munosabatga kirishadi. Eng ko'p o'rganilganlari geterotsistali sianobakteriyalar Anabaena (Nostoc)ning suv qirqqulog'i Azolla, shuningdek, Nostoc ning gulli Gunnera va Anthoceros

o'simligi bilan endosimbioz munosabatidir. Nostoc- Gunnera simbiozi hujayra ichi simbioziga misol bo'lsa, qolganlari – hujayra tashqarisi simbiozidir (Azolla da sianobakteriya barg yuzasida joylashsa, Anthoceros tallomning yon tomonidagi bo'shliqlarda bo'ladi).

Mikroorganizmlar bog'langan azotsiz muhitda yorug'likda ham (minimal oziqa muhitida, ya'ni avtotrof S-li oziqlanishda), qorong'uda ham (uglerod manbalari mavjud muhit, ya'ni geterotrof S-oziqlanishda) ham diazotrof ravishda o'sa oladi. Bu simbiotik sianobakteriyalarda azotfikatsiya bilan bog'liq jarayonlarni genetik tahlil qilishda keng imkoniyatlar ochadi. O'simliklar uchun sianobakteriyalar bilan munosabatda simbiozga qaramlik turli darajada ifodalanadi: Azolla uchun u obligat bo'lsa, Gunnera va Anthoceros uchun – fakultativdir.

Azotni o'zlashtiruvchi sianobakteriyalar bilan simbiozlarning ba'zilari ekologik va qishloq ho'jalik ahamiyatiga egadir. Sholi yetishtirishda «Azolla-Anabaena» tizimi azot manbai sifatida yuqori samaradorlikka ega. «Nostoc-Gunnera» simbiozini esa dukkakli bo'lmagan o'simliklarning keng hajmi uchun azotni o'zlashtirishda simbiotik munosabat hosil qilish xususiyatini berish uchun model sifatida qarash mumkin.

Hujayraviy ixtisoslashuvi. Anabaenani azotsiz muhitga ko'chirib o'tkazilganda uning ipi bo'ylab tartibsiz joylashgan hujayralarining 10% geterotsistalarga qadar ixtisoslashadi. Bu hujayralar hajmi jihatdan yiriklashib, sitoplazmaga erkin kislorod o'tishini to'sib qo'yadigan qalin qobiq bilan o'raladi. Geterotsistalarda fotosintez jarayoni bormaydi, natijada azotni o'zlashtirish uchun mikroaerofil sharoit vujudga keladi. Bu sianobakteriyalarga aerob sharoitlarda ham azotni o'zlashtirishga imkoniyat yaratadi.

Anabaenada geterotsistalarning shakllanishini nazorat qiladigan genlarning murakkab tizimi aniqlangan. Ular orasida *hetR* geni ko'proq o'rganilgan bo'lib, uning inaktivatsiyasi geterotsista hosil qilish xususiyatining yo'qolishiga olib keladi. *hetR* geni bo'yicha mutantlar azotsiz muhitda mikroaerofil sharoitlarda o'stirilganda azotni o'zlashtira olsa, aerob sharoitlarda o'zlashtira olmaydilar. Agar *hetR* genini ko'p nushali plazmidalar tarkibiga amplifikatsiya qilinsa yoki «kuchli» promotor ta'siri ostida uning ekpressiyasini kuchaytirilsa, ammoniy tuzlari mavjud oziqa muhitlarida ham geterotsistalar hosil qilishi indutsirlanadi.

Anabaena shtammiga ko'p nushali *hetR* genini kiritish orqali qo'shimcha geterotsistalar hosil qilmaydigan transpozonli mutantlarni olish mumkin. Mazkur mutantlarda transpozon insertsiyalari *patA* va *patB* genlarida joylashgan. *patA* genidagi mutatsiyalar hujayra ixtisoslashuvi jarayonlarining g'ayrioddiy buzilishlariga olib keladi: geterotsistalar hujayra zanjiri oxirlaridagina hosil bo'ladi. *patB* geni mutatsiyalari geterotsistalar hosil bo'lishini to'xtatib qo'yilishga olib keladi: agar Anabaena 7120 «yovvoyi» shtammida bu hodisa azotsiz muhitga olib o'tilgandan so'ng 24 soat o'tgach boshlansa, *patB* mutantlarida 48 soat o'tib boshlanadi. Biroq mutant shtammlarni azotsiz muhitga bir necha marta ekilgandan so'ng geterotsistalarning umumiy miqdori yovvoyi shtammga nisbatan ortadi. *patB*

mutatsiyasini *patA* mutatsiyalar (yoki *hetR* geni bo'yicha ko'p nusxalilikni) birga qo'shilganda sianobakteriya nobud bo'ladi.

Anabaenaning ba'zi mutatsiyalari nitrogenazani kisloroddan himoya qila olmaydigan morfologik jihatdan normal geterotsistalarni hosil qiladi. Shuning uchun mazkur mutantlarda mikroaerofil sharoitlarda azotfiksatsiya qilish xususiyati buzilmagan bo'lsa, aerob sharoitlarda uni amalga oshirish mumkin emas. Bu mutatsiyalar yordamida geterotsistalarning hujayra devorida glikolipidlar to'planishini nazorat qiladigan *hglB*, -C, -D, -K genlari oilasi aniqlangan. Taxmin qilinishicha, bu genlar O₂ ning geterotsistalarga diffuziyanishiga to'sqinlik qiluvchi, hujayra devori glikolipidlari tarkibiga kiradigan moy kislotalari sintezini kodiraydilar.

Molekulyar ixtisoslashuv. Anabaenaning azotfiksatsiya qilishga o'tishi, SO₂ni fiksatsiyasini nazorat qiluvchi genlar repressiyasi bilan kuzatiladi, buning natijasida geterotsistalarda molekulyar O₂ ajralib chiqishi to'xtatadi. Bundan tashqari ammoniyni assimilyatsiyanishi uchun zarur bo'lgan azot metabolizmining ba'zi genlari (masalan, *glnA*) faollashadi. Mazkur jarayon natijasida hosil bo'lgan glutamin sianobakteriyalarining vegetativ hujayralariga transport qilinadi yoki ho'jayin organizmiga ko'chirib o'tkaziladi.

Geterotsistali sianobakteriyalarning azotfiksatsiya qiluvchi tizimidagi nodir xususiyat nitrogenaza sinteziga olib keluvchi *nif*- genlarning qayta qurilishidir. Anabaenaning vegetativ hujayralarida nitrogenazaning sintezi amalga oshishi mumkin emas, chunki *nifD* geni tarkibida o'lchami 11 m.n.j. bo'lgan DNK bo'lagi joylashgan. Bu bo'lak endonukleazani kodiraydigan *xisA* geni tutadi. Geterotsistalar differentsiallashtirishida endonukleaza fragmentlar joyidan qirqadi, shunday qilib, *nifD* genining yaxlitligi tiklanib, *xisA* geni ekstraxromosoma holatiga o'tadi. Shuningdek, *xisA* geni *nifS* va *fdxN* genlari oralig'ida joylashgan o'lchami 55 m.n.j. bo'lgan yana bir DNK bo'lagi ekstsiziyasini belgilaydi. Buning natijasida azotni o'zlashtiruvchi geterotsistalarda uchta alohida genlar guruhidan yettita gendan tashkil topgan va nitrogenaza kompleksini kodiraydigan yagona operon hosil bo'ladi.

Shuni ham qayd etish lozimki, Anabaena geterotsistalarida *nif* genlarning qayta qurilishi geterotsistalar morfogenezi nazorat qiluvchi genlardan ma'lum darajada mustaqil amalga oshadi. *hetR* geni bo'yicha mutantlarda bu qayta qurilish anaerob sharoitlarda normal kechadi, u nitrogenaza faolligi induktsiyasi jarayoni bilan o'z ifodasini topadi. O'z navbatida nitrogenazaning strukturaviy genlari (*nifDNK*) ni inaktivatsiyalovchi yoki DNK (*xisA*) protsessingini izdan chiqaradigan mutatsiyalar, azotni o'zlashtirish xususiyatini yo'qolishiga sabab bo'ladi, lekin azotsiz muhitda geterotsistalarning shakllanish saqlanib qoladi.

Simbioz taraqqiyoti. Azotni o'zlashtiruvchi sianobakteriyalarning o'simliklar bilan simbiozi taraqqiyoti «Nostoc- Gunnera» tizimi misolida yaxshi o'rganilgan bo'lib, mazkur tizimning tashkil topishi ikkala sherik uchun fakultativ hisoblanadi. Bu organizmlarning o'zaro munosabati yuqori spetsifiklikka ega emas: Gunneradan ajratib olingan Nostoc shtammlari nafaqat shu o'simlik, balki ochiq urug'li Macrozamia, Anthoceros o'simliklari va hatto

Peltigera lishaynigi bilan ham simbioz hosil qila oladi. Shuningdek, Nostocning barcha izolyatlari ham simbiotik tizimni hosil qila olmaydilar.

Sianobakteriyalar barg bandlari orasida joylashgan maxsus bezchalarda yashaydi. Bu bezlar papillalarga ega bo'lib, ularning orasida o'simlik to'qimalari tubiga olib boradigan kanalchalar mavjud bo'ladi. Bezchaga muvofiq keluvchi sianobakteriya shtammi kelib tushishi bilan ikkala sheriklarda bir qator morfogenetik jarayonlar indutsirlanadi, ulardan birinchisi bezchalar tubiga faol kirib boradigan sianobakteriyalarning harakatchan shakllari – gormogoniylar (geterotsistalar saqlamaydigan havo vakuolalaridan tashkil topgan (mayda hujayralardan iborat kalta ipchalar) hosil bo'lishidir.

Simbiotik bezchalar ichiga kirib borgan sianobakteriyalar faol ko'paya boshlaydi va o'simlik hujayralarini zararlaydi. Sheriklarning o'zaro aloqasi kuchli joylarda o'simlik hujayra devori erib ketishi (lizisi) kuzatiladi. Shundan so'ng endosimbiontlar o'simlik hujayralariga kirib oladi, hujayra devorlari esa o'zining yaxlitligini tiklaydi. O'simlik hujayralari ichida sianobakteriyalar geterotsistalarga qadar ixtisoslashib, ularda nitrogenaza faolligi indutsirlanadi. Endosimbiotik sianobakteriyalarda geterotsistalar 60-80% gacha hujayra hosil qilsa, erkin yashovchilarda bu ko'rsatkich 5-10% ni tashkil etadi. Gunneraning simbiotik bezchalari ichida erkin yashovchi sianobakteriyalarga xos harakatsiz spora (akinetlar) hosil bo'lishi kuzatilmaydi.

Gunnera bilan simbiozda sianobakteriyalar nitrogenaza reaksiyalari natijasida hosil bo'lgan ammoniyni assimilyatsiya qilmaydi, balki ularni o'simlik hujayralariga yetkazib beradi. Bu simbiotik tizimda (xuddi dukkaklilar va rizobiylar o'rtasidagi simbioz kabi) ammoniyning birlamchi assimilyatsiyasini ho'jayin o'simlik amalga oshiradi.

Azotni o'zlashtiruvchi simbiotik biotizimlar genetik asoslari va evolyutsiyasi kontseptsiyasi

O'simliklarning azotfiksatorlar bilan simbiozi o'simlik mikroorganizm munosabatining eng keng tarqalgan va chuqur o'rganilgan shakllaridan biri hisoblanadi. hosil bo'lgan simbiozlar o'zining asosiga ko'ra ikki tomon uchun ham foydali (mutualistik) bo'lib, biroq ba'zi sharoitlar (muhitda bog'langan azot miqdorining ko'pligi, yetarli bo'lmagan oziqlanish, genetik o'zgarishlar)da bu munosabat parazitizmga o'tishi ham mumkin. Bundan tashqari, dukkaklilarning rizobiylar bilan munosabat mexanizmlari o'simliklar bilan fitopatogenlar bilan munosabatiga o'xshab umumiy bosqichlarga ega. Shunday qilib, azotfiksatsiyalovchi simbiozlarni o'rganish bundan 25 yil ilgari Anton De Bari taklif etgan simbioz kontseptsiyasining to'g'ri ekanligini tasdiqlaydi. Bu olim simbiozning asosiy xususiyati uning «foydali» yoki «zararli» ligida emas, balki sheriklar o'rtasidagi aloqaning uzoq davom etishidadir, deb hisoblashni taklif etgan. Bunday yondashuv simbiotik tizimlarni organizmdan yuqori mo'tadil komplekslar sifatida, ya'ni, bu tizimga kirgan organizmlar erkin yashagan holatida ega bo'lmagan yangi ekologik va metabolitik imkoniyatlarga erishadilar, degan qarashni yuzaga keltiradi.

Ikki xil tipdagi azotni o'zlashtiruvchi tizimlar – dukkakli-rizobial simbiozining va sianobakteriyalarning o'simliklar bilan simbiozi genetik nazorati to'g'risidagi ma'lumotlarga taqqoslab ko'rib, bu munosabatlarga xos bir qator umumiy belgilarni ko'rish mumkin. Birinchidan, simbiozning ikkala guruhi ham sheriklarning signal munosabatiga asoslanadi, signallar esa bevosita genlar ekspressiyasiga ta'sir ko'rsatadi. Buning natijasida simbiotik tuzilmalarning morfogenezi va o'simliklar bilan bakteriyalarning metabolitik uzviy integratsiyasiga olib keladigan sheriklar genlarining muvofiqlashgan boshqariluv va differentsial ekspresiyasi kuzatiladi. Ikkinchidan, har ikkala tizimda ham o'zaro munosabatlarning asosiy samarasi – azotfiksatsiya va simbioz tuzilmalari taraqqiyoti turli gen tizimlari bilan nazorat qilinadi va ularni genetik usullar orqali alohida-alohida tahlil qilish mumkin.

Shu bilan birga ko'rib chiqilgan tizimlar o'rtasida qator farqlar mavjudligi ham ravshandir. Birinchi farq shundan iboratki, sianobakteriyalar azotni toza kulturada fototroflik bilan muvofiqlashtirgan holda o'zlashtirsa, rizobiylarning ko'pchiligi toza kulturada azotni o'zlashtira olmaydi, fototrof ham emas. Shuning uchun ham sianobakteriyalarda azotfiksatsiya qiluvchi hujayra shakli – geterotsista hosil qilishning maxsus mexanizmi mavjud, unda fotosintez amalga oshmaydi, nitrogenazaning himoyasi esa qalin hujayra devori orqali ta'minlanadi. Sianobakteriyalarda geterotsistalarning ixtisoslashuvini ta'minlaydigan murakkab genlar tizimi mavjud, u diazotrof yashashga moslanish orqali shakllangan bo'lib, biroq simbiotik tizimda foydalaniladi. Rizobiylarda sitodifferentsiallanish odatda faqat in planta sharoitida amalga oshib, nitrogenazaning kisloroddan himoya qilish bilan bog'liq emas.

Azotfiksatsiya qiluvchi simbiozlarning kelib chiqishi va evolyutsiyasi haqidagi masala g'oyatda muhimdir. So'nggi yillarda dukkaklilarning simbiotik genlari molekulyar strukturasi haqidagi ma'lumotlar bu masalaga oydinlik kiritish imkoniyatini beradi. Masalan, lyadvinets (*Lotus japonicus*) da *nin* geni aniqlangan bo'lib, undagi mutatsiyalar tugunaklarning Hosil bo'lmasligi (infektsiya iplari taraqqiyotini to'sib qo'yilishi) ga olib keladi, biroq o'simliklarning boshqa a'zolari taraqqiyotiga ta'sir ko'rsatmaydi. Bu genning oqsil mahsuloti azot yetishmasligi (azotli ochlik) sharoitida gametogenezni nazorat qiladigan *Mid Chlamydomonas* omiliga o'xshash bo'lib chiqdi. Shunday qilib, mazkur gen simbiotik tizimda evolyutsion qadimgi, ya'ni, metabolitik stress (azot yetishmasligi) ta'sirida amalga oshiradigan taraqqiyot jarayonlarini boshqarish vazifasini saqlab qolganligi aniqlandi. Shunga o'xshash turli nodulinlar va Nst-oqsillari sintezi tizimlari ham evolyutsiyaga uchragan bo'lishi mumkin. Tugunaklar hosil qilmaydigan ko'plab o'simliklarda leggemoglobin genlarining o'xshashlari aniqlangan bo'lib, bu gen mahsulotlari leggemoglobin singari kislorodni bog'lab olib, uning sensori vazifasini bajaradi. Deyarli barcha nodulinlarning gomologlari, shuningdek, S - (uglerodli) va N- (azotli) metabolizmning tugunakka xos fermentlari, tugunaklar hosil qilmaydigan o'simliklarda aniqlangan yoki dukkakli o'simliklarning yer ustki qismlarida faoliyat yuritadi. Bundan kelib chiqadiki, molekulyar genetik

jihatdan simbioz evolyutsiyasi simbioz bilan bog'liq bo'lmagan funktsiyalarni bajaradigan antsestral genlarni o'simlik-mikrob munosabatlari boshqaruv tizimiga jalb etilishi sifatida qarash mumkin.

11.6-jadval

Azotni o'zlashtiruvchi o'simlik-mikrob simbioz munosabati ikki xil tipining qiyosiy tahlili

Belgilar	Dukkakli rizobial simbioz	«Sianobakteriya-o'simlik» simbiozlar
Mikroorganizmlarga dastlabki o'simlik signallari ta'siri	Nod-genlarning (o'simlik flavonoidlari ta'siri ostida) faollashuvi	Harakatchan gormogoniylarning shakllanishi
Mikrosimbiontlarning sitodifferentsiallashuvi	Faqat o'simliklarda (bakteroidlar)	O'simliklarda va toza kulturada (geterotsistalar)
Nitrogenazaning kisloroddan himoyalaniishi	Bakteriyalar bilan (NifA va FixJ oqsillari) o'simliklar orasida (legogloblin, tugunak to'qimalarida diffuzion to'siq)	Faqat bakteriyalar bilan (geterotsistalar)
Mikroblarni azotfiksatsiyaga o'tishida <i>nif</i> - genlar tashkil-lashuvining o'zgarishi	Aniqlanmagan	Aniqlangan
O'simliklardagi morfogenetik jarayonlarni mikrosimbiont tomonidan induktsiyalanishi	Po'stloq hujayralari mitotik reaktivatsiyasi yoki dukkakli o'simlik ildiz boshlang'ichining tugunakka qadar rivojlanishi induktsiyasi	Simbiotik bezning o'sishi
Mikrosimbiontning diazotroflik va fototroflik xususiyati	Odatda mavjud emas	Mavjud
Simbiozning ikkala sheriklar uchun ham zaruriyligi	Ikkala sheriklar uchun fakultativ	Mikroblar uchun fakultativ, ho'jayin organizmlar uchun obligativ (Azolla) yoki fakultativ (Gunnera)
O'zaro munosabatning o'ziga xosligi	Dukkaklilar oilasida chegaralangan	Nostoc uchun yer yuzi o'simliklari turli

		tiplarini o'z ichiga oladi

So'nggi yillardagi muhim yutuqlardan biri azotfiksatsiyalovchi simbiozning arbuskulyar mikoriza (ArbM) bilan uzviy aloqasini aniqlanishi hisoblanadi. Dukkaklirizobial simbiozning taraqqiyoti va ArbM bir qator «umumiy» genlar orqali nazorat qilinishini formal va molekulyar genetik usullarni qo'llash bilan ko'rsatib berildi. Bu simbiozlar gomologik o'simlik mahsulotlari, shu qatorda peribakteroidli va periarbuskulyar membrana oqsillari, shu bilan bir qatorda ba'zi nodulinlar sintezi bilan birga kechadi. ArbM va tugunaklarning hosil bo'lishi bilan o'simliklarni patogenlardan himoyalashiga xos reaksiyalar sodir bo'lishi alohida ahamiyat kasb etadi. Boshqaruv xarakteriga ko'ra, bu reaksiyalar bir-biridan farq qiladi. Bu esa antagonizmida mikroorganizmlarning inaktivatsiyasi va ular faolligi (miqdori)ning mutualizmdagi regulatsiyasi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. ArbM ning boshqa tipdagi o'simlik-mikroorganizm munosabatlariga nisbatan evolyutsion jihatdan qadimiyligini inobatga olib, shuni taxmin qilish mumkinki, o'simliklarning dastlabki himoya vositalaridan biri *in planta* sharoitida endomikorizali zamburug'lar taraqqiyotini boshqarish bo'lgan. O'simliklarning keyingi evolyutsion o'zgarishlari natijasida bu tizimlar patogenlardan himoya vazifasi, hatto azotfiksatsiyalovchi simbiiontlarni qo'llab-quvvatlashni nazorat qilish vazifasiga ega bo'lgan bo'lishi mumkin.

Tugunaklar hosil bo'lishi va ArbM shakllanishi uchun zamburug'larning hujayra devorini asosiy komponenti xitinga yaqin bo'lgan retseptsiya va rizobial Nod-omillari protsessingi genlari komponenti umumiy bo'lishi ham mumkin. Tugunak hosil bo'lishini faollashtiradigan Nod-omillar mikorizatsiyani mo'tadillashtiradilar. Dukkaklilarda Nod-omillarni parchalaydigan xitinazalar sintezi esa rizobiylar, ArbM-zamburug'lar tomonidan ham indutsirlanadi. Bu ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, rizobiylar o'simliklar bilan koevolutsiya davrida mikorizali zamburug'lar singari signal omillarni sintez qilishni «o'rganib» olishgan.

Shunday qilib, tugunaklar hosil bo'lishini nazorat qiluvchi genetik tizimning sezilarli qismi o'simliklarning ArbM-zamburug'lar bilan koevolutsiyasi davrida paydo bo'lgan. Shuning uchun ArbM hosil shakllanishiga olib keladigan xususiyatni o'simliklarning azotfiksatsiya qiluvchi simbioz hosil bo'lishida shart-sharoit yaratadigan asosiy qayta moslanuvchi (preadaptatsiya) deb qarash lozim. Biroq dukkaklilar va rizobiylar koevolutsiyasi jarayonida o'zaro munosabatlarning yangi bosqichlari paydo bo'ldi (ulardan eng ahamiyatlisi - endotsitoz va avtonom simbiosomalarning shakllanishidir). Ular sheriklarning chuqur funktsional integratsiyasi va morfologik tizimlarining murakkablashuvini ta'minlaydilar.

Simbiotik azotfiksatsiyaning barcha tizimlari uchun xos umumiy belgi, mazkur jarayonning intensivligi ikkala sheriklar genlari orqali muvofiqlashtirilishidir. Shuning uchun azotfiksatsiyalovchi simbiozlarni yaxshilash, boshqa xil o'simlik-mikrob munosabat tizimlari singari mikroorganizm va o'simliklar bilan muvofiqlashtirilgan gen muhandisligi va

seleksion tadqiqotlar olib borishni taqozo etadi. O'simliklar va bakteriyalarning kuchli integratsiyalashgan simbiotik genlari funktsiyalari tashkillashuvini aniqlamasdan turib, simbiotik tizimni yaxshilash, hatto yangi simbiozlar hosil qilish to'g'risida so'z ochish mumkin emas. Bu ma'lumotni inobatga olib o'simlik-mikroorganizm azotfiksatsiyalovchi tizimida maksimal sinergetik samaraga erishish uchun seleksion tadqiqotlar olib borilmoqda. Hozirgi kunga kelib, amalda samarador mikroorganizm shtamlari va dukkakli o'simlik navlarining optimal uyg'unlashgan variantlari olingan.

Yuqori spetsifik tanib olish xususiyatini hosil qilishda va o'simliklarning metabolitik hamda himoya tizimlari bilan mikrosimbiontlarning o'zaro muvofiq kelishini yaxshilash yo'lida jiddiy ishlanmalarni ishlab chiqish talab qilinadi. Ko'plab simbiozlarning katta energiya talab qilishini inobatga olib, o'simliklarni energiya bilan ta'minlash tizimlari, birinchi navbatda, fotosintez apparati bilan endosimbiontlarning munosabatini tartibga keltirish, optimallashtirish masalasi dolzarb masala hisoblanadi. Bu boradagi fundamental va amaliy muammolarning yechimi turli soha mutaxassislari ishtirok etadigan sohalararo tadqiqotlar olib borishni taqozo etadi. Tabiatdagi simbiotik tizimlarni o'simlik va mikroblar borasida yuksak bilim va amaliy ko'nikmalarga ega olimlar jamoasi – «ilmiy simbiozi» faoliyati natijasida o'rganish mumkin. Bunday jamoalarning tashkil etilishi juda muhim masala bo'lib, unda zamonaviy fanning moliyaviy va tashkiliy imkoniyatlari ishga solinishi mumkin.

Nazorat savollari

1. O'simliklar bilan simbioz munosabatga kirish xususiyatiga ega bo'lgan mikroorganizmlarning asosiy vazifalarini tavsiflab bering.
2. Nitrogenaza kompleksining asosiy xususiyatlarini ta'riflab, uning mikrob-o'simlik munosabati tizimidagi o'ziga xosliklarini ko'rsatib bering.
3. Dukkakli-rizobial simbiozda sheriklarni tanib olishga xizmat qiladigan signal molekulalarning tabiati qanaqa?
4. Qaysi genetik tizimlar tugunak bakteriyalar va o'simliklar tomonidan signal munosabatlarni nazorat qiladi?
5. Dukkakli o'simliklarda tugunaklar hosil bo'lishini nazorat qiladigan genlarning asosiy guruhlarini tavsiflab bering.
6. Nodulinlarning tuzilishi va vazifalarini o'rganish uslubiylatining mazmuni nimadan iborat.

12-MAVZU: O'SIMLIKLARNI HIMOYada QILISHDA BIOTeXNOLOGIYada

Reja:

1. O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish istiqbollari
2. Qishloq ho'jalik ekinlari zararkunanda hasharotlariga qarshi kurash

usullari. Bakterial preparatlar

3.Virusli entomopatogen preparatlar

4. Zamburug'lar asosida olinadigan entomopatogen preparatlar

5.Begona o'tlarga qarshi kurash usullari

Таянч иборалар: ўсимликларда касаллик қўзғатадиган замбуруғ ва бактериялар; экиш материалларини соғломлаштириш ва уларни вирусли инфекциялардан химоя қилиш; Картошкадан меристема тўқималари; тўқималар култураси, фитопатоген замбуруғлар.

Hozirgi vaqtda qishloq ho'jalik ekinlarining katta qismi-30% ga yaqini zararkunanda va hasharotlar hisobiga nobud bo'ladi. O'simliklar himoyasi bo'yicha mutaxassislarni madaniy ekinlarning kasallik, zararkunandalari va begona o'tlariga qarshi kurash borasidagi barcha urinishlari kutilgan natijalarni bermayapti. Shuning uchun o'simliklarni himoya qilishdagi dolzarb muammolarni hal etishda tubdan yangilangan usullar va yo'nalishlarni izlash lozim. Bunday muammolarni yechimini topishda biotexnologiyaning o'rni g'oyatda muhimdir. Masalan, ajratib olingan to'qima va organlar kulturasidan foydalanish, o'simlikshunoslikda katta hajmdagi sog'lomlashtirilgan ekish materiallarini olish imkonini beradi.

Biotexnologiyaning mazkur soha bo'yicha erishgan yutuqlari bilan bir qatorda, qishloq ho'jalik ekinlarini kasallik va zararkunandalardan himoya qilishda an'anaviy biologik va kimyoviy kurash choralarini ham inkor etib bo'lmaydi. Hozirgi zamon biotexnologiyasining rivojlanishi tufayli insektitsid viruslarni ishlab chiqarish va ulardan qishloq xo'jaligida foydalanish imkoniyati paydo bo'ldi. Ularni keng hajmda ishlab chiqarish va hayvon hujayralarida o'stirish ishlari amalga oshirilmoqda.

Ma'lumki, o'simliklarni biologik yo'l bilan himoya qilishda tirik organizmlar yoki ularning faoliyati mahsulotlaridan zararkunanda organizmlar yetkazadigan zararining oldini olish va kamaytirish tushuniladi.

O'simliklarni himoya qilishda turli xil zaharli kimyoviy moddalardan foydalanish natijasida hasharotlarda ularga nisbatan ko'nikish paydo bo'ladi. Bundan tashqari kimyoviy preparatlar maqsadga muvofiq ta'sir ko'rsatmasdan, foydali hasharotlar va mikroorganizmlarga bir xilda zararli ta'sir ko'rsatadi.

Shuningdek, zararkunandalarga qarshi kurashda ularning neytral turlari cheksiz ko'payib ketadi, natijada odamlarga ham havf tug'diradi. Umuman, pestitsidlar odam va hayvonlar uchun zaharli hisoblanadi. Ularning ko'p miqdorda to'planishi atrof muhitning ifloslanishiga sabab bo'ladi. Odam uchun eng hafli pestitsidlar xloroorganik tabiatga ega bo'lib, o'n yillar davomida tuproqda saqlanib turishi bilan birga, odam va hayvonlarning to'qimalarida ham to'planadi. Butun dunyo

sog'liqni saqlash tashkiloti ma'lumotlariga ko'ra, yer yuzida har yili yarim millionga yaqin aholi pestitsidlar ta'sirida turli xil kasalliklarga chalinsa, besh mingdan ortig'i zaharlanish oqibatida halok bo'ladi.

Dunyo olimlarining sa'yi harakatlari tufayli pestitsidlarning zaharliligi keyingi yillarda birmuncha pasaytirilgan. Preparatlarning tegishli turidan foydalanish natijasida pestitsidlarning atrof muhitga zararli ta'siri keskin kamayib bormoqda. Hozirgi kunda tuproqda zaharli qoldiqlar qoldirmasdan tezda parchalanib ketadigan preparatlar yaratilgan va amaliyotda foydalanmoqda.

Shunga qaramasdan, pestitsidlarni ishlab chiqarish va ulardan qishloq xo'jaligida foydalanish bir qator juz'iy kamchiliklarga ega. Statistik ma'lumotlarga ko'ra, sintez yo'li bilan olingan preparatlarning o'ndan birigina amaliyotda foydalanish uchun yaroqlidir.

O'simliklarni himoya qilishda kimyoviy usullarni qo'llashning asosiy kamchiliklarini bartaraf etishda biotexnologik usullariga katta e'tibor qaratilmoqda. Biotexnologiya o'simliklarni himoya qilishda viruslar, bakteriyalar, zamburug'lar, sodda hayvonlar va hasharotlar, shuningdek, tirik organizmlarning biologik faol moddalari (antibiotiklar, gormonlar, feromonlar va h.k) ishlab chiqarish texnologiyalari bilan shug'ullanadi.

Shunday qilib, mutaxassislarni o'simliklarni himoya qilish borasida tegishli vositalardan foydalanish muammosi qiziqтира, biotexnologlarni ularni ishlab chiqarishni qanday tashkil etish lozimligi muammosi qiziqtiradi. Bu yerda shuni ham qayd etish lozimki, bakteriya va zamburug'larni o'simliklarni himoya qilish maqsadida yetishtirish, turli xil moddalar, masalan, antibiotiklarni olish borasidagi ishlanmalardan tubdan farq qilmaydi. Shu bilan birga biotexnologiya va gen muhandisligi o'simliklarni himoya qilish vositalaridan foydalanish imkoniyatlarini yanada kengaytiradi.

O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish istiqbollari

Qishloq xo'jaligida yetishtirilayotgan o'simliklarning katta qismi har yili turli xil kasalliklar hisobiga nobud bo'ladi. O'simlik kasalliklarini asosan uch toifaga mansub parazit mikroorganizmlar chaqiradi. Ular viruslar, bakteriya va zamburug'lardir.

Viruslar 300 ga yaqin turli xil qishloq ho'jalik ekinlarida kasallik tug'diradi. Fitopatogen zamburug'lar va bakteriyalarga nisbatan bu ko'rsatgich uncha yuqori emas: o'simliklarda kasallik qo'zg'atadigan zamburug' va bakteriyalarnig soni bundan 100 marta ko'proqdir. Biroq virusli kasalliklarning havfi, keltiradigan zarari, bakterial va zamburug'li kasalliklarga nisbatan kam emas, balki ulardan yuqori hamdir. Kasallangan o'simliklarning tashqi ko'rinishi o'zgaradi, hosilning sifati va miqdori kamayib ketadi.

Virusli infektsiyalarga qarshi kurashning qiyinligi shundaki, ular o'simlik yoki hayvon organizmida obligat parazit hisoblanadi. Ularni yo'qotish tirik organizm xo'jayralarining o'zini nobud bo'lishiga sabab bo'ladi. Viruslar bilan kasallangan

o'simliklarni amalda to'liq davolash mumkin emas ular bilan kurash usullari, asosan, viruslarni kelib chiqishi va tarqalishini oldini olishga asoslanadi.

Ekish materiallarini sog'lomlashtirish va ularni virusli infektsiyalardan himoya qilishda ajratib olingan to'qima va organlardan foydalanish usuli keng imkoniyatlar ochdi. 1943 yilda to'qimalar kulturasiga asos solgan olim F.Uayt tamaki virusi bilan zararlangan o'simliklarning ildizlari uchki qismida viruslar uchramaslini aytib o'tgan edi. Shunga o'xshash natijalar boshqa mualliflar tomonidan ham keltirilgan. Bu ma'lumotlarga tayanib, Frantsiya Milliy agronomik instituti xodimlari tomonidan georginiya o'simliklarining oziqa muhitlarida o'stirilayotgan meristemalaridan sog'lomlashtirilgan ekish materialini olish usullari taklif etilgan. Ular o'simliklarning apikal meristemasidan virusdan holi yetuk o'simliklarni yetishtirishga muvaffaq bo'lganlar. Kartoshkaning Bel de fontene navining zararlangan qismidan ajratib olingan va sun'iy oziqa muhitida o'stirilgan sog'lom merisitemalaridan foydalanib uni virusdan batamom holi qilishga erishilgan.

Frantsuz olimlarining sog'lomlashtirilgan ekish materiallarini olish borasidagi tadqiqotlari ushbu sohadagi barcha ishlarga poydevor yasadi.

Infektsiyalardan holi o'simliklarni olish jarayonini quyidagi bosqichlarga bo'lish mumkin:

- viruslar mavjudligini aniqlashga yordam beradigan o'simliklar yordamida sog'lomlashtiriladigan namunalarning zararlanish darajasini aniqlash;
- termoterapiya va meristemalarni o'stirish;
- o'simlik meristemalaridan olingan regeneratsiya qilingan ko'chatlarda viruslar mavjudligini tekshirish.

O'simliklarni viruslardan samarali himoya qilishda o'lchami 0,1-0,2 mm bo'lgan, meristemadan ajratib olingan eksplantlardan foydalaniladi. Eksplantning o'lchami qancha kichik bo'lsa, u shuncha qiyin yashab keta oladi va yetuk o'simlikka qadar regeneratsiya bo'ladi. Kartoshkadan meristema to'qimalarini ajratib olishda tugunaklardagi kurtaklardan yoki o'simliklarning poya uchki qismidan foydalaniladi. Eksplantlarni olishda poya uchki qismlarini kaltsiy gipoxlorid eritmasida sterillanadi, keyin bir necha marta steril suv bilan yuvib tashlanadi.

Viruslardan holi qilishda eksplantlarga termik ishlov berish usulidan ham foydalaniladi. 30-40⁰S haroratda o'simliklar tarkibidagi viruslar kontsentratsiyasining keskin pasayishi, ayniqsa, bu holat, o'suvchi qismlarida kuzatiladi. Mazkur usul birmuncha yirik, oson yashab keta oladigan eksplantlardan foydalanishda samara beradi.

Ajratib olingan to'qima bo'lagini agarli muhiti solingan 3-4 mg hajmli probirka yuzasiga ko'chirib o'tkaziladi, keyin og'zini paxta tiqin bilan berkitiladi. J.Morel kartoshka eksplantlarini ildiz olishi uchun oziqa muhiti tarkibini taklif etgan. Bu oziqa muhiti, xuddi shu maqsadda tayyorlangan oziqa muhitlaridan kaliy va ammoniy miqdorining ko'pligi, o'sish va rivojlanishni stimullovchi modda sifatida gibberellin qo'shilganligi bilan farq qiladi.

Meristema o'tkazilgan probirkalarni harorati 25⁰S bo'lgan yorug' xonaga joylashtiriladi. Shunday so'ng har yigirma-o'ttiz kunda meristemalar alohida probirkalarda poyalar bera boshlaydi. 3-4 sm li poyalarni 0,5-1,0 sm li bo'laklarga bo'linadi. Ularning har biri barg va yashirin kurtaklarga ega bo'lishi kerak va ildiz hosil qilishi uchun aynan o'sha oziqa muhitiga ekib boriladi. Shundan so'ng o'simliklarni tuproqqa ko'chirib o'tkaziladi.

To'qimalar kulturası usuli viruslardan himoya qilishda qo'llaniladigan samarali usullardan biri bo'lib hisoblanadi. Chunki virusli infeksiyalarga chalingan o'simliklar, ko'pincha eng yaxshi navlar ham 100% gacha zararlangan bo'ladi. Unga qarshi qo'llaniladigan meristemalar kulturası usuli navni qayta tiklash imkonini beradi.

Mazkur usul yordamida qulupnay, maymunjon kartoshka va ko'plab mevali ekinlar, shuningdek, manzarali o'simliklardan sog'lomlashtirilgan ekish materiallarini olishga muvaffaq bo'lingan.

To'qimalar kulturası usulidan tashqari o'simliklarni virusdan holi qilishda gen muhandisligi usullari ham muhim ahamiyatga egadir. Masalan, nuklein kislotalarni klonlash o'simlik to'qimalaridagi viruslarni aniqlash va zararlangan o'simliklarni ajratib olish imkonini beradi. Bu yo'l bilan AQSh Qishloq ho'jalik xizmati tadqiqot markazida kartoshkaning urchuqsimon virusi RNK si viroidi ajratib olinib, unga mos DNK nusxasini teskari transkriptaza yordamida sintezlab, klonlashga muvaffaq bo'lingan. Bu viroiddan qutulish juda qiyin, uni kartoshka tugunaklarida aniqlash hosilni sezilarli darajada oshirish imkonini beradi. Faqat sog'lom tugunaklardan foydalanish ham hosildorlikni ko'tarishga yordam beradi. Shunday qilib, klonlangan DNK virus va viroidlarga aniq va ishonchli ravishda tashxis qo'yish imkonini bo'lib, u virus RNK si bilan gibridizatsiya bo'la oladi.

Tabiiy sharoitlarda fitopatogen zamburug'lar - o'simliklarning kasallik chaqiruvchilarida boshqa zamburug'larning parazit holda yashab, ko'payishi holatlari ham ko'p uchraydi. Boshqa parazit zamburug'larda rivojlanadigan parazit zamburug'lar ikkilamchi tartibdagi giperparazitlar degan nom bilan yuritiladi. Agar birinchi parazit qaysidir kasallikni chaqiruvchisi bo'lsa, ikkinchisidan shu kasallik bilan kurashda foydalanish mumkin. Biotexnologiyaning vazifasi ochiq va himoyalangan yer sharoitidagi fitopatogenlarga qarshi kurashda ishlatiladigan mikrobiologik preparatlarni ishlab chiqarish jarayonlarining ishlanmasini tuzishdir.

O'simliklarni kasalliklardan himoya qilishda mikroorganizmlar ishlab chiqaradigan antibiotik moddalar alohida o'rin tutadi. Ular evolyutsiya jarayonida mikroorganizmlarning bir-biriga nisbatan kuchli kurash vositasi sifatida kelib chiqqan. O'simliklarni himoya qilishda ba'zi antibiotiklardan foydalanish biotexnologiyada yangi yo'nalishlar - turli xil agroximikatlar, ular orasida mikroblar asosida olingan gerbitsidlar, hayvonlardan olinadigan attraktantlar, ekdizonlar, fitogormonlar va boshqa xil moddalarni ham olish yo'llari va qishloq ho'jaligida qo'llash istiqbollari ochib berdi.

Antibiotiklar fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi kurashda foydalaniladigan boshqa vositalarga qaraganda bir qator afzalliklarga ega. Ular o'simliklarning organ va to'qimalariga oson kirib boradi, shuning uchun ularning

ta'sir etish mexanizmi tashqi muhit omillariga juda kam darajada bog'liqdir. O'simlik hujayralariga ayniqsa, neytral tabiatli (xloramfenikol, pentsillin) oson o'tsa, amfoterlari (xlortetratsiklin, oksitetratsikin) va asosli-antibiotiklar (neomitsin, streptomitsin) qiyin o'tadi. O'simlik to'qimalariga nisbatan hayvon to'qimalari antibiotiklarni birmuncha qiyin inaktivatsiyalaydi. Shunday qilib, antibiotiklarni o'simlik to'qimalariga tez o'tishi va ularning a'zolar bo'ylab tez tarqalishi, nisbatan qiyin parchalanishi fitopatogen mikrofloraning nobud bo'lishi uchun zarur antibiotiklar bilan ma'lum darajada to'yinishga sharoit yaratadi.

Olimlarning ko'plab tadqiqotlari natijasida antibiotiklarning o'simlik to'qimalaridagi biologik faolligi hayvon to'qimalariga nisbatan kuchliligi isbotlandi. Ko'pgina fitopatogen zamburug' va bakteriyalarni ular yordamida nobud qilish mumkinligi qayd etiladi.

Bundan tashqari fitopatogen bakteriya va zamburug'larga qarshi qo'llaniladigan antibiotiklar o'simliklar va ular bilan oziqlanadigan hayvonlar uchun ham zaharsizdir. Ba'zan antibiotiklar o'simliklarning o'sib rivojlanishi uchun ijobiy ta'sir ko'rsatib, ularning hosildorligini oshirishga yordam ham beradi. Suv havzalari yoki tuproqqa tushgan antibiotiklar oson parchalanadi ular qishloq xo'jaligida qo'llaniladigan sun'iy preparatlardan farq qiladi. Olimlar antibiotiklarning degradatsiyasining tezligini ularning sintezida ishtirok etuvchi ferment tizimlari bilan bog'laydilar. Bu fermentlar ishtirokida antibiotiklarning parchalanishi amalga oshadi. Kimyoviy yo'l bilan sintezlangan birikmalar tabiatda juda qiyin parchalanadi, chunki ularni parchalovchi mikroorganizmlarda tegishli fermentlar uchramaydi. O'simlikshunoslikda antibiotiklardan foydalanishga bo'lgan qiziqishning keskin ortishiga sabab, zaharli kimyoviy moddalardan foydalanishning oqibatlari va ular qo'llanilgan o'simliklar bilan oziqlanadigan hayvonlarning zaharlanishi bilan bog'liqdir. Tuproqdan suv havzalariga tushgan zaharli kimyoviy moddalarsuv hayvonlarining turli xil vakillari va boshqalarning ham nobud bulishiga olib keladi.

Antibiotiklar birinchi marta o'simlik kasalliklariga qarshi ba'zi Yevropa mamlakatlari va AQShda qo'llanilgan. Streptomitsin tetratsiklin bilan kombinatsiyada sabzavot va poliz ekinlarining bakterial kasalliklariga qarshi qo'llanilgan. Keyinroq ayni shu maqsadda siklogeksimid va grizeofulvin ishlatila boshlandi. Horijiy mamlakatlarda o'simliklarni kasalliklardan himoya qilishda hozir ham tibbiy maqsadlarda foydalaniladigan antibiotiklar ishlatiladi. Masalan, agrisept preparati 37% li streptomitsin sulfat, fitomitsin-20%li streptomitsin nitrat, agrimitsin-10-15% li streptomitsin va oksitetratsiklinning 10:1 nisbati va hokazolardan iboratdir.

Shuni ham qayd etish lozimki, odamda kasallik tug'diradigan ko'plab mikroorganizmlar tuproq va o'simliklar yuzasida uchraydi. O'simliklarga tibbiyot maqsadlarida foydalaniladigan antibiotiklar bilan ishlov berish odamlarda kasallik chaqiruvchi mikroorganizmlarni chidamlilik belgisiga ko'ra tanlanishiga va oqibatda tibbiyotda qo'llaniladigan antibiotiklarning samarasi pasayib ketishiga olib keladi. Shuning uchun keyingi yillarda aynan o'simliklarda kasallik tug'diruvchi mikroorganizmlarga qarshi qo'llaniladigan antibiotiklarni izlab

topishga jiddiy e'tibor qaratilmoqda. Bunday izlanishlar Yaponiyada keyingi 15 yil ichida ko'p miqdorda o'ndan ortiq preparatlar – blastitsidin, kasugamin, validamitsin, sellotsidin, tetranaktin ishlab chiqarish borasida keng ko'lamda olib borilmoqda.

O'simliklarning turli kasallik va zarakunandalariga qarshi dunyoning ko'plab mamlakatlari – Kanada, Niderlandiya, Avstraliya, Ruminiya, Polsha, Misr, Pokiston va Fillipinda Yaponiyada ishlab chiqarilgan antibiotik va sintetik fungitsidlar tutuvchi kompleks preparatlar qo'llanilmoqda.

Hozirgi vaqtda pomidor va boshqa o'simliklarda so'lish, un shudring kabi kasalliklarga qarshi o'simliklarni himoya qilishda qo'llaniladigan preparatlar AQSh da ishlab chiqarilayotgan bo'lsa, Hindistonda aurefungin, Belgiyada nikomitsin ishlab chiqarilmoqda. Ularning ta'sir doirasi keng bo'lib bakterial va zamuburug'li kasalliklarga qarshi ishlatiladi.

Bunday antibiotiklardan biri-fitobakteriomitsin, u bakteriya va zamburug'larga qarshi keng spektrga ega. Uni *Astinomyces lavendulae* aktinomitsetidan ajratib olinadi. Fitobakteriomitsin asosida bir necha xil tovar ko'rinishidagi preparatlar ishlab chiqariladi: urug'larga ishlov berish uchun 2-5% li fitobakteriomitsin dusti, o'simliklarga sepish uchun fitolavin-100 ning 10%li eruvchan kukuni qo'llaniladi. Fitobakteriomitsinning 12% li dusti loviya bakterioziga, 5% lisi bug'doy va ildiz chirishiga qarshi qo'llaniladi. Urug'larga ekish oldidan ishlov berilganda loviya o'simligida bakterioz bilan kasallanish 70% ga kamayishi va hosildorlik 1,5-3 ga/ts oshishi aniqlangan. Umuman, bu preparatlarni urug'larga ekish oldidan ishlov berishda 2-3kg/t miqdorda qo'llaniladi.

Olingan tadqiqot natijalarining ko'rsatishicha, fitobakteriomitsin g'o'za gommози, dukkakli ekinlarda fuzarioz so'lish, garmdorida vertitsillyoz so'lish, qoraqatda antraknoz, bedada dog'lanish kabi kasalliklarga qarshi kurashda yaxshi samara beradi.

Preparatlarning samaradorligini aniqlash asosida uni sanoat miqyosida ishlab chiqarish texnologiyasi yo'lga qo'yilgan. Yangi texnologik ishlanmalarni amaliyotga joriy etish ularni qo'llash samardorligini ortishiga sabab bo'lgan, bunday preparatlarni qo'llash yetishtiriladigan hosil tannarxining arzon bo'lishiga olib keladi.

Fitolavin -100 fitobakteriomitsinning faol moddasi hisoblanadi. Uni bug'doy va arpa urug'larida ildiz chirishi va soya o'simligidabakteriozni oldini olish uchun purkaladi.

Trixotetsin- keng spektrdagi ta'sir doirasiga ega antibiotik. Uni pushti rang trixotetsium (*Trichothecium roseum*)zamburug'idan ajratib olinadi. Bu netrotrof mikroorganizm giperparazit sifatida ko'plab fitopatogen zamburug'larda uchraydi. Trixotetsiumning zamburug'larda parazitlik qilishi uning tarkibida zamburug'larga qarshi trixotetsin antibiotigi ajralib chiqishi bilan bog'liq. Bu antibiotik zamburug' gifalarini nobud qiladi va pushti trixotetsium ularga joylashib olib, nobud bo'lgan hujayralardan oziq moddalarini shimib oladi.

Trixotetsin 10% li eruvchan kukun yoki 20% li dust sifatida ishlab chiqariladi. Uni ekish oldidan urug'larga ishlov berish, o'simliklarda ilk kasallik belgilari

ko'rinishi bilan purkash orqali qo'llaniladi. Trixotetsin ochiq va himoyalangan yer sharoitida yetishtiriladigan bodringniun shudring, tamakining un shudring, uzumning oidium, danak mevali daraxtlarning monial kuyishi, olma parshasi kabilarda qo'llaniladi.

Mikroorganizmlarda antagonizm xususiyati ancha ilgari aniqlangan. Ularni 20 yillarda antibiotiklar kashf etulganga qadar fitopatogen mikrofloraga qarshi qo'llanilgan. Aktinomitsetlar va mikolitik bakteriyalar zig'ir, g'o'za, sabzavot ekinlari, danakli mevalarning kasalliklariga qarshi qo'llanilganda ijobiy samara bergan.

Antagonist mikroblardan tuproqni sog'lomlashtirish maqsadida ham foydalaniladi.

Antibiotiklarning kashf etilgach so'ng mikroorganizmlarning o'zi emas, balki ular ajratib chiqaradigan moddalar qo'llanila boshlandi. Biroq hozirda ham ko'pchilik mamlakatlarda mikroblar preparatlari ishlab chiqarilmoqda. Ular o'simlik kasalliklariga qarshi nobud qiluvchi ta'sir ko'rsatadi. Shu yo'sinda ushbu sohada ikki xil yo'nalish – antibiotiklar va mikroblar – antagonistlardan foydalanish tarmoqlari kelib chiqdi. O'simlik urug'laridagi infektsiyalar va o'simliklarning o'suv davridagi kasalliklariga qarshi ishlov berish uchun antibiotik moddalaridan foydalanilsa, o'simlik qoldiqlari bilan birga saqlanib qolgan tuproq infektsiyalariga qarshi yoki tuproqni boyitish maqsadida kompost sifatida mikroblar antagonistlarning o'zidan yoki toza kulturasidan foydalaniladi. Chunki antibiotiklarning o'zidan foydalanish samaradorligi past bo'lib, bu ularning tuproq mikroorganizmlari ishtirokida tez parchalanib ketishi bilan bog'liqdir. Antagonist sifatida bakteriyalar, viruslar, zamburug'lar qo'llanilishi mumkin.

Antagonist – zamburug'lar orasida trixoderma avlodi vakillari keng qo'llaniladi. Trixodermani mevali daraxtlar kuydirgisiga qarshi qo'llaniladi. Hozirda AQShda trixodermani yeryong'oq sklerotiniyasiga qarshi tuproqqa berish maqsadida ishlab chiqarish usullari takomillashtirilmoqda. Frantsiyada uzumning qo'ng'ir chirish kasalligiga qarshi trixoderma preparatlari bilan ishlov berish ijobiy natijalar bergan. Isroilda kartoshkaning rizoktonioz kasalligi va boshqa kasalliklariga qarshi preparat ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan.

Trixodermin preparati trixoderma zamburug'ini turli xildagi o'simlik chiqindilari va boshqa substratlar (non mag'zi, somon, g'alla chiqindilari, torf) da o'stirish asosida olinadi. U tuproqda uchraydigan turli xil qishloq ho'jalik ekinlarining kasalliklari - ildiz chirishi, zig'ir o'simligi kasalliklari, g'o'zaning vertitsilhez so'lishi va boshqalarga qarshi qo'llaniladi.

Yashil trixoderma (*Trichoderma viridae*) va u asosida ishlab chiqarilgan preparat tarkibida ikki xil antibiotik – gliotoksin va viridin bo'lib, ular antibakterial va zamburug'larga qarshi ta'sir xususiyatiga ega.

Trixodermin chuqur davomli ekish usulida maxsus uskunada o'stirish yo'li bilan olinadi.

Tadqiqot natijalarining ko'rsatishicha, bug'doy urug'lariga ekish oldidan 4 kg/ga miqdorda ishlov berish o'simliklarning butun vegetatsiya davomida kasallanishini 54-71% ga kamaytirib, hosilni 2 ga/ts ga oshiradi.

Trioxodermini torf chiqindisi solingan tuvakchalarga 50 mg miqdorda kiritish bodringni ildiz chirish bilan kasallanishini 60% ga kamaytirib, hosilini 31-74% ga oshiradi. 1 gramm trioxodermini g'o'za o'simligida qo'llash samaradorligi +51,2% ga teng.

Biotexnologiya va gen muhandisligi usullari o'simlik kasalliklariga qarshi mikroorganizmlarning odam va hayvonlarga zararsiz va yuqori samardor yangi shakllarini yaratishga imkon beradi.

Qishloq ho'jalik ekinlari zararkunanda hasharotlariga qarshi kurash usullari. Bakterial preparatlar

Hozirgi vaqtda o'simlik zararkunanda hasharotlariga qarshi qo'plab mikroorganizmlar majmualari o'rganilgan va ular asosida mikrob biopreparatlari tayyorlashning ilmiy asoslari yaratilgan. Sanoat asosida ko'plab preparatlar ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda keng qo'llanilmoqda.

Bunday preparatlarni tayyorlash uchun bakteriyalar, zamburug'lar va viruslardan foydalaniladi. Preparatlarni ishlab chiqarish texnologiyalari ham xilma xildir. Ularni ishlab chiqarishda mikroorganizmlarning fiziologiyasi va biokimyoviy xususiyatlari va preparat nima maqsadda qo'llanilishi e'tiborga olinadi. Mikrob preparatlarini ishlab-chiqarish uchun qo'yidagi talablar qo'yiladi:

- ularning spetsifikligi, faqat ma'lum turdagi zararkunandalarga ta'sir qilib, foydali hasharotlarga zararsizligi;
- yuqori samarali ta'sir kuchiga ega bo'lishi;
- ishlab chiqarish va qo'llashning qo'layligi;
- odam va hayvonlar uchun xavfsiz bo'lishi;
- preparatning foydali xususiyatlarining uzoq saqlanishi;
- uning yaxshi namlanishi va eritmasining barqarorligi;
- o'simlik bargi va boshqa a'zolariga yopishuvchanligi va u yerda uzoq vaqt saqlanishi va hokazo.

Dunyoda 50 ga yaqin o'simliklarni zararkunanda hasharotlardan himoya qilish uchun mikrobiologik preparatlar yaratilgan.

Ularning ko'pchiligi sporali entomopatogen *Vacillus thuringiensis* bakteriyalari asosida ishlab chiqariladi.

Bu batsilla boshqa bir qancha entomopatogen bakteriyalar qatori *Bacillaceae* oilasi *Bacillus* turkumiga kiradi. *Bacillus* turkumi tayoqchasimon, spora hosil qiluvchi, grammusbat turlarni birlashtiradi, ko'pchiligi harakatchan (xivchinlari mavjud) fakultativ va obligat aeroblar bo'lib, aksariyati tuproqda tarqalgan. *Vacillus thuringiensis* o'zining asosiy xossalari jihatidan *Bac.cereus*ga yaqindir. Shuning uchun ular bir guruhga birlashtiriladi, sun'iy oziqa muhiti va hasharot ichida yaxshi rivojlanadi.

Vacillus thuringiensis bakteriyasi juda ko'p muhim xususiyatlarga ega: tez ko'payadi; juda ko'plab oziqa muhitlarida spora hosil qiladi; vegetativ o'sishi tugagandan so'ng, faqat spora hosil qilibgina qolmasdan, zararkunanda hasharotlarni nobud qiladigan asosiy vosita – kristall holdagi endotoksinni sintez qiladi. Bu bakteriyaning ayrim shtammlari kristall holdagi endotoksindan tashqari

o'zi o'sadigan muhitga yuqori haroratga chidamli, hasharotlar uchun o'ta zararliβ-ekzotoksin va fermentlar ajratib chiqaradi.

Shuningdek mazkur bakteriyalar turli xil texnologik ishlov berishlarga chidamli, separatsiya, vakuumli bug'latish, quritishning turli xil usullari, substrat-tashuvchilar (bakteriyani o'ziga biriktirib turuvchi vosita) bilan aralashtirish va boshqalar uchun qulay. Quritilgan holatda tayyor preparat o'zining dastlabki xususiyatini yo'qotmasdan bir necha yillargacha yaxshi saqlanadi.

Vacillus thuringiensisning hamma ko'rsatilgan sifatleri uni o'simliklarni zararli hasharotlardan himoya qilish vositasi sifatida birinchi o'ringa chiqardi. Entomopoten bakteriyalarda virulentlik va ferment faolligining o'zaro bog'liqligi va shtammning yuqori virulentlikka ega bo'lishida S-fosfalipaza fermenti alohida o'rin tutishi aniqlangan. Vacillus thuringiensis bakteriyasining maxsus fosfalipaza bilan patogenlik xususiyati orasidagi bog'liqligi o'rganilgan va S-fosfolipaza Vac.thuringiensis bakteriyalarning entomotsid ta'sirida asosiy faktor hisoblanadi degan xulosaga kelingan.

Kristall oqsilli δ-endotoksin – yoki juft spora kristalli endotoksin bakteriyaning spora hosil qilish jarayonida hujayraning bir qismida spora shakllangandan so'ng hosil bo'ladi, sintez jarayoni 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 0,5x1,3 dan 1x3,5 mkm gacha va hattoki submikroskopik ko'rinishigacha kichik bo'lishi mumkin, rN ko'rsatkichi kuchli ishqoriy (rN 11,5 dan yuqori) sharoitda yaxshi eriydi. Kristallar 100⁰S haroratda 30-40 minut qizdirilgandagina o'zining zaharlilik xususiyatini yo'qotadi.

Dunyoda ushbu preparatlarni ishlab chiqarishning 20 ga yaqin sanoat shakllari yaratilgan, ularning barchasi asosida Vac. thuringiensis ning u yoki bu turlari yotadi. Asosan sanoat asosida quyidagi turlardan foydalaniladi: Bacillus thuringiensis, var.thuringiensis, kurstaki, galleriae dendrolimus, israelensis.

Mamlakatimizda, Respublika Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya institutida, professorlar Q. D. Davronov va T. Yu. Yusupovlar rahbarligida Bac. thuringiensis ni mahalliy shtamlari asosida biopreparat ishlab chiqarish texnologiyasining ilmiy asosi yaratildi. N. A. Xo'jamshukurov tomonidan kolorado qo'ng'izi lichinkalariga qarshi Bac. thuringiensis entomopoten bakteriyasining mutant shtamlari asosida

«Biokristall» insektitsid biopreparati yaratildi va preparatning dastlabki nusxalari laboratoriya va dala sharoitida sinovdan o'tkazilib muvaffaqiyatli deb topildi.

Rossiyada esa, bunday preparatlarning 10 dan ortiq xillari ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda keng qo'llanilmoqda. Masalan, “ entobakterin” nomi bilan Bac. thuringiensis var. galleriae bakteriyasi asosida sanoatda birinchi marta kukun ko'rinishidagi preparat tayyorlangan. Preparat tarkibida 30 mlrd/g spora, shuncha miqdorda kristall holidagi endotoksin va yopishqoq qo'shilmalar (kaolin) mavjud. Tangacha qanotli hasharotlarning ko'pgina turlari: karam va sholg'om oq kapalagi, karam kuyasi, botqoq kapalagi, meva kuyasi va boshqalarga qarshi kurashda

samarali foyda beradi. Ichakda ta'sir qiluvchi preparat oziqa bilan hasharotning organizmiga kirib, uni zaharlaydi, hasharotlarda tashqi ta'sir natijasida vujudga keladigan falajlik uyg'otadi, ichak tizimining yaxlitligi buziladi. Shundan so'ng sporalar gemolimfalarga kirib u yerda o'sib, ko'paya boshlaydi va hasharotda sepsis boshlanadi, natijada hasharot nobud bo'ladi. Entobakterin odam va issiqqonli hayvonlar, baliqlar, asalarilar va entomofaglarga ta'sir qilmaydi, lekin ipak qurti uchun havflidir.

Preparat eritmasi o'simlikka purkash yo'li bilan qo'llaniladi. Uni 2-5 kg/ga miqdorda 300-1500 l/ga maxsus purkagichli moslamalar yordamida ham, katta maydonlarga samolyot yordamida ham sepilishi mumkin. Entobakterinni qo'llashning mo'tadil harorati 18-32⁰S dir.

Hozirgi kunda shunga o'xshash, turli xil nomlar bilan bir qancha preparatlar butun dunyoda ishlab chiqarilmoqda va o'simlik zararkunanda hasharotlariga qarshi kurashish amaliyotida keng qo'llanilib kelinmoqda. Masalan: *dentrobatsillin*, *bitoksibatsillin (BTB)*, *BIP-biologikinsektitsid preparat*, *gomelin*, *lepidotsid*, *baktokulitsid*, *dipel*, *baktospein* va boshqalar. *Bac. thuriengiensis* bakteriyasi asosida tayyorlangan biopreparatlar yuqori samaradorlikka ega. Bu preparatlarning barchasi *Bac. thuriengiensis* bakteriyasi shtamlari asosida tayyorlangan bo'lib, hasharotlar turiga ko'ra ta'siri, preparatni tayyorlash texnologiyasi, samadorligi va boshqa bir qancha xususiyatlari bilan bir-birlaridan farq qiladi.

O'zbekistonda bu preparatlarni yetarli miqdorda ishlab chiqarish va keng miqyosda qishloq ho'jalik ekinlari, meva va sabzavot ekinlari zararkunanda hasharotlariga qarshi qo'llash kimyoviy insektitsidlarga nisbatan istiqbolli va ekologik havfsiz chralardan biri bo'lib hisoblanadi.

Virusli entomopatogen preparatlar

Hamma entomopatogen prepatlar ichida virusli prepatlar ho'jayin hasharotga nisbatan o'zining spetsifikligi bilan xarakterlanadi. Ular odatda bir turdagi hasharotlargagina ta'sir ko'rsatadi. Ularning tor doiradagi ta'sirining o'zi bu preparatlarning inson, flora va fauna uchun zararsizligini ko'rsatadi. Viruslar noqulay tashqi ta'sirlar (harorat, namlik)ga o'ta chidamli bo'lib, ular hasharotlardan tashqarida, alohida ham 10-15 yilgacha o'z ta'sir kuchini yo'qotmaydi.

Hasharotning viruslar bilan kasallanishi ularning oziqlanishi orqali yuz beradi. Hasharot ichaklariga tushgan virus tanasi ishqoriy muhitda parchalana boshlaydi. Ajralib chiqqan virionlar ichak devorlaridan hujayralarga o'tib, yadrolarda viruslar replikatsiyasi ro'y beradi. Hujayralardan ajralib chiqqan viruslar boshqa hujayralarni ham zararlay boshlaydi va oqibatda hasharotlar lichinkalarining nobud bo'lishiga olib keladi. Viruslarning o'ziga xos belgilari ularning faqat tirik to'qimalardagina ko'paya olishidir. Bu esa o'z navbatida sanoat miqyosida virusli entomopatogen preparatlarni ishlab chiqarishda bir muncha qiyinchiliklar tug'diradi, chunki viruslarni ko'paytirish texnologiyasi jarayonida faqatgina tirik ho'jayin-hasharotlardan foydalanish talab etiladi. Hozirgi paytda 3 xil virusli

entomopatogen preparatlarni ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan: virin-EKS (karam qurtiga qarshi), ENSh (tok ichak qurti kasaliga qarshi), ABB (amerika oq kapalagiga qarshi).

Har qanday virusli preparatni ishlab chiqarish ho'jayin hasharotni fiziologik sog'lomligini ta'minlovchi sun'iy oziqa muhitida o'stirishdan boshlanadi. Ma'lum bir rivojlanish fazasida (odatda voyaga yetgan hasharot davrida) hasharotlar ovqatiga virusli suspenziya qo'shish yo'li bilan ular zararlantiriladi. Buning uchun inokulyat oldindan bir qancha kasallangan lichinkalardan olib tayyorlanadi. Hasharotlar zararlengandan so'ng uning to'qimasida maksimal darajada viruslar to'planishini ta'minlovchi qat'iy aniq sharoitda saqlanadi. 7-9 kundan keyin nobud bo'lgan va chalajon lichinkalar yig'iladi, 33-35⁰ S da ular quritiladi, mexanik usulda to'qimalar yig'indisi maydalanadi. Har bir qo'ng'izga fiziologik eritma yoki distillangan suv 1 ml hisobida qo'shiladi, maydalangach, suyultirilgan to'qima filtrlab ishlatiladi.

Zamburug'lar asosida olinadigan entomopatogen preparatlar

Zamburug'li entomopatogen preparatlar zararli hasharotlarda mikoz kasalligini tug'dirish orqali ularning nobud bo'lishiga olib keladi. Entomopatogen bakteriyalar va viruslarga nisbatan zamburug'lar quyidagi o'ziga xos xususiyatlarga ega:

a) nobud bo'lish ovqat hazm qilish yo'llari orqali emas, balki bevosita kutikula orqali ruy beradi;

b) hasharotlar g'umbak va imago rivojlanishi fazasida nobud bo'lib, bu boshqa mikroorganizmlar bilan bo'ladigan o'zaro munosabatlarda kuzatilmaydi;

v) zamburug'lar nisbatan tez o'sishi va juda katta reproduktiv qobiliyatiga egaligi bilan xarakterlanadi, entomopatogen faolligini pasaytirmasdan spora holatida uzoq vaqt tabiatda saqlanishi mumkin:

g) ayrim hasharot turlarini nobud qilishda yuqori darajada spetsifik bo'lib, ularning virulentligi qo'llaniladigan zamburug'larning shtammiga bog'liq bo'ladi.

Zamburug'li preparatning hasharotga ta'siri sporalarning tana bo'shlig'i teri orqali kirishidan boshlanadi. Hasharot tanasiga tushgan zamburug' sporasi o'sib gifaga, keyin mitseliyga aylanadi, ulardan entomopatogen zamburug'larning infektsiya birligini tashkil etuvchi konidiyalar ajralib chiqadi. Konidiyalar o'sib chiqqandan keyin hasharotlar nobud bo'lish davri hasharotlarning katta-kichikliga qarab 2-8 sutkacha davom etishi mumkin.

Beauveria avlodiga mansub zamburug'larning B. bassiana Vuill (60 dan ortiq turdagi hasharotlarga qarshi) va B. tonella Dell. (10 dan ortiq turdagi hasharotlarga qarshi) turlari asosida sanoat miqyosida preparatlar ishlab chiqariladi.

Hozirgipaytda B. bassiana (Bals). Vuill. gifomitsetikonidiosporalaridan iborat zamburug'li entomopatogen preparat bo'yerin ishlab chiqarish keng yo'lga qo'yilgan.

Tayyor holdagi buprepartoqyokikurangko'rinishdagikukunbo'lib, 1 gr. preparatda 1,5 dan 6 mlrd. gachakonidiosporalarmavjud. Uning faolligizamburug'dasintezqilinadigantoksin-boveritsin bilan belgilanadi.

Bupreparatni qo'llash qishloq xo'jaligida qo'llaniladigan kimyoviy preparatlarni 90%

gachaqisqartishgaimkonberadi. Shu bilan birga preparat odam, issiq qonli hayvonlar uchun zararsizdir.

Boverin sanoat asosida olish uchun ishlab chiqarish shtammini suyuq va qattiq oziqa muhitida ham o'stirish mumkin. Konidiosporalar ishlab chiqarishda texnologik-iqtisodiy ko'rsatkichlar ikkala usulda ham deyarli farq qilmaydi.

Biroq, kondiosporalarni suyuq oziqa fazasida o'stirish orqali olish oddiy ish emas, buning o'ziga xos texnik noqulayliklari mavjud. *B. bassiana* Vuill zamburug'ini suyuqlida o'stirish usuli orqali o'stirilganda ular vegetativ ko'payib, havo konidiosporalardan farq qiluvchi gonidiya (blastospora, silindrospora) deb nomlanuvchi gifali tana hosil qiladi.

Hasharotlarga ta'siri yuzasidan gonidiyalar, konidiyalardan qolishmaydi, ammo ishlab chiqarish sharoitida gonidiyalar asosida yuqori faollikka ega preparatlar olish imkoni yo'q. Chunki ular quritish bosqichida konidiylarga nisbatan yuqori haroratli purkab quritgich moslamalarda quritilganda 20-50% ko'p nobud bo'ladi. Shuning uchun quritilgandan so'ng sporalar yashovchanligi va ularning virulentliga ko'ra boverin ishlab chiqarishdagi asosiy e'tibor konidiospora miqdori maksimal daraja yuqori bo'lishiga yo'naltirilgan. *B. bassiana* Vuill zamburug'ini suyuq oziqada o'stirish orqali konidiospora olish muammosi faqatgina oziqa muhitini va fermentatsiya sharoitini to'g'ri tanlash muammosi hal qilingandan so'ng o'z yechimini topdi.

Hozirgi vaqtda qishloq ho'jalik ekinlari zararkunandalariga qarshi kurashda zamburug'larning boshqa turlari, jumladan metarizium, vertitsillum, girzutella, gimenostilbe, ashersoniya, koniotirium, entomoftora va boshqalar ham jalb etilmoqda.

Zararkunanda hasharotlarga qarshi kurash choralari ichida hasharotlarnig biologik faol moddalaridan foydalanish ham alohida o'rin tutadi. Ularga feromonlar, yuvenil gormoni, tullash gormoni va boshqalar kiradi.

O'simlik zararkunada hasharotlariga qarshi kurashda biologik faol moddalardan foydalanish

Feromonlar biologik faol moddalar bo'lib, hayvonlar tomonidan tashqi muhitga ajratib chiqariladi va ayni turning boshqa jinsining metabolizmi, fiziologik va emotsional holati, hatti-harakatiga ta'sir ko'rsatadi. Odatda feromonlar hayvonlarnig maxsus bezlaridan hosil bo'ladi. Ta'sir xususiyatiga ko'ra, ularni agregatsion feromonlar (to'plovchi-g'ujlovchi feromonlar), himoya va ogohlantirish reaksiyalarini yuzaga chiqaradigan feromonlar, hasharotning ovqat qidirish yo'lini belgilovchi, iz qoldiruvchi feromonlar, jinsni tanib olishda yordam beruvchi, boshqaruvchi feromonlarga bo'linadi. Eng yaxshi o'rganilgan feromonlar turli jins vakillarining uchrashuvi va bir-birini tanib olishini ta'minlaydigan, jinsiy hatti-harakatlarni tarbiga solishda ishtirok etadigan feromonlardir. Qarama-qarshi jins vakillarini jalb etadigan feromonlarni attraktantlar deb ataladi.

1959 yilda nemis biokimyogari Adolf Butenant tut ipak qurti urg'ochisining jinsiy attraktantining tuzilishini o'rganib chiqdi. Bu feromon bombikol deb nomlandi.

Havodagi kontsentratsiyasi 10^{-12} mg/l bo'lganda ular erkak individlarda da jinsiy qo'zg'alish reaksiyasini chaqiradi. 1980 yillarda 700 dan ortiq hasharotlardagi feromonlar o'rganilib, ulardan 220 turining kimyoviy tuzilishi aniqlandi. Kimyoviy tabiatiga ko'ra, feromonlar kimyoviy birikmalarning biror sinfiga kiritiladi. Tangacha qanotlilarning jinsiy feromonlari odatda 10-18 uglerod atomli spirt, atsetat va aldegidlarga yaqin bo'ladi. Ular alohida kimyoviy birikmalar sifatida ifodalanadi, lekin biologik ta'siri bir necha xil komponentlarni o'z ichiga oladi. Odatda feromonlarning biologik ta'siri uchun tur spetsifikligi xosdir. Hasharotlarning turli xil turlari feromonlar sifatida muayyan kimyoviy birikmalar yoki muayyan tartibdagi komponentlar aralashmasidan foydalanadi.

Feromonlarning kashf etilishi ularni zararkunanda hasharotlarga qarshi qo'llashda keng imkoniyatlar ochdi. Hasharot bezlaridan ajratib olingan attraktantlarni ishlab chiqarish samaradorligi ko'p mehnat talab qilishi va mahsulot chiqishi unumi pastligi sababli kam samaraga ega.

Kimyoviy feromonlarning ham spetsifikligi past bo'lib hisoblanadi, chunki ko'plab hasharotlarning tabiiy feromonlari alohida kimyoviy birikmalarning yig'indisidan iborat bo'lib, bir qator feromonlarning ba'zi komponentlari bir necha hasharot turlari uchun umumiy bo'ladi. Yuqori spetsifik feromonlarni ishlab chiqarish kimyoviy toza birikmalar va ularning muayyan nisbatdagi kombinatsiyalarini olishning qiyinligi sababli, shuningdek, hasharotlarning juftlashish jarayonidagi hatti-harakatlarini boshqarishda jinslarning alohida o'rni to'g'risidagi ma'lumotlarning yo'qligi kabi ko'plab muammolarga duch kelmoqda. Ma'lumki, sharq mevaxo'rida juftlashish to'rt bosqichda amalga oshadi: erkagini urg'ochiga jalb qilinishi, uning yaqinlashishi, urg'ochining orietatsiyasi va kopulyatsiya. Har bir bosqich muayyan kimyoviy komponent ta'siri bilan tavsiflanadi.

Sun'iy feromonlarning samarasi pastligi sababli o'simliklarning tabiiy attraktantlar hosil qilishdagi rolini alohida qayd etish lozim. Masalan, daraxtlarning lub qavatini kemirib zarar keltiruvchi lubxo'r qo'ng'izning feromon kompleksiga mirtsen kiradi, u o'simliklarda ham hosil bo'ladi. Hasharotlar o'simliklarning ba'zi alkoidlaridan jinsiy feromonlari sintezida oraliq mahsulot sifatida foydalanadilar. Ho'jayin-o'simliklarda uchraydigan α -pinen moddasi *Ips paraconfusus* qo'ng'izlari sis – verbenoli biosintezida dastlabki birikma sifatida xizmat qiladi.

Shuni ham qayd etish lozimki, α - pinenning verbenolga aylanishini *Bacillus cereus* shtammi amalga oshiradi. Feromonlarning oraliq mahsulotlari o'simlik ho'jayinlarida sintezlanib, bakteriyalar ishtirokida hasharot feromonlariga aylanishi ularning kimyoviy yo'l bilan emas, biologik yo'l bilan olingan turlaridan amaliyotda foydalanish imkonini beradi. Biotexnologik usullar, jumladan o'simlik to'qimalari kulturası usullari, shuningdek gen muhandisligi usullari yuqori samarador feromonlar ishlab chiqarishni tashkil etishda istiqbolli hisoblanadi.

O'simliklarni himoya qilishda feromonlardan foydalanishning uch xil yo'li mavjud;

- hasharot turlarini topish;
- hasharotlarni ommaviy tutish;
- turli xil jins vakillarini fazoviy juftlashishiga xizmat qiladigan hid bo'yicha mo'ljal olish tizimini izdan chiqarish.

Kimyoviy va tabiiy feromonlarni zararkunanda hasharotlarga qarshi

amaliyotda qo'llashning asosiy yo'llaridan biri - ularning populyatsiyalarini monitoringini o'tkazish, tutqich yordamida zararkunandalarning sonini aniqlashdan iborat. Oddiy kuzatuvlarni ekin maydonlarida olib borish zararkunandalarning uchrash darajasi va ekin maydonlarining zararlanganlik holati to'g'risida aniq va to'liq ma'lumot bera olmaydi. Tutqichga tushgan alohida hasharotlar ma'lum turdagi hasharotning yaqin atrofda uchrashidan dalolat bersa, tutilgan hasharotlarning soni ularga qarshi kurash choralari to'g'risida bir to'xtamga

kelish imkonini beradi. Bunday tadqiqotlar natijasida, zararkunanda hasharotlarga qarshi kurash uchun sarflanadigan harajatlarni keskin qisqartirish, hasharotlarning boshqa hududlarga tarqalmasligini oldini olish mumkin.

Feromonlarli tutqichlar karantin zararkunandalarini topish imkonini beradi. Hozirgi vaqtda karantin ob'ektlarini erta aniqlashda feromonlardan dunyo amaliyotida keng foydalanilmoqda (sharq mevaxo'ri, kartoshka kuyasi, amerika oq kapalagi, kaliforniya qalqondori va h.k.) 1976 yilda AQShda birinchi marta yirik hajmdagi maydonlarda 17 mingdan ortiq trimedlyur, kyulyur va metilevgenol feromoni saqllovchi tutqichlar qo'yilib mamlakat janubidagi uch xil havfli zararkunandalar: o'rta yer dengizi meva pashshasi, qovun pashshasi va sharq meva pashshasini topishga muvaffaq bo'lishgan. Ular zararkunandalarni yangi maydonlarga o'rnatib olmaslaridan oldin topish va yo'qotish imkonini beradi. Zararkunandalarni bunday erta aniqlash ularni qirish uchun ishlatiladigan o'ta havfli introdutsentlarni qo'llashga sarflanadigan millionlab dollarlarni tejashga sharoit yaratadi. Bunday maqsadlarda import mahsulotlari olib o'tiladigan portlarda tutqichlar xalqa shaklida qo'yiladi. Agar qaysidir zararkunanda hasharot joylashib olgan bo'lsa, feromonli tutqichlar zararkunandalar joylashgan joyni aniqlab, ularga qarshi qo'llaniladigan kimyoviy insektitsidlarni mo'ljal bo'yicha qo'llash imkonini beradi va tabiatning ifloslanishni oldini oladi. Masalan, 1956 yilda Floridada o'rta yer dengizi meva pashshasi 0,4 mln ga yerga tarqalib ketadi. Attraktantlar bilan qo'llanilgan tutqichlar zararkunanda hasharot joylashgan joyni aniqlash va o'rta yer dengizi meva pashshasini kimyoviy insektitsidlar bilan to'liq qirib tashlash imkonini beradi.

Olimlarning hisob kitoblariga qaraganda, zararkunandalar populyatsiyasini yo'qotish uchun agar ularning soni ko'p bo'lsa, 1 ga yerga 4,5 mingta yoki har bir daraxtga 50 ta tutqich zarur. Agar zararkunanda hasharotlar soni birmuncha kam bo'lsa bog' zararkunandalarga qarshi 1 ga yerga 30-50 ta tutqich kifoya qiladi.

O'zbekistonda ham feromonlar zararkunanda hasharotlarga qarshi kurashda foydalaniladi Feromon tutqichlar o'simlikning o'suv davrida himoya tadbirlari

o'tkazishning zarurati va muddatlarini aniqlash maqsadida qo'llaniladi. Jumladan, Armigal preparati (tsis-11-geksadetsinal+tsis-9-geksadetsinal) 2 gektarga 1 dona miqdorda g'o'za tunlamiga qarshi, atrakton (trans-10, trans -12, sis-14-geksadektri-enil atsetat) tut parvonasiga qarshi qo'llaniladi.

Zararkunanda hasharotlarga qarshi yuqori samarador preparatlarni yangicha turlarini yaratish zarur. Feromonlarning narxi juda qimmat, shuning uchun olimlar ulardan foydalanishda boshqa usullarni ham taklif qilmoqdalar, bunda ta'sir etuvchi moddaning bug'lanishi sekin borib, uzoq vaqt davom etadi. Ularga misol sifatida disparlyur – mikrokapsulalarini keltirish mumkin. U toq ipak qurtining jinsiy attraktanti hisoblanadi.

Mikrokapsulalar jelatin yoki poliamid sharchalar bo'lib, diametri 3-40 mkm gacha, ichki qismiga sekin bug'lanuvchi feromon joylashtirilgan. Bu feromon yordamida toq ipak qurtini to'rt hafta ichida 98% gacha yo'qotish mumkin.

Shuningdek, hozirgi vaqtda olimlar polimer dispenser (tashuvchi)lar va ularni qo'llash ustida ham izlanishlar olib bormoqdalar.

AQShda Konrel firmasining ikki xil turdagi dispenseri va uch qavatli polimer plastinkalar (Gerkon firmasi mahsulot) dan foydalaniladi. Feromonning 1 ga yerga bir mavsumda ishlatiladigan miqdori bir necha grammni tashkil etadi. Zararkunanda hasharotlarning fiziologik faol moddlaridan foydalanish ham juda istiqbolli soha hisoblanadi.

Feromonlar bilan birga o'simliklarni himoya qilishda hasharotlarning boshqa xil fiziologik faol moddalarini ham qo'llash mumkin. Ichki sekretsiya bezlari turli xil gormonlarni ishlab chiqaradi. Ular ichida eng ko'p o'rganilgani yuvenil (lichinka gormoni) va tullash gormoni (ekdizon)dir. Ular hasharotlarning gormon boshqariluvida asosiy ahamiyatga ega. O'simliklarni himoya qilish sohasi mutaxassislari bu gormonlardan hasharotlardagi normal rivojlanish va ko'payish jarayonlarini izdan chiqarishda foydalanishlari mumkin.

Gormon preparatlaridan zararkunanda hasharotlarga qarshi foydalanish o'ziga xos xususiyatlarga ega. Ularni qo'llaganda hasharotga o'sha zahoti ta'sir etmaydi, shuning uchun keng tarqalgan hasharotlar o'simliklarga katta zarar yetkazib qo'yishi mumkin.

Bundan tashqari gormonlarning ta'siri ma'lum bir davrda ekanligi ulardan foydalanishni cheklab, qiyinchilik tug'diradi. Biroq gormon preparatlaridan foydalanishning afzalliklari ham mavjud - ular organizmda to'planmaydi, umurtqali hayvonlar uchun zaharsiz, ularga hasharotlar ko'nikib qolmaydi. Shuning uchun olimlar ushbu moddalardan hasharotlarga qarshi kurashda foydalanishning yangi yo'nalishlarini kashf etmoqdalar. Bunday tadqiqotlar biotexnologiya va gen muhandisligi usullari asosida olib borilsa, yanada samara berishi aniq. Chunki hasharotlar gormonlariga o'xshash moddalar bir qator o'simliklar tomonidan ham ishlab chiqariladi. Bu moddalar, masalan, fitoekdizonlar o'simlik to'qimalari kulturasida fermenterlarda ham ishlab chiqarilishi mumkin.

Begona o'tlarga qarshi kurash usullari

O'simliklarni himoya qilishdagi yana bir muhim yo'nalish – begona o'tlarga qarshi kurash. Hozirgi vaqtda begona o'tlarga qarshi kurash gerbitsidlarni qo'llashga asoslangan kimyoviy usullar bilan olib boriladi. Zamonaviy o'simlikshunoslikda gerbitsidlarni qo'llash qishloq ho'jalik ekinlarining hosildorligini oshirish va qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishi samaradorligi yuqori ko'tarish yo'llaridan biridir. Gerbitsidlarning asosiy kamchiligi - ularning hayvon va odam organizmi uchun oz yoki ko'p darajada zaharliligi bilan bog'liq. Shuningdek, oqava suvlar va aërozollar ishlatilishi natijasida ular tuproq va suv havzalariga tushishi, o'simlik oziqalari va hayvon mahsulotlarida to'planib odam va hayvonlar salomatligi uchun jiddiy havf tug'dirishi mumkin.

Ko'plab mutaxassislar begona o'tlarga qarshi kurashda biologik usullar, tirik organizmlar va ularning mahsulotlaridan foydalanish ustida tinimsiz izlanmoqdalar. Bunda biotexnologiya va gen muhandisligi yutuqlarini qo'llash keng imkoniyatlar ochmoqda. Biotexnologik usullar vositasida begona o'tlarni nobud qiluvchi organizmlarni ko'paytirish, mazkur maqsad yo'lida tegishli moddalarni ham ishlab chiqarish mumkin.

Hozirgi vaqtda ekotoksikologik va samaradorligi jihatdan ham yuqori bo'lgan gerbitsidlarning yangi avlodlari yaratilmoqda. Ularni ko'pincha mikroorganizmlardan olinadi. Mikroob gerbitsidlari ishlab chiqarishning afzalligi – gerbitsid sintezlovchi mikroorganizmlarni o'stirish uskunalari (fermenterlar)ning universalligidir. Ikkinchi yana bir muhim afzalligi – ularni ishlab chiqarishdagi chiqindilarning atrof muhitga nisbatan zararsizligidir. Uchinchidan, mikroblar gerbitsidlar tabiat uchun begona emas. Chunki tuproqda yashovchi aktinomitsetlar ularni doimiy ravishda ishlab chiqib, tashqi muhitga ajratib turadi. Tabiiyki, tuproq biotsenozida evolyutsiya davomida aktinomitsetlar tomonidan ishlab chiqariladigan moddalarni parchalaydigan tizimlar ham kelib chiqqan. Mazkur tizimlar o'simliklarga faqat aktinomitsetlar asosida olingan gerbitsidlar bilan ishlov berilganda ishga tushadi. Natijada tabiatda zaharli moddalar to'planmaydi. Bu xususiyat o'z navbatida inobatga olinishi lozim, chunki ularni ko'pchiligining samarasi bevosita tuproqqa kiritilganda yuqori emas.

Hozirgi vaqtda gerbitsid ishlab chiquvchi mikroorganizmlarning bir qator turlari aniqlangan. Ularni amaliyotga joriy etish, gen muhandisligiga oid chuqur tadqiqotlarni o'tkazish, biotexnologik ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan keng foydalanish imkoniyatlarini ochadi.

Yaponiyada begona o'tlarga qarshi *Streptomyces hygroscopicus* va *S. viridochromogenes* aktinomitsetlari ajratib chiqaradigan bialofos gerbitsididan foydalanish taklif etilmoqda. Bu gerbitsid keng spektrga ega bo'lib, bir qator begona o'tlarga qarshi unib chiqish davridan boshlab butun o'suv davri mobaynida foydalanish imkonini beradi. Biroq, bialofosni bevosita tuproqqa kiritilganda, uning samarasi deyarli bo'lmaydi, buning sababi yuqorida keltirilgan edi.

O'simliklarga gerbitsid eritmasi purkalganda, u o'simlik ildizlariga o'tadi va o'simlik nobud bo'ladi. Ushbu gerbitsidning bu boradagi ta'siri glifosat (fosfonametilglitsin)ga o'xshash, lekin uning begona o'tlarga ta'siri birmuncha

kuchlidir. Uning tavsiya etiladigan me'yori 1 ga/kg. Hozirgi vaqtda Yaponiyada bu preparatni ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan.

Aktinomitsetlarning ba'zi shtamlari anisomitsin deb nomlanuvchi modda ishlab chiqaradi. U maymunjon, beda, pomidor kabi o'simliklarning o'simtalarida ildiz o'sishini pasaytiradi. Bir yillik begona o'tlarning ko'pchiligiga qarshi samarali ta'sir ko'rsatadi. Bu modda anisomitsinning juda ko'p hosilalarini olish uchun dastlabki material bo'lib xizmat qiladi. Bunday hosilalarning tuzilishi va biologik faolligini o'rganish natijasida yangi gerbitsid «Metoksifenon» olingan. «Metoksifenon» o'simliklarning unib chiqishi oldidan qo'llaniladi. Unib chiqqan ko'plab bir yillik begona o't o'simtalarini gerbitsid ta'sirida xlorozga uchraydi va nobud bo'ladi. Bu gerbitsid sholi ekinlaridagi begona o'tlariga qarshi kurashda qo'llaniladi.

S. saganonensis 4075 shtammi filtratlarida gerbitsid faolligiga ega ikkita metabolit topilgan bo'lib, keyinchilik yana uchta aniqlandi – S,D, Ye. Ular ikki pallali begona o'tlarga qarshi tanlab ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega bo'lib, urug' unuvchanligini pasaytiradi.

Ilmiy manbalarda mikroorganizmlarning gerbitsidsimon moddalaridan yana boshqa xil turlari - naramitsin, toyokamitsin, piolyuterion, sitobaritsin, formitsin A va V turlari ham keltiriladi.

Gerbitsidsimon moddalarning istiqbolli produtsentlari sifatida S.toyocaensis, irpeks zamburug'lari (Irex pacyodon) kabilarni ko'rsatish mumkin. Shuningdek, Rhizobium japonicum bakteriyasining ba'zi shtamlari 0,2 ga/kg me'yorida gerbitsid ta'sirga ega rizobitoksin ishlab chiqarishi ham ma'lumdir.

O'simliklarni begona o'tlardan himoya qilishda qo'llaniladigan mikroblil gerbitsid preparatlari hajmi an'anaviy gerbitsidlarga nisbatan ko'p emas. Lekin mikroblil preparatlar tevarak – atrof va odamga zararsizligi bilan yangi istiqbolli imkoniyatlarni ochadi. O'simliklarni himoya qilish sohasi mutaxassislarining fikricha, biotexnologik sanoat asosida mikroblil gerbitsidlar ishlab chiqarish ko'lami yaqin kelajakda ancha ortadi. Bu borada ularni ishlab chiqarishda gen muhandisligi ham alohida o'rin tutadi.

Gerbitsidlarni nafaqat mikroorganizmlardan balki o'simliklardan ham olish mumkin. Chunki ular ham ildizlari orqali tuproqqa ajralib chiqadigan turli xil fiziologik faol moddalarni ishlab chiqaradilar. Bu moddalar orasida boshqa o'simliklarni nobud qiluvchi ta'sirga ega moddalar ham mavjud. Bakteriotsid, fungitsid va shu bilan birga gerbitsid ta'sirga ega agropirin shular jumlasidandir. Bu modda o'rmalovchi bug'doyiq begona o'ti tomonidan ajratib chiqariladi. Agar ushbu o'simlik ildizidan efir moylari ajratib olinsa, uning 95% i agropiringa to'g'ri keladi. Agropirin ildiz va barglarga shimilib dastlab ildiz qinchasi, keyin butun ildiz tizimining nobud bo'lishiga olib keladi. U nay-tolali bog'lamlar orqali o'simlik bo'ylab tarqaladi va o'simlikning bir muncha yosh a'zolarini zaharlaydi.

Hozirda dunyo olimlari begona o'tlarga qarshi maxsus moddalar ishlab chiqaradigan o'simliklar kolleksiyalaridan turli ekin navlarini topishni tadqiq etmoqdalar. Bunday xususiyatga ega navlar ekilganda gerbitsidlarni qo'llash talab qilinmaydi.

Gen va hujayra muhandisligi usullari asosida kasallik, zararkunanda va zaharli moddalarga chidamlilik belgilari kiritilgan o'simliklar to'g'risida yuqoridagi boblarda batafsil ma'lumot berilgan bo'lib, mazkur yo'nalish ham qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishida muhim ahamiyat kasb etayotganligini yana bir bor ta'kidlash joizdir.

Nazorat savollari:

1. O'simliklarni kimyoviy va biologik usulda himoya qilishdan biotexnologik usullarning afzalligi nimada?
2. O'simlik kasalliklarining qanday turlarini bilasiz va ularga qarshi biotexnologik kurash choralari nimalardan iborat?
3. O'simliklarni viruslardan holi qilish yo'llarini izohlab bering.
4. Qishloq ho'jalik ekinlarini kasalliklardan himoya qilishda mikroorganizmlar ishlab chiqaradigan antibiotiklarning o'rni qanday?
5. Antagonist mikroorganizmlardan o'simlik kasalliklariga qarshi kurashda foydalanishning afzalliklari.
6. Qishloq ho'jalik ekinlari zararkunandalariga qarshi kurashda mikroorganizmlardan olinadigan qanday preparatlar mavjud?
7. Zararkunanda hasharotlarga qarshi qo'llaniladigan bakterial preparatlarning qulayliklari va kamchiliklari nimada?

13-MAVZU: OZIQ-OVQAT VA ICHIMLIKLAR ISHLAB CHIQARISH BIOTEXNOLOGIYASI

Reja:

1. Sabzavotlarni fermentatsiyalash
2. Choy, kofe
3. Pishloqtayyorlash
4. Alkogolli ichimliklar
5. Vino vapivo tayyorlash texnologiyasi
6. Oziq-ovqatsanoatchi qindirlari
7. Shakar o'rnini bosuvchi moddalar

Таянч иборалар: Аспартам, сахароза, β -галактозидаза, α -амилаза, глюкоамилаза, пиво, дистилляция, алкоголли ичимлик, пишлоқ, чой, фруктоза-глюкоза, крахмал, *Stevia rebaudiana*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, *A.niger*, *A.awamori*, *Bacillus subtilis*, *B.amylolignefaciens*, *B.mesentericus*, *B.stearothermophilus*, *Leuconostoc sp.*, *Vitis vinifera*, *Rhizopus*, *Mucor*.

Zamonaviy nuqtai nazarga ko'ra oziqa mahsulotlari tarkibida β -karotinning ishlatilishi har xil shish kasalliklarining sodir bo'lishini pasaytirs, kaltsiy tuzlari – osteoporoz xastaligini, maxsus yog'lar esa – yurak-qon tomir xastaliklarining oldini oladi.

Organizmga tushgan selluloza tolalari inson organizmini yurak qon-tomir xastaliklardan va shish paydo bo'lishidan saqlashi aniqlangan.

Sink organizmning har xil yuqumli kasalliklarga chidamliligini oshiradi. Magniy yurakning ishemik kasalliklari va o'tkir yurak xastaliklarini kelib chiqishining oldini oladi.

Funktsional oziqalarning asosiy komponentlari bo'lib, parhez tola, oligo- va polisaxaridlar, sut bijg'ituvchi bakteriyalar, organik kislotalar, aminokislotalar, peptidlar, oqsillar, glyukoza, etil spirti, izoprenoidlar, vitaminlar, to'yinmagan yog' kislotalari (ayniqsa antioksidantlik xususiyatiga ega bo'lgan birikmalar) xizmat qiladi.

Funktsional oziqadan foydalanish asosan ikki maqsadga xizmat qiladi: organizmga yetarli (kerakli) miqdorda metabolik zarur bo'lgan oziqa komponentlari yetkazib berish va uni (organizmni) har xil kasalliklardan himoya qilish.

Yangi oziqa mahsulotlarini tayyorlash uchun yuqumli bo'lmagan, toksin saqlamagan tabiiy komponentlar ishlatilishini e'tiborga olgan holda, bunday mahsulotlarni keng miqyosda ishlab chiqarish uchun tegishli komponentlarni ko'proq tayyorlash yoki to'plash eng dolzarb masalaga aylanib qolishini hisobga olish zarur bo'ladi.

Biotexnologiyaning asosiy vazifasi esa ekologik toza funktsional oziqani keng miqdorda ishlab chiqarishdan iboratdir.

Biotexnologiya yordamida (fermentativ kataliz, mikroorganizmlarni o'stirish, hayvon va o'simlik hujayralarini ko'paytirish va h.k.) oziqa mahsulotlarini keng miqdorda tayyorlash imkoniyati yaratiladi.

Oziqa mahsulotlarini ishlab chiqarishning biologik bosqichlarini, qator o'tadigan kimyoviy reaksiyalarning birin-ketinligiga taqqoslash mumkin. Katalizator (ferment) ishtirokida substratning o'zgarishi tez amalga oshishini e'tiborga olsak, boshqa shunga o'xshagan reaksiyalardan afzalroq o'tishini kuzatish unchalik qiyinchilik tug'dirmaydi. Ko'p asrlar davomida olib borilgan kuzatishlar, mikroblar yordamida (ishtirokida) amalga oshiriladigan o'zgarishlar, o'zlarining tezligi va energiyaga bo'lgan muhtojliklari bo'yicha nafaqat kimyoviy reaksiyalardan, balki, boshqa biologik manbalarga nisbatan ham qator ustunliklarga ega ekanliklarini namoyish etganlar.

Bizdan avval o'tib ketgan avlod-ajdodlarimiz hali mikroorganizm degan tiriklik borligidan xabarsiz bo'lgan davrlarda ham ular yordamida xilma-xil oziqa va ichimlik mahsulotlari tayyorlab iste'mol qilishganlar. O'sha davrlarda qandaydir «aniq bo'lmagan kuch» borki, u nafaqat mahsulotni tayyorlash

jarayonlarida, balki uning buzilib, aynib qolishida ham ishtirok etishi ma'lum bo'lgan. Insonlar biologik mohiyatni tushunmasdan, uni bilmasdan turib, mikroorganizmlarni saqlash va ulardan ba'zi bir texnologik jarayonlarda foydalanish yo'llarini bilganlar.

Mikroorganizmlardan ajralgan fermentlar yordamida tayyorlangan dastlabki mahsulotlar pivo va pishloq (sir) bo'lsa ajab emas. Hozirga kelib fermentlar yoki mikroorganizmlarning o'zlari asosida yaratilgan texnologiyalar zamonaviy oziq-ovqat sanoatida yetakchi o'rinlarda turadilar.

Bugungi kunda oziqa mahsulotlarini ishlab-chiqarish sanoatning eng keng tarqalgan sohasi bo'lib, haqiqatda mamlakatning byudjet aylanmasining 20-25% ini tashkil etadi. Oziq-ovqat sanoati birlamchi ishlab chiqarishdan tashqari keng tarqalgan tarmoqlarga ega bo'lib, ular xilma-xil tipga ega bo'lgan transport sohasi, kommertsiya idoralari, idishlar ishlab chiqaruvchi zavodlar, savdo-sotiq tarmoqlari, har xil izlanish sohalari va boshqalarni o'z ichiga oladi. Iqtisodiy rivojlangan mamlakatlarda muammolarni tezkorlik bilan xal qilish maqsadida oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqaruvchi kompaniyalar birlashib, yirik multi-milliy kompaniyalarni tashkil etadilar.

Yuqori sifatli mahsulotlar ishlab chiqarish ko'p omillarga bog'liq bo'lib, ulardan eng muhimlari, urug'ning sifati, hayvonlarning zoti selektsiya qilib tanlab olingan ko'p yillik o'simliklarning sifat belgilari hisoblanadi. Qishloq xo'jaligi bilan iste'molchilar orasidagi bog'liqlik odatda oziq-ovqat sanoati orqali amalga oshiriladi.

Oziq-ovqat sanoatining asosiy vazifalaridan biri yuqori sifatli oziqa mahsulotlardan ko'zga yoqimli, xushbo'y hidli va ta'mli mahsulot yetishtirishdan iboratdir.

Oziq-ovqat sanoati biotexnologiyasining eng muhim, asosiy vazifasi esa zamonaviy biologiya fanlari hamda biomuhandislik fani erishgan yutuqlarni oziqa mahsulotlarining an'anaviy qayta ishlash jarayonlari bilan birga bog'lab, yangi, zamon talablariga javob bera oladigan, ekologik toza oziqa yetishtirishdan iboratdir.

Bu maqsadga faqatgina oziqa mahsulotlarini ishlab chiqarish jarayonlarida biologiya va texnologiya fanlarining eng zamonaviy yutuqlarini joriy qilish orqali erishish mumkin xolos. Zamonaviy biotexnologiyaning oziq-ovqat sanoatiga aralashishi uning infratuzulmalarini tubdan o'zgartirib yubormaydi.

Bunga asosiy sabab taraqqiyotning hozirgi bosqichida, iste'molchi nuqtai nazaridan oziqa mahsulotlari yetishtirishda ko'proq oziqa mahsulotlarining sifati va kimyoviy tarkibining ilmiy asoslangan ko'rinishiga nisbatan ularning an'anaviy ko'rinishda bo'lishi ma'qulroq ko'rinadi.

Mutaxassislarning baholashlaricha (shu jumladan patentlar ham), yangi oziqa mahsulotlari tayyorlash bilan bog'liq bo'lgan ilmiy izlanishlar tayyor mahsulotning tan- narxini 2% dan oshmaydi. Ko'pincha mahsulot katta miqdorda ishlab chiqariladi va iste'molchining qiziqishini e'tiborga olgan holda imkoniyat boricha pastroq baholanadi.

Biotexnologiyani zamonaviy usullari oziqa tarkibiga kiruvchi alohida komponentlarni katta hajmda va ko'plab ishlab chiqarish imkoniyatini yaratadi. Masalan, oziq-ovqat sanoatida ishlatish uchun zarur bo'lgan organik kislotalar, aminokislotalar va h.k. Bu mahsulotlar odatda o'rtacha baholanadilar. Kam miqdorda ishlab chiqariladigan, qimmatbaho mahsulotlar sirasiga, yuqori tozalikka ega bo'lgan oqsil moddalar, shakar o'rnini bosadigan moddalar kiradilar.

Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqaruvchi korxonalar, sanoat boshqa tarmoqlarining korxonalariga nisbatan o'ziga xoslikka egadirlar. Ishlab chiqariladigan mahsulotlarning ko'p sonliligidan tashqari, ular muayyan sharoitdagi iste'molchining talablaridan kelib chiqqan holda har xil hajmda ishlab chiqariladi. Ular orasida minglab ishchilarni ish bilan ta'minlaydiganlaridan boshlab atigi 2-3 kishi bilan chegaralanadigan kichik sexlarga bor. Bu korxonalar har xil texnologik jarayonlardan foydalanadilar. Masalan, mexanik operatsiyalar (maydalash, elash, kesish, ekstraktsiya qilish, ezish, aralashtirish, filtrlash va h.k.), biologik jarayonlar, jumladan fermentativ reaksiyalar va mikrobiologik jarayonlar (aerob, anaerob); kimyoviy o'zgarishlar (gidroliz, sintez va boshqalar); fizik ta'sir (cho'kmaga ajralish, harorat ta'siri, bosim, quyosh nuri bilan ishlov berish).

Yaqin kelajakda oziq-ovqat sanoati, o'simliklar hosildorligining oshishi, mikroorganizmlar va hayvonlar mahsuldorligining ko'payishi hisobidan yanada rivojlanib ketadi deb taxmin qilinmoqda. Bu maqsadga erishish uchun har xil usullardan, masalan, selektsiya, mutageniz, hujayra va gen muhandisligi usullaridan foydalaniladi.

Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish texnologiyalariga gen muhandisligini kiritish hisobidan anchagina o'zgarishlarga erishish kutilmoqda. Serhosil, har xil kasalliklarga chidamli bo'lgan, tez rivojlanuvchi transgen mikroorganizmlar, o'simliklar va hayvonlardan foydalanish bu tarmoqning rivojlanishiga yangi turtki bo'lishi mumkin.

Zamonaviy biotexnologiya oziq-ovqat sanoatining barcha tarmoqlari bilan, (shu jarayonda ishlatiladigan organizmlarning sifatini yaxshilashdan boshlab, oziqa mahsulotlarining sifatini tuzatishgacha) chambarchas bog'liqdir.

Biotexnologiyani achish-bijg'ish jarayonlarida yanada faolroq ishtirok etishi kutilmoqda. Oziqa mahsulotlari (non, pishloq, qatiq, kefir, yogurt), ichimliklar (vino, pivo, konyak, viski, sake, vodka), sabzavotlarning tuzlanganlari (fermentativ yo'l bilan olinganlari), - ko'psonli biokimyoviy reaksiyalar oqibatida yengil hazm bo'luvchi, sifatli, yoqimli mazali oziqa mahsulotlariga aylanib boradilar. Buni ustiga zamonaviy biotexnologiyani yangi imkoniyatlarini masalan, mikroorganizmlarni yirik ($1000-3000\text{m}^3$) reaktorlarda o'stirish, membranalar orqali filtrlash, separatsiya qilish (ajratish) hisobga olinganda oziq-ovqat mahsulotlarini yangi, sifatli, hamda ularni ko'p miqdorda ishlab chiqarishda biotexnologiyani roli beqiyos ekanligi yanada yorqin namoyon bo'ladi.

Oziqa mahsulotlari ishlab chiqarish jarayonida namoyon bo'ladigan o'zgarishlar, o'z o'zidan, tabiiy biologik jarayon bo'lib, ular shu mahsulotlar tarkibida bo'lgan fermentlar yordamida amalga oshadilar. Ikkinchi tomondan esa

texnologik jarayonlarni jadallashtirish va ularning sifatini yaxshilash maqsadida reaksiya muhitiga tashqaridan qo'shimcha kerakli ferment preparatlari kiritiladi. Bu fikrni to'laroq namoyon qilish uchun quyidagi 13.1-jadval keltirilgan.

13.1-jadval

Oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish jarayonlarida ishlatiladigan fermentlar

Jarayon	Ferment
Kraxmal gidrolizi	α -amilaza, β -amilaza, glyukoamilaza
Fruktoza-glyukoza sharbati ishlab chiqarish	Pullulanazalar, ksiloizomeraza, sellulaza, ksilanaza.
Sut mahsulotlarini qayta ishlash	Renin, laktoza, lipaza.
Pivo ishlab chiqarish	α -amilaza, β - amilaza, poligalakturanaza, pektinliaza, ksilanaza.
Nonvoychilik	α - amilaza, proteaza, lipoksigenaza, fosfolipaza A, fosfolipaza D.

Sabzavotlarni fermentatsiyalash

Sabzavotlarni konservatsiya qilishning eng qadimiy usullaridan biri, bu sho'r suvdan foydalanishdir. Bu jarayonda sutachituvchi bakteriyalar ishtirok etadilar. Bunda konservant rolini osh tuzi va sut kislotasi bajaradilar. Ko'pgina mamlakatlarda bu usuldan sanoat miqyosida foydalaniladi. Karam, bodring va boshqa sabzavotlar tuzli suvda bijg'itish yordamida konservatsiya qilinadi. Ba'zi hollarda ba'zi-bir sabzavotlar yoki mevalar oldindan ishlov berishni talab qiladi. Masalan, maslinani 18% li sho'r suvga solishdan oldin uning sathida joylashgan oleorupin – nomli glikozid moddasi chaqiradigan qo'lamsa mazani yo'qotish maqsadida natriy gidroksidining eritmasi bilan ishlov beriladi.

Sabzavotlar sho'r suvda birin-ketin mikroorganizmlar ta'siriga uchraydilar. Dastlab, kislorod bo'lganligi sababli sho'r suvda aerob mikroblar rivojlanadilar. Shunga qaramasdan, tezkorlik bilan sut achituvchi bakteriyalar va achitqichlar (*Saccharomyces*, *Torulopsis*) rivojlana boshlaydilar va oqibatda sut kislotasi va sirka kislotasi hosil bo'ladi. Bijg'ishning oxirgi bosqichida achitqilarning rivojlanishlari uchun yaxshiroq sharoit tug'iladi.

Achishi mumkin bo'lgan uglevodlar tugashi bilan bijg'ish jarayoni to'xtaydi. Bijg'ish jarayonini boshqarish maqsadida, o'z-o'zidan hosil bo'ladigan mikroflora o'rniga kerakli bo'lgan bakteriyalarning toza shtammlaridan foydalanilmoqda. Bunday sharoitda haroratni (7,5°S) va tuzning konsentratsiyasini (2,25%) aniq ushlab turish hisobidan yuqori sifatli tuzlangan sabzavot mahsulotlari tayyorlanishiga erishiladi.

Bijg'ish jarayonida sabzavot mahsulotlari mikroorganizmlarning xushbo'y hid va o'ziga xos maza beruvchi metabolitlari bilan to'yinadilar. Bundan tashqari ular oqsil moddalari bilan ham to'yinadilar. Sut kislotali bijg'ish orqali mahsulot tayyorlash geografiyasi ko'proq Sharq mamlakatlariga xosdir. Masalan, tuzlangan baliq – bu sharq taomidir.

Soya o'simligi urug'ini sut kislotali bijg'itish orqali olinadigan oziqa mahsulotlari ham Sharq mamlakatlariga xosdir.

Ma'lumki, soya urug'idan juda ham xilma xil mahsulotlar tayyorlanadi. Xitoy, Yaponiya, Koreya, Malayziya, Indoneziya mamlakatlarida soya urug'iga mikroorganizmlar yordamida ishlov berish orqali ko'p sonli mahsulotlar tayyorlanadi. Masalan, Indoneziyada tayyorlanib, butun jahonda noyob (delikates) hisoblangan «Tempe nedele» nomli taom soya urug'idan fermentatsiya qilish orqali tayyorlanadi. Soyadan tayyorlangan ovqatga xushbo'y hid beruvchi va uni oqsil moddalari bilan boyituvchi Koreya va Xitoy taomlari ham butun dunyoga ma'lum.

Xitoyning an'anaviy ovqati – «Sufu» - soyani *Mucor zamburug'i* bilan boyitish orqali tayyorlanadi. Yaponiya delikatesi – «Natto» soyani *Aspergillus oryzae* zamburug'i bilan qayta ishlash orqali tayyorlanadi. Ko'pchilik hollarda soya o'simligini yuvib, tozalab unga zamburug' ekiladi.

Zamburug' (*Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*) sekin o'sib, rivojlanib, o'simlik to'qimalarining oralariga, ichiga kirib ketadi va o'zidan nafaqat serkalloriyali oqsil moddalari, balki xushbo'y hid va o'ziga xos bo'lgan maza beradigan biologik moddalar chiqaradilar. Sharq taomlarining delikatesligi ham ana shunda.

Shu o'rinda qadimiy Xitoy ovqati bo'lib kelgan, endilikda Yaponiya va boshqa mamlakatlarida ham keng iste'mol qilib kelinayotgan sousning texnologiyasini keltirishni lozim topdik. Bu sousni tayyorlash uchun dastlab tuzlangan soya urug'i *Aspergillus oryzae* zamburug'i bilan fermentatsiya qilinadi.

Hosil bo'lgan eritmaga tuzli suv qo'shiladi va 8-12 oy mobaynida big'jishga qo'yiladi. Aralashma tipidagi bu bijg'ish asosan *Pediococcus Soyae* bakteriyasi va *Saccharomyces rouxii* va *Torulopsis* achitqi zamburug'lari tomonidan amalga oshiriladi. Bunday murakkab bijg'ish oqibatida mahsulot to'lig'icha mikroorganizmlar metabolitlari – sut kislotasi va boshqa oziqa kislotalari hamda etil spirtidan iborat mahsulotga aylanadi. Bijg'ish jarayoni tugagach, tayyor mahsulot siqiladi va idishlarga quyiladi. Bunday mahsulotlar “Moromom” deb yuritiladi.

Choy, kofe

Sharqiy Osiyo, Afrika va Lotin Amerikasi mamlakatlarida alkogolsiz, fermentatsiya qilingan ichimliklar choy va kofe o'simliklaridan tayyorlanadi.

Sharq mamlakatlarida choy ichimligi qadim-qadimlardan buyon darmon beruvchi ichimlik sifatida iste'mol qilinib kelingan bo'lsada, choy tayyorlash texnologiyasi XX-asrda yaratilgan, xolos.

Choy mahsulotlarining xilma-xilligi o'simlikning turiga va choy bargiga ishlov berish texnologiyasiga bog'liq. Choy tayyorlashning uch xil texnologiyasi ma'lum: - qora, ko'k va dubil moddalarini oksidlanganlik darajasi har ikkalasining orasida bo'lgan uchinchi xil choy. Tayyor choy fermentatsiya darajasiga qarab quyidagi kategoriyalarga bo'linadi:

- ✓ fermentlanmagan choy, - bunda dubil moddalarning (katexinlarning) oksidlanish darajasi 12% dan oshmaydi;

- ✓ *kamfermentatsiyalangan choy – dubil moddalarning oksidlanish darajasi 12-30%;*
- ✓ *fermentatsiyalangan choy – dubil moddalarning oksidlanish darajasi 35-40%.*

Har bir kategoriyaga kiruvchi mahsulotlar oksidlanish darajasiga qarab o'z navbatida yana bir necha kichik guruhlariga bo'linadi. Fermentlanmagan choy – bu ko'k choy. Oksidlovchi fermentlarning faolligini yo'qotish uchun mahsulotga suv bug'i yoki issiq, nam havo bilan ishlov berilgan. Oqibatda ishlov berishning keyingi bosqichlarida choy bargida fermentativ oksidlanish o'tmaydi.

Ikkinchi kategoriyali choy – kam fermentatsiyalangan, qisman fermentatsiya qilinadi; bunday choyga sariq, olrang (qizil) va qora choylar kiradilar.

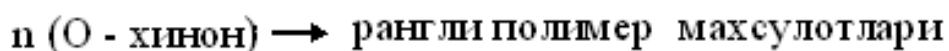
Agar ko'k choy tayyorlashda asosiy maqsad katexinlarni sof holda saqlab qolish bo'lsa, fermentatsiya qilingan, qora choyda choy bargidagi katexinlarning barchasini imkoni boricha to'liq oksidlash turadi. Bu texnologiya asosida tayyorlangan qora choy o'ziga xos xushbo'y hidga ega bo'lib, yaxshi damlanadi.

Qora choy tayyorlash uchun yangi terilgan choy barglariga quyidagicha ishlov beriladi: so'ldiriladi, buraladi, fermentatsiya qilinadi va quritiladi. So'ldirish muhim texnologik bosqich hisoblanadi, chunki bunda choy bargida asosiy biokimyoviy o'zgarishlar sodir bo'ladi, choyni ta'mini belgilovchi xushbo'y birikmalar buralish va fermentatsiya bosqichida paydo bo'ladi.

So'ldirish bosqichida asosan peroksidaza va polifenoloksidaza (piragalol yadrosi saqlagan katexinlarning oksidlanishi) fermentlarining ta'siriga muhim e'tibor beriladi. Buralish davrida choy bargining strukturasi shikast yetadi va hujayralar buziladi, oqibatda oksidlovchi fermentlarning o'z substratlari bilan uchrashuviga imkon yaratiladi. Choy bargida fermentatsiya endogen fermentlar hisobidan amalga oshiriladi. Xuddi mana shu xususiyati bilan choy tayyorlash texnologiyasi oziq-ovqat sanoatini boshqa texnologiyalaridan farq qiladi.

Chunki ko'pchilik texnologiyalarda ferment preparatlari jarayonni tezlashtirish maqsadida tashqaridan qo'shiladi. Choy tayyorlash texnologiyasida fermentatsiya asosiy jarayon hisoblanadi va tayyor mahsulotning sifatini belgilaydi.

Buralish davrida, hujayra strukturasi buzilib katexinlar polifenoloksidaza fermenti ishtirokida jadal oksidlanadilar va natijada xinoiylar hosil bo'ladi. Keyin xinoiylar kondensatsiyaga uchrab, qo'ng'ir rangli moddaga aylanadilar. Bu jarayonni quyidagicha izohlash mumkin:



Shunday qilib, choy bargining fermentatsiyaga uchrash jarayonida katexinlar oksidlanib kondensatsiyaga uchraydilar, natijada ishlov berilgan choy barglarida katexinning oksidlangan mahsulotlari - teoflavinlar va tearubiginlar to'planadilar.

Bu moddalar choyni mazasini, ta'mini va xushbo'y hidini belgilaydilar. Shubhasiz choy tayyorlashning asosini tashkil qiluvchi fermentativ oksidlanish

jarayonida biotexnologiyaning roli eng muhimdir. Masalan, bu ma'lum shakldagi katexinlarni miqdoriy o'zgarishi yoki oksidlanish jarayonida to'g'ridan-to'g'ri ishtirok etuvchi fermentlar genlarining faollashuvi bilan bog'liq bo'lgan jarayonlardir.

Eruvchan kofe tayyorlash texnologiyasi to'g'risida fikr yuritiladigan bo'lsa, bu masala juda ham kam o'rganilgan. Kofe tayyorlash texnologiyasi quyidagicha: kofe mevasi suvda ekstraktsiya qilinadi, erimasdan qolgan cho'kma eritmadan ajratiladi va uning tabiiy fermentatsiyasi amalga oshadi. Bu jarayonda bakteriyalar va achitqi zamburug'lari ishtirok etadilar. Xuddi mana shu jarayon kofega hid va ta'm berishda muhim ahamiyat kasb etadi. Umuman olganda kofe tayyorlash texnologiyasi chuqur ilmiy asosga ega emas. Shunga qaramasdan kofening sifati ko'pchilik hollarda (deyarli hamma vaqt) kommertsiya talablariga to'liq javob beraoladi. Kofe iste'mol qilish butun dunyoda tobora oshib bormoqda.

Hozirda Lotin Amerikasi mamlakatlari va AQShda kofe tayyorlashning ilmiy asoslari chuqur tahlil qilinmoqda.

Pishloq tayyorlash

Sut mikroblar yordamida tabiiy yo'l bilan qayta ishlangan birinchi mahsulot hisoblanadi. Chunki sut tarkibida mikroorganizmlar oziqlanib, ko'payishlari uchun zarur bo'lgan deyarli barcha komponentlar mavjud bo'lib, shuning uchun ham u tez achib qoladi. Bu jarayonning asosini sut shakari – laktozaning sut kislotasiga aylanishi tashkil etadi. Ming yillar davomida sutni o'zidan-o'zi achib qolish sabablari o'rganilib kelingan va oqibatda sutning achib qolish sabablari o'rganilib, sutdan achitish orqali pishloq va boshqa mahsulotlar tayyorlash texnologiyalari yaratilgan.

Pishloq tayyorlash uchun sutga ma'lum avlodga mansub bo'lgan bakteriya solinadi. Tayyorlanadigan mahsulotning sifati, xushbo'yligi, va boshqa qator xususiyatlari mana shu bakteriyalarning avlodi va turiga bog'liqdir.

Sutning achishi davomida sut achituvchi bakteriyalarning ko'payishi muhim texnologik jarayon hisoblanadi, chunki ko'payishga moyil bo'lgan bakteriyalar boshqa avlodga yoki turga mansub bo'lgan bakteriyalarning o'sib ko'payishiga yo'l qo'ymaydi va shu tufayli mahsulotga o'ziga xos sifat, ya'ni hid va ta'm beradi. Sut achituvchi bakteriyalar oshqozon-ichak mikroflorasiga ijobiy ta'sir qiladilar. Sutga bakteriya solingandan keyin, u ma'lum haroratda ushlab turiladi, bu esa sutning achishiga olib keladi. Bu jarayonni chuqurroq o'tkazish maqsadida, ya'ni sut tarkibidagi oqsil moddalarni parchalash uchun unga qo'shimcha proteolitik fermentlar solinadi. Bunday fermentlar qo'zichoqning yoki buzoqchanning oshqozonidan olinib, u sichuj fermenti yoki renin deb ataladi. Renin sut emgan buzoqcha yoki qo'zichoq oshqozonining to'rtinchi bo'limida hosil bo'ladi. Hayvonning yoshiga qarab sichuj fermenti o'rniga boshqa proteolitik fermentlar hosil bo'la boradilar va ular pishloq hosil qila olmaydilar.

Har yili butun dunyoda 25 mln. litrga yaqin sichuj fermenti ishlab chiqariladi. Shunga qaramasdan bu fermentga bo'lgan ehtiyoj to'lig'icha yetarli emas. Chuqur ilmiy izlanishlar natijasida sichuj fermentiga o'xshagan xususiyatga ega bo'lgan

mikrob fermenti topilgan va u qisman bo'lsada bu fermentning o'rnini bosish uchun pishloq tayyorlash texnologiyalar reglamentiga kiritilgan.

Yana bir biotexnologik jarayon – bu renin sintez qiladigan genni ajratib olinib, u mitselial zamburug'lar genomiga kiritilgan va shu yo'l orqali sichug fermentining juda ham o'xshash analogi yaratilgan. Shunday qilib, sichug fermenti sanoat sharoitida hayvonlar oshqozonidan (buzoqcha, qo'zichoq, cho'chqa bolasi) va zamburug'lardan olinadi.

1998 yilning ma'lumotiga qaraganda, zamburug'lardan ajratiladigan renin fermentining analogi, bu fermentga bo'lgan talabning uchdan bir qismini qoplay olgan. Mikrob fermentlari pishloq ishlab chiqarish an'anaviy katta bo'lgan mamlakatlar – AQSh va Frantsiyada ko'proq ishlatiladi.

Sutga ferment solinganidan ko'p o'tmasdan sutdagi kazein oqsili qisman parchalanadi. Koagulyatsiyaga uchragan kazein gelsimon massani hosil qiladi va yog' bilan yopishadi, shundan keyin ajralgan zardob filtrlab ajratib olinadi, quyuq massa siqilib, qolgan suyuqlik iloji boricha ajratib tashlanadi va surpga yoki boshqa materialga o'rab quritiladi. Keyingi bosqich – pishloqni pishirish (etiltirish). Sutdan pishloq tayyorlash degidratatsion jarayon bo'lib, unda kazein hamda sut tarkibidagi yog' moddalari 6-12 marotaba quyuqlanadi. Ba'zi bir pishloqlarni yetiltirish jarayonida unga tashqaridan mikroorganizmlar (bakteriyalar va zamburug'lar) solinadi, bu esa pishloqqa xushbo'y hid, o'ziga xos ta'm beradi. Tabiatda bakteriyalar avlodi va turlari o'ta ko'p bo'lgani uchun ham pishloqning turlari yildan yilga kengayib bormoqda.

Pishloqning ta'mi, xushbo'yligi va sifati quyidagi omillarga bog'liq: sutning turi (echki, qo'y, sigir suti) pishloq tayyorlash harorati, ikkilamchi mikrofloraning ishtiroki va h.k. (1.2-jadval).

Quyida kommertsiya uchun ishlab chiqariladigan pishloqlardan ba'zi birlarini keltirib o'tamiz:

- ✓ *pishib yetilmagan pishloq;*
- ✓ *kam miqdorda yog' saqlagan tvorog;*
- ✓ *yuqori miqdorda yog' saqlagan kremsimon pishloq;*
- ✓ *pishib yetilgan pishloq;*
- ✓ *qattiq pishloq;*
- ✓ *«Guda» - qo'y sutidan tayyorlangan pishloq;*
- ✓ *«Cherder» yoki «Shveytsariya» pishlog'i (bakteriyalar ta'sirida pishiriladi);*
- ✓ *«Rokfor» yoki boshqa ko'k rangli pishloq (maxsus avlodga mansub mikroskopik zamburug' ta'sirida pishiriladi);*
- ✓ *Yumshoq pishloq;*
- ✓ *«Suluguni»;*
- ✓ *«Limburger» (bakteriyalar ta'sirida pishiriladi);*
- ✓ *«Kamamber» (bakteriyalar va zamburug'larta'sirida pishiriladi).*

Yumshoq pishloqning ikki xili pishibetilgan va pishib yetilmagan sotuvga qo'yilgan (50-80% namlikga ega) .

Pishib yetilmagan yumshoq pishloq, misol uchun tvorog, texnologik sikl tugagandanoq tayyor mahsulot sifatida savdoga qo'yiladi. «Kamambera» yoki

«Bri» nomli yumshoq pishloq tayyorlash uchun maxsus achitqi zamburug'lari yoki *Penicillium* zamburug'ining maxsus shtamlari ishlatiladi.

13.2-jadval.

Harxil turdagi pishloqlarning yetilishida ishtirok etuvchi mikroorganizmlar

Pishloq turi	Sut achituvchi bakteriyalar	Ikkilamchi mikroflora
Yumshoq pishib yetilmagan pishloqlar		
Kottedj	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Lenconostoc citrovorum</i>
Nevshatel	<i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus diacetylactis</i>	
Yumshoq yetilgan pishloqlar		
Bri	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Penicillium camemberi</i>
Kamamber	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Penicillium canoliolum</i>
Yarimyumshoq pishib yetilmagan pishloqlar		
Rokfor	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>
Azyago	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Penicillium claucum</i>
Brik	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Brevibacterium linens</i>
Gorgonzola	<i>Streptococcus</i> sp	
Monter	<i>Streptococcus</i> sp	
Suluguni	<i>Streptococcus</i> sp	
Qattiq yetilgan pishloqlar		
Cheddar	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Penicillium roqueforti</i>
Shveytsarskiy	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Penicillium glaucum</i>
Stilton	<i>Streptococcus durans</i>	<i>Lactobacillus casc</i>
Kolbi	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus helvericus</i>
Gruer	<i>Streptococcus</i> sp	
Juda qattiq yetilgan pishloqlar		
Parmidjano	<i>Streptococcus lactis</i>	
Romano	<i>Streptococcus cremoris</i>	
Guda	<i>Streptococcus bulgaricus</i>	
Pastasimon (erigan) pishloqlar		
Mozarella	<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
Provolone	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	

Yumshoq pishloqlarning ba'zi navlari tvorog ta'mini beradi. «Limburger» tipidagi pishloqqa tuzlik suv bilan ishlov beriladi, bu esa sut achituvchi bakteriyalar, achitqi zamburug'lari va bakteriyalar ko'payishini tezlatadi.

Yarimqattiq pishloq tayyorlash uchun yetilgan massaning namligini pasaytirish maqsadida yuqori haroratda ushlab turiladi. Bunday pishloqlarning o'rtacha namligi 40-45% dan oshmasligi kerak.

«Cherder» tipidagi qattiq pishloq 40% gacha namlik saqlaydi. Qattiq pishloq tayyorlash uchun tayyor massaga *Penicilliumroqueforti* zamburug'ining sporalari aralashtiriladi va g'ovakchalar paydo qilish uchun massaga havo yuboriladi. Zamburug'larning paydo bo'lishi pishloqqa o'ziga xos bo'lgan xushbo'y hid va ta'm beradi.

Bunday pishloqlar Yevropa mamlakatlarida sevib iste'mol qilinadi. Bu tipdagi pishloqlarga «Rokfor», «Stilton», «Gorgonzola», «Daniya ko'ki» kabilar kiradi. «Gruer» pishlog'i qattiq pishloqlarning maxsus sinfiga kiradi. Bu tipdagi pishloqlarni tayyorlash davrida an'anaviy usullar bilan birgalikda massaga propion achituvchi bakteriyalar (*Propionbacteriumshermanii*) aralashtiriladi. Bunday bakteriyalar o'zlaridan karbonat angidridini chiqaradi – bu esa mahsulotga o'ziga xos xushbo'y hid beradi.

Sutdanboshqa mahsulotlar ham tayyorlash mumkin. Ulardan ajralib turadiganlari nordon mahsulotlardir. Masalan, ko'pchilik mamlakatlarda yogurt tayyorlanadi.

Gruziyada uning analogi matsoni tayyorlanadi. Odatda yogurt sutga *Lactobacillusbulgaricus* va *Streptococcusthermophilus* o'stirish orqali tayyorlanadi. Bu jarayonda *L.bulgaricus* atsetaldegid hosil qiladi, *Streptococcusthermophilus* sintez qiladigan fermentlar yordamida sut shakari laktoza sut kislotasiga aylanadi va shu tufayli yogurtga xos bo'lgan nordon ta'm paydo bo'ladi.

Smetana (qaymoq), qimiz, kefir, vilya (Finlyandiyada keng iste'mol qilinadigan ichimlik) va boshqa mahsulotlar sut achituvchi bakteriyalar bilan ishlov berilgan sutni pasterizatsiya qilish orqali tayyorlanadi.

Alkogolli ichimliklar

Xilma-xil ichimliklar tayyorlashda biotexnologik usullardan foydalanish tobora oshib bormoqda. Alkogolli ichimliklar o'zlarining belgilariga, ko'rsatkichlariga qarab har xil guruhlarga bo'linishlari mumkin. Shunday bo'lsada, ularni texnologik ko'rsatkichlariga qarab, fermentlangan va fermentlanmagan guruhlarga bo'lish maqsadga muvofiq bo'lar edi. Ichimlik tarkibidagi alkogolning miqdoriga qarab esa – kontsentrlangan, distillangan va kontsentrlanmagan guruhlarga bo'lish mumkin. Fermentatsiya jarayoni (bijg'ish) nafaqat spirt hosil bo'lishini o'z ichiga oladi. Bu jarayonda achitqi zamburug'larning metabolik imkoniyatlaridan kelib chiqqan holda achiotgan muhitda qator birikmalarning ketma-ket o'zgarib turishlarini kuzatish mumkin.

Zamonaviy biotexnologik usullar orqali (ularning yordamida) mana shu bijg'ish jarayonida ishtirok etadigan organizmlarning metabolik imkoniyatlarini yanada kengaytirish imkoniyatlari yaratiladi. Bu esa alkogolli ichimliklar tayyorlashda biotexnologiyaning rolini aniqlab beradi. Ko'pchilik alkogolli ichimliklar boshoqli o'simliklarning urug'ini yoki boshqa kraxmal saqlovchi mahsulotlarni qayta

ishlash orqali tayyorlanadi. Rossiya, Gollandiya, Olmoniya, Polsha, Skandinaviya mamlakatlari va boshqa ko'pgina mamlakatlarda pivo va boshqa baquvvat ichimliklarni boshqolardan tayyorlash an'anaga aylangan.

Yevropaning janubiy mamlakatlari: Ispaniya, Italiya, Frantsiya, Gretsiya, Yugoslaviya (sobiq), Gruziya, Armaniston, Moldova –bunday ichimliklarni asosan uzumdan tayyorlashadi. Har xil quvvatga ega bo'lgan ichimliklarni har xil mevalar (olma, olxo'ri, tut mevasi, shaftoli, tropik va subtropik o'simliklarning mevalari) va asaldan tayyorlash ham an'anaga aylanib bormoqda.

Alkogolli ichimliklarni odatdan tashqari ko'p xilda chiqarishning bir necha sabablari bor. Bunday sabablardan asosiysi ichimlik chiqarayotgan mamlakatning iqlim sharoiti bilan bog'liq. Osiyo mamlakatlarida alkogolli ichimliklar tayyorlash bo'yicha katta tajribalar yo'q. Odatda, qadimda sharobtayyorlangan (bu ham iqlim bilan bog'liq bo'lsa ajab emas). Hozirda ishlab chiqariladigan ichimliklar tashqaridan keltirilgan texnologiyalar asosida tayyorlanadi, shuning uchun bo'lsa kerak, sifati bo'yicha boshqa mamlakatlarda chiqariladiganlaridan ancha farq qiladi.

Alkogolli ichimliklarni ishlab chiqarish va sotish, o'rta asrlardan oq mustahkam biznesga aylangan. Mana shuning uchun ham bunday ichimliklarni (vino, konyak, viski, vodka va h.k.) tayyorlash jarayonlariga biror-bir yangilik kiritish katta qarshiliklarga uchraydi. Shuni alohida ta'kidlash lozimki, "qo'l bola" ichimliklar tayyorlash muammosi butun dunyoda keng tarqalgandir. Afsuski, alkogolli ichimliklar tayyorlashda yagona xalqaro nazorat tizimini tashkil qilish imkoniyati yaratilgani yo'q. Alkogolli ichimliklar tayyorlash uchun o'simlik substratlaridan – mono-, di-, oligosaxaridlar va polisaxaridlardan (kraxmal, sellyuloza, ba'zida gemitsellyuloza) foydalaniladi.

Polisaxaridlarni oldindan parchalashga (gidroliz) to'g'ri keladi. Bu jarayon esa tegishli fermentlar yordamida (kraxmal – amilazalar; sellyuloza va gemitsellyuloza esa sellyulolitik fermentlar) kamdan kam hollarda kontsentrangan noorganik kislotalar (sulfat yoki xlorid kislotalar) ishtirokida amalga oshiriladi. Polimerlarni kislotalar yordamida parchalash odatda texnik maqsadlar uchun ishlatiladi.

Sellyuloza va gemitsellyuloza saqllovchi mahsulotlar oziqa spirti tayyorlash uchun odatda yaroqsiz hisoblanadi va shuning uchun ham ular faqatgina texnik maqsadlar uchun spirt olishga ishlatiladi.

Substratlarga tegishli ishlov berilgandan keyin (polisaxaridlar parchalangandan so'ng), shakar eritmasiga achitqi zamburug'i solinadi. Odatda bu maqsadda saxaromitsetlar (*Sacharomyces* sp.) ishlatiladi.

Kamdankam hollarda bakteriyalardan – *Zymomonasmobilis* dan foydalaniladi. Bunday usul ko'proq Markaziy Amerika mamlakatlarida ko'proq ishlatiladi. Saxaromitsetlar har xil monosaxaridlarni – glyukoza, fruktoza, galaktoza; va disaxaridlarni – saxaroza, maltozani etil spirtigacha bijg'itib beradilar.

Saxaromitsetlar boshqa avlodga mansub bo'lgan achitqi zamburug'lariga nisbatan etil spirtiga chidamli ekanligi aniqlangan. Bijg'ish jarayoni tugaganda

aralashmada 14-16% gacha etil spirti to'planadi. Bijg'ib turgan muhitda etil spirtining bu miqdori achitqi zamburug'ining o'sishini to'xtatadi, bu vaqtga kelib muhitningkislotaliligi ko'tarilib boradi. Bunga sabab saxaromitsetlar tomonidan sintez bo'ladigan organik kislotalarning miqdorini oshishidir. Bijg'ish jarayonida hosil bo'lgan spirt eritmasining biologik xususiyati, to'g'ridan-to'g'ri suyultirilgan spirt eritmasidan mana shu bilan farq qiladi. Texnologik siklning keyingi bosqichi – bu distillyatsiyadir. Bu jarayon va unda ishlatiladigan asbob uskunalar ilmiy va texnikaviy adabiyotlarda keng yoritilgan.

Distillyatsiya – *bu etil spirtni kontsentratsiya qilish va uning toza fraktsiyasini ajratishdir*. Mana shu bosqich keng ma'noda alkogolli ichimliklarning sifatini belgilab beradi.

Ba'zi bir hollarda tayyor mahsulotning organoleptik sifatlarini tuzatish maqsadida, etil spirtning o'ziga xos hid va xushbo'ylik beradigan moddalarda tindirib ham qo'yiladi. Odatda quvvatli ichimliklarda etil spirtining miqdori 20-50% orasida bo'ladi. Quvvatga soladigan ichimliklar va likyorlar tayyorlanganida har xil o'simliklarning gullaridan, barglaridan va mevalaridan ajratib olingan xushbo'y moddalardan foydalaniladi. Shu maqsadda sintetik moddalardan ham foydalanish yo'lga qo'yilgan. Quyida keltirilgan 13.3-jadvalda har xil fermentatsiya qilingan ichimliklar keltirilgan.

13.3-jadval.

Fermentlangan, distillanmagan alkogolliva alkogolsiz ichimliklar

Substrat	Ichimlik	Ishlab chiqaradigan mamlakatlar
Boshoqlilar, arpa (kraxmal)	Pivo El	Markaziy Yevropa Belgiya, Germaniya, Kanada
Arpa, sholi, javdar, shakar lavlagi	Kvas	Rossiya, Ukraina, Germaniya
Proso	Bouza, Tumba	Ukraina, Indiya
Sholi, mevalar, uzum, chiqindilari	Vodka Sake Sont	Yaqin sharq, Xindiston, Rossiya, Italiya, Gruziya Yaponiya. Xindiston.
Sholi	Gang-chu	Xitoy
Uzum	Vino	Yaqin sharq. Yevropa, Xitoy, Avstraliya, AQSh, Janubiy Amerika, Markaziy Osiyo.
Olma	Sidr	Buyuk Britaniya, Frantsiya.
Asal		Buyuk Britaniya, Rossiya.

1.4-jadvalda esa keng tarqalgan va milliy fermentlangan va distillangan (yoki etil spirti bo'yicha kontsentrangan) ichimliklar keltirilgan.

13.4-jadval.

Fermentlangan quvvatli ichimliklar

Substrat	Mahsulot

Melassa	Rom
Agava	Tekila
Olxo'ri	Slivovitsa
Olcha	Kirgi
Uzum	Konyak(brendi)
Makkajo'xori, javdar	Burbon,viski

13.4-jadvalning davomi

Fermentlangan quvvatli ichimliklar

Substrat	Mahsulot
Kartoshka,bug'doy, javdar	Aroq
Arpa	Viski
Arpa,kartoshka	Akvatit
Nok	Nok brendisi
Sholi	Xitoybrendisi

Vino

Bir ko'rinishda ajablanarli tuyulsada, vino tayyorlash texnologiyasi pivo tayyorlashga nisbatan oddiyroq hisoblanadi. Bu jarayon 5000 yillar mobaynida deyarli o'zgarmadi. Taxmin qilishlaricha vino Yaqin Sharq va Yevropa mamlakatlarining ichimligi hisoblanadi, bu mintaqalarda tokning har xil navlari (*Vitis vinifera*) o'stiriladi. Bugungi kungacha vinochilik Frantsiya, Italiya, Ispaniya, Germaniya, Gretsiya, Vengriya, Moldova, Rossiya, Ukraina, Kavkaz orti mamlakatlari, hattoki Markaziy Osiyo mamlakatlari, Xitoy va boshqa mamlakatlarda ham keng rivojlangan.

Bu mamlakatlarda tokning endemli navlari ko'proq tarqalgan. Keyingi vaqtlarda vino tayyorlaydigan mamlakatlarning geografiyasi tobora kengayib bormoqda va ularga Avstraliya, AQSh, Chili, Argentina, Isroil, Janubiy Afrika Respublikasi va boshqa mamlakatlar qo'shildilar. Bu mamlakatlarning tuproq va iqlim sharoiti tok o'stirishga mos keladi. Bir necha yuz yillar mobaynida tokning oq va qizil uzum beruvchi, selektsiya yo'llari bilan tanlangan navlaridan tarkibida 15-25% shakar saqlagan sharbat siqib olinadi va undan vino tayyorlash uchun foydalaniladi. Qizil vino qora uzumni siqish va butun massani fermentatsiya qilish orqali olinadi. Binafsha vino – oq uzumning sharbatiga qora uzumning po'stlog'ini (sharbatini siqib olgandan keyin qolgan massani) aralashtirish yo'li bilan tayyorlanadi.

Yaqinlargacha uzum sharbati tabiiy mikroflora yordamida o'z-o'zidan bijg'itilar edi.

Endilikda spirtli bijg'ish jarayoniga bo'lgan e'tibor tubdan o'zgargan. Yuqori sifatli vino tayyorlash uchun mahalliy sharoitga moslashtirilgan selektsiya yo'li bilan tanlab olingan achitqi zamburug'ining toza kulturasidan foydalaniladi, bu esa mo'tadil ravishda bir xil sifatli vino tayyorlash imkonini beradi. Avval aytib o'tilganidek, bu maqsad uchun *Saccharomyces* avlodiga mansub bo'lgan achitqi

zamburug'ining mahalliy sharoitga moslashgan shtammlaridan foydalaniladi. Bijg'ish ma'lum sharoitda amalga oshiriladi: katta hajmli maxsus idishlarda 7-14⁰S da olib borilgan bijg'ish jarayoni maqsadga muvofiq natijalar beradi. Bijg'ishning tugaganligini har xil ko'rsatkichlardan sezish mumkin. Ular orasida eng muhimlari quyidagilar: etil spirtining miqdori, shakar qoldig'i, glitserin, uchuvchan kislotalar miqdori va h.k.

Bijg'ish tamom bo'lganida vino tarkibidagi spirt miqdori 10-14% bo'lishi kerak. Bundan tashqari bijg'ish jarayonida ko'pincha parallel ravishda bakterial (*Leuconostoss*.) bijg'ish ham amalga oshadi va unda olma kislotasi, sut kislotasiga aylanadi. Bijg'ish tugagandan keyin yangi yosh vino qarishi uchun kattaroq hajmdagi idishlarga quyiladi. Bunday vaqtda eman yog'ochidan tayyorlangan idishlardan foydalanish yaxshi natijalar beradi. Vinoni saqlash jarayonida uning harorati pasayadi va cho'kma hosil bo'ladi. Odatda bu jarayon bijg'iydigan massada kimyoviy o'zgarishlar sodir bo'lishi bilan bir vaqtda o'tadi.

Yuqorida aytib o'tilganidek vino ishlab chiqarish oziq-ovqat sanoatining eng qadimiy texnologiyalaridan hisoblanadi. Shunga qaramasdan ba'zibir mamlakatlarda vinoni katta hajmda tayyorlash maqsadida doimiy o'stirish usulidan foydalaniladi. Bu texnologiyaga asosan bijg'ish ketayotgan changa (idishga) doimiy ravishda uzum sharbati quyib turiladi va undan xuddi shu hajmda yosh vino quyib olinadi. Shuni alohida ta'kidlash kerakki, ma'lum ustuvorlikga ega bo'lishga qaramasdan, bu usul keng miqyosda qo'llanilolmadi.

Yuqorida keltirib o'tilgan texnologiyalar mevalardan vino tayyorlash uchun ham ishlatiladi. Ba'zibir holatlarda, masalan guruchdan ichimlik (sake) tayyorlanayotganda kraxmalni fermentatsiya qilish jarayonida kerakli miqdorda bijg'iydigan shakar moddalari ajraladi. Sake 20% etil spirti saqlaydi. Quvvatliroq vino tayyorlash uchun tayyor mahsulotga kerakli miqdorda toza etil spirti qo'shiladi. Ko'pchilik vinolar 20% gacha etil spirti saqlaydi. Shuning uchun ham ular mikroblar tomonidan ifloslanmaydilar. Bunday vinolardan ba'zilarining nomlarini keltirib o'tamiz: «Portveyn», «Vermut», «Sherri», «Kagor», «Muskat», «Tokay» va h.k.

«Fino» va «Xeres ammotiliyado» (Ispaniyaning Xeres degan rayonida tayyorlangan) bundan mustasno. Bu nomli vinolarni tayyorlash uchun vinoning quvvatini oshirib bo'lgach, uni «qaritish» maqsadida og'zi ochiq idishlarga quyiladi, ya'ni kislorodli muhit paydo qilinadi, bu esa o'z navbatida vinoning tozasida mikroflora paydo bo'lishiga olib keladi. Odatda bu mikroflora tarkibida saxaromitsetlar ham uchraydilar. Mana shu mikrofloraning metabolitlari «Xeres» tipidagi vinolarga xushbo'y hid berib turadi.

Vino tayyorlash bilan shug'ullanadigan mamlakatlarning bu texnologiyalarga bo'lgan munosabatlari bir-birlaridan farq qiladi. Bunga sabab vino tayyorlashda ishlatiladigan uzum navlarining har xilligi, achitqi zamburug'lari shtammlarining xususiyatlaridagi farq, vinoni baholashdagi farqlar bilan bog'liqdir. Vinochilikni muayyan mamlakatning iqlimi, shu mamlakat halqlarining madaniyati va an'analaridan ajratilgan holda muhokama qilib bo'lmaydi, chunki, ayni ana shu omillar vinochilikning imkoniyatlarini yaratadi.

Vinoning foydali xususiyatlari haqida juda ham ko'p adabiyotlar chop etilgan. Aniqlanishicha, vinoda 700 dan ko'proq har xil kimyoviy tabiatga ega bo'lgan metabolitlar topilgan, bular: antioksidantlar, peptidlar, organik kislotalar, alkaloidlar, steroidli gormonlar, har xil tabiatli fenol birikmalari, uglevodlar va h.k. Masalan, oxirgi yillarda chop etilgan ilmiy adabiyotlarda ko'rsatilishicha, fenol birikmalarning organizmga ta'siri har tomonlama ahamiyat kasb etadi. Bu birikmalarni modda almashuvida ishtirok etishi ularning ahamiyatini yanada oshirib yubordi. Vino tarkibidagi fenol birikmalari singa, avitaminoz, plevrit, peritonit, endokardit, nurlanish, glaukoma, gipertoniya, revmatizm, ateroskleroz kabi qator xastaliklarga davo ekanligi adabiyotlardan ma'lum. Shunday ekan, kam quvvatli uzum vinosi kam alkogolli shifobaxsh sharbat sifatida, me'yorida iste'mol qilinganda, inson salomatligiga xizmat qilishi mumkin.

Adabiyotlarda spirtli bijg'ish jarayonini olib boruvchi *Saccharomyces cerevisiae* achitqi zamburug'ining genetik tavsifini o'rganish haqida ko'plab ma'lumotlar mavjud.

Rekombinantli DNK texnologiyasi yordamida kengroq metabolitik spektrga ega bo'lgan achitqi zamburug'i kulturalari yaratilgan. Ulardan ba'zi birlar faqat alohida texnologiyalarda, masalan laktoza, pentozalar va sellobiozalar bijg'itish jarayonlarida ishlatilmoqda.

Olimlarning fikrlaricha ekologik toza vino mahsulotlari tayyorlash uchun achitqi zamburug'larining shunday shtammlarini yaratish lozimki, ular o'zlarining asosiy vazifalaridan (bijg'itish) tashqari, tokning agrotexnikasi uchun zarur bo'lgan (ishlatiladigan) kimyoviy moddalarni iste'mol qilib, ularni uzum mevasiga o'tadigan foydali moddalarga aylantirish xususiyatiga ega bo'lsin.

Pivo

Shakar moddalari erigan suyuqlikda mikroorganizmlar tez rivojlanishi barchaga ma'lum. Xuddi mana shu voqeylik ko'pgina texnologik jarayonlarni yaratish uchun xizmat qildi desak xato bo'lmaydi. Yer sharining xilma-xil joylarida olib borilgan arxeologik kuzatishlar asosida olim va mutaxassislar boshqoli o'simliklardan olingan ekstraktlarni bijg'itish bundan 6000 yillar avval boshlangan degan fikrga kelishgan.

Bundan 20-25 yil avval pivoni asosan iste'mol qiluvchilar Yevropa mamlakatlari, AQSh va Avstraliya halqlari deb hisoblangan bo'lsa, bugungi kunga kelib, bu fikr anchagina o'zgargan. Pivo Xitoy, Hindiston (guruch pivosi) hattoki arab mamlakatlarida ham, hatto Markaziy va Janubiy Afrikada ham pivo (sorgodan tayyorlangan) sevib iste'mol qilinadigan bo'lib qoldi.

Bugungi kunda dunyoning barcha mamlakatlarida pivo iste'mol qilinadi desak xato bo'lmaydi. Ayniqsa, oxirgi 10-15 yilda bu ichimlikka bo'lgan extiyoj kun sari oshib bormoqda. Ma'lumotlarga qaraganda dunyoda pivo tayyorlash yiliga 1 mln. gektolitrdan oshib ketgan. Mutaxassislarning fikrlaricha bunday an'ana yana 20-25 yil davom etishi mumkin.

Pivo kraxmal saqlovchi boshqoli o'simliklardan tayyorlanadi. Pivo tayyorlashning texnologik chizmasi quyidagicha: quruq arpa, to unib chiqqunga

qadar suvda ivitib qo'yiladi. Endigina unib chiqqan arpa doni maysalarida amilaza va proteaza fermentlarining faolligi oshadi. Amilaza fermenti kraxmalni oligodekstrinlarga parchalaydi, bu esa pivoning yopishqoqligini va ko'pik hosil qilishini belgilab beradi.

Proteaza fermenti urug'dagi oqsil moddalarni aminokislotalarga parchalab beradi. Bu moddalar achitqi zamburug'lari o'sib rivojlanishlari va pivoga o'ziga xos xushbo'y hid berish uchun eng zarur moddalardir. Unib chiqqan arpa maysalari maydalanadi va suvga (60-65°S) solinadi. Bunday sharoitda maysa rivojlanishdan to'xtaydi (o'ladi), fermentlar (amilaza, proteaza) esa o'z faolliklarini saqlab qoladilar. Suvdagi aralashma (solod) katta chanlarga quyilib, bir necha soat ushlab turiladi. Mana shu vaqt mobaynida kraxmal va oqsil moddalarning parchalanishi bilan bog'liq bo'lgan asosiy fermentatsion jarayon tugaydi.

Suvli eritma, (uni shuningdek pivo suslosi ham deb yuritiladi) cho'kmadan ajratilib, xmel aralashtiriladi va qaynatiladi. Xmel pivoga xos xushbo'y hid beradi va pivoga antiseptik xususiyat beradi. Keyin xmel filtrlash orqali eritmadan ajratib olinadi. Toza eritma bijg'itish uchun tayyor hisoblanadi.

Fermentatsiya yoki bijg'itish maxsus idishlarda – bioreaktorlarda achitqi zamburug'larining maxsus shtammlari ishtirokida amalga oshiriladi. Bu maqsad uchun odatda *Saccharomyces cerevisiae* ning etil spirti sintez qiluvchi maxsus shtammlaridan foydalaniladi. Shuningdek *Saccharomyces carlsbergensis* ham ishlatiladi.

Bugungi kunda bu shtammlar genetik modifikatsiya ham qilingan (protoplastlar yopishtirilgan, genlar klonlashtirilgan) va achitqi zamburug'ining yangi, faolroq shakllari yaratilgan.

Angliyadan boshqa Yevropa mamlakatlarida pivoni saxaromitsetlar yordamida bijg'itish jarayoni 10-15°S da olib boriladi. Angliyada esa bu jarayon 28-30°S da o'tkaziladi. Albatta harorat pivoning xususiyatiga ta'sir ko'rsatadi. Bijg'ish jarayoni tugagandan keyin pivo bir necha hafta mobaynida chanlarda 0-2°S da ushlab turiladi va keyin pasterizatsiya qilinib, butillarga qadoqlanadi.

Pivo uzoq muddat saqlab turilganda, issiqlik yoki yorug'lik ta'sirida loyqa paydo bo'ladi, bu esa pivoning tovar ko'rinishiga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Pivo loyqalanmasligi uchun AQShda pivo tarkibidagi oqsil moddalarni qisman parchalash usuli yaratilgan. Bu usul proteolitik fermentlarning ta'siriga asoslanagan va unda sovuq holatlarda loyqa hosil bo'lishini deyarli oldi olingan. Bu maqsad uchun papain, pepsin, fitsin, bakterial proteazalardan foydalaniladi. Eng avvalo proteolitik fermentlar rN 4,5 (pivoning rN ko'rsatgichi) da faol bo'lishi shart. Ferment miqdorini shunday belgilash kerakki, undan oqsil qisman parchalansin, aks holda pivo ko'piklanish xususiyatini yo'qotib, ta'mini o'zgartiradi.

Non

Nonvoychilik insoniyatning eng qadimiy kasblaridan biridir. Bunga sabab non inson oziqlanishi uchun fiziologik zarur bo'lgan komponent hisoblanadi. Non

tayyorlash inson sivilizatsiyasining boshlarida boshlangan bo'lsa ajab emas. Dastlab non suvga aralashtirilgan unning pishirilgani bo'lgan. O'shandan boshlab hozirgi kungacha non tayyorlash doimiy ravishda takomillashib bormoqda.

Bu masalada mamlakatimizda katta tajriba to'plangan. E'tibor qilsangiz, har bir viloyatning non yopishdagi tajribalari ko'z o'nggingizda namoyon bo'ladi. Texnologik nuqtai nazardan non tayyorlashda achitqilardan foydalanish katta ahamiyat kasb etdi. Shu o'rinda non tayyorlash jarayonida achitqi dastlab havodan tushgan desak xato bo'lmas. Ko'p mamlakatlarda non unga achitqi, tuz, shakar va ozroq yog' yoki margarin qo'shib tayyorlanadi. Bu komponentlar achitqini tez rivojlanishi uchun zarur va oqibatda nonning sifatini yaxshilashga xizmat qiladi. Bugungi kunda milliy urf-odatlar, kalloriyani ko'tarish, parhez, to'y-xasham va boshqa ehtiyojlardan kelib chiqqan holda nonga boshqa komponentlar ham qo'shiladi.

Unni tuzli suvda yaxshilab aralashtirgandan keyin unga *Saccharomyces cerevisiae* achitqi zamburug'i qo'shiladi. Boshhoqlilar, jumladan bug'doy kam miqdorda past molekulyar massaga ega bo'lgan, bijg'iydigan shakar moddalari saqlaydi. Ikkinchi tomondan 50% dan ko'proq kraxmal saqlaydi va u achitqi zamburug'lari tomonidan parchalanmaydi. Shuning uchun ham kraxmalni glyukoza yoki maltozagacha parchalaydigan fermentlardan foydalaniladi.

Ilmiy izlanishlar natijasida un tarkibidagi kraxmal zamburug' va bakteriyalardan olingan amilazalar yordamida yaxshi parchalanishi aniqlangan. Kraxmalning gidrolizi xamirga tashqaridan qo'shiladigan amilolitik fermentlar yordamida amalga oshadi.

Amilolitik kompleks bir necha fermentlarni o'z ichiga olsada, ulardan faqatgina ikkitasi: amilaza va glyukoamilaza nonvoychilikda keng qo'llaniladi. Amilazani zamburug'lar (*Aspergillus oryzae*, *A.niger*, *A.awamori* va boshqalar) va bakteriyalar (*Bacillus subtilis*, *B.amylolignefaciens*, *B.mesentericus*, *B.stearothermophilus*) sintez qiladilar. Glyukoamilaza faqatgina qora aspergillarda (*Aspergillus awamori*, *A.niger* va boshqalar) ko'proq sintez bo'ladi.

Nonvoychilikda ishlatiladigan bakteriya yoki zamburug' amilazalari orasida ustuvorlik zamburug' fermentlariga beriladi. Bunga asosiy sabab zamburug' α -amilazalari bakteriyalarnikiga nisbatan haroratga chidamsizroq, yuqori haroratda tez parchalanib, non mag'ziga salbiy ta'sir ko'rsatmasligidir. Zamburug' amilazasi qo'shilgan xamirda shakar miqdori ko'proq bo'lib, achish jarayoni to'laroq o'tadi, karbonat angidrid gazi ko'proq chiqadi, melanoidinlar hosil bo'lishi oshadi va tayyor mahsulotni saqlash vaqti cho'ziladi.

Ferment qo'shilganda non, keks va non mahsulotlarining ta'mi yaxshilanadi, xushbo'y hidli, tashqi ko'rinishi yoqimli bo'ladi. Zamburug'lardan olingan α -amilaza tarkibida proteaza ham uchraydi, bu esa xamirdagi oqsillarning, xususan asosiy oqsil – kleykovinaning ham parchalanib ketishiga olib keladi. Shuning uchun ham nonvoychilikda proteazaning faolligini to'xtatib qo'yadigan modda (ingibitor) kaliy bromat ishlatiladi. Bug'doyni qattiq navlaridan olinadigan unlardagi kleykovinaning qisman parchalanishi ijobiy natija beradi.

Tajribalarda kuzatilganidek, nonvoychilikda glyukoamilazaning ishlatilishi ham ijobiy natija beradi. Bu ferment eplab ishlatilganda, kerakli miqdorda glyukoza hosil bo'ladi. Yuqorida ta'kidlanganidek, glyukoamilaza kraxmal molekulasiidagi ichki bog'larni gidroliz qila olmaydi, demak uni molekulyar massasini tez kamaytirib yubora olmaydi. Bu ferment faqatgina kraxmalni qaytarilgan uchidagi glyukozani gidroliz qilishga qodir xolos, shuning uchun ham u biopolimerning umumiy fizikaviy xususiyatlariga juda ham kam ta'sir ko'rsata oladi xolos. Bu esa juda ham muhim, chunki kraxmal nonga shakl beradi, uning butunlay parchalanib ketishi ma'lum shakldagi non yoki non mahsulotlari tayyorlashni qiyinlashtirib yuboradi.

Nonvoychilik tajribasida boshqa fermentlar ham ishlatilgan (tsellyulaza, ksilanaza), ammo bunday misollar shunchalik kamki, shuning uchun ham ularni muhokama qilishni zarur deb bilmadik. Non tayyorlanayotganda xamirdagi shakar moddalari achitqi zamburug'lar tomonidan iste'mol qilinadi va ular tomonidan spirt va karbonat angidrid gaziga aylantiriladi. Non yopish (pishirish) jarayonida spirt uchib ketadi, karbonat angidrid gazi esa xamir orasida tarqalib, unga o'ziga xos bo'lgan bo'shliq saqlagan shakl beradi.

Oxirgi yillarda non tayyorlashda anchagina o'zgarishlar yuz bermoqda, eng avvalo bu xamir qoradigan va unga ishlov beradigan mashinalarga taaluqlidir. Nonvoychilikning yanada kengayib borishi, bu jarayonni tezlashtiruvchi barcha yangi usullardan foydalanishni taqozo etadi. Xuddi shu maqsadga erishish uchun xamirga ko'proq achitqi zamburug'lari va ferment preparatlari aralashtirilmoqda. Bunday nonning sifati esa avvalgilardan past bo'lmasligini e'tibordan tashqarida qoldirish mumkin emas.

Zamonaviy biotexnologiya nuqtai nazaridan achitish jarayonida ishlatiladigan *Saccharomyces cerevisiae* achitqi zamburug'ining genetikasi o'ta yaxshi o'rganilgan va u gen – muhandislik tajribalari o'tkazish uchun muhim manba ekanligi aniqlangan. Bu kulturaga α -amilaza va β -galaktozidaza genlari kiritilgan, bu esa ushbu mikroorganizmning genetik spektrini yanada boyitgan.

Yaqin kelajakda non tayyorlashda bug'doyning yangi navlaridan, hamda texnologik qulay mashina va mexanizmlardan, mikroorganizmlarning yangi, serhosil, maqsadga to'liq javob bera oladigan shtammlaridan foydalanish orqali non ishlab chiqarishni yanada yuqori darajaga ko'tarish mumkinligi muhokama qilinmoqda.

Oziq-ovqat sanoati chiqindilari

Oziq-ovqat sanoati va qishloq xo'jaligi chiqindilari butun dunyoda ko'p miqdorda to'planib borayotganligi uchun ham nafaqat mahalliy balki xalqaro muammolarga sabab bo'lmoqda. Ayniqsa biologik faol kislorod hosil qiladigan chiqindilarga nisbatan o'ta qattiq qonunlar yaratilgan.

Organik chiqindilarni utilizatsiya qilishga alohida e'tibor berilmoqda, ular asosida hayvonlar uchun oziqa moddalari, xilma-xil kimyoviy moddalar, biogaz va boshqa mahsulotlar tayyorlash texnologiyalari yaratilgan va bunday izlanishlar jadal davom etmoqda.

Chiqindilarni qayta ishlashning ikkinchi yo'nalishi – ularning tarkibidagi zaharli moddalarni ajratib olish va ularni zararsizlantirish; biologik faol birikmalar yoki ikkilamchi metabolitlar ajratish va ulardan hayvonlarni oziqlantirish va davolash maqsadida foydalanish. Ba'zi mamlakatlarda, masalan AQSh, Angliya, Frantsiya, Yaponiyada juda katta chiqindilar bozori tashkil etilgan. Chiqindilar sotib olinib, guruhlanadi va keyin qayta ishlanadi.

Shakar o'rnini bosuvchi moddalar

Saxaroza yoki boshqa tabiiy shakarlarni hattoki me'yorida iste'mol qilish ham ba'zi hollarda ateroskleroz, diabet, semirib ketish va boshqa potologiyalarga olib keladi. Shuning uchun ham oxirgi vaqtlarda shakar tabiatli bo'lmagan, ammo shirin ta'm beradigan moddalarni izlab topishga alohida e'tibor berilmoqda. Shirin ta'm beradigan birikmalarni ikki guruhga ajratish mumkin: tabiiy organik birikmalar – oqsillar, dipeptidlar va kimyoviy sintez yo'li bilan olingan boshqa birikma va moddalar.

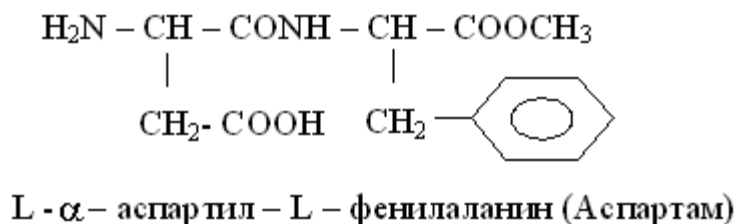
Shakarining o'rnini bosa oladigan moddalarni tanlashda ularning metabolizmga qo'shilishi, kalloriyasi, inson salomatligiga bezararligi, muayyan moddani ishlab chiqarish texnologiyasining bahosiga alohida e'tibor beriladi. Hozirgi vaqtda ilmiy adabiyotlarda juda ham ko'p miqdorda shakar o'rnini bosa oladigan moddalar chop etilgan bo'lsada, ulardan bir nechasigina hayotga tadbiiq etilgan xolos.

Shirin ta'm beruvchi moddalarga monosaxaridlar va kichik molekulali oligosaxaridlar, kraxmalni parchalash orqali olingan moddalar va ularni qisman izomerizatsiya qilish orqali olingan mahsulotlar (glyukoza va fruktozaning aralashmasi), hamda uglevod bo'lmagan tipdagi birikmalar kiradi.

AQSh va G'arbiy Yevropa mamlakatlarida saxarozaga nisbatan hisob-kitob qilinganda aholi boshiga bir yilda 55-56 kg shirinlik iste'mol qilinadi.

Shakar o'rnini bosadigan, kimyoviy sintez yo'li bilan olinadigan modda - saxarin bir necha o'n yillab konditer sanoatida keng ishlatib kelingan va bugungi kunda yangi, past kalloriyalı moddalar bilan almashtirilgan. Shunday moddalardan biri metillangan dipeptid – aspartamdir. Bu modda biotexnologik yo'l bilan sintez qilinadi. Aspartam (uni savdoga chiqarilgan nomi «Nutrisvit») dietik ichimliklar tayyorlash uchun keng qo'llaniladi.

Aspartamning sintezida eng muhim modda – bu fenilalanin aminokislotasidir. Bu aminokislota mikrobiologik sintez yo'li bilan olinadi. Uni kimyoviy formulasi quyidagicha:



Bu modda to'lig'icha toksikologik sinovlardan o'tkazilib, oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish texnologiyalarida keng ishlatilib kelinmoqda. Shakar

o'rnini bosadigan moddalardan yana biri - steviozid diqqatga sazovordir. Bu modda Janubiy Amerikada o'suvchi *Stevia vebaudiana* o'simligidan ajratib olingan. Bu o'simlik Qora dengiz qirg'oqlarida ham o'sib yuqori hosil beradi. Bu o'simlikning barglari juda shirin bo'lib, atigi 3-4 donasi 1 l suvni shirin qilib yuboradi.

Bu o'simlikni o'stirish marhum professor Jo'raqul Tursunov tomonidan mamlakatimizning Surxandaryo viloyatida amalga oshirilgan. Endilikda bu viloyatda steviya o'simligining bir necha gektarlik plantatsiyasi yaratilgan.

Steviya o'simligi bargidan shakar o'rnini bosadigan modda ajratish esa professor M.M.Raximov tomonidan amalga oshirilgan. Steviozidning molekulasi 3 ta glyukoza va 1 ta ta'msiz aglikondan iborat. Bu moddani toza holda ajratib olish murakkab bo'lganligi sababli uni oziq-ovqat sanoatida keng qo'llash imkoniyati yaratilganicha yo'q.

Boshqa tipdagi shakar o'rnini bosa oladigan moddalardan biri - flavonol-7-glyukoziddir. Bu modda sitrus o'simliklarida saqlanadi. Bu birikma uncha murakkab bo'lmagan modifikatsiyaga uchratilganda – shakardan ham shirin bo'lgan digidroxalkonlar hosil bo'ladi. Bu birikmalar orasida e'tiborga loyiqlari – naringenindigidroxalkon, neogesperedindigidroxalkon va gesperedindigidroxalkon-4-β-D-glyukozid hisoblanadilar. Bu birikmalarning oxirgi 2 tasi saxarozadan 300 marotaba shirinroqdir.

Naringenindigidroxalkon saxarozadan 2000 marotaba shirinroq bo'lsada, kamroq zaharlik xususiyatiga ham egadir. AQShda naringenindigidroxalkon sanoat miqyosida ishlab chiqariladi.

Neogesperedindigidroxalkon-4-β-D-glyukozid sitrus o'simliklari chiqindilaridan (sokini siqib olgandan keyin qolgan chiqindilar) ajratib olinadi.

Taumatina – oqsil tabiatli birikmadir. Sanoatda taumatina *Thaumatococcus danielli* o'simligining mevasidan ekstraksiya qilish orqali ajratib olinadi. Bugungacha aniq bo'lgan shakar o'rnini bosa oladigan moddalarning eng shirini taumatina hisoblanadi. 2.5-jadvalda sanoatda ishlatiladigan birikmalar shirinligining ekvivalenti keltirilgan.

1.5-jadval.

Ba'zi bir tabiiy va kimyoviy sintez yo'li bilan olingan moddalar shirinligining saxarozaga nisbatan ekvivalenti

Birikma	Shirinlik ekvivalenti
Saxaroza	1,0
Siklamat	50,0
Aspartam	150,0
Saxarin	300,0
Taumatina	3000,0

Shakar o'rnini bosadigan moddalar sanoatda har xil ichimliklar (alkogolli va alkogolsiz), djemlar, shinnilar, konfet, chaynash rezinkalari (saqichlar), pirojniylar va boshqa shirinliklar tayyorlashda ishlatiladi.

Shuni alohida ta'kidlash lozimki, yaqin 10-15 yilda shakar o'rnini bosadigan moddalarni iste'mol qilish yanada oshadi. Bunga yildan yilga ularni ishlab chiqarish hajmining 8-9% ga oshib borishi guvohlik beradi.

Nazorat savollari

1. Achitqilardan oqsil olishning qanday texnologiyalarini bilasiz?
2. Bakteriyalardan oqsil kontsentratlari tayyorlashning qanday o'ziga xos tomonlari bor?
3. Oziqa oqsilini mitsellial zamburug'lardan va suv o'tlaridan olish texnologiyalarini tushuntirib bering.
4. O'simliklarning vegetatsiya massalaridan oqsil olishning qanday texnologiyalari bor?
5. Bakteriyalar, mikroskopik va achitqi zamburug'lar hamda o'simliklardan olingan oqsil kontsentratlarining xususiyatlari va ulardan foydalanishning o'ziga xosligi nimalardan iborat?
6. Almashinmaydigan aminokislotalar va vitaminlarni mikrobiologik yo'l bilan ishlab-chiqarishning kimyoviy sintezdan qanday ustunlik tomonlari bor?
7. Lizin va triptofan tayyorlash texnologiyasini yoritib bering.
8. V_2 va V_{12} vitaminlariga boy bo'lgan oziqa preparatlari olishda qanday biotexnologik printsiplardan foydalaniladi?
9. Oziqa mahsulotlarini sifatli lipidlar bilan boyitish uchun nimalar qilish kerak?

14-MAVZU: NOAN'ANAVIY SABZAVOTLARNI YetTISHtIRISH BIOTYeXNOLOGIYASI

Reja:

1. Hujayra to'qimalarini in vitro usulida ko'paytirish
2. Oziqa muhitlar
3. Kulturalash sharoiti

Таянч иборалар: Ажратилган тўқималар култураси; микроорганизмлар ўсиши, эксплант ва уруғлар, озиқа мухитлари, Қаттиқ озиқа мухити, тўқималарни культуралаш, Изоляцияланган меристемалар, каллус тўқималари

Ajratilgan to'qimalar kulturasini bilan ishlashning asosiy sharti sterillikka qat'iy rioya qilishdir. Oziqa muhitining boy tarkibi mikroorganizmlar o'sishi uchun ham yaxshi substrat hisoblanadi. Oziqa muhitda kulturalanayotgan o'simlik qismlarini (eksplantlar) mikroorganizmlar oson zararlaydi. Shuning

uchun eksplant ham, oziqa muhiti ham sterillangan bo'lishi shart. Ajratilgan to'qimalar bilan olib boriladigan barcha ishlar (kulturaga o'tkazish, yangi oziqa muhitiga ko'chirish) steril xonalarda, (laminar bokslarda) steril asboblarda yordamida amalga oshiriladi, ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash lozim, chunki harorat pasayganda, yoki namlik yuzaga kelganda idishning nam tiqini orqali probirka ichiga mikroorganizmlar kirishi mumkin.

Eksplant va urug'lar 5-20 min sterillovchi eritmada sterillanib, so'ng bir necha marta steril suvda yuviladi. Sterillash vaqti eksplantni tabiatiga va sterillovchi eritmaning faolligiga bog'liq. Urug'lar 10 –20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 min sterillanadi (1-jadval).

Kulturalash uchun olingan o'simlik eksplantlari oldin sovunli suvda ishqalab yuviladi va distillangan suvda chayiladi, so'ng bir necha sekunda 70 % li etanolga solinadi, urug'lar esa 1-2 min.ga spirtga solib qo'yiladi. Spirt to'qimalarni sterillash bilan birga asosiy sterillovchi eritmaning sterillash samarasini ham oshiradi. Spirtidan so'ng to'qimalar steril suvda ham chayiladi.

14.1-jadval

O'simlik materiallarini sterillash (R.G.Butenko 1990)

Ob'ekt	Sterillash vaqti			
	0,1 % li diatsid	0,1 % li sulema	5-7 % li (Na,Ca) gipoxloridlar	10-12 % li vodorod peroksidi
Quruq urug'	15–20	10–15	15–20	12–15
Ivitilgan urug'	6–10	6– 8	10–15	6–8
Ildiz, tugunaklari-ning to'qimalari	20–30	15–25	15–20	–
Yog'ochlangan poyalar	20–40	20–25	20–25	–
Barglar	1–3	1–3	3–6	3–5
Apekslar	1–10	1–7	3–15	2–7

Tashqi sterillash faqat tashqaridagi infektsiyalardan holi qiladi. Agar eksplantida ichki infektsiya mavjud bo'lsa, u holda antibiotiklar bilan ishlov berish zarur. Asosan tropik va subtropik o'simlik to'qimalari ichki infektsiyalarga boy bo'ladi. Zamburug' yoki bakteriyalar bilan zararlangan kulturani ekilganidan 1-14 kundan so'ng aniqlash mumkin. Mikroorganizmlar bilan zararlangan kulturalarni xonaga tarqalib havoni ifloslantirmasdan ularning oldini olish zarur.

Oziqa muhitlari avtoklavda 120⁰S haroratda 0,75 –1 atmbosimda 20 minut davomida sterillanadi. Agar oziqa muhit tarkibiga yuqori haroratda parchalanib ketuvchi moddalar kiritilgan bo'lsa, u holda bu moddalar

maxsus bakterial filtrlardan o'tkazib tozalanadi, so'ng avtoklavlangan va 40⁰S ga cha sovutilgan asosiy oziqa muhitga qo'yiladi.

Idishlarni oldindan zar qog'ozga yoki oddiy qog'ozga o'rab, quritish shkaflarida 160⁰S haroratda 2 soat davomida sterillash lozim.

Oziqa muhitlar. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun oziqa muhitlari tarkibida o'simlik uchun zarur bo'lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kaltsiy, magniy, oltingugurt, temir) mikroelementlar (bor, marganets, rux, mis, molibden va boshqalar) shuningdek vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularning analoglarini tutishi zarur. Ba'zi oziqa muhitlarga kazein gidrolizati, aminokislotalar ham qo'shiladi. Bundan tashqari, hujayraning temirga bo'lgan talabini qondirish uchun oziqa muhitlar tarkibiga EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uning natriyli tuzi kiritiladi.

Kallus to'qimasi olish uchun ba'zi hollarda oziqa muhit tarkibiga kokos yong'og'ining suyuq endospermi (kakos suti), kashtan qo'shiladi. Uglevodlar ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturalanayotgan oziqa muhitning zaruriy tarkibi hisoblanadi. Chunki ular avtotrof oziqlanish xususiyatiga ega emas. Uglevod manbai sifatida 2-3% li kontsentratsiyada saxaroza yoki glyukozadan foydalaniladi.

Fitogormonlar hujayralarning dedifferentsiyalanishi va hujayralar bo'linishini tezlashtirish uchun zarur. Shuning uchun kallus to'qimalar olishda oziqa muhit tarkibida albatta auksinlar (hujayralar dedifferentsiyasini chaqiradi) va sitokininlar (hujayralar bo'linishini chaqiradi) bo'lishi shart. Poya morfogenezi yuzaga keltirishda oziqa muhitdagi auksinning miqdori kamaytiriladi yoki umuman qo'shilmaydi.

Gormonsiz muhitda shish to'qimalari yoki ko'nikkan to'qimalar o'sadi. Ular o'zlari gormon sintez qilish xususiyatiga ega bo'ladi.

Oziqa muhitlarda auksin manbai sifatida 2,4-dixlorfenosirka kislota (2,4-D), indolil 3-sirka kislota (ISK), naftilsirka kislota (NKS) dan foydalaniladi. G'ovak, (po'k) yaxshi o'suvchi kallus to'qimasi olish uchun asosan 2,4-D dan foydalaniladi, chunki uning faolligi ISKga nisbatan 30 marta yuqori.

Sun'iy oziqa muhitlarda sitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (BAP), zeatindan foydalaniladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirishda, organlarni hosil qilishda kinetinga nisbatan 6-BAP va zeatindan foydalanish ko'proq samara beradi. Ba'zi oziqa muhitlar tarkibiga adenin qo'shiladi.

Hozirgi vaqtda tarkibi jihatidan bir-birlaridan farq qiluvchi bir nechta oziqa muhitlari ma'lum. Lekin ajratilgan hujayra va to'qimalarni in vitro o'stirish uchun asosan 1962 yilda T. Murasiga va F. Skuga tomonidan yaratilgan tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Bu muhitda oziqa moddalar tarkibi balanslangan bo'lib, ammoniyli va nitratli azotning nisbati bilan boshqalaridan farq qiladi.

Qattiq oziqa muhiti tayyorlash uchun dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxarid agar-agar moddasidan foydalaniladi (2- jadval).

Makro-mikro elementlar tuzlari eritmalarini, shuningdek vitaminlar va fitogormonlarning kontsentrangan (miqdori oshirilgan) eritmalarini tayyorlab, ulardan oz miqdorda olib, suyultirib ishlatish mumkin. Kontsentrangan boshlang'ich eritmalar sovg'ichda saqlanadi.

14.2-jadval

O'simlikning ajratilgan to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhitlar tarkibi

Oziqa muhit komponentlari	Kontsentratsiyasi mg/l			
	Murasiga- skuga	Gamborga	Shenka- xildebrandt	Gressxoff- dou
NH ₄ NO ₃	1650	2500	2500	--
NH ₄ H ₂ PO ₄	--	--	300	--
KNO ₃	1900	--	--	1000
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	150	200	150
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	250	400	250
(NH ₄) ₂ SO ₄	--	130	--	200
KH ₂ PO ₄	170	--	--	--
Na ₂ EDTA	37,3	37,3	20,0	37,3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,95	27,85	15,0	27,8
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	--	150	--	90
H ₃ BO ₃	6,2	3,0	5,0	3,0
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	10,0	10,0	10,0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,1	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,2	0,25
CoU ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	0,1	0,25
Glitsin	2,0	--	--	2,0
Mezoinozit	100	100	1000	10
Nikotin kislotasi	0,5	1,0	5,0	1,0
Piridoksin –HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Tiamin-HCl	1	10,0	5,0	0,1
2,4-D	--	0,1-1,0	--	--
Kinetin	--	0,1	0,1	--
Glutamin	--	--	--	2,0
Sazaroza	30 000	30 000	30 000	20 000

Kulturalash sharoiti. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalashni amalga oshirish uchun o'stirishning zaruriy shartlariga amal qilish lozim.

Aksariyat kallus to'qimalari yorug'likka muhtoj emas, chunki ularning hujayralarida xloroplastlari bo'lmaydi va geterotrof oziqlanadi. Ba'zi yashil kallus to'qimalari masalan, mandragoralar bundan mustasno. Ayrim hollarda kallus to'qimalari avtorotrof oziqlanishga qodir bo'lmasalar ham uzluksiz yorug'lik sharoitida o'stiriladi, bu muvaffiqiyatli morfogenez hosil bo'lishining zaruriy sharti hisoblanadi Asosan kallus to'qimalarini olish uchun qorong'ulik yoki sochma yorug'lik sharoiti yaratiladi.

Shakllana boshlagan to'qimalar yorug'likda 1000-4000 lk yoritish ostida kulturalanadi.

Izolyatsiyalangan meristemalarni kulturalash va ularni mikroko'paytirish yorug'likda amalga oshiriladi. Xonalarni yoritish darajasi kulturaga bog'liq holda 3000-10000 lkni tashkil qilishi kerak.

Mazkur kulturalanayotgan ob'ekt uchun zarur bo'lgan fotodavrni hisobga olish zarur. Kulturalar o'sayotgan xonada namlik 60-70% ni tashkil etishi kerak. Agar probirka yoki kolbalar og'zi paxta tiqin bilan yopilgan bo'lsa, quruq havo oziq muhitlar qurishiga va kontsentratsiyasining buzilishiga sabab bo'lishi mumkin. Xonadagi namlikning miqdorini oshirish uchun idishlarda suv qo'yib qo'yish mumkin. Ko'pchilik kulturalanayotgan to'qimalar uchun optimal harorat 25-26⁰S, tropik o'simliklar to'qimalari uchun esa 29-30S ni tashkil qiladi. Morfogenez induktsiyasini amalga oshirishda harorat 18-20S gacha pasaytiriladi. Yorug'lik, harorat va optimal namlik rejimini klimatik kameralar yordamida yaratish mumkin.

Nazorat savollari

1. Ajratilgan to'qimalar kulturasi deganda nimani tushunasiz?
2. Oziqa muhitlarini tayyorlash usullari haqida gapirib bering?
3. Kulturalash sharoitini gapirib bering?

15-MAVZU: BIOTeXNOLOGIYA VA BIOXAVFSIZLIK

Reja:

1. Muammoning zamonaviy holati
2. Xavfsizlik haqida umumiy tushunchalar
3. Biomuxandislik va transgenozda biologik xavfsizlik va genetik xavf
4. Gmo va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri
5. Gen muxandisligi, gmo va ulardan olingan maxsulotlar ustidan davlat nazorati va boshqaruvi
6. Biotexnologiya va biomuxandislikda standartlash
7. Aqsh da Gmo bo'yicha biologik xavfsizlikni nazorat qilishda davlat boshqaruvi

Таянч иборалар: Биотехнология ва биомухандислик, Реципиент (асосий қабул қилувчи) хужайра ДНК сига бегона (донор) генни, сунъий генлар. ген-модификаторлари, рекомбинат, ўсимлик геноми, ген-муҳандислик

Muammoning zamonaviy holati

Biotexnologiya va uning fundamental, strategik yadrosi bo'lgan biomuxandislik (bioinjeneriya) - tirik organizmlarning asosiy xususiyatlari - avloddan-avlodga o'tish, o'zgaruvchanlik, moslashuvchanlik, chidamlilik, energiya va massa almashinuvi, hosildorlik va sifat singari xususiyatlarini hosil bo'lish mexanizmlarini o'rganadi va shu mexanizmlarga tayanib ish tutadi. Biologik ob'ektlarni xususiyatlarini o'zgartirish maqsadida ularni genetik tuzilishiga tashqaridan "ta'sir ko'rsatish", ularni modifikatsiya qilish yo'lidagi harakatlar ob'ektlarning tuzilishi va asosiy vazifalarini (funktsiyalarini) qayta qurilishiga olib keladi. Bunday o'zgarishlar oldindan bashorat qilib bo'lmaydigan voqea-larga sabab bo'lishi mumkinligi, ko'pchilik insonlarni tashvishga solib kelmoqda.

Tabiatni, qolaversa, insoniyatning har xil genetik o'zgartirilgan, o'simliklar, hayvonlar va mikroorganizmlardan himoya qiluvchilar harakati yildan-yilga ko'payib (kuchayib) borishi biotexnologiya, ayniqsa, uning strategik yadrosi bo'lgan biomuxandislik fanining rivojlanishiga salbiy ta'sir ko'rsatishi, iqtisodiy zararga olib kelishi mumkin.

Biotexnologiya va biomuxandislik fani erishgan yutuqlarni hamda XXI asrda amalga oshirilishi lozim bo'lgan loyihalarni bu yo'nalishda sodir bo'ladigan hatti-harakatlarni qiyosiy o'rganish natijasida dunyoning ko'pchilik olimlari ilmiy va iqtisodiy asoslangan, real voqeylikka ega bo'lgan ishonch bilan, biotexnologiya -

bu XXI asrda rivojlanishi zarur bo'lgan, insoniyat uchun xizmat qiladigan asosiy fanlardan biri ekanligini xitob qilmoqdalar.

Bu haqda zamonaviy biotexnologiya va biomuxandislik fanlari paydo bo'lgandan beri o'tgan yarim asr davomida erishilgan yutuqlar ham guvohlik berib turibdi. Shunday ekan, bundan keyin biotexnologiya va biomuxandislikni rivojlantirish hamda bu rivojlanish natijasida insoniyat va atrof-muhit uchun xavf tug'ilmasligiga qanday ilmiy asoslar bor?

Xavfsizlik haqida umumiy tushunchalar

Tabiiy, texnologik va boshqa omillar inson va uni o'rab turgan muhitga doimiy ravishda ta'sir ko'rsatib turadi. Bunday ta'sir foydali yoki zararli bo'lishi mumkin. Fan, jamiyat, davlat, inson va atrof muhitga salbiy ta'sir ko'rsatuvchi omillardan himoya qilishni har tomonlama asoslangan tizimini ishlab chiqishi va undan unumli foydalanmog'i lozim. Inson, jamiyat va davlat borligi hamda ularning faoliyati har qanday ichki va tashqi ta'sirlardan muhofaza qilinmog'i kerak. Har qanday jamiyat va davlatni oldida turgan asosiy vazifalardan biri ana shundan iboratdir. Mana shu umumiy holatlardan inson, jamiyat va davlat xavfsizligining asosiy tushunchasi va undan har bir inson, jamiyat va davlat qiziqishlarini tashqi va ichki xavfdan himoya qilish zarurligining asl ma'nosi kelib chiqadi.

Xavfsizlikning bosh mezonlari bu - insondir.

Inson xavfsizligini, uning hayot faoliyati, inson yashab turgan jamiyat xavfsizligini, atrof-muhitni himoya qilmasdan turib, to'laqonli ijtimoiy-iqtisodiy faoliyatni amalga oshirib bo'lmaydi.

Xavfsizlikning asosiy printsiplaridan biri - inson, jamiyat va davlat o'rtasidagi o'zaro javobgarlikdir.

Xavfsizlikka erishish - bu hayotiy zarur qiziqishlarni ichki va tashqi xavfdan mustahkam muhofaza qilishga qodir bo'lgan tizimni ishga solishdir.

Xavfsizlik - inson, jamiyat, davlat va butun borliqqa tegishli biologik, ekologik, ijtimoiy, iqtisodiy, oziq-ovqat, harbiy va boshqa omillar bo'lishi mumkin.

Xavfsizlikni har xil turlari va ularni biotexnologiyaga ta'sirini **T.Ye.Popova** tomonidan yaratilgan quyidagi jadvalda ko'rish mumkin (6.1-jadval).

15.1-jadval

Biotexnologiyaning harbiy bo'lmagan xavfsizlik aspektlariga ijobiy ta'siri

Sog'likni saqlash	dori-darmonlar, vaktsinalar, diagnostika preparatlari
	inson reproduksiyasidan foydalanish (sun'iy urug'lantirish), irsiy kasalliklarni oldindan diagnostika qilish va boshqalar
	gen orqali davolash
	ksenotransplantologiya

Oziq-ovqat	Oziqa maxsulotlarining sifatini yaxshilash, parhez va oziqa preparatlari ishlab chiqish (qandsimon moddalar, aminokislotalar, vitaminlar va h.k.)
	Oziq-ovqat sanoatida (non, pishloq, vino, pivo, ta'm va hid beruvchi moddalar va h.k) foydalanish
Qishloq xo'jaligi	o'simliklar va hayvonlarni himoya qilish vositalari, biologik o'g'itlar
	oldindan xususiyatlari belgilangan, transgen o'simliklar va hayvonlar yaratish
	em xashak sifatini yaxshilovchi maxsulotlar ishlab chiqarish
	hayvonlarni sun'iy urchitishva emrionlarni ajratish
	elita o'simliklarni tezlatib o'stirish, virussiz o'simlik ko'chatlarini yetishtirish
	qishloq xo'jalik, sanoat va maishiy xizmat chiqindilarini qayta ishlash
Ekologiya	sekin parchalanadigan, ifloslantiruchi maxsulotlar (neft, pestitsidlar, polimerlar va h.k) dan tozalash
	atrof-muhitni ifloslantiruvchi moddalar o'rnini bosadiganlarini (biopestitsidlar, plastmassalar va h.k.), tez parchalanuvchi maxsulotlar yaratish
	har xil sohalarda o'rinbosar (alternativ) texnologiyalar yaratish
	yopiq zanjirli chiqindisiz texnologiyalar yaratish
	biologik xilma-xillikni, noyob o'simliklar va hayvonlarni asrash, populyatsiyalarini qayta tiklash
Tabiiy resurslarni qazib olish muammolari	qazilma boyliklardan foydalanish, shuningdek, tashlandiq materiallar va chiqindilar (biometallurgiya, neft quduqlarini tiklash va h.k).
	bioenergetika (biogaz, texnik spirt, vodorod va h.k.)
	tabiiy maxsulotlardan kimyoviy moddalar ishlab chiqarish

Biomuxandislik va transgenozda biologik xavfsizlik va genetik xavf

Retsipient (asosiy qabul qiluvchi) xujayra DNK siga begona (donor) genni qo'shilishi ma'lum qiyinchiliklar bilan amalga oshadi. Qiyinchiliklarni eng asosiysi genni yoki genlarning kerakli manzilga joylashishi, hamda ularni normal faoliyat ko'rsatishi-ekspressiyasini ta'minlashdir. Bu muammo doimo bor va uning yechilishi hozircha ko'proq tasarruf bilan bog'liq.

Yana bir katta muammo - bu ham bo'lsa inson hayoti uchun zaharli bo'lgan toksin yoki allergen moddalar sintez qiluvchi mutantlarni paydo bo'lishi bilan bog'liq bo'lgan genetik xavfdir. Asosiy hujayraga kiritilgan begona genning faoliyati bilan bog'liq muammolar hamisha bo'lishi mumkinligini taxmin qilish unchalik muammo emas.

Eng avvalo, bunday muammo genlarni bir-birlariga o'zaro ta'siri yoki o'zaro almashinuvi jarayonida paydo bo'ladigan pleyotrop ta'sir natijasida paydo bo'ladi. K.G.Gazaryanni fikricha transgenozda genom mo'tadilligini buzilishi, nafaqat dastlabki genomni yangi genlar bilan to'yinishi yoki kiritilgan yangi genlarni mutantlik xususiyatlari bilan, balki rekombinatsiyadagi endogen tizimni kuchayishi va "uxlab yotgan" genlarni faolligining uyg'onishi bilan ham bog'liqdir.

Bularning barchasi transgenozda inson hayotiga xavf soladigan genotiplar paydo bo'lishi mumkinligini ilmiy asoslashga imkon yaratadi.

Bunday xavf, ayniqsa, xususiyatlari oldindan belgilangan o'simlik, hayvon hujayra va to'qimalari hamda, mikroorganizmlarni mutantlarini olishda sun'iy genlardan foydalanganda kuchayadi. Mana shuning uchun ham ko'pchilikni transgen organizmlar yaratish, ayniqsa, ular yordamida inson uchun oziq-ovqat maxsulotlari ishlab chiqarishga qarshi chiqishlari, hech bo'lmaganda, genetikasi o'zgartirilgan o'simliklardan, hayvonlardan yoki mikroorganizmlardan olinadigan maxsulotlarni alohida belgilar (nishonlangan) orqali sotish uchun qo'yish haqidagi talablari to'g'riday ko'rinadi.

Bulardan tashqari, bir o'simlik gul changidan gen-modifikatorlarini (o'zgartiruvchilarni) boshqa o'simlikka o'tishi, ularni uchinchi genotip genlari bilan o'zaro ta'siri natijasida inson va atrof-muhit uchun zararli bo'lgan yangi genotiplarni paydo bo'lishi ham o'ta xavflidir.

Ma'lumki, fanda va jamiyatda biologik xavfsizlik muammosini dastlab, fanning yangi yo'nalishi-biomuxandislikni asoschilarining o'zlari ko'tarib chiqqanlar. 1974 yilda gen muhandisligi fanining otasi hisoblangan, DNK ning rekombinat molekulasini yaratgan amerikalik olim **P.Berg** boshchiligidagi gen muhandisligi bo'yicha o'n bir nafar dunyoning eng yirik olimlari "**Science**" (ilm, fan) jurnali orqali, rekombinat DNK yaratish borasidagi ilmiy izlanishlarini toki shu muammoga bag'ishlangan butun-jahon kongressi o'tkazilgunicha to'xtatib turish lozimligi to'g'risidagi ochiq xat bilan chiqadilar. Ammo, bir yil o'tar-o'tmas 1975 yil Asilomar (AQSh) da o'tkazilgan xalqaro konferentsiyada olimlar gen muxandisligi bo'yicha olib borilayotgan ishlar boshqa, shunga o'xshash ishlardan xavfli emasligi, faqatgina biologik xavfsizlikni saqlagan holda nazorat o'rnatilishi (o'tkazilishi) lozim - degan fikrga keldilar.

1976 yilda AQShda rekombinat mikroorganizmlar bilan olib borilayotgan tadqiqotlarni bir qolipga solish bo'yicha dastlabki qoida qabul qilindi. Bu qonunga asosan rekombinat mikroorganizmlar laboratoriyadan tashqariga chiqmasligi haqida ko'rsatmalar berilgan. 1970 yillarni oxiriga kelib ko'plab mamlakatlarda bu sohaga oid qonunlar yaratildi. Sekin-asta bu qoidalar, dastlabki qo'yilgan qattiq talablarni yumshatish tomoniga o'zgartirib borildi.

Dunyoda 30 yil mobaynida eng yangi biotexnologiya-gen muhandisligi sohasida olib borilgan ilmiy izlanishlar bu yo'nalishni xavfsiz ekanligini tasdiqladi.

Inson va tabiatni zaharlovchi moddalar yaratishga mo'ljallangan ilmiy izlanishlardan tashqari, ilmiy laboratoriyalarda gen muhandisligi yo'li bilan inson hayotiga xavf soluvchi birorta ham mikroorganizm shtammi, o'simlik navi yoki hayvon turlari yaratilmagan.

Olimlar mikroblar, bakteriyalarning virulentligini oshirish yoki kamaytirish, mamlakatni bakteriologik qurol va agressiyadan muhofaza qilish bo'yicha maqsadga yo'naltirilgan ilmiy izlanishlar olib bormoqdalar. Afsuski, jahon terrorizmi o'zlarining qonli jinoyatlari uchun har qanday jirkanch harakatlardan qaytayotganlari yo'q. Shu maqsad yo'lida bioresurslardan ham foydalanib kelmoqdalar. Shunday bir paytda dunyo hamjamiyati oldida terroristlarni biologiya fani yutuqlaridan foydalanishga yo'l qo'ymaslikdek eng muhim vazifa turibdi. Buning uchun gen-muhandisligi bo'yicha olib boriladigan tajribalar davlat nazoratida bo'lmog'i lozim. Ko'pchilik ko'zga ko'ringan olimlarni fikricha transgen hayvonlarni yaratish bo'yicha olib boriladigan tajribalar unchalik mukammal emas. Begona genlarni ko'chirib o'tkazish oqibatida bashorat qilib bo'lmaydigan natijalarga erishish mumkinligi, chorvachilikda gen muhandisligi fani yutuqlaridan kengroq foydalanishni chegaralab kelmoqda.

Balkim, biomuxandislik markazlari olimlari, bu fanning usullari, asbob-uskunalari, texnologiyasi, biologik xavfsizlik kriteriyalarini sifatini, ularni aniqligi va sezgirligini oshirishi bo'yicha bosh qotirishlari lozimdir.

Fikrimizcha faqatgina shu asosda mazmunan yangi, hosildor, tezpishar, sho'r va boshqa zaharli moddalarga boy bo'lgan tuproqlarda hosil beraoladigan o'simlik navlarini yaratishlari mumkin.

GMO va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlikka ta'siri

Genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olinadigan maxsulotlarni biologik xavfsizlik nuqtai nazaridan baholashni eng asosiy bosqichlaridan biri - ularni sanitariya-gigiena ekspertizasidan o'tkazishdir.

Mamlakatimizda bunday markazlarga hozircha ehtiyoj sezilgani yo'q. Bunga asosiy sabab, yuqorida aytib o'tilgan maqsadlarning yo'qligidir. Rossiyada bu vazifani Rossiya tibbiyot akademiyasiga qarashli Oziq-ovqat instituti bajaradi. Bunday ixtisoslashgan markazlar barcha rivojlangan mamlakatlarda (AQSh, Angliya, Frantsiya, Kanada, Germaniya, Italiya, Xitoy va h.k.) tashkil etilgan bo'lib, ularning asosiy vazifasi quyidagilardan iborat:

- *birlamchi transgen o'simliklarni kimyoviy tarkibini o'rganish;*
- *genetik modifikatsiya qilingan o'simliklar va ulardan olingan maxsulotlarning biologik bahosini va organizmda so'rilish xususiyatlarini taqqoslab o'rganish;*
- *ularni allergik xususiyatlarini va inson immun tizimiga ta'sirini o'rganish;*
- *ularni zaharliligini, kontserogenligini va mutagenligini o'rganish;*
- *ularning inson va hayvonlarni avlod qoldirish xususiyatlariga ta'sirini o'rganish.*

Bundan tashqari, Rossiyada genetik modifikatsiya qilingan organizmlarning biologik xavfsizligini ta'minlash maqsadida, har bir yangi shtamm, tur yoki navlar Rossiya qishloq xo'jalik akademiyasiga qarashli Fitopatologiya institutida va O'simliklarni himoya qilish institutida hamda Rossiya Fanlar Akademiyasiga qarashli Biomuxandislik markazida sinovlardan o'tkaziladi. Bu ilmiy markazlarning asosiy vazifalari:

- ✓ *o'simlik genomiga kiritilgan DNK ni o'rganish;*
- ✓ *yangi kiritilgan gen boshqa organizmlarga o'tish yoki o'tib ketmasligini sinovlardan o'tkazish;*
- ✓ *mazkur xususiyatga ega bo'lgan o'simlikni keyingi avlodlarga o'tish o'tmasligini nazorat qilish;*
- ✓ *yangi o'simlikni kasallikka munosabati va tuproq mikroflorasiga ta'sirini o'rganishdan iboratdir.*

Genetik modifikatsiya qilingan organizmlardan olinadigan oziq-ovqat maxsulotlari, albatta, meditsina-biologiya baholash tizimidan o'tkazilishi shart. Buning uchun, eng avvalo maxsus uslubiy ko'rsatmalar ishlab chiqarilishi lozim. Bunday uslubiy ko'rsatmalarda gigiena ekspertizasidan o'tkazish tartiblari va genetik modifikatsiya qilingan organizmlardan olingan maxsulotni davlat ro'yxatidan o'tkazish tartiblari keltirilgan bo'lishi zarur. Misol uchun, Rossiyada genetik-modifikatsiya qilingan organizmlardan olingan oziq-ovqat maxsulotlarini tibbiy-gigienik, tibbiy-biologik, klinika sinovlaridan o'tkazish uslublari yaratilgan bo'lib, mamlakat Sog'liqni Saqlash Vazirligi hamda tegishli adliya va huquq organlari tomonidan tasdiqlangan.

Gen muxandisligi, gmo va ulardan olingan maxsulotlar ustidan davlat nazorati va boshqaruvi

Rivojlangan gen-muhandislik infrastrukturasiga ega bo'lgan barcha mamalakatlarda hozirgi vaqtda o'zining zamonaviy biotexnologiya va biomuxandislik bo'yicha amalga oshiruvchi ishlarni huquq va me'yorini belgilab beruvchi qonunlari va boshqa davlat hujjatlari qabul qilingan.

Bunday xujjatlarni tayyorlashda ko'pchilik mamalakatlarda BMT, FAO va boshqa xalqaro birlashmalar tomonidan tayyorlangan xalqaro talablar asos qilib olingan. Shuning uchun ham, bunday qonun va qonun ostidagi hujjatlar har-xil mamlakatlarda qabul qilinganligiga qaramasdan, bir-birlariga juda o'xshab ketadi.

Qonunlarda u yoki bu mamlakatda gen-muhandislik faoliyatini amalga oshirishda davlat boshqaruvi hamda xavfsizlik tizimining asosiy vazifalari belgilangan.

Masalan, Rossiyada 1996 yil 5 iyunda qabul qilingan 86 F3 sonli "gen-muhandisligi faoliyatida davlat boshqaruvi haqida" deb atalgan qonunda 4 bosqichdan iborat taxminiy xavf borligi va shuning uchun ham gen-muhandisligi bo'yicha ish olib borayotgan xodimlar bu qonun doirasida ish yuritishga majbur ekanligi ko'rsatib o'tilgan:

Birinch **bosqich** (xavf) -inson salomatligiga zarar yetkazish ko'rsatkichi bo'yicha patogen bo'lmagan mikroorganizmlar bilan ishlash xavfiga to'g'ri keladi.

Ikkinchi bosqich - inson salomatligiga uncha ko'p bo'lmagan (jiddiy bo'lmagan) xavf keltirib, u shartli patogen mikroorganizmlar bilan ish olib borayotgan xodimlar uchun tug'iladigan xavfga to'g'ri keladi.

Uchinchi bosqich -xavf sekin asta, ammo doimiy ravishda xavf solib kelayotgan ishlarga to'g'ri kelib, uni xavfi yuqumli kasalliklar qo'zg'atadigan mikroorganizmlar bilan ishlashga tengdir.

To'rtinchi bosqich -xavf inson organizmi uchun juda xavfli bo'lib, uning ko'rsatkichi o'ta xavfli kasalliklarni qo'zg'atadigan mikroorganizmlar bilan ishlayotgan xodimlar xavfiga tengdir.

Ochiq tizim sharoitida gen-muhandisligi uchinchi va to'rtinchi bosqich xavfiga to'g'ri keladi. Ushbu qonun gen-muhandislik muammolari bilan shug'ullanadigan xodimlar oldiga maxsus talablar qo'ygan:

Birinchisi - majburiy mutaxassislik, tayyorgarlik va gen-muhandislik faoliyatiga to'g'ri keladigan salomatlik holati;

Ikkinchisi - tajriba olib boriladigan xonalarni qoida talablariga to'g'ri kelishi;

Uchinchi - xavf bilan ishlaydigan ishlar uchun albatta ruxsatnoma (litsenziya) bo'lishi shart va h.k.

Qonunda gen-muhandislik maxsulotlarini standartlash va sertifikatsiyalashdan o'tkazish bo'yicha talablar aniqlangan. Bunday maxsulotlar ekologik xavfsizlik talablariga, sanitariya me'yorlariga, farmakologiya bandlariga hamda davlat standartlash talablariga to'liq javob berishlari kerak.

Gen muhandislik usullari bilan modifikatsiya qilingan organizmlardan olingan maxsulotlar va bu beriladigan xizmatlar albatta sertifikatlangan bo'lishi, ular albatta sifat sertifikati va o'xshashlik belgisiga ega bo'lishi shart.

Biologik xavfsizlik ustidan Davlat nazorati shuningdek, genetik modifikatsiya qilingan va boshqa biologik ob'ektlardan yangi oziqa maxsulotlari, materiallar va buyumlarni ishlab chiqarish va ishlatishni ham qamrab oladi.

Biotexnologiya va biomuxandislikda standartlash

Mamlakatga kiritilgan yoki shu mamlakatda ishlab chiqarilgan, shu jumladan, genetik modifikatsiya qilingan organizmlar ishtirokida ishlab chiqilgan yoki ulardan olingan maxsulotlarni tayyorlash va sotuvga qo'yish, albatta standartlashtirilgan bo'lishi shart. Rossiya Davlat standarti "Genetik modifikatsiya qilingan manbalardan oziq-ovqat maxsulotlari ishlab chiqarish va sotish muammolari" nomli davlat dasturi zarurligi haqidagi taklif bilan chiqdi. Bu hujjatni asosiy vazifasi gen modifikatsiyasi orqali ishlab chiqarilgan oziqa maxsulotlari va xom ashyolari sifatini hamda genetik xavfsizligini standartlashtirish hujjatlari, ishlab chiqarishni nazorat qilish, sinov, saqlash va sotish usullarini, shart-sharoitlarini belgilab beruvchi tegishli me'yoriy va

me'yoriy-uslubiy hujjatlar orqali ta'minlashni belgilab beradi. Rossiya Davlat standarti bu sohadagi ilmiy izlanishlarning asosiy ustivor yo'nalishi "Genetik modifikatsiyalangan maxsulotlarni standartlash kontseptsiyasi" bo'lishi kerak deb hisoblaydi. Kontseptsianing asosiy mazmuni me'yoriy hujjatlar, sinov usullari va uslublariga o'zgarishlar kiritish, ularga genetik soflikni aniqlash, markirovka qilish ishlari bo'yicha qo'shimchalar lozimligi ko'rsatib o'tilgan.

AQSh da GMO bo'yicha biologik xavfsizlikni nazorat qilishda davlat boshqaruvi

AQSh biotexnologiya, xususan, biomuxandislik bo'yicha yetakchi o'rinda turadi. Eng avvalo bunday holat gen muhandisligi, biomuxandislik borasidagi ilmiy hamda ilmiy ishlab chiqarish ishlarini Davlat tomonidan kuchli muhofazasida ekanligi bilan tushuntiriladi. Bundan tashqari, bu mamlakatda gen modifikatsiya qilingan organizmlardan ishlab chiqarishda foydalanish bo'yicha kongress qonunlari va prezident farmon va farmoyishlari qabul qilingan. AQShda ekiladigan soyaning yarmi, makkajo'xorining $\frac{1}{4}$ qismini transgen o'simliklar tashkil etadi. AQSh genetik modifikatsiya qilingan maxsulot ishlab chiqarish bo'yicha birinchi o'rinda turadi.

AQShning gen modifikatsiya qilingan organizmlarni yaratish va ulardan foydalanishni Davlat tomonidan nazorat qilish tizimi boshqa mamlakatlardan (masalan, Rossiyadan) tubdan farq qilmasada o'ziga xos bo'lgan tomonlari bor.

AQShda genetik modifikatsiya qilingan organizmlarni Davlat ro'yxatidan o'tkazish uch vazirlikka, ya'ni Sog'liqni saqlash, Qishloq xo'jaligi va Ekologiya vazirliklari javobgarligiga topshirilgan. Bunday organizmlarni ro'yxatga olish yoki olmaslikni aytib o'tilgan vazirliklarning har-biri mustaqil ravishda, bir-birlarining ishlariga aralashmasdan hal qilishlari mumkin. AQShning Qishloq xo'jalik departamenti (USDA), uning veterinariya va o'simliklarni himoya qilish (APHIS) inspeksiyalari tasdiqlangan shartlar va tartiblarga binoan (notifikatsiya), genetik modifikatsiya qilingan organizmlarni shtatlar orasida yuritishiga, ularni importi yoki atrof-muhitga chiqarish haqida ruxsat beradi. Bu shartlar AQShda 1993 yilda ishlab chiqilgan va hozirgacha o'z kuchini yo'qotgani yo'q.

AQShda biotexnologiya va biomuxandislik bo'yicha aniq va ravshan me'yoriy huquqiy hujjatlarni o'z vaqtida ishlab chiqarilishi va ularni faoliyat ko'rsatishini ta'minlanishi, mamlakatda bu sohani rivojlanishiga olib keldi. AQShda biomuxandislikni bosh yo'nalishi-soya, g'o'za, makkajo'xori, qand lavlagi, kartoshka, pomidor, raps va boshqa o'simliklarni raundap (glifosat) nomli gerbitsidga, zamburug' kasalliklariga va hashoratlarga chidamli bo'lgan navlarini yaratishga qaratilgan. Shuningdek, bu mamlakatda bug'doyning virusli kasalliklariga chidamli gibrid navlarini yaratish bo'yicha faol ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Chidamli gibridlar va navlar yaratish bo'yicha katta muvaffaqiyatlarga Missuri shtatidagi Sent-Luis shahrida joylashgan "Monsanto" firmasi erishgan. Bu firma maxsulotlari butun jahonga yaxshi tanishdir.

Shuni ham aytib o'tish lozimki, AQSh fermerlari gibridlarni ekish, ulardan hosil olish, urug'larini yoki ulardan ishlab chiqariladigan maxsulotlarni sotish bo'yicha hech qanday muammoga duchor bo'lmaydilar. Gibridlardan foydalangan fermerlar gerbitsid va pestitsidlarga ketadigan xarajatlar hisobidan juda katta foyda topadilar.

AQShda genetik modifikatsiya qilingan va gibridlardan olinadigan oziqa maxsulotlarini maxsus belgilar bilan belgilab qo'yish bo'yicha qarorlar qabul qilinmagan. Xaridorlarning xohish istaklaridan kelib chiqqan holda, belgilarni hohlagan vaqtda, hohlagan sotuv tarmoqlarida qo'yish mumkin. AQShda biotexnologiya bo'yicha maxsus targ'ibot markazi tashkil etilgan va faoliyat ko'rsatib kelmoqda. Bu markazning asosiy vazifasi eng yangi axborot tizimidan foydalanib, biotexnologiya va biomuxandislik bo'yicha axborotlarni izlash, yig'ish va saqlashdan iboratdir.

AQShda biotexnologiyani rivojlantirish bo'yicha Milliy qo'mita va genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olingan maxsulotlarni baholash bo'yicha ekspert kengashi ham faoliyat ko'rsatib kelmoqda. Shuningdek, AQSh hukumatida biotexnologiya muammolari va yutuqlarini muhokama qilish, bu sohaga yordam ko'rsatishda Milliy strategiya ishlab-chiquvchi maxsus komissiya faoliyat ko'rsatadi.

Bu komissiyaning a'zolari qilib, qishloq xo'jaligi, savdo-sotiq, mudofaa, energetika vazirlari, shuningdek, oziq-ovqat maxsulotlari va dori-darmonlar komiteti raislari, ekologiya agentligi rahbari, milliy-ilmiy fond direktori, qator ilmiy tekshirish institut direktorlari, har-xil departamentlarning bo'lim boshliqlari hamda biotexnologiya sohasi bo'yicha yirik olimlar kiritilgan.

Komissiya, hukumatning biotexnologiya va biomuxandislik bo'yicha dastur va umumiy faoliyatini o'rganib, kerak bo'lganda mamlakat Prezidenti hamda kongressga o'z fikr-mulohazalari bilan chiqish huquqiga ega.

AQSh, Rossiya va boshqa mamlakatlarda biologik xavfsizlik bo'yicha xalqaro Kartogen Protokoliga asosan (***Cartogena Protocol of Biosafety***) hamda Monrealdagi biologik xilma-xillik konventsiyasi doirasida genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olingan maxsulotlarni transportirovka, marketing qilish va ulardan foydalanish bo'yicha kelishuv tayyorlanishi va rotifikatsiya qilishi lozim.

Amerika va Yevropaning qator mamlakatlarida genetik modifikatsiya qilingan organizmlarni ko'pgina o'simlik va hayvonlar maxsulotlarini harakatini nazorat qilish tizimini monitoring qilish bo'yicha komissiya faoliyat ko'rsatib kelmoqda.

Biotexnologiya va biomuxandislik ishlarida biologik xavfsizlikni ta'minlash borasida yagona xalqaro tizim tashkil etilsa va uni doimiy ravishda mukammallashtirib borish asosida zamonaviy talablarning sharoitlariga moslashtirib borib, barcha mamlakatlarda bir-biriga o'xshagan qonun va qonunosti hujjatlar qabul qilinsa, chiqarilgan davlat hujjatlarini hayotga tadbqiq etilishini nazorat qiluvchi va ularni amalga oshiruvchi tegishli tashkilotlar tashkil etilsa maqsadga muvofiq bo'lar edi.

Nazorat savollari

1. Xavfsizlik deganda qanday tushunchalarga egasiz?
2. Biologik xavflarga qanday omillar sabab bo'lishi mumkinligini izohlab bering?
3. Xavfsizlikning asosiy printsiplariga izoh bering?
4. Biotexnologiyaning harbiy bo'lmagan xavfsizlik aspektlariga ijobiy ta'sirlardan nimalarni bilasi?
5. Genetik xavf haqida nimalarni bilasiz?
6. Rivojlangan mamlakatlarda GMO lardan foydalanish va ularni ishlab chiqarish masalalari bo'yicha qanday ma'lumotlarni bilasiz va unga sizning munosabatingiz?
7. Bioxavfsizlikni ta'minlash uchun nimalarga e'tibor qaratilishi va amalga oshirilishi lozim bo'lgan asosiy ishlarga nimalar kiradi?
8. Gen muxandisligi, GMO va ulardan olinadigan maxsulotlar ustidan davlat nazorati qanday bo'lishi lozim?
9. Biotexnologiya va biomuxandislikda standartlash va patentlash yuzasidan qanday ma'lumotlarni bilasiz?
10. Biotexnologiya va biomuxandislikni rivojlantirish bo'yicha olib borilayotganishlarga jahon hamjamiyatlarining qarashlarini izohlab bering.

16-MAVZU: BIOTEXNOLOGIYANING ASOSIY YO'NALISHLARI VA UNING ISTIQBOLLARI

Reja:

1. Oziqa maxsulotlari biotexnologiyasi;
2. Qishloq xo'jaligida ishlatiladigan preparatlar biotexnologiyasi;
3. Sanoat maxsulotlari biotexnologiyasi;
4. Dorivor moddalar, diagnostika va reaktivlar biotexnologiyasi;
5. Biogidrometallurgiyada ishlatiladigan biotexnologiya;

Таянч иборалар: Биологик жараён; ачитқи замбуруғлари, микромицетлар, бактериялар ва актиномицетлар (шуълали замбуруғлар), микроб; озуқа ачитқиси.

Biotexnologiyaning asosiy yo'nalishlarini, shartli ravishda, quyidagicha tavsiflash mumkin:

Odatda, mikroorganizmlarni foydali va zararli deb o'rganishga harakat qilinadi. Bu fikr mutlaqo to'g'ri emas. Fikrimizcha, barcha mikroorganizmlar foydali, chunki ular tabiatda modda almashinuvida faol qatnashadi va ko'plab

xilma-xil hayotiy zarur moddalar sintez qiladi. Binobarin, mikroorganizmlar biz yashab turgan dunyoning eng qudratli ishlab chiqaruvchi kuchidir.

Ular har xil fizik-kimyoviy muhitga chidamli, tez moslanuvchan, turli oziqa muhitida yashash qobiliyatiga ega.

Biologik jarayonlarda achitqi zamburug'lari, mikromitsetlar, bakteriyalar va aktinomitsetlar (shu'lali zamburug'lar) kabi mikroorganizmlardan foydalaniladi. Butun mavjudot mikroorganizmlarsiz yashay olmaydi, mikroorganizmlarning o'zi esa yashayveradi. Aytaylik, ovqat hazm qilish tizimida faol qatnashadigan mikroorganizmlar miqdori kamayib ketsa, disbakterioz va u bilan bog'liq bo'lgan boshqa kasalliklar ro'y beradi. Yana bir misol, tuprog'i sterillangan, ya'ni mikroblari o'ldirilgan tupraklarga o'simlik o'tkazib barcha kerakli mineral o'g'itlarni ham sterillangan holda solsangiz, ko'chat 4-5 kundayoq so'lib qoladi.

XXI – asrga zamonaviy biotexnologiya ulkan yutuqlar bilan kirib keldi. Inson genomining to'la o'qilishi, oldindan rejalashtirilgan xususiyatlarga ega bo'lgan shtammlarni yarata bilish, qarimaslik sirlarini ochish sari intilish, bir so'z bilan aytganda abadiylikka intilish, bugungi kun fani yutuqlari oldida afsona emasligi hammaga ma'lumdir.

O'tgan asrning 80 – 90 yillaridan boshlab, dunyo olimlarining “XXI – asr biotexnologiya asri bo'ladi” degan bashoratomuz so'zlari bejiz emasligi ko'plab misollar bilan o'z tasdig'ini topmoqda.

Rivojlangan, zamonaviy biotexnologiya fanining asosida uning ulkan yutuqlar manbai bo'lmish mikroorganizmlar dunyosi yotadi. Shunday ekan erishilgan yutuqlarda ko'z ilg'amas, jajji organizmlarning ham o'z o'rnini bor, albatta.

Keling, endi ushbu tarmoqlarning respublikamizda rivojlanishi uchun nimalarga e'tibor berishimiz lozimligi haqida fikr yuritaylik. Dastlab, e'tiborimizni butun jahon diqqat e'tiborida turgan oqsil tanqisligi muammosiga qaratmoqchimiz. Statistik ma'lumotlarga ko'ra: dunyoda oqsil tanqisligi yiliga deyarli 12 –15 mln. tonnani tashkil etadi. Bu bilan bog'liq bo'lgan quyidagi ma'lumotlar sizlarni befarq qoldirmaydi deb o'ylaymiz:

Dunyo bo'yicha 850 mln. dan ortiq kishi oqisilga muhtoj, shundan 200 mln. dan ortiqrog'i 5 yoshgacha bo'lgan bolalardir. 50 mln. dan ortiq kishi ochlikdan vafot etadi, ulardan 40 mln dan ortiqrog'i yosh bolalardir. 1 sutkada o'rtacha 11000 yosh bola hayotdan ko'z yumadi. Albatta, keltirilgan jumlar har bir insonni larzaga solmay qo'ymaydi.

Xo'sh, oqsil tanqisligi muammosini hal qilish uchun qanday ishlar amalga oshirilmoqda, qolaversa, biotexnologiya sanoati bunga qay darajada hissa qo'shmoqda.

Oqsil muammosini hal qilish uchun dastlabki urinishlar eru-xotin Tausonlarning achitqilar va bakteriyalarni o'stirish uchun parafindan foydalanishni taklif etishgandan boshlangan edi. T.A.Tauson achitqilarning parafindan oksidlanish jarayonining ayrim oraliq maxsulotlari va V₁ vitaminini sintez qilishini isbotlab berdi. Bu dastlabki urinishlar edi, albatta. Shundan keyin S.I.Kuznetsova, B.I.Isochenko, L.D.Shturim, G.N.Mogilevskiy va boshqa shu kabi olimlarning

izlanishlari, nazariy va amaliy tajribalari ko'pgina mikroorganizmlar uglevodorodlarni oksidlay olishi mumkinligini rad etib bo'lmas darajada isbotladi.

Bu tadqiqotlar insoniyat ayniqsa, oldida oqsil tanqisligi o'tkir muammo bo'lib turgan bir paytda katta e'tiborni jalb etadi.

Frantsiya, Italiya, Yaponiya va AQSh kabi jahonning rivojlangan mamlakatlarida ham neftdan oqsil olish muammolarini yechish uchun ilmiy izlanishlar olib borildi va bir qadar o'z yechimini topdi.

Fikrimizni kengaytirgan holda o'quvchilarga tushunarli bo'lishi uchun bu jarayonda mikroorganizmlar faoliyati mexanizmi haqida to'xtalib o'tishni joiz deb hisoblaymiz.

Achitqi va bakteriyalar parafindan biomassa hosil qilish uchun o'zlariga kerakli bo'lgan uglerodni va hujayraning hayotiy faoliyati uchun energiya manbai bo'lib xizmat qiladigan, oqsil va vitaminlarni sintezlaydigan, raqib va dushmanlardan himoya qiladigan vodorodni topib oladilar. Shuning uchun ham biosintezning nihoyatda yuqori bosqichda o'tishi va o'ta mahsuldorligi ajablanarli hol emas.

Fikrimizning isboti sifatida quyidagi misollarni keltirmoqchimiz: Mikroorganizmlar 1 t. mo''tadil tuzilishdagi parafinlardan (10% namlikdagi tayyor maxsulotga hisoblanganda) 580–630 kg oqsil saqlagan 1 t. biomassa hosil qiladi. Ayni paytda gidroliz zavodlari esa shuncha miqdordagi achitqi maxsuloti ishlab chiqarish uchun 5,5–6,4 tonna mutlaqo quruq holatdagi yog'och qipiqalaridan foydalanadilar. Oradagi farq albatta jiddiy, qolaversa, parafinda yog'ochga nisbatan uglerod va vodorodlar miqdori nihoyatda ko'p bo'lib, biosintez jarayoniga sezilarli ta'sir ko'rsatadi.

Gidroliz maxsulotlaridan farqli ravishda bu maxsulotni oqsil – vitaminli konsentrat (OVK) deb yuritila boshlandi. Uzoq vaqtlar davomida olib borilgan ilmiy izlanishlar natijasida, OVK ning chorva mollariga va insonlarga bezarar ekanligi isbotlandi.

Keling, shu o'rinda e'tiborimizni chorvachilikda oqsilga bo'lgan talabga qarataylik. Dastlab e'tiboringizga quyidagi statistika ma'lumotlarini havola etmoqchimiz: mamlakatimizda, birgina parrandachilik kompleksi 200000 t. oziqa ishlatadi, bu oziqaga 20000 t. OVK, 200 t. amilaza, 200 t. sellulaza, 80 t. lizin va 60 t. metionin qo'shish kerak bo'ladi.

Xo'sh, bularning o'rnini qanday qondirish mumkin? Ma'lumki, don chorvachilik uchun asosiy energiya va oqsil manbai hisoblanadi. Parrandachilikda deyarli 100%, cho'chqachilikda 80%, qoramolchilikda 30% oziqa - bu makkajo'xori, arpa, bug'doy va javdar kabi boshqali ekinlar hissasiga to'g'ri keladi.

Hayvonlarning mahsuldorligini unga beriladigan oziqaning to'yimlilikligi, shuningdek undagi oqsilning tanqis aminokislotalarga boyligi ta'minlaydi. Biroq, asosiy furaj ekinlari – makkajo'xori va bug'doy – bu talablarga javob bermaydi. Fikrimizning isboti sifatida qishloq xo'jalik fanlari doktori G.V.Redchikovning quyidagi ilmiy ma'lumotini keltiramiz: "Bug'doy, arpa, makkajo'xori donida oqsil miqdori juda kam bo'lib, eng muhimi cho'chqa bolalari

uchun zarur bo'lgan lizinning atigi 23 – 37%, jo'jalar uchun esa atigi 20 – 32% mavjud. Lizinning buncha yetarli bo'lmagan miqdorini ham hayvonlar to'raligicha o'zlashtira olmaydilar, ya'ni cho'chqa arpa doni tarkibidagi lizinning 26, makkajo'xoridagi lizinning 72, bug'doydagining 50 foizini o'zlashtirishi mumkin, xolos (Don oqsilini yaxshilash va ularni baholash: M. Kolos, 1978. 168 b)

Ma'lumki, hayvonlar oziqadagi faqat tanqis aminokislotalar ulushiga teng keladigan oqsil qismidan samarali foydalanish qobiliyatiga ega. Bundan kelib chiqadigan bo'lsak, don oziqasiga eng qimmatli komponent – oqsil, agar u lizinga to'yinmagan bo'lsa, hayvonlar organizmi ularni o'z organizmlari va to'qimalarida oqsil hosil qilishga emas, boshqacharoq aytganda go'sht, sut, tuxum yoki jun hosil qilishga emas, balki ichki energiya manbai sifatida sarflaydilar. Donda tanqis aminokislotalar – sifatida treonin va triptofan yetishmasa ham shu holat yuz beradi.

Xo'sh, boshqali ekinlardagi bunday tabiiy yetishmovchilikni qanday bartaraf etish mumkin? Buning uchun donli oziqa tarkibiga baliq va suyak uni, sut kukuni, soya (dondan yog'i ajratib olingandan keyin qolgan shrot yoki kunjarasi) va oziqa achitqisini qo'shish kerak.

Mutaxassislarning hisoblariga ko'ra, ishlab chiqarish hajmining eng yuqori unumdorligi sharoitida qoramollarni boqish uchun baliq va suyak uni, sut kukuni, soya kunjarasi ishlatilib, 1995–2000 yillarda chorvachilikning oqsilga bo'lgan talabini bor yo'g'i 28–30% miqdorida qondiradi, deyilgandi.

Bu yetishmovchilikni bartaraf etish uchun biotexnologiya sanoati maxsulotlari eng avval chorvachilikni kompleks omuxta yemini boyitishga mo'ljallangan turli maxsulotlaridan foydalanadi. Ular orasida oziqa achitqisi alohida o'rin tutadi.

Oziqa achitqisi–to'yimlilik xususiyati bo'yicha barcha yuksak o'simliklardan ustun turadi. Hayvon oqsil ratsionining 25% ni achitqi zamburug'i oqsili tashkil etadi. Bu oqsil samaradorligi bo'yicha sut oqsili – kazeindan kam farq qiladi. Achitqi oqsilining 80% dan ko'prog'i o'zlashtiriladi. Achitqi oqsilining hazm bo'lish koeffitsienti qoramollar, qo'ylar va jo'jalarda 83– 91% oralig'ida o'zgarib turadi. Ularning ustun tomoni shundaki, aynan achitqi tarkibida donli oziqada yetarli bo'lmagan tanqis aminokislotalar ko'p bo'ladi.

Misol tariqasida quyidagilarni e'tiboringizga havola etamiz. Bir tonna achitqida 41–42 kg tanqis aminokislota (lizin) bo'lsa, 1 t. arpa va so'lida bu miqdor 10 marotaba kamdir: boshqa tanqis aminokislotalar (treonin, metionin, triptofan) achitqida arpa va so'lidagidan 3 – 5 marta ko'p. Glutamin kislota esa 1 tonna achitqida 65 – 110 kg atrofida bo'lib, dondagidan ancha ko'p bo'ladi.

Bu ko'rsatkichlar achitqining uncha ko'p bo'lmagan miqdori (hajmiga nisbatan 5 – 6%) o'simlik oqsilining sifatini va hazm bo'lishini keskin ortishiga hamda ular sarfini ancha kamaytirishga imkon yaratadi.

Mikrob biotexnologiyasi sanoati taklif etayotgan oziqa achitqilari V guruhi vitaminlarining ham manbai bo'lib hisoblanadi.

Ma'lumki, chorva mollari uchun zarur bo'lgan vitaminlardan hatto birortasi yetishmagan taqdirda ham ular me'yoridagidek rivojlana olmaydi. Modda va energiya almashinuvi buzilib, organizmning himoya kuchi zaiflashadi. O'simlik oziqasida esa vitamin kam bo'ladi va hatto bor vitaminlar ham ularni tayyorlash,

saqlash va qayta ishlash vaqtida tez buziladi, ayrim hayotiy vitaminlar esa o'simliklarda umuman hosil bo'lmaydi.

Oziqa achitqisi tarkibida arpa, so'li, no'xat va soyaga nisbatan – riboflavin (V_2) miqdori 20–75 marta, pantaten kislotasi (V_3 vitamini) 5–10 marta, xolin (V_4) esa 2–6 marta ko'p bo'ladi. Bu vitaminlar hayvon organizmida aminokislotalar almashinuvida, o'simlik oziqasidagi proteindan foydalanishda va oqsil biosintezida hal qiluvchi rol o'ynaydi.

Shuni ham ta'kidlash lozimki, oziqa achitqisida V_{12} (tsianokobalamin) vitamini bo'lmaydi. U o'simliklarda ham sintez bo'lmaydi. Uni faqat odam va hayvonlar ichagida yashovchi bakteriyalar va aktinomitsetlar sintez qiladilar. Cho'chqalar, parrandalar va yosh qoramollarda bu vitamin juda kam hosil bo'ladi.

Shu bilan birga V_{12} vitamini qon hosil bo'lishda, metionin, xolin - nuklein kislotalar sintezida, oqsil, yog'lar va uglevodlarning almashuvi jarayonida muhim ahamiyatga ega. V_{12} vitamini yetishmasligi jo'jalar, cho'chqa bolalari, qo'zichoq va yangi tug'ilgan buzoqlarning o'sishidan qolishiga, kasallanishiga va o'limiga olib keladi, hamda chorva mollari mahsuldorligini kamaytirib, o'simlik oziqasi oqsilining hazm bo'lishini qiyinlashtiradi.

Shuning uchun ratsionga unchalik ko'p bo'lmagan miqdorda V_{12} vitamini qo'shish (1 tonna oziqa hisobiga bor yo'g'i 0,015 – 0,025 gramm) qo'shish ajoyib natijalar berib, yuqoridagi barcha ko'ngilsizliklarning oldini oladi.

Mikrobiologik biotexnologiya sanoatida esa V_{12} vitaminini atseton-butil ishlab chiqarishdagi chiqindilarni metanobakteriyalar bilan achitish orqali olish mumkin.

Bundan tashqari chorvachilikda biotexnologik sanoatning ajoyib maxsuloti – fermentli preparatlardan foydalanib qo'shimcha go'sht va sut yetishtirish mumkin. Ratsion tarkibiga qo'shilgan ferment preparatlari tirik organizmga, ayniqsa ular ancha yosh bo'lganda, oziqa moddalarining yaxshi hazm bo'lishida yordam beradi. Shu tufayli cho'chqa bolalari, buzoqlar va qo'zichoqlar o'sishi tezlashadi. Ularning o'rta sutkali vazni 10–12% ga ortadi, oziqa sarfi tejaladi. Biroq bu hali hammasi emas. Yaxshi oziqa massasini sut achituvchi bakteriyalar hosil qiladigan sut kislotasi bilan qishga silos tayyorlash, konservalash mumkin. Silos tayyorlanganda oziqa moddalari, jumladan, vitaminlar odatdagi pichan tayyorlashdagiga nisbatan ancha kam nobud bo'ladi.

Demak, chorvachilikni rivojlantirishning eng muhim tomonlaridan biri–bu oziqa sifatini takomillashtirishdir.

Biz shu paytgacha mikroorganizmlarni foydali tomonlari chorvachilik oziqa ratsionini boyitish yo'llari haqida hikoya qildik. Endi esa bakteriyalar va zamburug'lardan foydalangan holda odamning ovqatlanish ratsionini takomillashtirishga e'tiborimizni qaratmoqchimiz.

Falla va boshqa qishloq xo'jalik ekinlarini yetishtirish uchun qanchalik kuch g'ayrat va mehnat sarf qilinishi hech kimga sir emas. Shuningdek, chorvachilikda ham buni ko'rish mumkin. Misol tariqasida quyidagi ma'lumotlarni e'tiboringizga havola etmoqchimiz: Har bir tonna hayvon oqsili sintezi uchun kamida 4,8 – 4,9 tonna yengil hazm bo'ladigan oziqa oqsili sarf qilishga to'g'ri keladi. Agar biz

is'temol qiladigan hayvon maxsulotlarini alohida olib ko'radigan bo'lsak, quyidagi manzara namoyon bo'ladi: 1 t sut oqsilini tayyorlash uchun 3,8 – 4,0 t; 1 t. tuxum oqsili uchun – 3,9 – 4,1 t; 1 t. parranda go'shti oqsili uchun – 4,5 – 4,7 t; 1 t. mol go'shti oqsili uchun esa 9,3 – 9,7 t. hisobiga oziqa oqsili sarflanishi aniqlangan.

Hayvonlarni bunday katta – sarf xarajatlar bilan uzoq vaqt parvarish qilish chorva maxsulotlaridagi oqsil tannarxining qimmatlashib ketishiga olib keladi.

“Xo'sh, nima qilish kerak?” - degan savol tug'ilishi tabiiydir. Biotexnologiya, mikrobiologiya va kimyo fanlari ijodiy hamkorlikda oziqa moddalari, birinchi navbatda ularning eng muhim va qimmatli qismi – oqsil olishning zamonaviy texnologiyalarini ishlab chiqdi. Ya'ni, achitqi zamburug'lar oziqa maxsulotlarining tarkibini boyitishning eng asosiy manbalaridan biri ekanligi isbotlandi.

Shuningdek, **Candida** avlodiga mansub, tez rivojlanuvchi achitqilar va sekin o'sadigan **Sacchoromyces** avlodiga mansub achitqi zamburug'lar vakillari nonvoychilik va pivochilik sohalarida ishlatilishi barchamizga ma'lumdir. Mazkur mikroblar yordamida o'sha tanqis aminokislotalar – lizin, triptofan, treonin va metionin ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan.

Aminokislota va achitqilardan birinchi navbatda eng asosiy oziqa maxsuloti, rizq-ro'zimiz bo'lgan nonning oziqa qiymatini oshirishda foydalanish mumkin.

Olimlarning aniqlashicha nonda oqsil miqdori unchalik ko'p emas: javdar unidan tayyorlangan nonning 100 grammida hammasi bo'lib 6,5 grammgacha, bug'doy unidan tayyorlangan nonda – 8,3 gramm oqsil bo'ladi, xolos. Biroq, olimlar o'rta yoshli kishining bir kunda 450 g non yeyishi tufayli oladigan oqsil miqdori bor – yo'g'i 29 grammga ya'ni uning o'rtacha sutkalik ehtiyojining uchdan biriga teng kelishini aniqlaganlar. Shuningdek, nonda lizin, triptofan, metionin yetishmaydi. Umuman bug'doy nonning biologik qiymati 38% ni tashkil etsa, oqsilning sof parchalanishi 33% ga teng. Xo'sh, qanday usullar bilan nonning biologik samaradorligini oshirish mumkin?

Bunda bizga yana biotexnologik jarayon orqali olingan lizin yordam berishi mumkin. Olimlarning ta'kidlashlaricha: 1 t unga atigi 150 gramm lizin qo'shilganda nondagi oqsil sifati keskin oshishi aniqlangan.

Bug'doy uniga birgina tanqis aminokislota – lizin qo'shilgandagina natijalar ana shunday. Agar un tarkibiga yetishmayotgan barcha tanqis aminokislotalar qo'shilsa, nima bo'ladi?

Demak, bug'doy uniga tanqis aminokislotalarga boy bo'lgan aminokislotalarni, zamburug'larni (xamirturush) solish orqali biz aminokislotalar tarkibi va biologik qiymati bo'yicha sut va tuxum oqsillariga yaqin va mol go'shti oqsillaridan qolishmaydigan non maxsulotlarini olishimiz mumkin. Xamirturush faqatgina tanqis aminokislotalarga emas, balki vitaminlarning miqdori va sifati bo'yicha ham ancha boydir.

Umuman, biotexnologiya va sanoat mikrobiologiyasining rivojlanishi faqat ko'p tonnali qimmatli oziqa ishlab chiqarishni emas, balki turli xildagi fiziologik faol moddalar ishlab chiqarish imkonini ham beradi.

Bu borada biotexnologiya sanoati imkoniyatlari beqiyosdir. Ularning yana bir tarmog'i o'simlik qoldiqlaridan (shox – shabba, g'o'zapoya, makkajo'xori poyasi,

somon va hokazo) shakar va uning o'rnini bosuvchi maxsulotlar ishlab chiqarishdir.

Mikrobiolog olimlarning tajriba – sanoat sinovlari va hisoblarining ko'rsatishicha, 1 t. quruq yog'ochdan 450 – 500 kilogrammga yetkazib shakar yoki bir kubometr zichlangan yog'och qipig'i, daraxt parchalari va o'tindan esa 180 – 200 kg gacha shakar olish mumkin. Olingan toza shakar moddasi mikrobiologiya sanoati uchun oqsil moddalari achitqilari, vitaminlar, spirt va bir qator moddalar va maxsulotlar ishlab chiqarishga yaroqli bo'ladi. Xuddi shu yo'l bilan glyukozani ishlab chiqarish ham mumkin. Bunda yana biotexnologlar yordamiga tayanamiz.

Buning uchun o'simlikning selyuloza saqllovchi qoldiqlariga kimyoviy yoki fermentativ ishlov beriladi va natijada 55% glyukoza va 45% fruktozalardan iborat sharbat olish mumkin. Bunday aralashma shirinligi bo'yicha biz odatlangan saxarozaga tenglashib, sanoat yo'li bilan olinadigan lavlagi shakari o'rnini bosishi mumkin.

Glyukozaizomerazaning kashf etilishi va uning keng qo'llanilishi shakarli moddalar ishlab chiqarish yo'lida katta burilish yasadi. Immobilizatsiya qilingan bu ferment yordamida AQSh, Yaponiya, Daniya, Finlandiya kabi bir qator rivojlangan mamlakatlarda qand lavlagidan emas, balki ancha arzon va yetarli bo'lgan xomashyo makkajo'xori donidan millionlab tonna shakarli oziqa maxsulotlari ishlab chiqarilmoqda. 2000 yilning o'zida 3 mln. tonna glyukoza fuktoza sharbati ishlab chiqarilgan va bu jarayon uchun zarur bo'lgan glyukozaizomeraza fermenti 40 mln. AQSh dollari hajmida ishlab chiqarilgan.

Shu o'rinda e'tiboringizni shirin ta'm beruvchi moddalarga talab darajasining oshib borayotganligiga qaratmoqchimiz.

Endilikda biotexnologiya sanoati shirin moddalar ishlab chiqarish sohasida mutlaqo yangi sahifa ochmoqda. Bu borada dastlabki samarali ishni Angliyaning Kent universiteti professori K.Stesi bajardi, u o'z xodimlari bilan hamkorlikda zamonaviy biotexnologiya va gen muxandisligi usullari bilan shakarga nisbatan ming marta shirinroq bo'lgan oqsil sintez qiladigan genni ajratib oldi va bakteriyaga (*E. soli*) o'tkazdi. Bakteriya bu maxsulotni ishlab chiqara boshladi. Shuni a'lohida ta'kidlab o'tish lozimki, yangi transgen mikrob-organizm, odam organizmi tana haroratidan yuqori haroratda o'sib ko'payadi. Shuning uchun ham u inson uchun umuman xavfli emas.

Ayni paytda biotexnologik ishlab chiqarish amaliyotida quyidagi shirin ta'm beruvchi maxsulotlar ishlab chiqarilmoqda. Aspartam-200,0, Stevozid-150,0, Taumatin–saxarozadan 3000,0 marotaba shirin bo'lgan maxsulotlardir. Bularning barchasini sintez qiluvchi genlari ichak tayoqchasi (*E.soli*) bakteriyasiga transformatsiya qilingan va sanoatda foydalanilmoqda.

Bunday mikroorganizmlarni sanoat miqyosida ko'paytirish juda katta samara berishi tabiiy holdir. Ayni vaqtda mamlakatimizda shakar maxsulotiga bo'lgan talabni qondirishda bu usul juda asqotadi deb hisoblaymiz.

Bundan tashqari mikrobiologik sintez yo'li bilan olingan oqsil va boshqa oziqa moddalardan, suniy oziq-ovqat maxsulotlari tayyorlash maqsadida

foydalanilganda to'la qiymatli oziqa ishlab chiqarishni amalda cheklanmagan hajmda tashkil qilish mumkin.

Yoshlik davrini uzaytirish, keksalikgacha bo'lgan muddatni imkoniyat darajasida cho'zish, mehnat va ijtimoiy qobiliyatni uzoq yillar saqlab qolish muammolari ko'p ma'noda odamning oqilona va sifatli ovqatlanishiga bog'liq.

Nazorat savollari

1. Biotexnologiyaning asosiy yo'nalishlarini aytib bering
2. Oziqa achitqisi tayyorlanish texnologiyasi qanday?
3. Oziqa achitqisi tarkibida nimalardan iborat?

IV. LABORATORIYA MASHG'ULOTI MATYERIALLARI

1-MAVZU: QISHLOQ XO'JALIK BIOTEXNOLOGIYASI LABORATORIYASINING TUZILISHI, ASBOB-USKUNALARI VA LABORATORIYADA ISHLASH QOIDALARI BILAN TANISHISH

Asbob-uskunalar va materiallar. Biotexnologiya laboratoriyasida foydalaniladigan asosiy asbob-uskunalar: laminar boks, avtoklav, termostat, quritish shkafi, sovutgichlar, sentrifugal, avtomatik mikropipetkalar, elektroforez, Petri likobchasi, probirka hamda boshqa asboblari va idishlar.

Mavzuni tushuntirish. Bu darsda talabalar biotexnologik laboratoriyasini tashkil etish va unda ishlash qoidalari bilan tanishadilar. Biotexnologik laboratoriyasining asosiy asbob-lari va jihozlaridan foydalanish usullarini o'rganadilar.

Biotexnologiya 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 bilan qoplash yoki moy bo'yoq bilan bo'yash zarur. Biotexnologiya 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.

Biotexnologiya laboratoriyasi asosiy xonadan tashqari avtoklav va quritish shkafi qo'yiladigan xona, sterilizatsiya xonasi, boks, idish yuvadigan xona, sovutkich va termostat qo'yiladigan, kulturalarni saqlaydigan xonalardan iborat bo'lishi kerak. Boks-kulturalar ekiladigan unchalik katta bo'lmagan xona bo'lib, u ikkiga ajratilgan bo'lishi zarur. Boksdagi asosiy ishlash xonasiga kichik xona, ya'ni tamburdan 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 bakteritsid lampa bo'lishi kerak. Hozirgi vaqtda stolga joylashtiriladigan turli kattalikdagi, ichida steril havosi almashib turadigan laminar bokslar ham keng ishlatilmoqda.

Biotexnologiyalaboratoriyalarida o'simlik kulturalari va mikroorganizmlar bilan ish olib boriladi. Qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining agronomiya yo'nalishlarida biotexnologik tadqiqotlar asosan o'simliklar va mikroorganizmlar ustida olib boriladi, lekin mikroorganizmlar, orasida insonlarda kasallik qo'zg'atuvchi turlari ham bo'lishi mumkin. Shuning uchun laboratoriyada xodim va talabalar o'zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmasliklari uchun ichki tartibqoidalariga qat'iy rioya qilishlari zarur. Ular quyidagilardir:

- a) dastalab birkirilgan joyda ishlash, faqat shu stoldagi asbob va reaktivlardan ishda foydalanish lozim.*
- b) spirt lampalarni bir-biridan yondirmasdan, faqat gugurt orqali yondirish kerak.*
- v) rozetkalarga metal va boshqa buyumlar bilan tegish taqiqlanadi.*
- g) o'qituvchidan yoki laborantdan ruxsatsiz elektr asboblari, uskunalar va boshqa jixozlarni ishga tushirmaslik kerak.*
- d) kimyoviy va boshqa reaktivlar bilan ishlaganda ehtiyot choralarni ko'rish kerak.*

Biotexnologiya laboratoriyasida qo'llaniladigan asboblari:

Laminar-boks. Laminar-boks ajratilgan to'qma, hujayra-larni o'stirish va boshqa steril sharoitni talab etuvchi ishlarni bajarish uchun mo'ljallangan. Bu yerdagi steril sharoit laminar-boksga o'rnatilgan havo o'tkazadigan bakterial filtrlar yordamsida amalga oshiriladi.



1.1-rasm. Laminar boks

Termostat. Bu jihozda issiq harorat 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.



1.2-rasm. Termostat

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



1.3-rasm. Quritish shkafi

Avtoklav. Mazkur jihoz bug' va bosim bilan sterillashga mo'ljallangan. Biotexnologik laboratoriyalarda avtoklavlarning turli xillari (gorizontal, vertikal shakldagi, ko'chirib bo'lmaydigan va ko'chirish mumkin bo'lgan turlari) ishlatiladi.



1.4-rasm. Avtoklav

Sovutkichlar. Oziqa muhitlarini, 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.

Sentrifuga. Markazdan qochuvchi aylanma kuchdan foydalanib suyuqlikdagi turli solishtirma og'irlikka ega moddalarni va qattiq moddalardan suyuq moddalarni ajratishda ishlatiladi. Sentrifugadagi aylanma harakat tufayli solishtirma og'irligi nisbatan yuqori bo'lakchalar chetga va aksincha kichik solishtirma og'irlikdagi bo'lakchalar o'rtadagi o'q atrofida yig'iladi.

Ultratsentrifuga biotexnologiya laboratoriya amaliyotida keyingi tadqiqotlar uchun hujayra fraktsiyalari, membrana, oqsil, nuklein kislotalar va boshqa makromolekulalarni ajratishda ishlatiladi. Ultratsentrifuganing rotorani aylanishi bir daqiqada 80 ming va tezligi 106 q ga teng. Ultratsentrifugani birinchi bo'lib 1923 yili T.Svedberg kashf qilgan.



1.5-rasm. Sentrifuga

Avtomatik mikropipetkalar. Kichik hajmdagi [1-1000 mkl (μl)] suyuqliklarni aniq va sifatli o'lchash uchun ishlatiladigan asboblar. Ular biologik va kimyoviy tadqiqotlarda keng qo'llaniladi.

Mikropipetkalar kontsentrlangan kislotalar yoki yemiruvchi eritmalarni o'lchash uchun ishlatilgandan so'ng ularning bo'laklari distillangan suv bilan yaxshilab yuvilishi va quritilishi kerak. To'liq quritilgan mikropipetka bo'laklari yana o'z xolidek qilib yig'ib qo'yiladi. Yemiruvchi eritmalarning parlarini uzoq ta'sirida mikropipetka bo'laklari ishdan chiqishi mumkin. Bu esa ularda suyuqliklarni hajmini noto'g'ri o'lchashga sababchi bo'ladi.



1.6-rasm. Avtomatik mikropipetkalar

Elektroforez (yunoncha soʻz boʻlib, “koʻchirib oʻtkazaman” degan maʼnoni bildiradigan elektrokinetik xodisa boʻlib, elektro-maydonning tashqi taʼsirida suyuq yoki gazli muhitda dispers faza (kolloid yoki oqsil eritmalarining) boʻlaklarini koʻchishidir. Uni birinchi boʻlib Moskva universitetining professorlari P.I.Straxov va F.F.Reyslar 1809 yilda kashf qilishgan.

Eletroforez yordamida sirtning chuqur qismigacha kirib boradigan mayda boʻlakchalar yordamida yuzani qoplash mumkin.

Eletroforez fizioterapiyada, kimyo sanoatida tutun va tumanlarni tarqatishda hamda eritmalar tarkibini oʻrganishda tatbiq etiladi. Kimyo, biokimyo va molekulyar biologiyada elektro-forez moddalarni ajratishda va ularning komponentlarini taxlil qilishda eng muhim usullardan biri hisoblanadi.



1.7-rasm. Elektroforez

Petri likobchasi. Ikkita bir-biriga qopqoq boʻlib yopiladigan yassi, diametri 8-10 sm boʻlgan yumaloq idish. Petri likobchasi shisha yoki tiniq plastmassadan tayyorlanadi va unda agarli oziqa muhitida mikroorganizmlar yoki oʻsimlik toʻqimasi oʻstiriladi. Petri likobchasi nemis olimi R.Koxning shogirdi Yu.R.Petri tomonidan birinchi bor 1887 yili mikroorganizm-larni oʻstirish uchun ishlatilgan.



1.8-rasm. Petri likobchasi



1.9-rasm. Biotexnologiya laboratoriyasining asosiy uskunalari

2-MAVZU:O'SIMLIK XUJAYRASIDAN DNK AJRATISH

Asbob-uskunalar va materiallar. 4 g 14 kunlik g'o'za barglari, havoncha, sentrifuga, sentrifuga stakanlari, 2 ta kolba, 2 ta stakan, shisha tayoqcha, refraktometr, dializ qog'ozi, magnitli aralashtirgich, spektrofotometr va muzlatgich.

Mavzuni tushuntirish. Transgen hujayradan sun'iy ravishda yetuk organizm o'stiriladi. Ushbu usuldan foydalanib o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayralaridan transgen shakllar olish mumkin. Biotexnologiyaning bu sohasiga dastlabki qadamlar 1973 yil birinchi gen klonlangan vaqtdan boshlab qo'yilgan edi (2.1-jadval).

Tirik organizmda oldindan mavjud qolip asosida yangi DNK molekulasining yaratilishi nuklein kislotalarining sintezlanish yo'lidir. Mavjud DNK molekulasidan nusxa olish **replikatsiya** deb ataladi.

2.1-jadval

Zamonaviy biotexnologiyaning dastlabki asosiy bosqichlari

Kashf etilgan vaqti	Bajarilgan ishlar
1973 yil	Birinchi gen klonlangan
1974 yil	Birinchi bakteriya genlarini klonlash ekspressiyasi amalga oshirildi

1975 yil	Birinchi gibridoma yaratilgan
1976 yil	Rekombinant DNK texnologiyasidan ishlab chiqarishda foydalanish boshlangan
1980 yil	Gen muxandisli usullari yordamida olingan mikroorganizm shtammlarini patentlash haqidagi qaror qabul qilingan
1981 yil	Monoklonal antitella to'plamlaridan foydalanish mumkinligi to'g'risidagi qaror qabul qilingan. Birinchi marta genlarni avtomatik sintezatori sotuvga chiqarildi
1982 yil	Tibbiyotda rekombinant DNK – insulini va hayvonlar uchun birinchi rekombinant DNK dan foydalanishga ruxsat berildi
1983 yil	Birinchi marotoba gen ekspressiyasidan bir o'simlikdan boshqa turida foydalanish mumkinligi isbotlandi

Replikatsiya jarayoni DNK-polimeraza I, II, III, DNK-ligaza va revertaza fermentlari yordamida amalga oshadi. rep-oqsil yordamida DNK qo'sh zanjiri ajraladi va DNKga bog'lanadigan oqsil molekulalari yordamida DNK ning ajralgan zanjirlari turg'un holatda saqlanib turiladi. DNK-polimeraza III fermenti DNK ning 3' uchidan 5' uchigacha DNK ning bitta zanjirini to'la sintez qilish qobiliyatiga ega. DNK sintezi faqat DNK ning 3' uchidan 5' uchiga qarab borishi tufayli DNK ning ikkinchi zanjiri praymaza, DNK-polimeraza I va DNK-ligaza fermentlari yordamida amalga oshadi.

Praymaza (revertaza) fermenti yordamida DNK ning ikkinchi zanjiri sintezi uchun praymer sintez qilinadi va DNK-polimeraza III fermenti yordamida praymer nukleotidlar ketma-ketligidan DNK sintezi boshlanadi va DNK-polimeraza I fermenti yordamida bu nukleotidlar ketma-ketligi bir oz uzaytiriladi. Ko'plab hosil bo'lgan DNK fragmentlari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. Bu jarayon DNK ning ikkinchi zanjiri to'la sintez bo'lguncha davom etadi. Yangi DNK zanjiri tayyor DNKning nusxasiga, matritsasiga qarab tuziladi. Bu jarayonda matritsa vazifasini DNK qo'sh zanjirining bir ipi bajaradi.

RNK sintezi jarayoni transkripsiya deb ataladi. Har uchala tipdagi RNK sintezi turli tipdagi RNK-polimraza (RNK-polimeraza I,II,III) fermentlari yordamida amalga oshiriladi. pRNK sintezi RNK-polimeraza I fermenti, iRNK RNK-polimeraza II fermenti va tRNK hamda kichik o'lchamli yadro RNK si molekulalari RNK-polimeraza III fermenti yordamida amalga oshiriladi. Hamma RNK molekulalari sintezi uchun DNK ning bitta ipi matritsa vazifasini o'taydi.

Oqsil sintezi ribosomalarda o'tadi. Ribosoma hujayra metabolizmi uchun zarur bo'lgan oqsillar sintezini DNK dan olingan inshakltsiya asosida kodlash mexanizmiga muvofiq amalga oshiradi (2.1-rasm).



2.1-rasm. Biologiyaning asosiy qonuniyati

DNK zanjiridan olingan iRNK nukleotidlar tartibi shaklidagi inshakltsiya ribosoma yordamida oqsil molekulasidagi aminokislotalar tartibiga ko'chiriladi.

Oqsil sintezi jarayoni translyatsiya deb ataladi. Nuklein kislotalarda har bir aminokislotalarni taniydigan va tanlab biriktirib olib tashishda vositachilik qiladigan birin-ketin uchta nukleotidlar kombinatsiyasi mavjudki, bu o'z navbatida aminokislota kodi, oqsil kodi, kodon, keng ma'noda **genetik kod** deb yuritiladi.

Oqsil molekulasiga kiradigan aminokislotalar 20 ta bo'lganligi uchun kodonlar soni ham 20 dan kam bo'lishi mumkin emas.

Bunda hosil nobud bo'ladigan kombinatsiyalar soni 4^3 , kodlanadigan aminokislotalar sonidan ancha ko'p. Nima uchun degan savol tug'iladi? Ma'lum bo'lishicha, 20 ta aminokislotalardan 18 tasi bittadan ortiq, ya'ni 2 ta, 3 ta, 4 ta va 6 ta kodon bilan kodlana olar ekan. Bundan tashqari, uchta kodon UAA, UAG, UGA aminokislotalarni kodlay olmaydigan va ularni paydo bo'lishi polipeptid zanjirining tugaganidan darak beradi. Shuning uchun ham ular terminatorlar "**tugatuvchilar**" deb ataladi.

Poliribosomalarda oqsil sintezi iRNKning 5' oxiridan boshlanib 3' oxirida tugaydi. Oqsil sintezi tugagach iRNK ribosomadan ajralib chiqadi va ribosoma ikkita subparchalarga dissotsiatsiyalanadi.

DNK molekulasi strukturasi tashqi nomuqobil omillar ta'sirida o'zgarishi mutatsiya deyiladi.

Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasida irsiy axborot o'zgaradi va organizmning mo'tadil holatda yashashiga keskin ta'sir ko'rsatadi. Tirik organizmning mutant shakllari vujudga keladi. Boshqa organizmlardan farqli o'laroq o'simlik va mikroorganizmlarning xo'jalik ahamiyati yuqori bo'lgan mutant shakllaridan xalq xo'jaligida keng ko'lamda foydalaniladi (2.2-jadval).

2.2-jadval

Auksotrof mutantlar yordamida L-aminokislotalarining birlamchi metabolitlarini olinishi

Amino-kislota	Produtsent	Tansiq modda	Substrat	Kultural suyuqlikda aminokislotalar miqdori, g/l
L-lizin	<i>Breviobacterium flavum</i>	Treonin, metionin yoki gomoserin	Glyukoza saxaroza	60-100
L-trionin	<i>Escherichia coli</i>	Lizin, metionin, izoleytsin	Glyukoza	20
L-ornitin	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Arginin	Glyukoza	26
L-fenil-alanin	<i>Arthrobacter parafineus</i>	Tirozin	n-alkanlar	15
L-tirozin	<i>Corynebacterium sp.</i>	Fenilalanin	n-alkanlar	19
L-valin	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Izoleytsin	Glyukoza	11

Inson organizmidagi mutatsion o'zgarishlar og'ir kasalliklarni kelib chiqishiga sabab nobud bo'ladi (oq qon kasalligi).

Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasini asl holatiga qaytish jarayoni - **DNK reparatsiyasi** deyiladi.

Reparatsiya jarayoni DNKaza, DNK-polimeraza II va DNK-ligaza fermentlari ishtirokida amalga oshiriladi. Bu fermentlar tizimi yordamida DNK strukturasini dastlabki mo'tadil holatiga qaytadi.

Ishning borishi.

1. 4 g barg havonchada suyuq azot yordamida kukun holiga kelguncha maydalanadi.
2. Kukunni 50 ml bufer V bilan birga kolbaga solinadi va 20 daqiqa davomida aralashtirib turiladi.
3. 30 ml fenol qo'shiladi va yana aralashtiriladi (30 daq.).
4. K-23 sentrifugasida 10^0 S da 5000 ayl/daq. tezlikda 1 soat aylantiriladi.
5. Ustki qismi toza kolbaga olinib teng miqdorda fenol-xloroform aralashmasi solinib, 10 daqiqa aralashtiriladi.
6. 30 daqiqa 10^0 S da 5000 ayl/daq. tezlikda sentrifugalanadi.
7. Ustki qismini olib teng miqdorda xloroform qo'shib, 10 daqiqa aralashtiriladi va yana sentrifugalash yo'li bilan fazalarga bo'linadi.
8. Suyuq qismi 2 miqdor etil spirti solingan stakanga asta sekinlik bilan aralashtirilib muzlatgichga qo'yiladi. "Meduza" hosil bo'lgandan so'ng tayoqchaga o'rab olinib 10 ml DNK erituvchi (TYE) buferida stakanda eritiladi.
9. DNK eritmasiga etidiy bromid 0,2 mg/ml va 1,55 g/ml seziy xlor solinadi (sinish ko'rsatkichi 1,3860).
10. Suyuqlik sentrifuga probirkalariga solinadi va tenglashtirib og'zi mahkamlangandan so'ng 20 soat 50000 ayl/daq. tezlikda (15^0 S) sentrifugalanadi.

11. UF nurlari ostida DNK shprints yordamida tortib olinadi.
12. DNK ni etidiy bromididdan izoamil spirtida 5 marta ekstraktsiya qilib tozalanadi.
13. DNK ni seziy xlordan TYe buferida 10^0 S da 24 soat magnitli aralashtirgichda buferni bir necha marta almashtirib dializ qilish yo'li bilan tozalanadi.
14. DNK miqdorini spektrofotometrda 260 nm to'lqin uzunligida kvartslı kyuvetada o'lchanadi.

V buferi:

0,2 M NaCl

0,05 M HCl pH 8,0

0,01 M EDTA

0,01 M DDT

0,2% SDS

Fenol, 0,1 M NaCl; 0,1 M tris HCl; rN 8,0; 0,01 M EDTA bilan to'yintirilgan.

Xloroform : izoamil spirti (24:1)

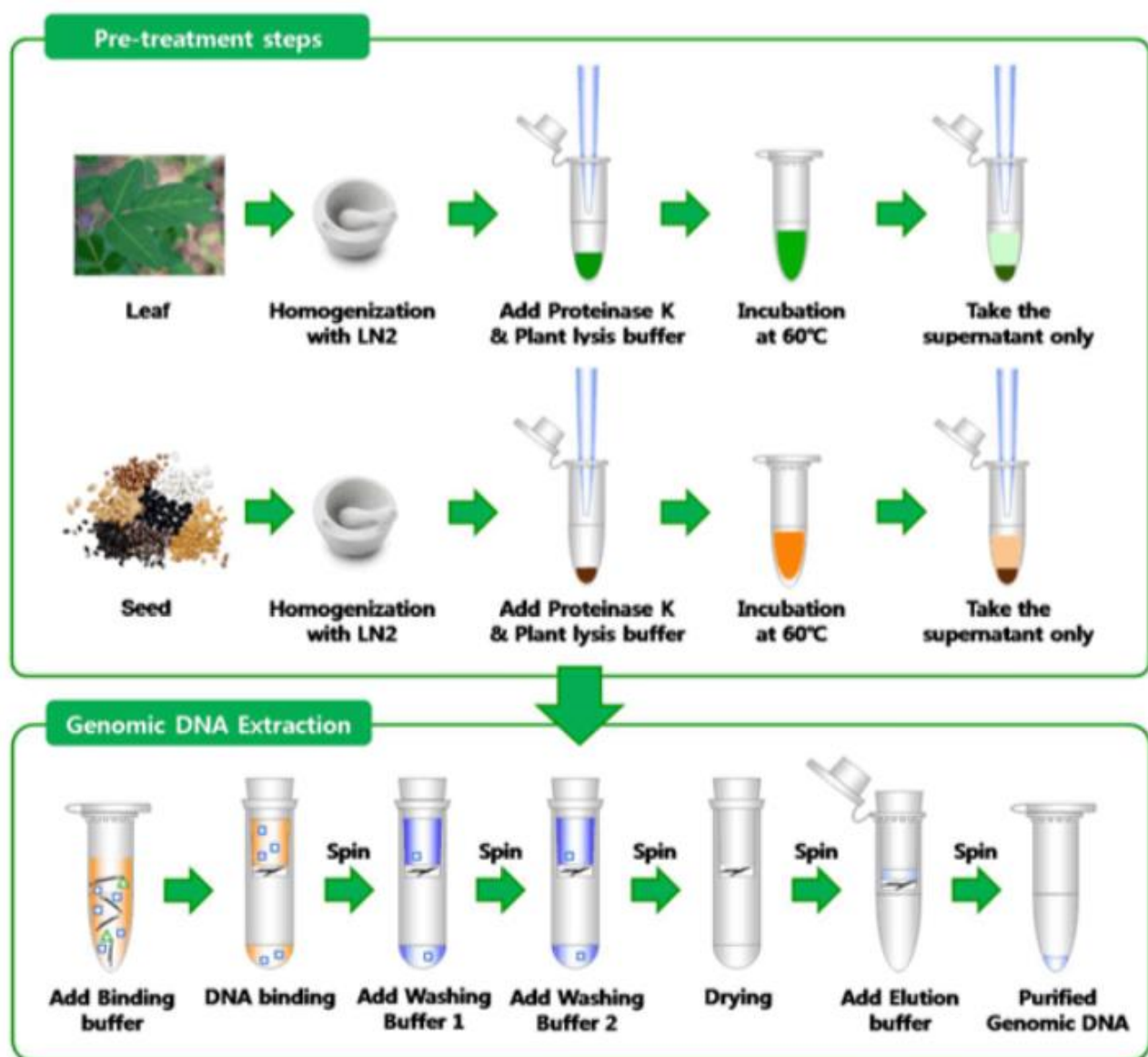
TYe buferi 10 mM tris HCl, rN 8,0.

1 mM EDTA

4,5 seziy xloridning TYe buferda eritmasi

Etidiy bromid eritmasi 10 mg/ml

Dializ uchun bufer: 10 mM tris rN 8,0; 1 mM EDTA.



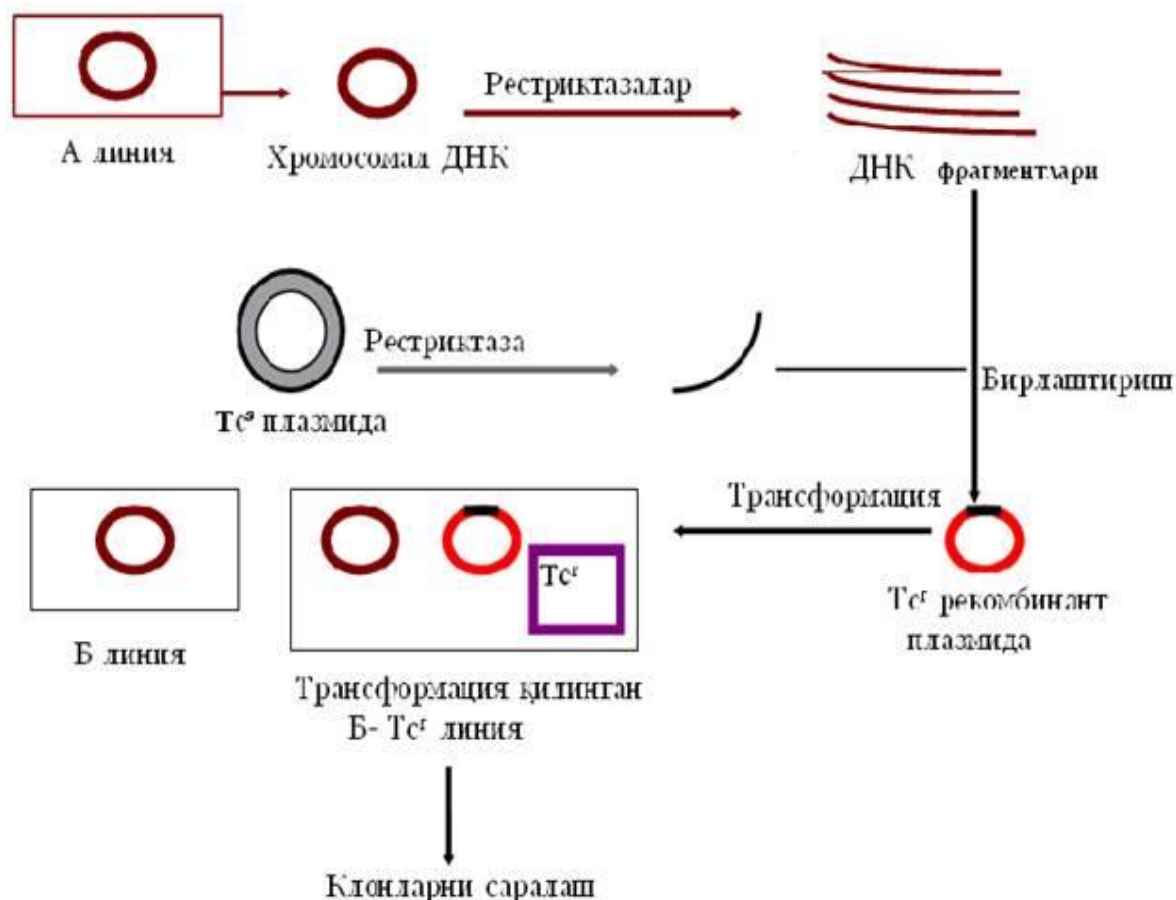
2.2-rasm. O'simlik xujayrasidan DNK ajratish

3-MAVZU: BAKTYeRIYa HUYAYRASIDAN PLAZMID DNK SINI AJRATISH

Asbob-uskunalar va materiallar. Avtomatik mikropipetka-lar, shtativga joylashtirilgan pipetka poynaklar (nakonechnik-lari), mikrotsentrifuga, mikrotsentrifuga probirkalari, maydalangan muz bo'laklari, suvli hammom, muzlatgich (-20°S va 80°S), sovutgich, elektron taroz, magnitli aralashtirgich, mikser, shpatel, pintsetlar, skalpel, qaychi, bakterial sirtmoq va spirt lampasi.

Mavzuni tushuntirish. O'tgan asrning 70–yillarida biotexnologiyada yangi tajriba texnologiyasi–genetik (gen) muxandislik yaratildi. Bu usulning asosida hujayradan tashqarida rekombinant DNK yaratish yotadi. Bu texnologiyadan foydalanish oqibatida genlarni sof holda ajratish, ularni modifikatsiya qilish, birini ikkinchisiga ulash, “genlar majmuasi” yaratish, oqibatida butunlay yangi

xususiyatga ega bo'lgan oqsil sintez qilish imkoniyati yaratildi va uni oqsillar muhandisligi deb ataldi (2–rasm).



3.1–rasm. Plazmida DNK si va bakteriya hujayrasidan foydalanib genni klonlash chizmasi

Vektor gen bilan ligaza fermenti yordamida birikkandan keyin rekombinant DNK hosil nobud bo'ladi. Keyin, bu birikma (vektor gen) mikroorganizm hujayrasiga yuboriladi (transformatsiya) va u yerda amplifikatsiya (ko'payish) amalga oshadi.

Natijada bir genning bir necha nusxasi – klon paydo nobud bo'ladi. Shuning uchun ham bu yo'lni **klonlash** deb ataladi.

Bu usulda bakteriyalarga klonlashtirilgan inson, hayvon yoki o'simliklar genlari to'g'ridan-to'g'ri bakteriyada faoliyat ko'rsata olmaydi.

Bunday genlarning ishlab ketishi uchun esa, ularni bakteriyadan ajratish, bakteriya genini boshqaruvchisi (regulyatori) bilan jihozlash va qaytadan bakteriyaga kiritish zarur.

Bugungi kunda har xil genlar saqllovchi va kerakli mahsulot sintez qiluvchi bir qator transgen bakteriyalar yaratilgan va muvaffaqiyat bilan ishlatilib kelinmoqda.

Shu sababli ham tabiiy shtammlar yordamida olinadigan mahsulotlar (birinchi avlod mahsulotlari) bilan bir qatorda transgen shtammlar yordamida rekombinant oqsillar (ikkinchi avlod mahsulotlari)ni sanoat miqyosida ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. Biologik mahsulotlarni uchinchi avlodi-tabiiy oqsillarning vazifalarini to'liq bajara oladigan, ammo tabiiy bo'lmagan mahsulotlarni sintez qilish natijasida paydo nobud bo'ladi.

Gen muxandisligi usullari (rekombinant DNK texnologiyasi) tibbiyot uchun zarur bo'lgan qimmatbaho oqsil moddalari ishlab chiqarish yoki ko'p tonnalik oqsil moddalari ishlab chiqarish jarayonlarida keng qo'llanib kelinmoqda. Eng avvalo, inson organizmida sintez nobud bo'ladigan va dorivor modda sifatida ishlatiladigan oqsil va peptidlarni sintez qilishni yo'lga qo'yish katta ahamiyat kasb etadi.

Gen muxandisligi muammolari bilan shug'ullanadigan omillarni asosiy vazifalaridan biri ham shunday birikmalarni yetarlicha sintez qila oladigan bakteriyalar shtammlarini yaratishga bag'ishlangan. Bu jarayonning asosiy qiyinchiliklari, shtamm yaratish bilan bog'liq emas, balki, yaratilgan shtammda sintez qilingan oqsil moddalarini kerakli me'yorda ushlab turish, ularni modifikatsiyaga uchrab, mikroorganizm hujayrasida parchalanib ketmasligi uchun sharoit yaratish bilan ham uzviy bog'liqdir.

Ishning borishi.

1. Oziqa muhiti quyilgan steril Petri likobchalariga o'zida rekombinant plazmida saqlagan *Escherichia coli* bakteriyasi ekiladi va kachalkada kechasi 37⁰ S haroratda o'stiriladi.
2. O'stirilgan bakteriya kulturasini suspenziyasini 1,5 ml dan mikrotsentrifuga probirkalariga quyiladi va 2 daqiqa davomida 12000 aylana/daqiqa tezlikda sentrifugalanib, hujayra ajratiladi.
3. Supernatant yo'qotiladi va 100 mkl (mikrolitr) lizislaydigan eritmada hujayralar resuspendirlanadi hamda 5 daqiqa muzda qoldiriladi.
4. 2000 mkl DSN ishqor quyiladi va ehtiyotlik bilan suspenziya tiniq hamda yopishqoq xolga keluncha aralashtiriladi va 5 daqiqa muzda qoldiriladi.
5. 150 mkl 3 M natriy atsetat (rN 4,8) dan qo'shib probirka DNK to'plami hosil bo'lguncha bir necha marta to'ntariladi va muzda 10 daqiqa qoldiriladi.
6. Mikrotsentrifugada 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi (natijada cho'kma ustida tiniq suyuqlik yuzaga keladi) va supernatant yangi probirkaga solinadi.
7. Supernatantga 1 ml sovuq (-20⁰ S) etanol qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi va quruq muzli etanol bor hammomiga 15 daqiqaga joylashtiriladi.
8. 12000 aylana daqiqa tezlikda 10 daqiqa sentrifugalanib pretsipitat yig'iladi.
9. Supernatant ehtiyotlik bilan ag'darib olinadi va cho'kma 100 mkl TE – buferda eritiladi.
10. Fenol/xloroform aralashmasidan 100mkl qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi va 12000 aylana/daqiqa tezlikda 10 daqiqa sentrifugalanib fenol hamda suvli fazalari ajratiladi.

11. Yuqoridagi suvli fazani toza probirkaga ajratib olinadi, 100 mkl xloroform qo'shiladi, aralashtirib, 12000 aylana/daqiqa tezlikda 2 daqiqa davomida sentrifugalanib, ikkita faza ajratib olinadi.
12. Tarkibida xloroform bo'lgan pastki faza olib tashlanadi va supernatantning qolgan qismiga 2 M natriy atsetat (rN 5,6) dan 10 mkl qo'shiladi.
13. Sovuq etanol (-20° S) dan 1 ml qo'shib, aralashtiriladi va quruq muzli etanol bo'lgan hammomga 15 daqiqa inkubatsiyaga qo'yiladi.
14. 12000 aylana/daqiqa tezlikda 10 daqiqa sentrifugalanib pretsipitat yig'iladi va supernatant yo'qotiladi. 70% etanoldan 1 ml qo'shib va yana 5 daqiqa sentrifugalanadi.
15. Cho'kma ustidagi suyuqlik to'kib tashlanib, vakuum ostida DNK quritiladi va H_2O dan 50 mkl solib eritiladi.

4-MAVZU: AGARozALI GYeLDA DNK ELYeKTROFORYeZI

Asbob-uskunalar va materiallar. Eletroforez apparati, gelda chuqurcha hosil qiluvchi taroqcha, doimiy tok manbai, 120 ml 0,8% li agaroz, 0,5 l elektroforez buferi, antkonveksion eritma (namuna miqdoridan 1/4 - 1/5 mg/ml) 300 ml etidiy bromidli bo'yovchi modda (0,5 mg/ml), rezina qo'lqop, ximeskop, fotoapparat, sariq yoki sabzi rangli filtr, ob'ektiv uchun uzunlashtiruvchi xalqa, plyonka, foto bochka, standart proyavitel va standart mustahkamlovchi.

Mavzuni tushuntirish. DNK agarozali gel elektroforezida molekulalarining o'lchamiga va konformatsion holatiga qarab bo'linadi. DNK molekulalarining geldagi yurish tezligi uning o'lchami logarifimiga teskari proportsionaldir, demak ularning molekulyar og'irligiga ham berilgan kattalikdagi DNK molekulalarining gelda yurish tezligi-geldagi agaroz miqdoriga ham bog'liq. Molekulalarning samarali bo'linishi uchun agaroz miqdorini to'g'ri tanlash lozim. Buni 4.1-jadval bo'yicha amalga oshirish mumkin.

4.1-jadval

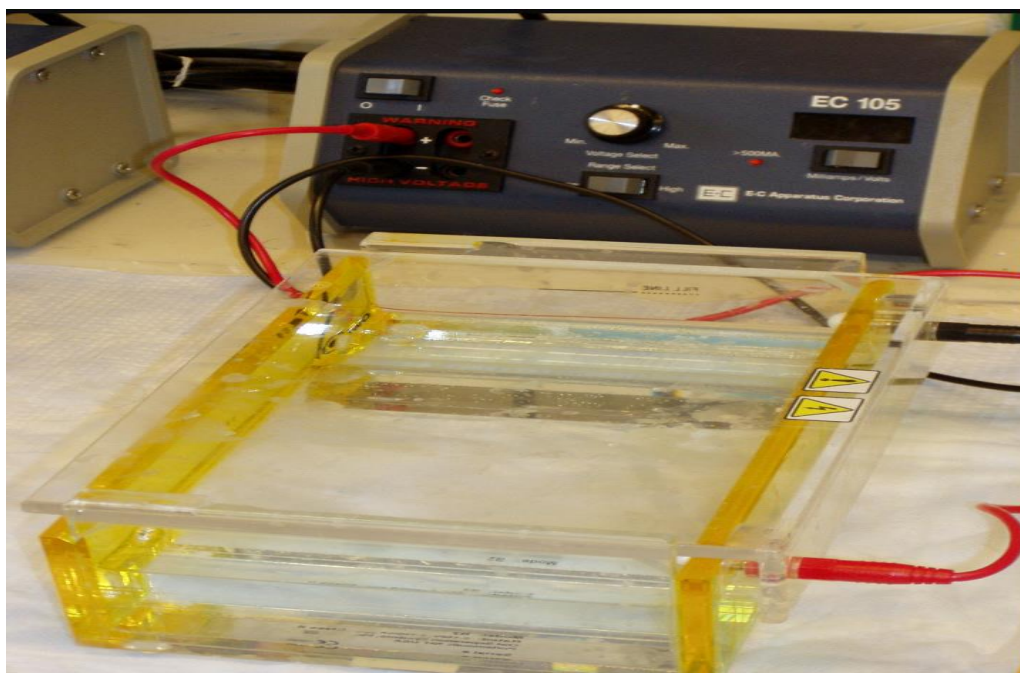
Turli o'lchamdagi DNK molekulalarining (to'g'ri shaklli, kovalent-tutashgan xalqali) samarali bo'linishi uchun ishlatiladigan geldagi agarozaning (%) miqdori

Agarozaning miqdori (%)	DNK molekulalarining o'lchami m.j.n. da
0,3	60-5
0,6	20-1
0,7	10-0,8

0,9	7-0,5
1,2	6-0,4
1,5	4-0,2
2,0	3-0,1

Bir xil kattalikdagi lekin turli konformatsion holatdagi DNK molekulalari (buralgan yopiq halqali, ochiq halqali va liniyali shakllari) agaroz gelida turli tezlikda yuradi. Ularning qiyosi elektroforetik harakati ma'lum darajada elektroforez qo'yish sharoitlariga buferning ion kuchiga, tok kuchiga va agarozaning miqdoriga bog'liq. Maxsus usullar yordamida DNK molekulalarining konformatsion holati bilan ularning gelda joylashgan joyi orasidagi moslikni aniqlash mumkin. Ushbu amaliyotda ishlatiladigan elektroforezning standart sharoitida DNK ning kichik molekulyar og'irlikdagi ($30 \cdot 10^6$ daltongacha bo'lgan) buralgan xalqasimon shakli katta bo'lmagan tezlikda xromosoma DNK sidan oldinda yuradi, katta molekulyar og'irlikga ($30 \cdot 10^6$ daltondan yuqori bo'lgan) ega bo'lgan molekulalari esa kamroq tezlikda yuradi va gelda xromosoma DNK sidan yuqorida joylashadi.

Ishning borishi. Elektroforez apparatini yig'ish. Agarozali gel elektroforez gorizontaal va vertikal qurilmalar yordamida olib borish mumkin. Aniq natijalar olish uchun gorizontaal qurilmalar oddiy tuzilishga ega bo'lib va ishlash uchun juda qulaydir. Qurilma organik shishadan yasalgan to'rtburchak idish (kyuveta) bo'lib, ikki chetida doimiy tok manbaiga ulanadigan platinali elektrodlar joylashgan nobud bo'ladi. Kyuveta tagiga apparatga quyiladigan buferning hajmini ko'paytirish uchun va gel bilan ishlashga qulayligi uchun organik shisha plastinka-taglik qo'yiladi.



4.1-rasm. Elektroforez

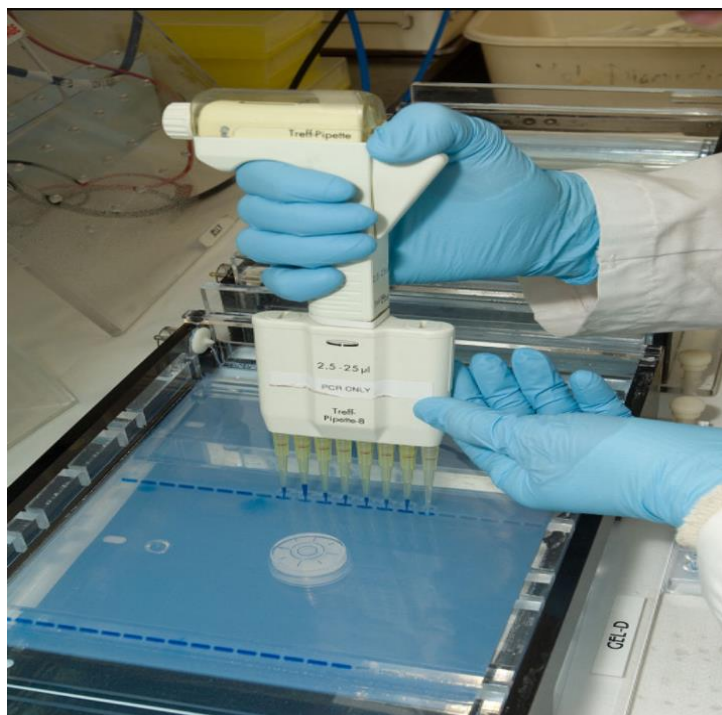
Agarozali gel tayyorlash. Kerakli miqdorda agaroz tortib olinadi va kerakli miqdorda bufer eritma solinadi va agar eriguncha (suv hammomida) qaynatiladi. Agaroz batamom erib ketganidan so'ng $50-55^{\circ}\text{C}$ gacha sovitiladi, tezda plastinka taglikka quyiladi va chuqurchalar hosil qilish uchun taroqcha (grebenka) qo'yiladi. Taroqchani shunday qo'yish kerakki taroq tishlari gel quyilgan bilan plastinka tagiga 0,5-1 mm oraliq qolsin. Gel qotganidan so'ng (30-40 daq. xona haroratida) taroqcha geldan sekin olinadi va elektroforez apparatiga joylab elektroforez buferi geldan 2-3 mm yuqorigacha to'ldiriladi.

DNK namunalarini gelga solish. DNK namunalari antikonveksion eritma bilan aralashtiriladi, avtomat pipetkalar (20-200 mkl) yordamida gelga ehtiyotkorlik bilan solinadi. Antikonveksion eritma tarkibida bo'yovchi modda (bromid fenol ko'k-0,0025%) tutib, uning yurishiga qarab elektroforez jarayonining borishini kuzatish mumkin. Bundan tashqari yana saxaroza (40%) bo'lib u DNK namunasining elektroforez buferi bilan aralashib ketmasligini ta'minlaydi. Odatda namuna miqdorining $1/4 - 1/5$ miqdoricha antikonveksion eritma solinadi.

Namuna solingandan so'ng apparatning qopqog'i yopiladi, doimiy tok manbai yoqiladi va kerakli kuchlanish qo'yiladi (DNK gelga kirguncha 20 V so'ng 100-120 V).

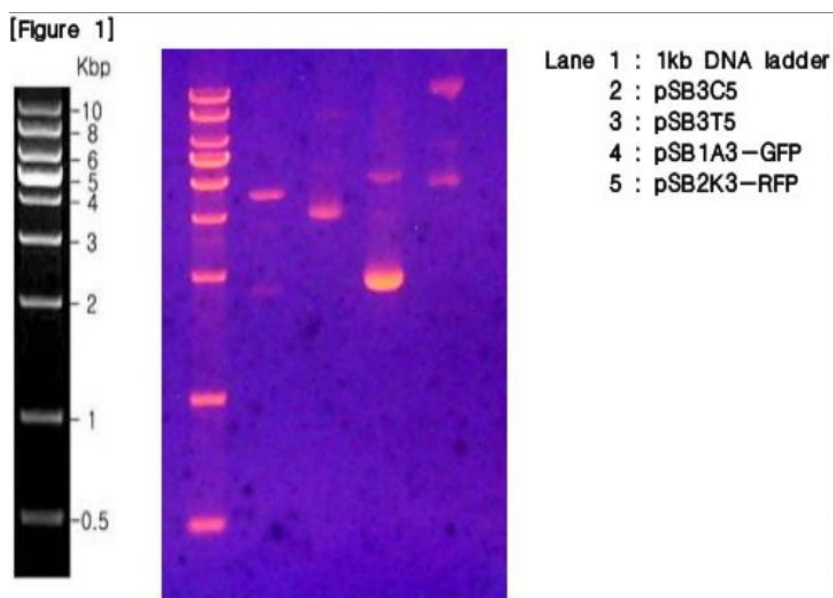
Elektroforez odatda ko'k bo'yoq gel oxiriga (1-2 sm qolgunicha) yetgunicha olib boriladi. 0,5-0,7 % li agarozali gel elektroforezida kuchlanish 100-120 V bo'lganda 2 soat davom etadi.

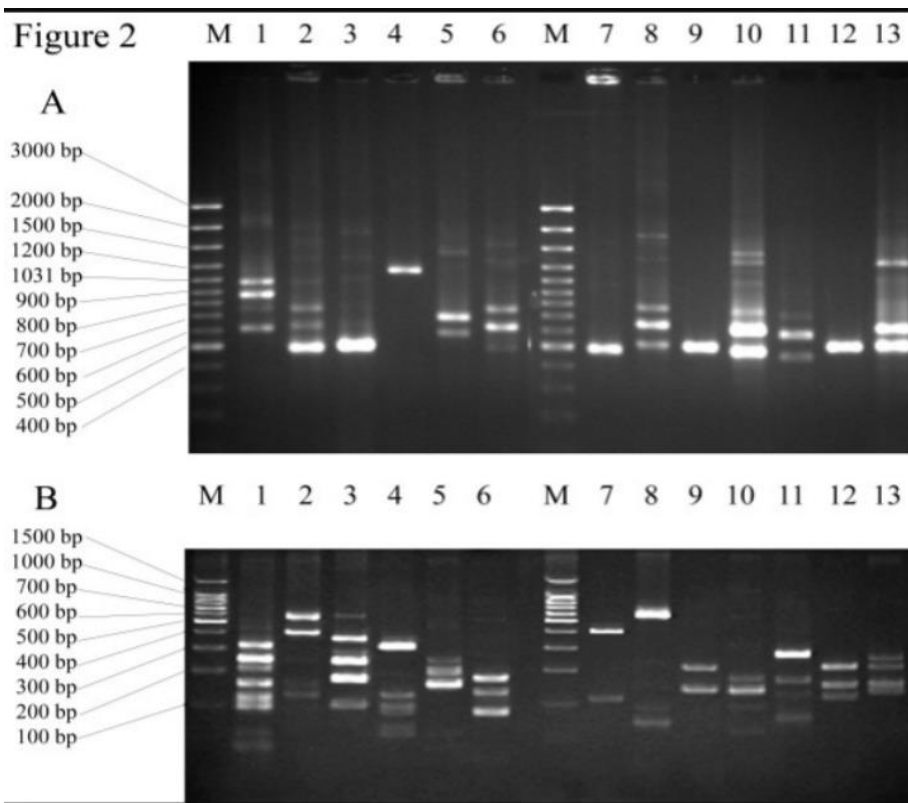
Gelni bo'yash. Elektroforez tamom bo'lganidan so'ng qurilma tok tarmog'idan uziladi, gelli idishcha fotografiya kyuvetasiga olinadi va bromid etidiy (0,5 mkg/ml distillangan suvda) solinadi va 40-60 daqiqa davomida bo'yaladi. So'ng bo'yog'i to'kiladi (albatta rezina qo'lqop bilan ishlash kerak), gel distillangan suvda chayiladi va (shisha ko'zoynak taqqan holda) transilyuminatorida ko'riladi.



4.2-rasm. Gelni bo'yash

Zarur bo'lgan hollarda gel rasmga olinadi. Buning uchun ochiq diafragma sariq yoki sabzi rang filtrlarida rasmga olinadi. Ekspozitsiya empirik tanlanadi (odatda 5-10 daq.). Gel akslanuvchi yoki o'tuvchi ultrabinafsha nurlarida (254 nm) ultrabinafsha nuri manbai tizimiga bog'liq ravishda yoritiladi.





4.3-rasm. Rasmi olingan gel

5-MAVZU: O'SIMLIK HUJAYRA VA TO'QMALARINI O'STIRISH UCHUN OZIQA MUHITLARINI TAYYORLASH

Asbob-uskunalar va materiallar. 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarni saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og'zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1 – 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar.

Mavzuni tushuntirish. O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qmalar o'stiriladigan oziqa muhitda o'simliklarga kerakli hamma makroelementlar: azot, fosfor, kaliy, kaltsiy, oltingugurt, magniy, temir va mikroelementlar: bor, rux, mis, kobalt, manganets, yod, molibden, shuningdek vitaminlar, uglevodlar, karbon suvlar, fitogormonlar bo'lishi kerak. Ba'zi bir oziqa muhitlari tarkibida esa kazein gidrolizati va ayrim aminokislotalar bo'lishi kerak. Bundan tashqari, oziqa muhiti tarkibiga, hujayralarning temirga bo'lgan ehtiyojini turli rN ko'rsatgichlarda qondirish uchun EDTA (etilendiamin-tetrasirka kislotasi) yoki uning natriyli tuzi kiritilishi kerak. Ajratilgan hujayra va to'qmalar o'stiriladigan oziqa muhitning asosiy tarkibiy qismini uglevodlar tashkil qiladi, chunki hujayra va to'qmalar avtotrof oziqlanish qobiliyatiga ega emas. Ko'pigcha uglevod manbai sifatida saharoza yoki glyukozaning 20-40 g/l eritmasi qo'llaniladi. Uglevodli oziqa manbai sifatida polisaharidlar ishlatilmaydi, chunki ba'zi to'qmalar, asosan o'smalar faol gidrolitik fermentlarga (amilaza va boshqalar) ega bo'lib, kraxmal

eritmasi bor oziqa muhitlarida o'sishi mumkin. O'sish regulyatorlari hujayralar dedeffrentsirovkasi va hujayra to'qmalari induktsiyasi uchun zarurdir. Shuning uchun kallusli to'qmalar olishda oziqa muhitlari tarkibiga auksin (hujayra dedifferentiatsiyasini yuzaga keltiruvchilar) va sitokinin (dedifferentiatsiyalangan hujayralarning bo'linishini induktsiya-lovchi) kiritish kerak. Poya morfogenizi induktsiyasida oziqa muhiti tarkibida auksinning miqdori kamroq bo'lishi yoki umuman bo'lmasligi mumkin. Ikkala gormonlarga yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik shu hujayralarning gormon ishlab chiqarish qobiliyatiga bog'liq. Auksin manbai sifatida oziqa muhitlarda 2,4 dixlor fenoksisirka kislotasi (2,4-D) 1-10 mg/ml; indolil sirka kislotasi (ISK) 1-30 mg/l; α -naftil sirka kislotasi (NSK) – 0,1-2 mg/l kabilar ishlatiladi. Ko'pincha 2,4-D ishlatiladi. ISK 2,4-D ga nisbatan 30 marta kam faollikka egadir. Kallusning rivojlanishi uchun ko'pincha auksinning yuqori miqdori ishlatiladi, to'qma keyingi qayta ekilganda auksinning miqdori bir necha marta kam bo'lganda ham o'sishda davom etaveradi. Sun'iy oziqa muhitlarida sitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin (0,001-10 mg/l) qo'llaniladi. To'qmalarning o'sishida va organogenez induktsiyasida 6-BAP kinetinga nisbatan yuqori faollikni namoyon qiladi. Ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga adenin kiradi.

Auksin va sitokininlardan tashqari ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga gibberal kislotasi (GK) qo'shiladi. Oziqa muhitida GKning bo'lishi shart bo'lmasa ham, ba'zi hollarda u izolyatsiyalangan to'qmalarning o'sishini tezlashtiradi. Birlamchi kallus induktsiyasini va uning o'sish faoliyatini tezlashtirish uchun oziqa muhitiga o'simlik ekstraktlari yoki sharbatlari qo'shiladi. Kokos suti – kokos yong'ogi suyuq endospermi o'sish tezligini oshirish xususiyatiga ega. Qattiq oziqa muhitni tayyorlashda dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaharid, agar-agardan foydalaniladi. “*Bacto agar*” nomli bakterial agarda keraksiz qo'shimchalarning miqdori kamroq nobud bo'ladi. Bunday agarlarni qattiq oziqa muhit tayyorlashda tozalamasdan ishlatish mumkin. Odatda qattiq oziqa muhiti tayyorlashda 5-7% agardan foydalaniladi. Vaqtdan unumli foydalanish uchun makro-, mikrotuzlar va vitaminlarning eritmaları yuqori miqdorda boshlang'ich eritma holda tayyorlanib, ularni ko'p marta suyultirib ishlatish mumkin. Kontsentrlangan eritmalar muzlatgichda saqlanadi, vitaminli eritmalar minusli haroratda saqlanadi. Makrotuzlar eritmaları 10-20 marta ko'p miqdorda, mikrotuzlar eritmaları 100-1000 marta ko'p miqdorda, vitaminlar eritmaları esa 1000 marta ko'p darajali miqdorda tayyorlanadi. Har xil turlarga mansub o'simliklar hujayralari, to'qmalari va organlarini o'stirishda turli tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Ko'pincha Murasige-Skuga (5.1-jadval), Uayt, Gamborga (V-5) oziqa muhitlari ishlatiladi. Murasige-Skuga oziqa muhitlaridan turli modifikatsiyalar bilan apikal meristemalar o'stirishda va o'simliklarni mikroko'paytirishda foydalanish mumkin.

Ishning borishi. Kartoshka va qulupnayning apikal meristemalarini o'stirish uchun moslashtirilgan (modifikatsiya-langan) Murasige-Skuga oziqa muhitlarini tayyorlash. Oziqa muhitlari tarkibi 4-5 jadvallarga berilgan. Avvalo makro,

mikrotuzlar va vitaminlarning boshlang'ich eritmalarini tayyorlash kerak. Odatda, Murasige va Skuga oziqa muhitlari quyidagi birikmalardan tayyorlanadi.

1. NH_4NO_3 , KNO_3 , KN_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (MgSO_4 ni cho'kmaga tushishini oldini olish uchun, qizdirmasdan oxirida solinadi);
2. CaCl_2 eritmasi;
3. Temir xelati eritmasi (FeSO_4 va Na_2 EDTA eritmasi birgalikda qaynagunga qadar qizdirilganda temir xelati hosil nobud bo'ladi);
4. Mikro elementlar eritmasi.

Boshlang'ich eritmalar uchun kerakli tuzlar miqdori va boshlang'ich eritmalarning oziqa muhit uchun kerakli miqdorlari 5.1-jadvalda keltirilgan.

5.1-jadval

O'simlikning ajratilgan to'qimalarini kulturalash uchun
oziqa muhitlar tarkibi

Oziqa muhiti komponentlari	Kontsentratsiyasi mg/l			
	Murasiga- skuga	Gamborga	Shenka- xildebrandt	Gressxoff- dou
NH_4NO_3	1650	2500	2500	—
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	—	—	300	—
KNO_3	1900	2500	—	1000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	400	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	—	134	—	—
KH_2PO_4	170	—	—	—
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,3	37,3	20,0	37,3
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,95	28,0	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	—	150	—	90,0
H_3BO_3	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,1	0,25
Glitsin	2,0	—	—	2,0
Mezoinozit	100	100	1000	10
Nikotin kislotasi	0,5	1,0	5,0	1,0
Piridoksin –HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Tiamin-HCl	0,1	10,0	5,0	—
2,4-dixlorfenok-sirka kislotasi (2,4-D)	—	2,0	—	—
Kinetin	—	—	0,1	—

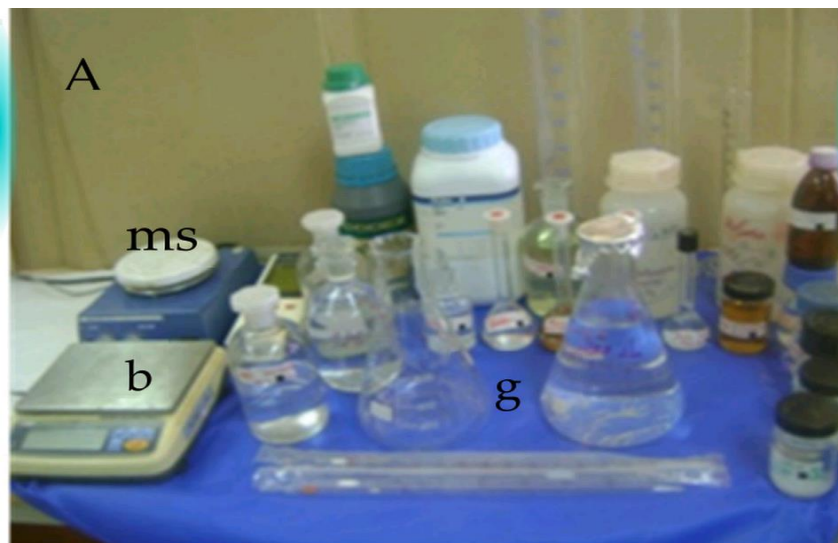
Glutamin	—	—	—	2,0
Sazaroza	30 000	20 000	30 000	20 000



5.1-rasm. Oziqa muhiti tayyorlashda ishlatiladigan preparatlar

Tayyorlangan eritmalarıni og'zi zich yopiladigan idishlarga solib, qog'oz yorliq yopishtirib, muzlatgichda saqlash lozim. Temir xelati to'q rangli shisha idishda saqlanadi. Vitaminlarning o'ta to'yingan eritmaları alohida-alohida tayyorlanadi va pentsillin idishlarida saqlanadi. Eritmalar tayyorlash uchun vitaminlar o'n martalik og'irlikda o'lchanib 10 ml suvda eritiladi. Shu eritmaning 1 ml miqdori 1 litr Murasige-Skuga eritmasini tayyorlash uchun yetarlidir. Endi boshlang'ich eritmalaridan foydalangan holda keyingi darslarda kartoshka va qulupnay apikal meristemalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash kerak. O'lchami 1 litrli kimyoviy stakanga saharoza solib idishning yarmigacha distillangan suv quyib isitiladi, saharoza erigandan so'ng, xona haroratigacha sovitiladi va unga makro, mikrotuzlarning boshlang'ich eritmaları va vitaminlar kerakli miqdorda solinadi (5.1- jadval). Kartoshka apikal meristemasini o'stirish uchun oziqa muhitga aktivlangan ko'mir va regulyatorlar: GK, kinetin, adenin solinadi. Gibberal kislota bir necha tomchi spirtga eritilib, ozgina suv qo'shiladi va oziqa muhitga solinadi. Sitokinlar suvda yaxshi erimaydi, balki ishqor, kislota, etil spirti va etil efiri eritmalarida yaxshi eriydi. Sitokin eritmaları tayyorlash uchun gormonlarga ozgina (3-5 ml) distillangan suv, 0,5-1 ml 0,1 N KOH qo'shib aralashtiriladi va eriguncha isitilib, so'ngra oziqa muhitga solinadi. So'ng albatta eritmaning rN i o'lchanadi, rN ko'rsatgichi 5,5-5,6 atrofida bo'lishi kerak. Eritma rN normaga to'g'ri kelmagan hollarda oziqa muhitga 0,1 M HCl eritmasidan qo'shiladi. Bir vaqtning o'zida boshqa stakanga agar-agar eritiladi. Buning uchun suvda ivitilgan agar (7 g) elektroisitgichda to'liq erigunga qadar qizdiriladi va harorat 50⁰ S ga tushguncha saqlab turiladi. So'ng agarni, tuzlar, vitaminlar va saxaroza bilan birga idishga solib, eritmaning hajmini suv bilan 1

litrga yetkazish kerak. Oziqa muhitini probirkalarga solib (taxminan 1/3 hajmda), probirkalar og'zi paxta probkalar bilan yopiladi. Oziqa muhitlari avtoklavda sterillanishi kerak.



5.2-rasm. Oziqa muhiti tayyorlashda ishlatiladigan asbob va idishlar

6-MAVZU: BIOTYEXNOLOGIYA DA STRYEILLASH USULLARI

Asbob-uskunalar va materiallar. Petri likopchalari (3 dona, bittasi filtr qog'ozi), 300-500 ml kimyoviy stakanlar (2 dona), 1 l distillangan suv solingan kolba, Murasige-Skuga oziqa solingan, gormon qo'shilmagan va gormon qo'shilgan (2,4-D-2, kinetin-0,2 mg/l), oziqa muhitlari, pentsitlar, skalpellar (2 dona), kraft qog'oz, selofan, yo'g'on ip, qaychi va filtr qog'oz.

Mavzuni tushuntirish. Ajratib olingan to'qimalar bilan ishlashni asosiy sharti – sterillikka qat'iy rioya qilishdir. Tarkibi boy bo'lgan oziqa muhiti mikroorganizmlarni rivojlanishi uchun ham juda yaxshi substrat hisoblanadi, o'simliklardan ajratib olingan fragmentlar (eksplantlar) oziqa muhiti bilan aralashtirilganda mikroorganizmlar ta'siriga tez uchraydilar. Shuning uchun ham eksplantni ham, oziqa muhitini ham sterillash kerak.

Ajratilgan hujayralar va to'qimalar bilan qilinadigan barcha nozik ishlar (manipulyatsiya) aseptik sharoitda (laminar-bokslarda) sterillangan uskunalar yordamida bajariladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash kerak, ayniqsa harorat va namlik o'zgarganda, chunki probirkalarni paxta-bintdan tayyorlangan tiqinchalari nam-lanadi va undan mikroorganizmlar oson o'tadi.

Eksplantni sterillanishi, shuningdek urug'lar 5-20 daqiqa davomida sterillovchi eritmada ushlab turib, keyin esa steril suv bilan yuvib tashlash orqali amalga oshiriladi. Sterillanish davri eksplantni harakteriga hamda eritmani sterilizatsiya qilish xususiyatiga bog'liq. Odatda urug' 10-20 daqiqa, vegetativ qismlar esa 5-10 daqiqa davomida sterillanadi. Sterillovchi eritmalar 6.1-jadvalda ko'rsatilgan.

Eksplant olinmoqchi bo'lgan o'simlik organi, dastlab sovunli suv bilan shetkalar yordamida yaxshilab yuviladi va distillangan suv bilan chayib tashlanadi, keyin esa bir necha sekund davomida 70 % li etanolga botirib olinadi. Urug'lar spirtida 1-2 daqiqa ushlab turiladi. To'qimalarga spirt bilan ishlov berish, uni sterillash xossasidan tashqari, asosiy sterillovchi eritmani ta'sirini kuchaytirishi bilan ham bog'liq.

Sterillashdan keyin o'simlik ob'ektlari sterillangan suv bilan tozalab yuvib tashlanishi kerak. Sirtqi sterillash eksplantni faqat tashqi infektsiyadan ozod qiladi. Agar eksplant to'qimalari ichki infektsiyaga ega bo'lsalar, ularga antibiotiklar bilan ishlov berishga to'g'ri keladi. Ayniqsa, ichki infektsiyaga yirik tomirli tropik va subtropik o'simliklar boy bo'lishadi. Kulturalarni zamburug'lar yoki bakteriyalar bilan ifloslanishi ekilgandan 1-14 kun o'tganda ko'zga tashlanadi. Yorum'lik xonasidagi havoni ifloslanishdan saqlash uchun ifloslangan kulturani darhol yo'qotish kerak.

6.1-jadval

Dastlabki o'simlik materiallarini sterillash
(R.G.Butenka, 1990 yil)

Manba	Sterilizatsiya vaqti, daqiqa			
	0,1% li diatsid	0,1% li kumush xlorid (AgCl ₂)	5-9% li gipoxloritlar (Na, Ca)	10-12% li vodorod peroksidi (H ₂ O ₂)
Urug'lar				
quruq	15-2	10-15	15-20	12-15
namlangan	6-10	6-8	10-15	6-8
To'qimalar				
sutli ildiz, ildizmeva	20-3	15-25	15-20	-
daraxtlangan poya	20-4	20-25	20-25	-
barglar	1-3	1-3	3-6	3-5
apekslar	1-10	1-7	3-15	2-7

Oziqa muhitlarini avtoklavda 120⁰S da 0.75 – 1,0 atm. bosimda 20 daqiqa davomida sterilizatsiya qilinadi. Agar oziqa muhiti tarkibiga yuqori haroratda parchalanadigan moddalar kirs, ular alohida sovuq sterillanadi. Ularni teshiklar diametri 0,22–0,45 mkm bo'lgan bakterial filtrlardan o'tkaziladi va avtoklavdan chiqqan oziqa muhitini 40⁰S gacha sovutib, keyin ularni aralashtiriladi. Oldindan folgaga (alyumin qog'oi) yoki o'raydigan qog'ozga o'ralgan idishlarni quruq issiq bilan quritgich shkaflarida 160⁰S da ikki soat davomida sterillanadi.

Laminar-boksni sterillash. Laminar-boks ajratilgan to'qma, hujayralarni o'stirish va boshqa steril sharoitni talab etuvchi ishlarni bajarish uchun mo'ljallangan. Bu yerdan steril sharoit laminar-boksga o'rnatilgan havo

o'tkazadigan bakterial filtrlar yordamida amalga oshiriladi. Ish boshlanishidan 2 soat oldin labinar-boksdagi ultrabinafsha nurli bakteritsid lampasi yoqib qo'yiladi. Laminar-boksga lampa yoqmasdan spirt lampasini, gugurtni, 96% li spirt solingan chinni stakan, steril suv, binokulyar lupa kiritib qo'yiladi. Laminarni ichini, lupani, spirt lampasini, oziqa solingan probirka spirtini 70% li spirt bilan aritiladi.

Ishlaydigan odam qo'lini sovun bilan yuvib, spirt bilan artadi, boshga sochni yopib turadigan selofan paket va steril xalat kiyishi kerak.

Idishlarni sterillash. Idishlar avval sovunli poroshok va xrompik (kaliy xromli sulfat kislotalari) eritmasi bilan yaxshilab yuviladi. Yuvilgan idishlar distillangan suvda chayilgandan so'ng quritish shkafida quritiladi. Sterillangan idishlarni qayta ifloslanishiga yo'l qo'ymaslik uchun idishlar qog'ozga o'raladi.

So'ngra idishlar quritish shakafiga joylashtirilib 2 soat davomida 160° S haroratda saqlanadi. Bu davr ichida faqat bakteriyalar emas balki ularning sporalari ham nobud bo'ladi. Harorat 175° S dan yuqori bo'lmasligi kerak, chunki paxtadan yasalgan probkalar kuyib qo'ng'ir tusga kiradi, idishlar o'ralgan qog'oz esa kuyib maydalanib ketadi. Sterillash uchun avtoklavdan foydalanish bu jarayonni yanada sifatli amalga oshirishga imkon beradi, chunki yuqori haroratli par ta'sirida mikroorganizmlar ham ularning sporalari ham nobud bo'ladi. Idishlar folgaga yoki qog'ozga (qog'oz ustidan selofan) o'raladi. Pipetkalarini tepadagi teshigiga paxta tiqilib qog'ozga o'raladi va bu idishlar 2 atmosfera bosimda 25-30 daqiqa davomida avtoklavda sterillanadi.

Asbob uskunalarni sterillash. Uskunalarni (skalpel-larni, pintsetlarni, ignalarni va boshqalarni) oldindan sterillash 140° S haroratda quritish shkaflarida 2 soat davomida quruq par yordamida amalga oshiriladi shpirlar va qaychilarni qaynatish qulay. Metal uskunalarni avtoklavda sterillash tavsiya etilmaydi, chunki ular zanglashi va o'tmaslanib qolishi mumkin. Ish boshlanishidan oldin uskunalarni (skalpellarni, pintset-larni, ignalarni) laminarda chinni idishdagi 96% spirtga botirib spirt lampasi alangasida yana bir bor sterillanadi. So'ngra uskunalar oldindan sterillanib qo'yilgan qog'oz varaqlari orasiga joylashtirilib qo'yiladi. Bu steril uskunalar bir marta ishlatilishi lozim. Ikkinchi bor ishlatiladigan bo'lsa, u holda uskunalarni yana spirt yordamida kuydiriladi. Juda ingichka uskunalar (igna, lezviylar) kuydirilganda o'z xususiyati-ni yo'qotganligi sababli ular faqat spirtga solish yo'li bilan sterillanadi.

Materillarni sterillash. Paxta, doka, paxtadan yasalgan probkalar, filtr qog'ozlar, xalatlar, rumollar, avtoklavda 2 atmosfera bosim ostida 25-30 daqiqa davomida sterillanadi.

O'simlik materiallarini sterillash. Urug'larni, o'simlik-ni turli a'zolaridan olingan uchki meristema va o'simlik to'qmalarini sterillash uchun quyidagi eritmalar ishlatiladi: 0,1% li sulema, 0,1% li diatsid, 13-20% li perigidrol, 3-6 li xloramin, 10% li natriy yoki kaltsiy gipoxlorid ishlatiladi.

Diatsidni tayyorlash uchun 300 ml issiq suvda 330 mg etanolmerkuri xlorid va 660 mg setilpiridin xloridni har birini alohida eritib olinadi hamda ularni qo'shib suyuqlik hajmi 1l ga yetkaziladi, so'ngra bir necha tomchi detergent sifatida tvin-80 qo'shib, mahkam yopilgan kolbada qorong'i joyda saqlanadi.

O'simlik to'qmasi sterillashdan oldin tozalanadi. Ildiz-mevalar, tuganaklar, o'simlikning seret poyalari oqib turgan iliq suvda mætka yordamida sovunlab yaxshilab yuviladi. Ildiz va ildizmevalarning po'sti archiladi. Barglarning po'sti distillan-gan suv bilan yuvilib, bir necha sekundga (urug'lar 1-2 daqiqaga) 70% li spirtga botirib olinadi. To'qmalarga spirt bilan ishlov berish sterillashni samarasini oshiradi. So'ngra o'simli ob'ekti ko'p marta steril suv bilan yuvib tashlanadi. Pergidrolni fasol, lyupin, kungaboqar (po'sti olingan) ni sterillash uchun, sulemani esa pomidor, qovoq va boshqalar uchun tavsiya etiladi. Sulemada urug'lar 10-15 daqiqa, pergidrolida 30 daqiqa ushlab turilishi kerak.

Meristema va to'qma bo'laklarini sterillash uchun esa ikki barobar kam vaqt talab etiladi. Tukli g'o'za chigitini sulfat kislotasiga 5 daqiqa botirib turishi kerak. Perigidrol bilan ishlov berilganda urug'larni yuvish osonroq. Sulema va diatsid bilan sterillangan urug'lar 5-6 marta steril suv bilan yuvib tashlanadi.

Pomidor, olma, qovoq, dukaklilar va tamaki urug'lari etli, yog'ochli va qattiq po'st bilan qoplanganligi sababli ular sovunli suv va bir necha marta spirt bilan yaxshilab yuvib tashlanadi. So'ngra steril sharoitda mevalar qirqiladi. Steril pintset bilan urug'lar steril Petri likobchalariga undirish uchun joylashtiriladi.

Oziqa muhitlarini sterillash. Oziqa muhiti quyilgan probirkalarning og'zi probka bilan maxkam berkitiladi va ustidan selofan bilan yopiladi hamda 120⁰ S haroratda 1 atmosfera bosim ostida 20 daqiqa davomida sterillanadi.

Sovuq sterillash. Yuqori haroratga chidamsiz bo'lgan organik suyuqliklarni bakteriyalardan xalos qilish ularni teshikchalarning diametri 0,45 mkm bo'lgan bakterial filtrlardan o'tkaziladi.

Ishning borishi. Steril o'simta va kallus to'qmalarini olish bo'yicha qilinadigan ishlarni amalga oshirish uchun asbob-uskuna, idish va oziqa muhitlarni sterillash zarur.

1. Petri likobchalari (2 dona), 300-500 ml li kimyoviy stakanlar (2 dona), qalin qog'ozga o'ralib, quritish shkafida 160⁰ S haroratda 2 soat davomida sterillanadi.

2. Skalpel va pintsetlarni qalin qog'ozga o'rab yuqoridagi sharoitda quritish shkafida sterillanadi.

3. Qog'ozdan qilingan matraschalar va distillangan suv solingan kolba avtoklavda sterillanadi. Buning uchun matraschalar qalin qog'ozga va sirtidan selofanga o'raladi. Kolbani esa og'zi probka bilan berkitilib, ustidan qog'oz va selofan bilan o'raladi. Bular 2 atmosfera bosimda 30 daqiqa davomida avtoklavda sterillanadi.

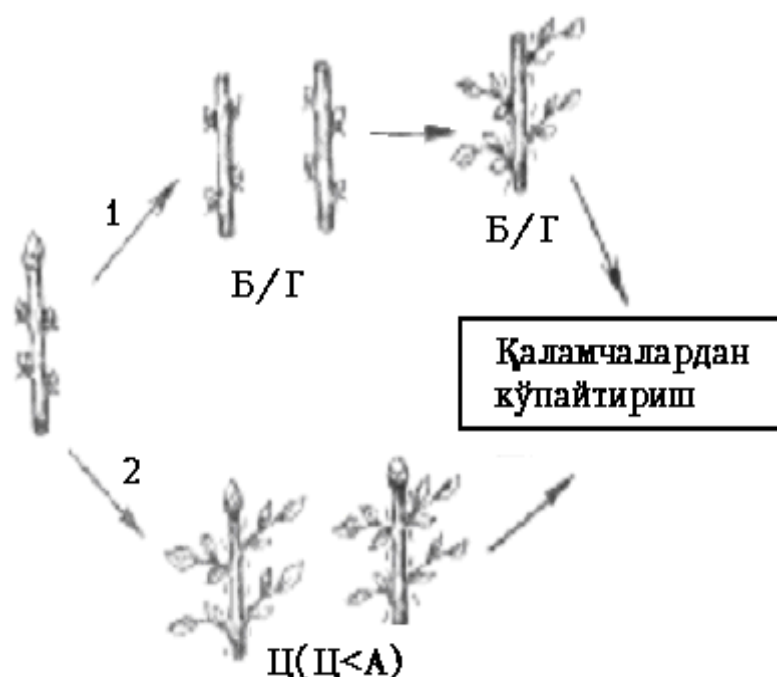
4. Og'zi probka bilan berkitilgan oziqa muhit solingan probirkalar 1 atmosfera bosimda 20 daqiqa davomida avtoklavda sterillanadi.

7-MAVZU: KARTOSHKANING APIKAL MYERISTYEMASINI AJRATISH VA O'STIRISH

Asbob-uskunalar va materiallar. Kartoshka tunganagi, binokulyar lupa, skalpellar, ajratish ninalari, pakki, ushlagichli qisqichlar va steril oziqa muhitli probirkalar.

Mavzuni tushuntirish. O'simliklarni klonal mikro-ko'paytirishda ishlatiladigan asosiy usul – bu o'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish bo'lib, u apikal ustivorlikni olib tashlashga asoslangan (7.1-rasm). Bunga ikki yo'l bilan erishish mumkin:

- *poyani tepa meristemasini olib tashlash va keyin navdani in vitro sharoitida gormon saqlamagan muhitda mikroqalamchalash;*
- *oziqa muhitiga sitokinin ta'siriga ega bo'lgan moddalar qo'shish (navdani o'sishini kuchaytirish).*



7.1-rasm. O'simliklarni bor meristemalarini faollashtirish usuli bilan ko'paytirish chizmasi:

1-*tepa meristemasini yulib tashlash yo'li;*

2-*oziqa muhitiga sitokininlar qo'shish yo'li.*

B/G – *gormonsiz muhit; S-tsitokininlar, A-auksinlar.*

Odatda, sitokinin sifatida – 6–benzilaminopurin (BAP), 6–furfurilaminopurin (kinetin), hamda 2-izopenteniladenin (2ip) va zeatin ishlatiladi.

Shunday yo'l bilan olingan navdalarni birlamchi ona eksplantidan ajratiladi va qaytadan yangi tayyorlangan oziqa muhitida o'stiriladi. Hozirgi vaqtda bu usul qishloq xo'jalik o'simliklarini virussiz ekuv materiallarini tayyorlashda keng qo'llaniladi. Shu yo'l bilan qand lavlagi, tamaki, topinambur, pomidor, kartoshka, bodring, qalampir, oshqovoq va boshqa o'simliklarni sog'lomlashtirilgan ko'chatlarini tayyorlash yo'lga qo'yilgan.

Kartoshka o'simligini klonal mikroko'paytirish texnologiyasi sanoat darajasiga ko'tarilgan. O'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni faollashtirish usulini ishlatilishi bir yilda bir dona kartoshka meristemasidan 10^5 dona o'simlik yetishtirish imkonini beradi, bunday texnologiya probirkada mikro tuganaklar - qimmatbaho virussiz urug'lik yaratishni o'z oldiga maqsad qilib qo'ygan.

Izolyatsiyalangan apikal meristemalar kulturasi, o'simlik-larni mikroklonal ko'paytirish uchun ekiladigan virussiz materiallar olishda foydalaniladi. Virussiz material olish uslubi kasal o'simlikning o'sish nuqtasiga yo'nalishi bilan viruslarning miqdori kamayishiga asoslangan.

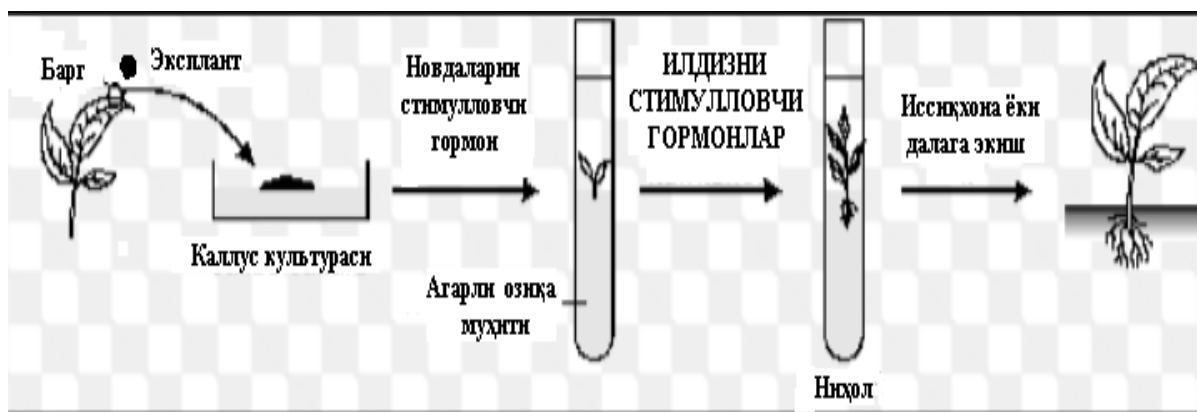
Odatda apikal meristema viruslardan umuman holidir. Xususan viruslardan holi apikal meristema faol bo'linuvchan, uzunligi 0,1 mm, eni 0,25 mm bo'lgan konus shaklidagi hujayra-lardan iboratdir. Asosan meristemani jarohatlarsiz bo'laklarga ajratish qiyin bo'lganligi sababli, uni 1-2 barg primordiyalar (o'lchami 100-250 mkm apekslar) bilan ajratib olinadi. Kartoshkaning faol sog'lomlanishini oshirish uchun yuqori meristemalar uslubi termoterapeya va kimyoterapeya bilan birga-likda olib boriladi. Termoterapiya usuli kartoshka tuganak-lariga viruslarni infaaktivatsiyaga uchratuvchi issiqlik bilan ishlov berishga asoslanga. Yuqori meristemalar usulini kimyoterapeya bilan birgalikda olib borish oziqa muhitlariga viruslarni ingibirlovchi moddalar qo'shilishiga asoslangan. Apikal meristemalardan oziqa muhitda apikal kartoshkaning virussiz o'simliklari olinadi, ular ko'paytirilib, issiqxonalarga qayta ekiladi va virussiz tuganaklar olinadi. Sog'lomlashtirilgan materialni tez ko'paytirish uchun *in vitro* olingan tuganaklardan ham foydalanish mumkin.

Ishning borishi. Kartoshka tuganaklari 4-8⁰S da saqlanadi, so'ng qorong'ulikda 20-22⁰S haroratda o'stiriladi. Meristema-larni bo'laklarga ajratish ishlari bakteriotsid lampalar bilan sterillangan laminar bokslarda amalga oshiriladi. Ishni boshlashdan avval ish joylari, stol, binokulyar lupalar va probirkali shtativlar spirt bilan artib chiqiladi. Bo'laklarga ajratish uchun ishlatiladigan asboblari (pintsetlar, skalpel va ignalar) har bir ajratishdan so'ng sterillanadi, buning uchun asboblari spirtga solinib, spirtovka alangasiga tutiladi. Nihol-lar meristemalarga ajratishdan oldin 3-5 daqiqa davomida 0,1% li diotsid eritmasida sterillanadi. Buning uchun nihollar kimyoviy stakanga solinib ustidan diotsid eritmasi quyiladi. Keyin uch marta steril suvda chayiladi. Shuningdek 1-6% li kaltsiy yoki natriy gipoxlorid eritmasida yoki 0,1% li sulema eritmasida ham sterillash mumkin. Sterillangan nihollar Petri likobchasiga joylanadi va qurib qolmasligi uchun bir necha tomchi sterillangan suv solinadi. Niholni bo'laklarga ajratishdan oldin, bargni yuqori va yon meristemalarni asta-sekinlik bilan yalang'ochlagan holda uning uchidan yopqich barglar olib tashlanadi. Bu ishni binokulyar mikroskop ostida ajratish ignasi yordamida bajarish mumkin. 100-250 mk kattalikdagi boshlang'ich bargsiz meristema ushlagichga qistirilgan oddiy ingichka nina bilan bo'laklarga bo'linadi. O'sish nuqtasining yon va yuqori meristemalari bo'laklarga ajratiladi. Har bir bargni yulishda alohida sterillangan asbobdan foydalanish kerak.



7.2-rasm. Undirilgan kartoshka tuganagi

Ajratilgan meristema ninaning uchida probirkadagi oziqa muhit yuzasiga joylashtiriladi. Probirka og'zi paxta tiqini spirtovka alangasida sterillanib yopiladi va shtativga joylanadi. Shtativ probirkalar bilan to'lgandan so'ng oziqa muhit qurib qolmasligi uchun selofan qalpoqcha bilan yopib qo'yiladi. Oziqa muhiti sifatida avvaldan 1 mashg'ulot uchun tayyorlanib, avtoklavda 20 daqiqa 1 atm. bosimda sterillangan Murasige-Skuga oziqa muhiti ishlatiladi. Oradan 2,3,4 hafta o'tgandan so'ng meristemadan nihollarning rivojlanishi kuzatiladi va shu jarayon bosqichlari chizib olinadi.



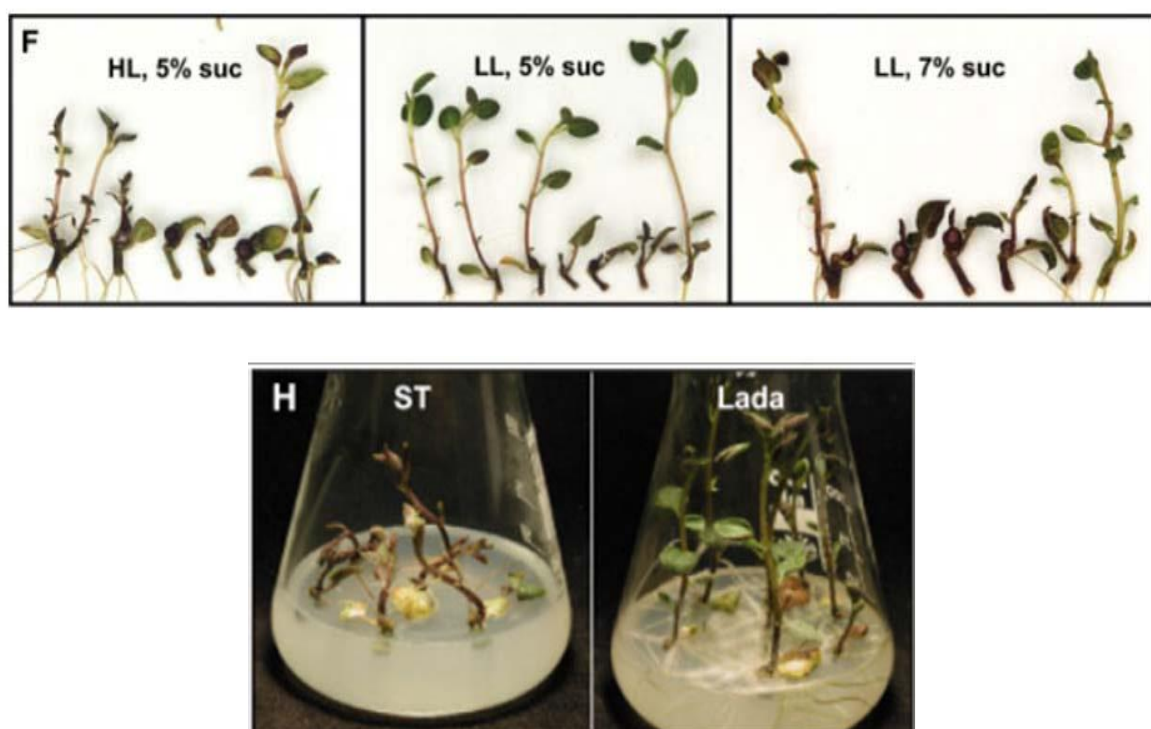
7.3-rasm. Nihollarni rivojlanishiga gormonlarning ta'siri

8-MAVZU: KARTOSHKA NIHOLLARINI QALAMCHALAB MIKROKO'PAYTIRISH

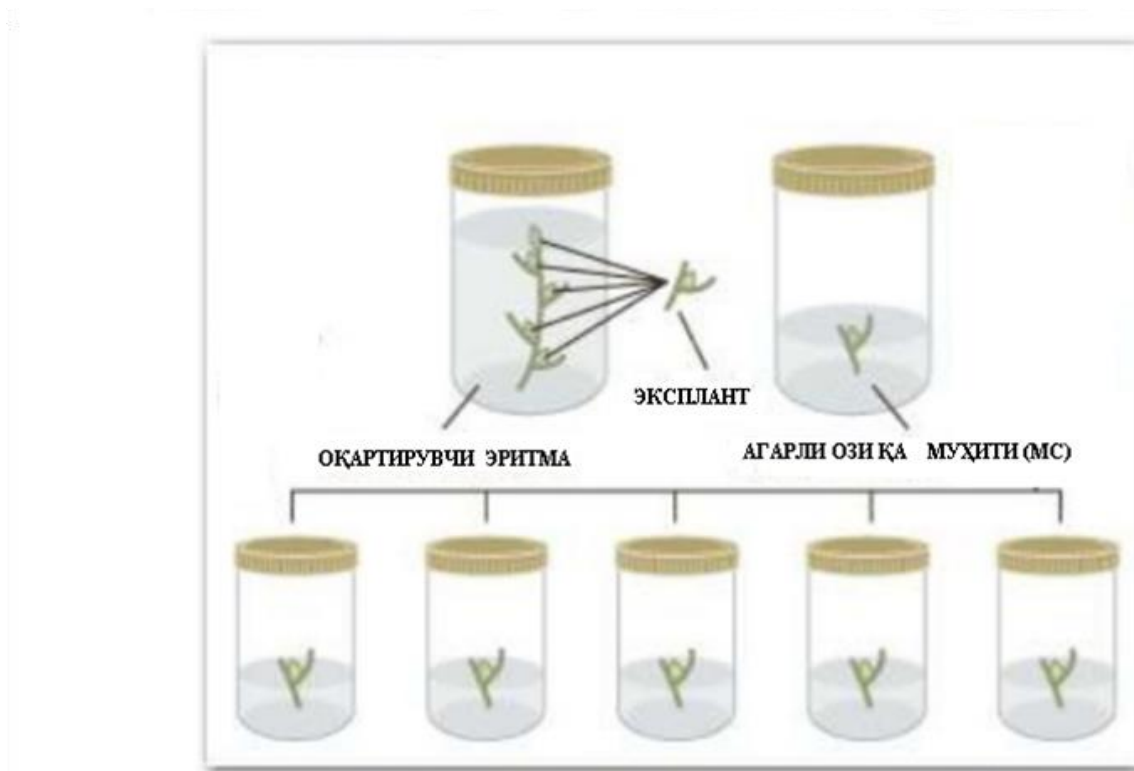
Asbob-uskunalar va materiallar: Kartoshkaning probirkadagi o'simligi, modifikatsiyalangan va sterillangan Murasige-Skuga oziqa muhitli probirkalar, steril skalpel, pintsetlar va Petri likobchalari.

Mavzuni tushuntirish. Apikal meristemalardan olingan virussiz kartoshka o'simliklari sun'iy oziqa muhitlarida ko'paytirilishi kerak. Kartoshkani ko'paytirishning keng tarqalgan usuli bu probirkadagi kulturada o'simlikning qalamchalanishidir. Buning uchun o'simlik probirkadan olinadi, har birida bargli poya va qo'ltiq kurtak bo'lgan bo'laklarga bo'linadi. Har bir qalamcha Murasige-Skuga oziqa muhiti solingan probirkalarga o'tkaziladi. Qalamcha yordamida ko'paytirish novdaning o'sish nuqtasini olib tashlash yo'li bilan apikal ustunlikni kamaytirib, yon meristemalarning faollanishiga asoslangan. Qalamchani yon kurtagini oziqa muhitiga o'tkazilganda undan novda o'sib chiqadi. Keyingi qalamchalash har 14-21 kundan so'ng olib boriladi. Bitta o'simlikdan 5-8 qalamcha olinadi. 3 oy mobaynida qalamchalash yo'li bilan 3-5 ming o'simlik, 7 oy ichida esa ko'payish koeffitsienti 1:30-40 mingga yetkazish mumkin.

Ishning borishi. Laminarda probirkadagi kartoshka o'simligi Petri likobchasiga olinadi, har birida bargi va qo'ltiq kurtagi bo'lgan poya bo'laklariga bo'linadi. Barg tagidagi poya qismi barg ustidagi poya qismidan 2-3 marta kichik bo'lishi kerak. Ish davomida sterillikka katta ahamiyat berilishi lozim. Qalamchalarni modifikatsiyalangan Murasige-Skuga oziqa muhitli probirkalarga olib ekiladi. Bunda mikroorganizmlar tushishining oldini olish uchun probirka og'zi va paxta tiqinlar spirtovka alangasida sterillanadi. Qalamchali probirkalar rasmi chizib olinadi va yorug'lik kamerasiga qo'yiladi. Novdaning rivojlanishi 7-14 kundan so'ng kuzatiladi va o'simlikning rivojlanish bosqichlari chizib boriladi.



8.1-rasm. Qalamchalab mikroko'paytirilgan nihollar



8.2-rasm. O'simlik eksplantlaridan nihollar olish

9-MAVZU: KARTOSH KADAN MIKRO TUGANAKLAR OLISH

Asbob uskunalar va materiallar. Probirkada steril kartoshka o'simligi, steril pintset, skalpel, matrascha yoki Petri likobchasi, spirtovka, stakanda spirt, kartoshka kallusini olish va o'stirish uchun steril oziqa muhitli kolba yoki probirka, parafilm varag'i, qaychi va gugurt.

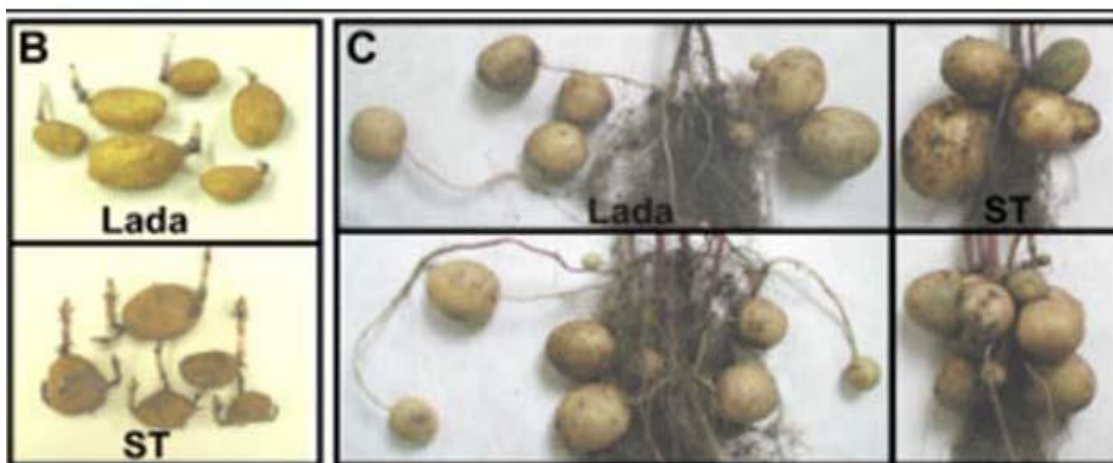
Mavzuni tushuntirish. Sog'lomlashtirib ekiladigan materiallarni ko'paytirishning keyingi bosqichi, ya'ni issiqxonalarda olib boriladigan bosqichiga o'tiladi. Bunda probirkadagi o'simliklar agarli oziqa muhiti bilan birgalikda tuproqli tuvaklarga ekiladi. O'simliklar 3-7 kuni Knop eritmasi Murasige-Skuga bo'yicha mikroelementlar bilan: 5 ml boshlang'ich eritmaning 1x10 konsentratsiyali 1 l suvdagi eritmasi bilan oziqlantiriladi. 7-10 kundan so'ng o'simliklar virussiz tuganaklar olish uchun issiqxonalarga doimiy joyiga o'tkaziladi va olingan hosil keyinchalik ekiladi.

Ishning borishi. Laminarning ichki yuzasi spirt bilan aritiladi. Steril o'simlik solingan probirkani spirt bilan aritib, spirtovka alangasida sterillanadi. Probirkadagi steril o'simlikni steril pintset bilan steril matraschaga olamiz, o'ng qo'lda skalpel, chap qo'lda pintset bo'lishi kerak. Pintset yordamida o'simlikni ushlab turib, skalpel bilan poya qismlarining bo'g'in oralig'idan 5-10 mm uzunlukda kesamiz. Kallus hosil bo'lishi uchun poya eksplantlarining bir necha joyidan skalpel bilan shlib chiqamiz. Oziqa muhitini agari eriguncha qizdiramiz va 37-40° S gacha sovutamiz. Kolba og'zini ochib, spirtovka alangasida qizdirib

olamiz, oziqa muhitini Petri likobchalariga solamiz. Har bir likobchaga taxminan 15-30 ml oziqa muhiti solinadi va 10-15 daqiqa qotiriladi. Bitta Petri likobchasiga 10-20 tacha tirnalgan poya eksplantlari agarli muhit yuzasiga pintset bilan salgina botirib joylanadi, Petri likobchasi qapqog'i bilan yopilib, ikki qavat parafilm bilan qoplanadi va harorati 22-25⁰ S, namligi 70% bo'lgan yorug'liksiz klimatik kameraga joylanadi. Uch haftadan keyin natijasi ko'riladi va hosil bo'lgan **kallus** rasmi chizib olinadi.



9.1-rasm. Hosil bo'lgan kallus to'qimalari





9.2-rasm. Kartoshkadan mikrotuganaklar olish

10-MAVZU: STYERIL O'SIMTALAR O'STIRISH

Asbob-uskunalar va materiallar. Kartoshkaning probirkada o'stirilgan o'simligi, modifikatsiyalangan Murasige-Skuga oziqa muhiti solingan probirkalar, steril skalpellar va Petri likobchalari.

Mavzuni tushuntirish. O'simliklardan ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni yaxshi o'stirish uchun o'stirishning ma'lum shartlariga rioya qilish kerak. Ko'pchilik kallus to'qimalari yorug'likka ehtiyoji yo'q, chunki ularni xloroplastlari bo'lmasdan, geterotrof oziqlanadilar. Ba'zi – bir yashil rangdagi kallus to'qimalar bundan mustasno. Ba'zi bir holatlarda kallus to'qimalar avtotrof oziqlanishiga qobiliyatli emas, ularni doimiy yorug'lik sharoitida o'stiriladi, bu esa muvaffaqiyatli morfogeneza uchun majburiy sharoitdir ko'proq kallus to'qimalar qorong'ilikda saqlanadi.

Morfogenezga aniqlangan to'qimalar yorug'likga o'tkazilib, keyin 1000-4000 lk yorug'likda o'stiriladi. Ajratib olingan meristemalar va ularni mikroko'paytirish ham yorug'likda o'tadi. Bunda yorug'lik 1000–10000 lk bo'lishi kerak va yorug'likni kuchi o'simlikni xususiyatlariga bog'liq. O'stiriladigan ob'ektni foto davrini ham hisobga olish kerak.

O'stiriladigan xonada namlik 60-70% bo'lishi kerak. Undan quruqroq havo oziqa muhitini quritib yuboradi, agar probirka paxtali tiqin bilan berkitilgan bo'lsa, oziqa moddalarini kontsentratsiyasi o'zgarib, o'stirish sharoiti buziladi.

Ko'pchilik to'qimalarni o'stirish uchun mo'tadil harorat 25-26⁰S. Agar tropik o'simliklarni to'qimalari bo'lsa 29-30⁰S da o'stiriladi. Morfogenez induksiya qilinganda harorat 18-20⁰S gacha tushiriladi. Odatda klimatik kameralardan foydalaniladi.

Steril o'simtalarni ko'paytirishning keng tarqalgan usul-laridan biri probirkada qalamchalab ko'paytirish hisoblanadi. Buning uchun o'simlik bo'laklarga bo'linadi. Qalamchalar Murasige-Skuga oziqa muhiti solingan probirkalarga ko'chirib ekiladi. Qalamchalar orqali ko'paytirish apikal meristemani dominantligini qaytarib turishga va uchki poyani olib tashlab, yon meristemalarni faollashtirishga asoslangan. Oziqa muhitga joylashtirilgan bulardan (qalamchalardan) poyalar rivojlanadi.

Qalamchalash 14-21 kun oralatib amalga oshiriladi. 1 ta o'simlikdan 5-8 ta qalamcha olish mumkin. 2-3 oyda bu ko'rsatgich 3-5 mingtani tashkil etadi. 7 oy davomida esa 30-40 mingtaga yetadi.

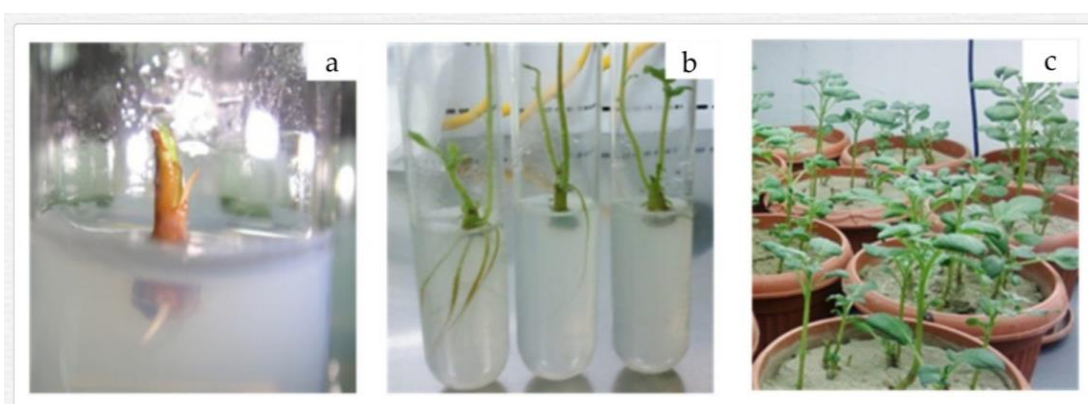
Bundan keyin sog'lomlashtirilgan ekish materialini ko'paytirishning keyingi bosqichiga o'tiladi, bu jarayon issiqxona sharoitida amalga oshiriladi. Probirkadagi o'simlik agarli oziqa muhiti bilan birgalikda tuproq solingan tuvaklarga ekiladi. Ekishdan oldin nam tuproqda probirka yordamida chuqurcha hosil qilinadi. 3-7 kun o'tkach o'simlik Murasige-Skuga bo'yicha mikroelementlar qo'shilgan Knop eritmasi bilan oziqlantiriladi (1 suvga 1x100 kontsentratsiyadagi eritmadan 5 ml qo'shiladi). 7-10 kundan so'ng o'simlik issiqxonadagi doimiy joyiga ko'chiriladi. Bu yerda dalaga ekish uchun virusdan xoli bo'lgan o'simliklar olinadi.

Ishning borishi. Probirkadagi kartoshka o'simligi laminar ichida olinadi, Petri likobchasiga qo'yib bo'laklarga bo'linadi (har bir bo'lakda barg va qo'ltiq kurtagi bo'lishi kerak), bunda barg ustidagi poya uzunligi, barg ostidagi poya uzunligidan 2-3 marta kalta bo'lishi kerak. Steril sharoitda qat'iy rioya qilish zarur. Qalamchalar Murasige-Skuga oziqasi bor probirkalarga ekiladi. Mikroorganizmlarni probirkaga o'tishini oldini olish uchun ularning og'zi va probkasi spirt lampasi alangasida kuydiriladi. Qalamchali probirkani rasmi chizilgandan so'ng yorug'lik kamerasiga qo'yiladi. 7 va 10 kunda poyani rivojlanishi kuzatiladi. Qalamchadan o'sib va rivojlanayotgan o'simlikning o'sish bosqichlarini rasmi chizib boriladi.



10.1-rasm. O'simliklardan olingan steril o'simtalar





10.2-rasm. In vitro usulida olingan mikronihollar

11-MAVZU: FITORYeGULYaTORLAR YoRDAMIDA KARTOShKA TUGANAKLARINI TINIM HOLATIGA O'TISHi VA UYG'ONISHINI BOSHQARISH

Asbob-uskunalar va materiallar. Kartoshka tuganaklari, giberellin, 2-xloretilfosfon kislotasi yoki uning asosidagi preparat, etil spirti, eritma tayyorlaydigan va tuganakni ivitadigan idish, termostat, qog'oz paketlar, eritmalarni o'lchash uchun o'lchov idishlari, lineyka va millimetr qog'ozi.

Mavzuni tushuntirish. Fitogormonlar hujayra membrana-sini, xususan hujayrani, hujayra devoridan ajratib turuvchi plazmalemma membranasini o'tkazivchanligini o'zgartirishi mumkin. Plazmalemma turli xil ionlarni membrana o'tkazadigan oqsilga ega. Hujayra devorlari petin moddasi va gelitsellyuza orqali o'zaro birikkan selluloza bog'lamidan iborat. Ular hujarayga qatqlik baxsh etadigan karkas vazifasini bajarib, uni cho'zilishidan saqlaydi. Shu vaqtning o'zida fitogomonlar transport oqsilini faoliyatini jadalashtirib, hujayra devorlariga egiluvchanlik beruvchi hujayra protonlarini (N^+) hujara devoriga o'tkazadi. Fitogormonlar – auksin va gibberel-lin ta'sirida N^+ ionlarini hujayradan chiqishi tezlashsa, abstsiz kislotasi va etilen ta'sirida esa bu jarayon sekinlashadi. Bu esa

hujayra devorlarida rN muhitini o'zarishiga olib keladi. Protonlarni hujayra devorlari tomoniga chiqarilishi undagi muhitni kislotali bo'lishiga olib keladi, natijada pektin moddasi gidrolizlanadi va sellyulozaning fibrill bog'larini zaiflanishiga sababchi nobud bo'ladi. Bu holat hujayra devorlarini mustahkamliligiga ta'sir etadi, hujayra vakuola-larini turgor bosimi hujayrani cho'zilishiga sababchi nobud bo'ladi.

Respublika sharoitida kartoshkadan mavsum davomida ikki marta hosil olish, ya'ni ertangi va kechki kartoshkani yetishtirish, kechki kartoshka uchun urug'likni topish muammosini yuzaga keltiradi. Chunki oldingi yili tayyorlangan urug'likni kechki kartoshka ekiladigan vaqtgacha sifatini yo'qotmasdan saqlash juda qiyin masala. Ertangi kartoshkadan esa urug'lik uchun ishlatishning iloji yo'q. Bu kartoshka tuganaklari chuqur tinim davrida bo'lganligi sababli ular unib chiqmaydi, ya'ni tuganaklar unishi uchun tinim davrini o'tashlari kerak. Kartoshkani tinim davridan chiqarish uchun tuganaklarga gibberellin bilan ishlov berish zarur. Bu holat tuganaklardagi o'stiruvchi fitogormonlar faoliyatini jadallashtiradi.

Kartoshka tuganaklarini saqlash vaqtida yo'qotilishiga sabab, ko'p hollarda ularni tinim davriadn chiqib ketishidir. Mazkur jarayonda o'sishni ingibitorlovchi fitogormon – abstsiz kislotasining faoliyatini buzilishi sababchi nobud bo'ladi. Kartoshka tuganaklariga etilen hosilalari bilan ishlov berish abstsiz kislotasining biosintezini jadallashtiradi, bu esa tuganaklarni uzoqroq saqlanishiga olib keladi.

Ishning borishi. Tegishli kontsentratsiyadagi gibberellin va 2-xloretilfosfon kislotasining eritmasi tayyorlanadi. Kartoshka tuganaklari shu eritmalarda 10-20 daqiqa ivitiladi va filtr qog'oz yordamida ajratilib, quritilgandan so'ng qog'oz paketlarga joylashtiriladi hamda paket sirtiga tajriba varianti yozilgandan keyin 26-29° S haroratli termostatga joylashtiriladi. 14 sutka o'tkach unib chiqqan ko'chatlar hisoblanib chiqiladi. Olingan ma'lumotlar asosida preparat-ninig tuganaklarni tinim daridan chiqaradigan va o'sishini jadallashtiradigan optimal konsentratsiyasi aniqlanadi.

12- MAVZU: TUGANAK BAKTYeRIYaLARNI SOF KULTURASINI OLISH VA ULAR ASOSIDA PRYePARATLAR TAYYoRLASH

Asbob-uskunalar va materiallar. 10 g no'xat yoki loviya, steril kolbalar, 2 g agar-agar, Petri likobchalari, dukkakli o'simlik tuganaklari, termostat, mikroskop va Fuksin bo'yog'i.

Mavzuni tushuntirish. Havodagi molekulyar azotning biologik usulda tuproqqa yig'ilishi qishloq xo'jaligida katta ahamiyatga ega. Atmosfera havosining 78% ni erkin azot tashkil etadi. Atmosferadagi azot zahirasidan o'simlik to'liq foydalana- olmaydi. Havodagi azotni o'zlashtirib, uni o'simlik oziqlanish holiga keltira oladigan alohida mikroblar bor. Bu mikroblar azotfiksatorlar deyiladi. Azotfiksatorlar ikki biologik gruppaga bo'linadi.

1. *Simbiotik azotfiksatorlar*
2. *Erkin holda yashovchi azotfiksatorlar*

Simbiotik azotfiksatorlar tuganak bakteriyalar bo'lib, dukkakli o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi va havodagi azotni tuproqqa yig'ilishiga yordam beradi.

1886 yilda Germaniyada Nobbe va Giltner dukkakli o'simliklarni 12 turi uchun tuganak bakteriyalar aralashmasidan tijorat preparatini tayyorlashdi. "Nitrogin" nomini olgan bu preparatni qo'llash dukkaklilarni hosildorligini birmuncha oshirdi, shuning uchun bu butun dunyo tadqiqotchilar e'tiborini tortdi va hozirgi vaqtgacha saqlanib kelmoqda.

Tuganak bakteriyalar preparatini AQSh da (1886), Vengriyada (1898) va Angliyada (1906) tayyorlay boshlangan. Rossiyada tuganak bakteriyalar preparati bilan tajriba olib borish L.M.Budinov (1907) va keyin I.A.Makrinov (1915) tomonidan boshlangan.

Tuganak bakteriyalarni preparatlarini tayyorlash uchun ularni dukkakli o'simliklar (no'xat doni, loviya va boshqalar) qaynatmasi muhitida o'stiriladi. Qo'shimcha uglevodlar-glyukoza, saxaroza yoki boshqa uglevod birikmalarini, masalan: mannit qo'shilsa kultura o'sishi tezlashadi. Shunga o'xshash agar-agar solinib, agarli muhit hozirgi vaqtgacha tuganak bakteriyalarni preparatini olish uchun (Bolgariya, Ruminiyada) qo'llanib kelinmoqda.

Bu shaklda sanoat asosida nitrogin ishlab chiqarish, agar-agarning noyoblighi va bahosining yuqori ekanligi tufayli iqtisodiy samara bermadi. Bu masalada tuproqni (odatda bog'lar tuprog'ini) substrat sifatida foydalanish, nisbatan yaxshi natija berdi.

Sterilizatsiya qilingan-tuproq, sut shishalariga, flakonlarga va shu kabi boshqa idishlarga joylanadi, tuganak bakteriyalarning suyuq kulturasi yuboriladi. Lekin tuproq nitroginida bakteriyalarni yuqori titriga erishib bo'lmaydi. Shuning uchun ko'p tajribalardan keyin substrat-tashuvchi (bakteriyani o'ziga shimdiruvchi) sifatida torfdan foydalana boshlandi. Torf zahirasiga ega bo'lmagan mamlakatlar substrat sifatida boshqa maxsulotlardan foydalanila boshlandi.

Respublikamizda Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya institutida tuganak bakteriyalar asosida "Bakterial o'g'it" nomi bilan dukkakli o'simliklarni hosildorligini oshiradigan atrof muhitni ifloslantirmaydigan, yuqori samarali preparatlar ishlab chiqarilgan va amaliyotda keng qo'llanilib kelinmoqda.

Bunda bakteriyaning yopishtiruvchisi sifatida quritilgan balchiq, suvo'tlari aralashmasidan va go'ngdan foydalaniladi.

Soya o'stirishda bir necha yil tajribalarda sinab ko'rilgan, yuqori samara bergani aniqlangan. Bundan tashqari respublikada zahiralari yetarli bo'lgan ko'pgina azotli substratlardan foydalanish bo'yicha ilmiy tadqiqot ishlari olib borilmoqda va amaliyotda sinab ko'rilmoqda.

Bakteriyali o'g'it tayyorlash texnologiyasi bir qancha bosqichdan iborat:

- *Tuganak bakteriyalar kulturasini o'stirish va saqlash;*
- *Suyuq kultura (inokulyat) olish;*
- *Substrat-tashuvchi tayyorlash;*
- *Sterilizatsiya qilish;*
- *Inokulyatsiya qilish va tayyor preparatni saqlash;*

- *Ishlab chiqarishni nazorat qilish;*
- *Amaliyotdagi samarasini statistik tahlil qilib borish.*

Ishning borishi. Tuganak bakteriyalarning toza kultura-sini ajratib olish uchun quyidagi oziqa muhitidan foydalanadi. Tuganak bakteriyalarining undirish uchun no'xat yoki loviyadan tayyorlangan bulon oziqa muhiti sifatida olinadi. Bulon quyidagi usulda tayyorlanadi: 100 ml suvga 10 g no'xat yoki loviya solinib dukkaklari yorulguncha (30-40 minut) qaynatiladi va sterillangan kolbaga filtrdan o'tkazib quyiladi. Filtrlangan suyuqlikni hajmi kam bo'lsa, yana 100 ml ga yetguncha sterillangan suv qo'shiladi, so'ng rN aniqlanadi. Odatda rN neytral bo'lishi kerak. Hosil bo'lgan no'xat buloniga shakar va 2 g agar-agar qo'shilib eritiladi. Tayyorlagan muhit Petri likobchalariga quyilib qotiriladi. So'ngra dukkakli o'simliklar tuganak-laridan siqib olingan shira ekiladi. Likobchalar bir necha kun davomida 25-30⁰ termostatga qo'yiladi. So'ngra oziqa muhiti yuzasida unib chiqqan koloniyalardan preparat tayyorlanib metilen ko'ki, Fuksin yoki Gramm usulida bo'yab mikroskopda ko'riladi. Muhit ustida unib chiqqan koloniyalar oqish, mayda va shilimshiq ko'rinishda bo'ladi.



12.1-rasm. Tuganak bakteriyalar va ular asosida olingan preparatlar

13-MAVZU: NITRAGIN PREPARATINI OLISH TEKNOLOGIYASI

Asbob-uskunalar va materiallar. Dukkakli o'simlik ildizi, oziqa muhiti, mikroskop, immersion moy, filtr qog'ozlar, buyum va qoplag'ich oynachalar, mikrobiologik sirtmoq, skalpel, pintsetlar, bo'yoqlar (metilen ko'ki, fuksin), tuproq, tarozi, kolbalar.

Mavzuni tushuntirish. Tuproqdagi azotning umumiy balansida mikroorganizmlar tomonidan assimilyatsiya qilinishi muhim ahamiyatga ega. Azotni tuproqda fiksatsiyalanib qolishida bakteriyalarni ahamiyati alohida hisoblanadi. Chunki ular havo tarkibidagi molyakulyar azotni o'zlashtirib, tuproqni bog'lagan azot bilan boyitadi.

Havodagi molekulyar azotning biologik usulda tuproqqa yig'ilishi qishloq xo'jaligida katta ahamiyatga ega. Atmosfera havosining 78% erkin azotdan iborat. Atmosferadagi azot zahirasidan o'simlik to'la foydalana olmaydi. Havodagi azotni o'zlashtirib, uni o'simlik oziqlana oladigan holga keltiradigan alohida mikroorganizmlar bor. Azotning mikroorganizmlar tomonidan yig'ilishi tabiatdagi azotning aylanishida hal qiluvchi bo'g'in hisoblanadi. Bunday mikroorganizmlar *azotfiksatorlar* deyiladi.

Professor Ye.N.Mishustinning ma'lumotlariga ko'ra, azot-fiksatorlar yil davomida yer kurrasidagi ekin ekiladigan yerlarda, barcha mamlakatlardagi kimyo zavodlarining yetkazib beradigan azotidan 7 barobar ko'p azot to'playdi. Agar ekin ekiladigan yerlariga hisob qilganda azotfiksatorlar bir yil mobaynida 1-1,5 mln tonnaga yaqin azot to'playdi. Demak, qishloq xo'jaligi mutaxassislari mikroorganizmlarning fiziologik xususiyatlari va rivojlanish qonuniyatlarini sinchiklab o'rganishlari dexqonchilikda hosildorlikni oshirishdagi omil-lardan biri hisoblanadi.

Simbiotik azotfiksatorlar. Bular tugunak bakteriyalar bo'lib, dukkakli o'simliklar bilan simbioz holatda yashaydi va havodagi azotning tuproqqa yig'ilishiga yordam beradi. Tugunak bakteriyalar dukkakli o'simliklarning ildizida yashashga va rivojlanishga moslashgan. Hozirgi vaqtda olimlar tugunak bakteriyalarning 16 tur xillarini aniqlagan. Bular bir-birlaridan morfologik, fiziologik va kultural xususiyatlariga qarab farqlanadi. Har qaysi tugunak bakteriya dukkakli o'simliklar ildizida yashashga moslashgan. No'xat, mosh, beda, loviya, sebarga, nut, lyupina va boshqa dukkakli o'simliklar bilan simbioz holatda yashab, azot to'playdi.

Tugunak bakteriyalari o'zining faolligi va tuproqdagi azot to'plash qobiliyatiga qarab ham bir necha xilga bo'linadi. Tugunak bakteriyalarning faol shakli dukkakli o'simliklar ildizida hosil qilgan tugunaklari odatda katta, usti tekis, pushti rangli bo'ladi. Tugunak bakteriyalarning rivojlanish jarayoni juda murakkab bo'ladi. Rivojlanishning boshlang'ich davrida ular harakatchan, mayda tayoqcha shaklida bo'lib, so'ngra o'zlarining shakllarini o'zgartirib, belbog'li yirik tayoqcha bakterioidlarga aylanadi, ya'ni o'zlarining tanalarida shoxchalar hosil bo'ladi.

Tugunak bakteriyalar hujayrasining kattaligi 1 mikrondan 4-5 mikrongacha, optimal yashash harorati 25-28°S bo'lib, 60-70°S da nobud bo'ladi, 15-19°S sovuqda rivojlanishda to'xtamaydi. Muhitning reaksiyasi betaraf bo'lsa, tugunak bakteriyalar yaxshi rivojlanadi. O'simliklar gullaganda dukkakli o'simlik ildizidagi tugunaklarning faolligi oshadi. Tugunak bakteriyalar tuproqdan dukkakli o'simliklar ildiziga ildiz tukchalari orqali o'tib ildizda tugunaklar hosil bo'ladi.

Rhizobium turkumiga kiruvchi bakteriya turlari 1300 turga mansub dukkakdoshlarga kiruvchi o'simliklarda tugunaklarni hosil qiladi. O'simlik ildiz

to'qimasiga tushgan tuganak bakteriyalari infeksiyon ipchalar hosil qilib meristema to'qimasiga yetib borganidan so'ng jadal bo'lina boshlaydi va bu yerda tuganaklarni hosil qiladi. Natijada o'simlik va bakteriya o'rtasida modda almashinishi sodir bo'ladi. O'simlik bakteriyani uglevod va mineral moddalar bilan ta'minlasa, bakteriya o'z navbatida o'simlikni 70% gacha assimilyatsiyalanadigan azot bilan ta'minlaydi. Turli dukkakli o'simliklarning ildizida bu tuganaklar turli shakl va o'lchamda bo'ladi. Ularning o'lchami asosan tariq kattaligidan yong'oq mevasining kattaligicha bo'lishi mumkin.

Tuganak bakteriyalarni sof kulturasini olish uchun dukkakdoshlarga mansub ekin turini birontasini (mosh, loviya, no'xat va boshqalar) olib, uning ildizi vodoprovod suvida yaxshilab yuviladi va bir nechta yirik tuganaklar qirqib olinadi. Bu tuganaklar 3-4 marta steril suvda chayiladi hamda ularni 0,1% li sulema eritmasi solingan Petri likobchasiga botirib, 5 daqiqa davomida chayqatiladi. So'ngra bu tuganaklar Petri likobchasidagi steril suvga solinadi va unda ham 5 daqiqa ushlab turiladi hamda spirt solingan Petri likobchasiga 1 daqiqa davomida solib qo'yiladi. Tuganaklardagi spirt alangada yondirib yo'qotiladi. Keyin steril pintset yordamida tuganaklar steril Petri likobchasiga ko'chiriladi va steril skalpel pichog'i yordamida bo'laklarga ajratiladi. Bakteriologik ilgak yordamida tuganakning bir bo'lakchasini Petri likobchasidagi oziqa muhit sirtidagi bir tomchi suvga qo'shiladi va shpatel yordamida oziqa muhiti yuzasiga bir tekis qilib surtiladi. Tuganak bakteriyalarning sof kulturasini olishda oziqa muhitlaridan foydalaniladi.

Dukkakli don qaynatmasini tayyorlash uchun 50 g (mosh, loviya, no'xat, oq fasol) don solingan idishga 1 l vodoprovod suvidan solinadi va sirtidagi po'stlog'i shishib yorilguncha qaynatiladi, lekin don shishib ketmasligi kerak. Qaynatma paxta yoki doka orqali o'tkazib filtrlanadi va unga vodoprovod suvidan 1 l bo'lguncha qo'shiladi, so'ngra unga oziqa muhiti tarkibiga kiruvchi qolgan komponentlar qo'shiladi.

13.1-jadval

Fred oziqasi

Mannit (saxaroza yoki glyukoza)	10 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄	0,2 g
NaCl	0,1 g
CaCO ₃	3 g
Achitqili suv (rN 6,8)	100 ml
Agar-agar	15 g
Distillangan suv	0,9 l

13.2-jadval

Dukkakli agar

Dukkakli don qaynatmasi	1000 ml
KH ₂ PO ₄	1 g

MgSO ₄	0,3 g
Agar-agar	15 g

Yuqoridagi oziqa muhitlarini rN ini 7 gacha soda qo'shish yo'li bilan keltiriladi. 0,5 atm bosim, 120°S haroratda 30 daqiqa sterillanadi. Bu oziqa muhitida tuganak bakteriyalari stearin tomchisiga o'xshash oqish, xira, shilimshiq koloniyalar hosil qiladi.

Petri likobchasida yuzaga kelgan koloniyalardan sof kulturalar ajratib olinadi. Bu kulturalar Fred yoki dukkakli agar oziqa muhiti solingan qiya agarli probirkalarga ekiladi.

Tarkibi yuqorida keltirilgan oziqa muhitlaridan tashqari tuganak bakteriyalari 8, 9, 10 – jadvallarda keltirilgan oziqa muhitlarida ham yaxshi o'sadi.

Nitragin– preparati *Rhizobium* turkumi bakteriyalarining toza kulturasini saqlovchi preparatdir. Tuganak bakteriyalari – aerob, kichik, sporasiz tayoqchadir. Ma'lum bakteriya shtammlari bir biridan o'simlik bilan simbioz holda atmosfera azotini o'zlashtirish faolligi bilan farq qiladi (faol, kam faol, faol emas). Bularning aniq turlari atmosfera azotini fiksatsiya qilish qobiliyatini faqatgina aniq xo'jayin– o'simlikdagina namoyon qiladi.

13.3-jadval

Lazarev oziqasi

KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄	0,2 g
NaCl	0,2 g
MnSO ₄	0,005 g
NH ₄ MoO ₄	0,002 g
Mannit yoki saxaroza	10 g
Achitqili suv	100 l
Agar-agar	1,5 %
Suv	0,9 l

13.4-jadval

Norris oziqasi

K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,8 g
NaCl	0,2 g
FeCl ₃	0,01 g
Mannit	10 g
Yangi tayyorlangan achitqi (drojja) ekstrakti	100 ml
suv	0,9 l
rN	7,2

13.5-jadval

Sekin o'suvchi tuganak bakteriyalar (soya, lyupin) uchun uyidagi oziqa muhiti tavsiya qilinadi:

Mannit yoki saxaroza	10 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄	0,2 g
NaCl	0,1 g
Glyukonat kaltsiy	1,5 g
FeCl ₃	0,01 g
Achitqi ekstrakti	2 g
Suv	1 l
Agar-agar	20 g

Rossiyada nitraginning ikki turi: tuproqli va quruq preparatlari ishlab chiqariladi.

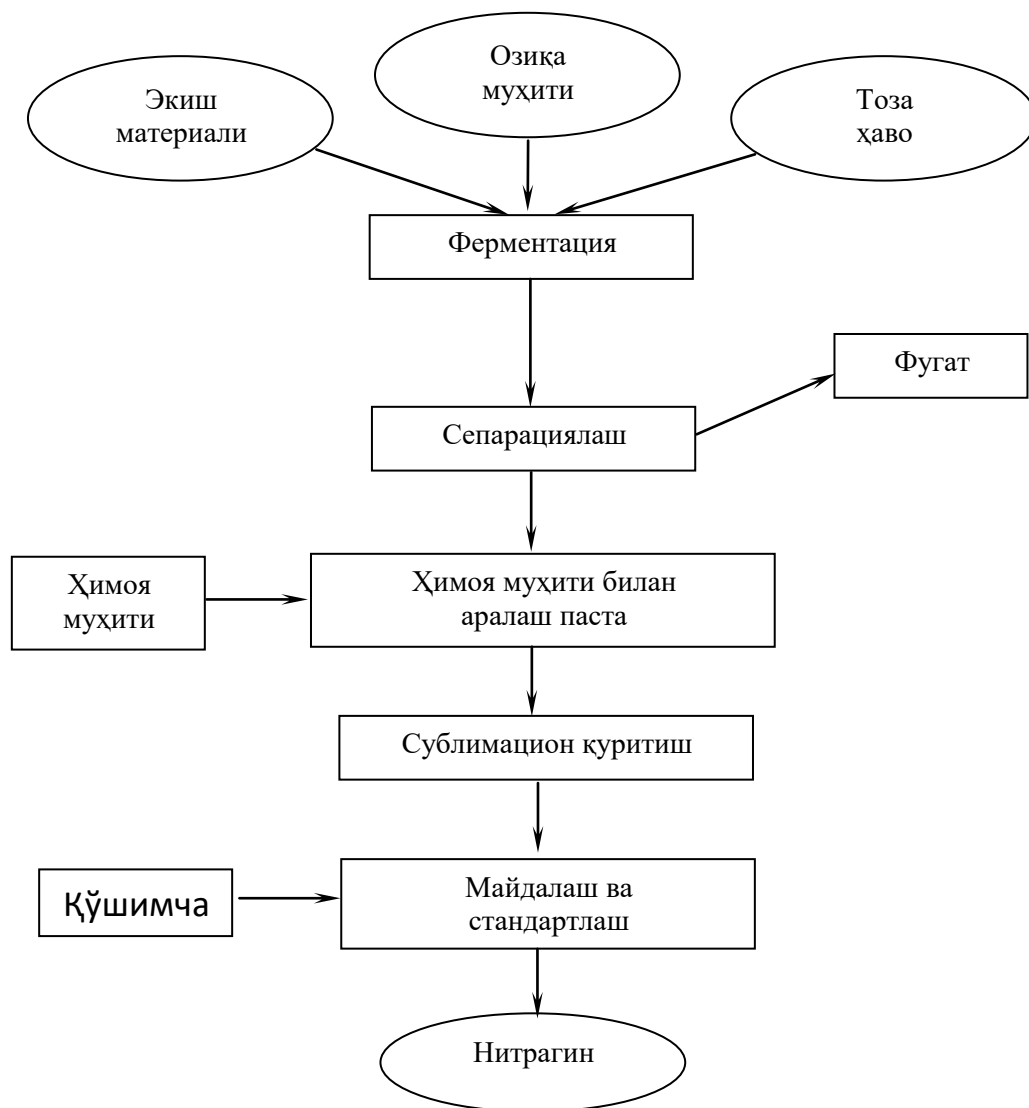
Tuproqli nitraginda tuganak bakteriyasi kulturalari steril tuproqda rivojlanadi. Nitragin ishlab chiqarish texnologiyasi yetarli darajada samarali emas, chunki bunda yuqori sifatli preparat olish imkoniyati yo'q.

Quruq nitragin o'zida tuganak bakteriyalar bilan qo'shimchalarning (torf, bentonit) birgalikdagi kukunini mujassamlashtiradi. Tuproqli nitraginga nisbatan quruq nitragin preparati yuqoriroq samaradorlikka egadir. Quruq nitragin ishlab chiqarish texnologiyasi mikrobiologik ishlab chiqarish texnologiyasidagi asosiy harakterli bosqichlardan iborat (13.1-rasm).

Har bir dukkakli o'simlik turi uchun muvofiq tuganak bakteriya turidan o'stirilib quruq nitragin preparati tayyor-lanadi. Agarli oziqada o'stirilgan dastlabki tuganak bakteriya kulturasidan ekish materialini olish uchun uni suyuq oziqa muhitida 28–30⁰S haroratda 24–48 soat davomida o'stiriladi. Suyuq oziqa muhiti tarkibi bakteriyani barcha bosqichlarda o'stirish uchun bir xildagi tarkibga ega bo'ladi: melassa, makkajo'xori ekstrakti va mineral tuzlar (NaHCO₃, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, K₂HPO₄, temir tuzi, molibden va h.k.).

O'stirilgan kulturalar 1 ml da 8–10 mlrd. hujayra saqla-ganda ularni sig'imi 100–150 l bo'lgan o'stirish inokulyatorlariga ekish mumkin. O'stirish 30⁰S haroratda doimiy aralashtirish va aeratsiyada 18–24 soat davomida olib boriladi. Tayyor ekish materiali 1 ml da 2 mlrd. hujayra saqlaydi va shundan keyingina uni sanoat fermentyoriga ekish uchun yo'naltirish mumkin.

Fermentyorda fermentatsiya jarayoni 28–30⁰S haroratda intensiv aralashtirish va aeratsiyada 48–72 soat davomida olib boriladi. Fermentatsiya jarayonidan keyin kultural suyuqlik 1 ml 10 mlrd. hujayra titri saqlaydi. Fermentatsiya jarayoni tugallangandan so'ng kultural suyuqlik separatorga uzatiladi.



13.1-rasm.Nitragin ishlab chiqarishning texnologik chizmasi

Biomassa 70–80% namlikdagi pasta koʻrinishida olinadi. Quritishdan oldin pasta, 20% melassa va 1% tiomochevina saqllovchi himoya muhiti bilan aralashtiriladi.

Biomassani sublimatsion quritish $-30-35^{\circ}\text{S}$ haroratda, sekinlik bilan beriladigan 10–13 kPa bosim vakuum ostida amalga oshiriladi.

Quritilgan biomassa qoʻshimchalar (bentonint, kaolin va torf kabi) bilan shunday aralashtiriladiki, natijada 1 g. preparat 9–10 mlrd. tuganak bakteriyalar saqlashi lozim. Quruq nitragin preparati polietilen qopchalarga joylanib, germetik berkitiladi va harorati 15°S dan yuqori boʻlmagan joylarda saqlanadi.

Dukkakli o'simliklar urug'i yerga ekilmasdan nitragin preparati bilan bevosita ishlov beriladi. Bunday ishlov berish natijasida ildizdagi tuganaklar va shu bilan bir vaqtning o'zida o'simlikda azot miqdori oshib hosildorlikning yuqori bo'lishini ta'minlaydi.



13.2-rasm. Dukkakdosh o'simliklar ildizidagi tuganaklar



13.3-rasm. *Rhizobium leguminosarum*



13.3-rasm. *Rhizobium* koloniyalari



13.4-rasm. Tugunak bakteriyalar asosida olingan nitragin preparati

Ishning borishi. Tugunak bakteriyalarni aniqlash uchun bir necha xil usuldan foydalaniladi.

1. Tugunak bakteriyalarning morfologiyasini aniqlash uchun dukkakli o'simliklar ildizidan tugunak olib, u sterillangan suvda yuvilib, buyum oynasi ustida eziladi, hosil bo'lgan shiradan preparat tayyorlab fuksin yoki metilen ko'ki bilan bo'yab mikroskop ostida ko'riladi. Agarda tugunak bakteriyalarining harakatini aniqlash kerak bo'lsa, buyum oynasi ustiga bir tomchi sterillangan suv tomizilib, tugunak eziladi, hosil bo'lgan shira ustiga qoplag'ich oyna yopilib, mikroskop orqali qaralsa, harakatchan mayda tayoqchalar borligi aniqlanadi.

2. Tugunak bakteriyalarining toza kulturasini ajratib olish uchun oziqli muhitidan foydalaniladi. Tugunak bakteriyalarini undirish uchun no'xat yoki loviyadan tayyorlangan qaynatma oziq muhiti sifatida olinadi. Qaynatma quyidagi usulda tayyorlanadi: 100 ml suvga 10 g no'xat yoki loviya solinib, dukkaklari yorilguncha (30-40 daqiqa) qaynatiladi va sterillangan kolbaga filtrdan o'tkazib qo'yiladi. Filtrlangan suyuqlikning hajmi kamaygan bo'lsa, yana 100 ml gacha yetguncha sterillangan suv qo'shiladi, so'ngra reaksiyasi aniqlanadi. Odatda reaksiyasi neytral bo'lishi kerak. Hosil bo'lgan no'xat qaynatmasiga shakar va 2 g agar-agar qo'shilib eritiladi. Tayyorlangan muhit Petri likobchalariga quyilib qotiriladi. So'ngra dukkakli o'simliklar tugunaklaridan siqib olingan shira ekiladi. Likobchalar bir necha kun davomida 25-30°C termostatda saqlanadi. So'ngra oziq muhit yuzasidagi unib chiqqan koloniyalardan preparat tayyorlab sinka, fuksin yoki Gramm usulida bo'yalib, mikroskopda ko'riladi. Muhit ustida unib chiqqan to'plamlar oqish mayda shilimshiq nobud bo'ladi.

14-MAVZU:AZOTOBAKTERIN OLISH TEXNOLOGIYASI

Asbob-uskunalar va materiallar. Tuproq namunalari, Petri likobchalari, oziqa muhiti (melassa, makkajo'xori ekstrakti va mineral tuzlar), termostat, mikroskop, immersion moy, mikrobiologik sirtmoq, buyum va qoplag'ich oynalar.

Mavzuni tushuntirish. Erkin holda yashaydigan azotfiksatorlarga *Azotobacter chroococcum* - azotfiksator va anaerob azotfiksator *Clostridium pasterianum* kiradi. Azotobakteriyalar tuproqda erkin yashab, har gektar yerga 15-30 kg azot to'plashdan tashqari, yana boshqa xususiyatlari bor. Masalan, o'simliklar o'sishi uchun auksin tipidagi o'sish faktorini hosil qilib, rizosfera mikroblarining yaxshi rivojlanishiga yordam beradi.

Azotobakterin – preparati o'zida atmosferadan azot o'zlashtirish qobiliyatiga ega bo'lgan tuproq mikroorganizm-laridan biri *Azotobacter chroococcum* kulturasini saqlaydi. *Azotobacter* bakteriyasiaerob va sporasiz bo'lib tuproqda erkin yashaydi. O'g'it sifatida ushbu bakteriya tuproqda to'planganda tuproqqa biologik faol moddalar (nikotin va pantogen kislotalar, piridoksin, biotin, geteroauksin, gibberlin va boshqalar), o'simlik o'sishi va rivojlanishini

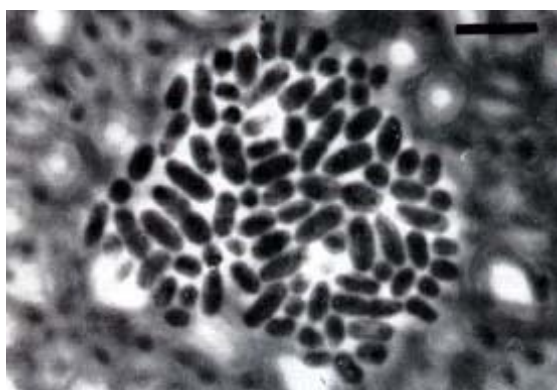
boshqaruvchi moddalar, shuningdek, anisomitsin guruhidan fungitsidli moddalar hosil qiladi, ular esa ba'zi bir o'simlik rizosferasidagi zararli mikroskopik zamburug'larning rivojlanishini chegaralab turadi.

Azotobakterning barcha turlar - qat'iy aeroblardir. Bu mikroorganizmlar oziqa muhitidagi organik va noorganik birikmalar ko'rinishidagi fosforga o'ta sezgir bo'lib, uning yuqori miqdori oziqada mavjud bo'lsa juda yaxshi rivojlanadi.

Fosfor yetishmaganda ularning azot o'zlashtirish qobiliyati va rivojlanishi keskin susayadi. Azotobakterlarning ko'pchilik turlari esa muhitda azot mavjud bo'lgandagina azot o'zlashtirish xususiyatlarini namayon qiladilar. Kulturalarning azot o'zlashtirish qobiliyatini ammiak pasaytiradi, ammo molibden birikmalari va ba'zan vanadiyesa oshishiga ta'sir ko'rsatadi.

Ikkala azotfiksator azot to'plash uchun energiyaga muhtoj nobud bo'ladi. Ular qandni oksidlab yoki bijg'itib shunday energiya oladi. *Azotobacter* - aerob nobud bo'ladi, shuning uchun u qandni havo kislorodi bilan oksidlaydi. Paster klostridiyi - anaerobdir, shuning uchun u qandni moy kislotaga hosil qilib bijg'itadi. *Azotobacter* ning tuproqdagi elektiv kulturasini olish uchun tuproqqa 2% li mannit qo'shib aralashtiriladi, loy quyuq xamir holiga kelguncha suv qo'shib qoriladi, shu loy Petri likobchasiga solinib, ho'l shpatel bilan yoyiladi va termostatga qo'yiladi. Mannit energiya manbaidir. Mannit borligi tufayli azotobakter yaltiroq, tiniq shilimshiq koloniyalar shaklida o'sib chiqadi. Paster klostridyning elektiv kulturasini olish uchun tuproqqa 1% li glyukoza va suv qo'shib, atala qilinadi. Shu tuproq atalasi Petri likobchasiga solinib, termostatga quyiladi.

Clostridium pasterianum uchun tuproqqa azotbakterdagiga nisbatan ko'proq suv qo'shamiz, chunki tuproqda suv qancha ko'p bo'lsa havo shuncha kam nobud bo'ladi, ya'ni anaerob sharoit vujudga keladi. Paster klostridiyi anaerob bo'lib, tuproq ichida o'sadi. U qandni bijg'itib gaz hosil qiladi, shu sababli uning rivojlanayotganligi gaz pufakchalari paydo bo'lganligidan bilinadi, gaz pufaklari tuproqni ko'tarib, do'mboqchalar paydo qiladi.



14.1-rasm. *Azotobacter chroococcum*



14.2-rasm. Erkin holda yashovchi azotfiksatorlardan olingan azotobakterin

Mikrobiologik sanoat asosida azotobakterning bir necha turlari ishlab

chiqariladi: quruq, tuproqli va torfli.

Quruq azotobakterin olish texnologiyasi. Quruq azoto-bakterin ishlab chiqarish texnologiyasi nitragin ishlab chiqarish bosqichlariga juda o'xshash bo'lganligi uchun ba'zi bir farq qiluvchi xususiyatlarigagina to'xtalib o'tamiz.

Quruq azotobakterin o'zida quritilgan azotobakterii hujayrasining faol kulturasini va qo'shimchani mujassam-lashtiradi. 1 g quruq preparatda 0,5 mlrd. hayotchan hujayralar mavjud bo'lishi lozim. Ushbu kulturalar *Rhizobium* hujayralari o'stiriladigan suyuq oziqa muhitida o'stiriladi. Bunga qo'shimcha sifatida temir sulfat, marganets, shuningdek, molibden kislotasi murakkab tuzlari qo'shiladi. O'stirishda rN muhiti 5,7-6,5, aeratsiya esa 1 hajm havo 1 hajm oziqaga 1 minutda beriladi.

Fermentatsiya jarayoni kultura o'sishining statsionar fazasigacha olib boriladi, chunki shu fazada hujayradan biologik faol moddalar ajraladi va kultural suyuqlikda qoladi. Bunda tug'iladigan xafv shundan iboratki, ularning hujayradan ko'plab chiqishi oqibatida tuproqqa tushgandan so'ng, hujayraning atmosfera azotini o'zlashtirish xususiyati yo'qolishi mumkin. Biologik faol moddalar to'liq yoki qisman hujayrani quritish jarayonida yo'qotiladi, biroq anabiozdan chiqqan azotobakterning hayotchan hujayralarida yana biologik faol moddalar hosil qilish xususiyati tiklanadi.

Quritilgan kultura zarur qo'shimchalar bilan standartlanadi va polietilen qopchalarga 0,4-2 kg dan qadoqlanadi. Qopchalar germetik holatda 15⁰S haroratdan ortiq bo'lmagan haroratli xonalarda 3 oygacha saqlanadi.

Torfli va tuproqli azotobakterin olish texnologiyasi. Bu turdagi azotobakterin preparati o'zida, qattiq oziqa muhitida rivojlangan faol azotobakter kulturasini namoyon qiladi va 1 g. preparatda 50 mln. dan kam bo'lmagan hayotchan hujayralarni saqlaydi.

Ularni tayyorlash uchun serhosil tuproq yoki yaxshi uvalanadigan torfdan neytral muhit reaksiyasi bilan foydalaniladi. Ekish uchun olingan qattiq substratga 2% gacha ohak va 0,1% superfosfat qo'shiladi. Olingan aralashma 500 g. dan 0,5 l. hajmli shisha idishlarga joylanadi va 40-60% hajmda suv bilan namlanib, og'zi paxta tiqin bilan yopiladi va sterillanadi.

Ekish materiali 2% gacha saxarozalar va mineral tuzlar saqlovchi agarli oziqa muhitida tayyorlanadi. Kulturalar 27⁰S haroratda 3-5 kun atrofida o'stiriladi. Jarayonning tugallan-ganligi agar sirtini jigarrang, shilimshiq massa qoplaganligiga qarab baholanadi. Olingan ekish materiali agar sirtidan steril holatda suv bilan yuvib olinadi va tayyorlangan substratga o'tkaziladi. Shisha idishlarga solingandan so'ng yaxshilab aralashtiriladi va 25-27⁰S haroratda termostatda saqlanadi. O'stirish jarayoni 1 g. tuproq yoki torfda bakteriyalar miqdori 50 mln. bo'lguncha davom ettiriladi. Bu usulda olingan preparat o'z faolligini 2-3 oygacha saqlaydi.

Azotobakterin preparatlaridan fosfor va mikroelementlar saqlovchi (molibden, vanadiy, bor va x.k) serhosil tuproqda foydalanish tavsiya etiladi. Azotobakterin urug', ko'chatlar va kompostlar bakterizatsiyasi uchun qo'llaniladi. Bunda o'simlik ildizi oziqlanishi oshib, boshqoqli, texnik va sabzavot kulturalarida hosildorligi

oshadi.

Quruq azotobakterdan foydalanish usuli ekish materiali xususiyatiga bog'liq bo'ladi. Boshloqlilar urug'iga quruq preparatni surkash mexanik usulda 1 gektarga yetadigan urug'ga 100 mlrd. hujayra hisobida amalga oshiriladi.

Kartoshka, sabzavot ko'chatlarining ildiz tizimiga esa preparatning suvli suspenziyasi sepiladi. Bunda 1 gektarga yetarli suspenziya me'yorini tayyorlash uchun preparat (300 mlrd.hujayra) 15 l. suvda suyultiriladi.

Ishning borishi. Erkin holda yashaydigan azotfiksatorlar-ning tuproqdagi elektiv kulturalarini mikroskop ostida tekshirish. Mannitli tuproq plastinkalarida azotobakterning tiniq shilimshiq kapsulasi bilan o'ralgan yirik diplokokklar va tetrakkokklar ko'rinadi.

Glyukozali tuproq plastinkalari qappayib chiqadi. Plastinkaning qavargan joyidagi tuproqning yuza qavatini mikrobiologik sirtmoq bilan ko'tarib, osti bo'sh bo'lib qolganini aniqlaymiz. Glyukozaning achishidan hosil bo'lgan gazlar shunday bo'shliqni vujudga keltiradi. Shu joydan sirtmoq bilan tuproq donasini olib, quruq mazok preparat tayyorlaymiz. Preparatni eritrozina bilan bo'yaymiz. Plastinkalarning qavargan joyidan tayyorlangan preparatda Paster klostridiyining limonga o'xshash yirik sporali hujayralari ko'rinadi.

15-MAVZU: FOSFOBAKTERIN OLISH TEXNOLOGIYASI

Asbob-uskunalar va materiallar. Tuproq namunalari, Petri likobchalari, oziqa muhiti (melassa, makkajo'xori ekstrakti va mineral tuzlar), termostat, mikroskop, immersion moy, mikrobiologik sirtmoq, buyum va qoplag'ich oynalar.

Mavzuni tushuntirish. Fosfobakterin - *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* mikroorganizmi sporalarini saqlovchi bakterial o'g'itdir.

Bu bakteriyalar murakkab fosfoorganik birikmalar (nuklein kislotalar, nukleoproteidlar va x.k.) va qiyin o'zlashtiriladigan mineral fosfatlar (pirofosfatlar, polifosfatlar) ni o'simlik o'zlashtirishiga qulay holatga aylantirib berish xususiyatiga egadir. Bundan tashqari, biologik faol moddalar ishlab chiqaradilar (tiamin, piridoksin, biotin, pantoten va nikotin kislotalar, V₁₂-vitamini va x.k.), bular esa o'simliklar o'sishini boshqarishda, ayniqsa dastlabki o'sish bosqichlarida katta ahamiyat kasb etadi.

Fosfobakterin fosfor o'g'itlari o'rnini egallamaydi va ularsiz ta'sir ham etmaydi. Preparatning asosiy samaradorligi o'stirish xususiyati bilan belgilanadi. *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* morfologik xususiyatiga ko'ra kichik, grammmusbat, aerob spora hosil qiluvchi tayoqchalari o'lchami (1,8-2,0)×(5-6) mkm bo'ladi. Hujayra katta miqdorda fosfor birikmalarini saqlaydi. Bu hujayralar dastlab harakatchan bitta tayoqcha bo'lib rivojlanishi oxirida 0,7×1,2 mkm o'lchamdagi endosporalar hosil qiladi.

Bu mikroorganizm asosida olinadigan preparat asosan sporadan tashkil topadi, shuning uchun ham o'stirish texnologiyasi ham spora hosil qilishga qaratilgandir. Biroq fosfobakterin ishlab chiqarish texnologiyasi nitragin, azotobakterin kabi preparatlar ishlab chiqarish texnologiyasidan kam farq qiladi.

Sanoat asosida fosfobakterin ishlab chiqarishda shunday omil borki, bu bakterial o'g'it olishda kulturaning fagolizisi va o'smaydigan sporalar hosil bo'lishiga sabab bo'ladi

Kulturalar fagolizisi shu bilan izohlanadiki, bir tomondan *Bacillus megaterium* shtammlari bakteriofaglar ta'siriga juda sezgir va fagolizis natijasida zararlangan kultura nobud bo'ladi, ikkinchi tomondan esa dastlabki kultura o'ziga o'zi mutagen hisoblanadi ya'ni o'zida ma'lum sharoitda faollashadigan profag saqlaydi.

Kompleks korxonalarda fagolizisga qarshi kurashish uchun ishlab chiqarishning barcha bosqichlarida o'stirishning aseptik sharoitini ushlab turish, fagga chidamli shtammlarni saralash va seleksiya qilish hamda kulturaning o'sishiga ta'sir qilmaydigan miqdorda organik kislotalar tuzini oziqaga qo'shish (odatda 0,075-0,1% atrofida) kabi chora tadbirlar qo'llaniladi.

O'simlik urug'ini preparat bilan ishlov berishda mexanik usuldan foydalaniladi, bunda fosfobakterin va qo'shimcha nisbati 1:40 ni tashkil etadi. Kartoshka tuganagiga mo'tadil ishlov berilishi uchun esa 15 g. preparat 15 l. suvda suyul-tiriladi. Bu miqdor 1 gektar yerga yetadigan ekish materialiga sarflanadi. Fosfobakterin qo'llanilishi hosildorlikni 10% va undan ham ortiqroq oshiradi.

Keyingi yillarda o'simlik rizosferasida va rizoplanida yashaydigan mikroorganizmlar asosida ko'plab bioo'g'itlar va o'simliklarni himoya qiluvchi vositalar ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. Ayniqsa rizosfera mikroorganizmlari asosida o'simliklarni himoya qiluvchi vositalarga talab va qiziqish katta. Bionazorat printsipida faoliyat ko'rsatadigan mikropreparatlar ekologik toza mahsulot yetishtirish uchun o'ta foydalidir. Shulardan biri Rossiya olimlari tomonidan chiqarilgan ekstrazol preparatidir. Bu preparat asosini *Bacillus subtilis* bakteriyasi tashkil etgan bo'lib, u kasallik qo'zg'atuvchi *Fusarium*, *Verticillium* va *Rhizoctonium* larga antoganistik ta'sir ko'rsatadi va o'simlik-larni kasallanishdan saqlaydi.

O'zbekistonda "Yer malhami" nomli bioo'g'it ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. Bu preparat asosini *Azotobacter chroococum* A-2 shtammi tashkil etib, bu shtamm azotfiksatsiya bilan bir qatorda yuqori kontsentratsiyada fitogormonlar ham sintez qiladi. Preparat ayniqsa yuqori sho'rlangan tuproqlarda katta samara bilan ishlatilib kelinmoqda.

Ishning borishi. *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* kulturasi barcha bosqichlarini sanoat asosida o'stirish, suyuq oziqa ichiga ekish orqali amalga oshiriladi (15.1-jadval).

O'stirish fermentyorda qat'iy aseptik sharoitda, doimiy aralashtirish va spora hosil qilish jarayonigacha aeratsiyada olib boriladi. Jarayonning asosiy ko'rsatkichlari: harorat 28-30⁰S, muhit rN 6,5-7,5 o'stirish davomiyligi 1,5-2 kun.

15.1-jadval

Dastlabki liofillab quritilgan kultura quyidagi tarkibli oziqa muhitida o'stiriladi (% hisobida)

1-oziqa muhiti tarkibi	2-oziqa muhiti tarkibi

Makkajo'xori ekstrakti - 1,8;	Makkajo'xori uni - 2;
Melassa - 1,5;	Melassa - 1,5;
Ammoniy sulfat - 0,1;	V-kompleksi (<i>D</i> -vitamini ishlab
Ohak - 1;	<i>chiqarishning qoldig'i</i>) - 2;
Suv - qolgani suvdan iborat	Kaliy fosfat (ikki almashinishli) - 0,01;
	Kaltsiy karboksid - 0,3;
	Qolgani suvdan iborat.

Birinchi oziqa muhitida o'stirilganda tayyor kultural suyuqlikda hujayra titri 1 ml. da 2,7-3 mlrd. spora, 2-oziqa muhitida esa 1 ml. da 4,3 mlrd. sporani tashkil etadi.

O'stirib olingan hujayra biomassasi sentrifugalash orqali alohidalanib, purkab quritgich moslamada 65-70⁰S haroratda 2-3% namlik qolguncha quritiladi. Quritilgan sporalar qo'shimcha (kaolin) bilan aralashtiriladi. Bu usulda tayyorlangan preparat 1 grammida 8 mlrd. dan kam bo'lmagan hujayralarni saqlaydi. Ular 50-500 g. dan namlikni saqlab turadigan, germetik qopcha-larga joylanadi. Fosfobakterin, azotobakterin va nitragindan saqlashga bo'lgan chidamliligi bilan farqlanadi. Bular 1 yil saqlangandan so'ng hujayraning hayotchanligini yo'qotishi 20% dan oshmaydi.

16-MAVZU: VIRUSLAR ASOSIDA OLINADIGAN ENTOMOPATOGEN PREPARATLAR

Asbob-uskunalar va materiallar. Viruslar bilan zararlangan zararkunandalar, viruslardan preparat tayyorlash uchun ishlatiladigan aldamchi yem, sentrifuga, flakonlar, distillangan suv, glitserin va atseton.

Mavzuni tushuntirish. Hamma entomopatogen preparatlar ichida virusli preparatlar xo'jayin hasharotga nisbatan o'zining o'ta spetsifikligi bilan xarakterlanadi. Ular odatda bir turdagi hasharotlarga ta'sir ko'rsatadi.

Ularning bu yaqqol tor doiradagi ta'sirining o'zi bu preparatlarning inson, flora va fauna uchun bezararligini ko'rsatadi. Viruslar o'zlarining noqulay tashqi ta'sirlariga (harorat, namlik) o'ta chidamli bo'lib, ular hasharotlardan tashqi holatda ham 10–15 yilgacha o'z ta'sir kuchini yo'qotmaydi.

Hasharotning viruslar bilan kasallanishi ularning ovqatlanishi orqali yuz beradi. Hasharot ichaklariga tushgan virusli tanacha ishqorli pN da parchalanishni boshlaydi. Erkinlikka chiqqan virionlar ichak devorlari orqali hujayralarga o'tib, yadrolarda viruslar replikatsiyasi ruy beradi. Bo'sh viruslar boshqa hujayralarni ham zararlay boshlaydi va oqibatda hasharotlar lichinkalarining nobud bo'lishiga olib keladi.

Viruslarning farqlanuvchi belgilari shuki, ular faqatgina tirik to'qimalardagini ko'paya oladi. Bu esa o'z navbatida sanoat miqyosida virusli entomopatogen preparatlarni ishlab chiqarishda bir muncha qiyinchiliklar tug'diradi, chunki viruslarni ko'paytirish texnologiyasi jarayonida faqatgina tirik xo'jayin-

hasharotlardan foydalanishi talab etiladi.

Hozirgi paytda 3 xil virusli entomopatogen preparatlarni ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan: virin-EKS(karam qurtiga qarshi), ENSh (tok ichak qurti kasaliga qarshi), ABB (ameraka oq kapalagiga qarshi).

Har qanday virusli preparatni ishlab chiqarish xo'jayin hasharotni ularning fiziologik sog'lomligini ta'minlovchi sun'iy oziqa muhitida o'stirishdan boshlanadi. Ma'lum bir rivojlanish fazasida (odatda qo'ng'iz davrida) hasharotlar ovqatiga virusli suspenziya qo'shish yo'li bilan ular zararlantiriladi. Buning uchun inokulyat oldindan bir qancha kasallangan lichinkalardan olib tayyorlanadi.

Hasharotlar zararlangandan so'ng uning to'qimasida maksimal viruslar to'planishini ta'minlovchi qat'iy aniq sharoitda saqlanadi.

Ishning borishi. 7–9 kundan keyin nobud bo'lgan va chalajon lichinkalar yig'iladi, 33–35⁰S da ular quritiladi, mexanik usulda to'qimalar yig'indisi - tana maydalanadi. Olingan massaga fiziologik eritma yoki distillangan suv 1 qo'ng'izga 1 ml hisobida qo'yiladi, maydalanib suyultirilgan to'qima filtrlanadi.

Ishlab chiqarish preparati virin-EKS poliedralari filtratni sentrafigura usulida cho'ktirib olinadi. Cho'kma minimal miqdorda distillangan suvda suyultiriladi va 1 ml dan 1 mlrd. gacha poliedrlar titri bo'lguncha sterillangan glitserin qo'shiladi.

Tayyor preparat flakonlarga bir yoki bir necha gektaga yetarli miqdordagi me'yorda joylanadi. Ushbu texnologiya inokulyat sarfi bilan taqqoslanganda poliedrlar miqdorini 5-10 ming marta oshirish imkoniyatini beradi. Bitta qo'ng'izda o'rtacha 36 mlrdgacha poliedrlar uning quruqmas og'irligining 30% ini tashkil etuvchi 36 mlrdgacha poliedrlar olish imkoniyati mavjud.

Ishlab chiqarishda virin-ENSh preparati filtratiga laktoza qo'shiladi aralashtirilgandan so'ng suspenziya hajmining 4:1 nisbatida atseton qo'shiladi.

Tindirilgandan so'ng ustki qism suyuqligi to'kiladi cho'kma esa atseton to'liq uchib ketguncha quritiladi. Tayyor preparat formasini tayyorlashda quruq cho'kma qo'shimchalar - kaolin yoki bentonitga 1 grammlari 1 mlrd. poliedrlar titrini olishgacha aralashtiriladi.

Preparatning yog'li formasi cho'kmani dastlab steril 50% li glitserin eritmasida 1 ml da poliedrlar titri 2 mlrd - bo'lguncha despirgirlash yo'li bilan tayyorlanadi, keyin steril holda solyar moyi hajmi miqdorida qo'shiladi, aralashtiriladi va flakonlarga qo'yiladi.

17-MAVZU: BAKTYeRIYaLAR ASOSIDA OLINADIGAN ENTOMOPATOGYeN PRYePARATLAR

Asbob-uskunalar va materiallar. Bakteriyalarni o'stirish uchun peptonli oziqa muhiti, *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi-ning vegetativ kulturasini, yorug'lik mikroskopi, kulturalarni o'stirish uchun tebratgich, tirik hujayralar sonini aniqlash uchun Goryaeva kamerasi, termostat va rN-metr.

Mavzuni tushuntirish. O'simliklarni *B.thuringiensis* turiga mansub spora-kristal hosil qiluvchi entomopatogen bakteriyalar asosida yaratilgan mikrobinsektitsid preparatlari 160 turdan ortiq zararkunandalarga endomotsid ta'sir etish xususiyatiga egadir. Hasharotlar organizimi bu insektitsidlarga qarshi deyarli moslasha olmaydi. Shuningdek ular ekologik zararasiz, issiq qonli hayvonlarga, baliqlarga va insonlarga salbiy ta'sir ko'rsatmaydi.

Mikrob patogenlarini suyuq oziqada o'stirish entomopatogen bakteriyalardan maksimal hujayralar olish yoki toksinlar to'plashga asoslangandir.

Bakterial entomopatogen preparatlar ishlab chiqarishni entobakterin misolida ko'rib chiqamiz.

Entobakterinni ishlab chiqarish texnologiyasi hohlagan mikrobiologik ishlab chiqarishdagi suyuq oziqa ichida o'stirish jarayonida kechadigan barcha bosqichlarni o'zida mujassamlashtiradi:

- *Ekish materialini olish;*
- *Oziqa muhiti tayyorlash va sterillash;*
- *Havoni sterillash;*
- *Fermentatsiya;*
- *Kultural suyuqlikni quyushtirish;*
- *Preparatni quritish va qadoqlash.*

Ekish materialini olish. Entobakterin ishlab chiqarish uchun dastlabki kultura *Bacillus thuringiensis* hisoblanadi. Ishlab chiqarishga tadbiq etilgan shtamm zavod laboratoriyasida uning sofliqi, mahsuldorligi, kultural suyuqlikda virulentligi va fag saqlash kabi xususiyatlari nazorat qilinadi. Ekish materialini olish uchun tubi aylana bo'lgan 3 l sig'imli kolbalarda kultura o'stiriladi. O'stirib bo'lingandan so'ng ekish materialini 1 ml da 1,7 mlrd. spora saqlashi lozim.

Barcha bosqichlarda achitqi polisaxaridli oziqa muhiti quyidagi tarkibda qo'llaniladi (%):

- *Oziqa achitqisi – 2–3;*
- *Makkajo 'xori uni – 1–1,5;*
- *Kashalatli yog' (kam emas) – 1.*

Oziqa muhitini tayyorlash va sterilizatsiya qilishda odatdagi usullardan foydalanish mumkin. Kolbalarda olingan ekish materialini ekish uskunasiidagi oziqa muhiti hajmiga nisbatan 0,05% miqdorida ekiladi. Ushbu uskunada kulturalarni o'stirish 28–30⁰S haroratda uzluksiz aralashtirish va aeratsiyada olib borilishi hamda uskuna bosimi 0,14 – 0,15 Mpa bo'lishi lozim.

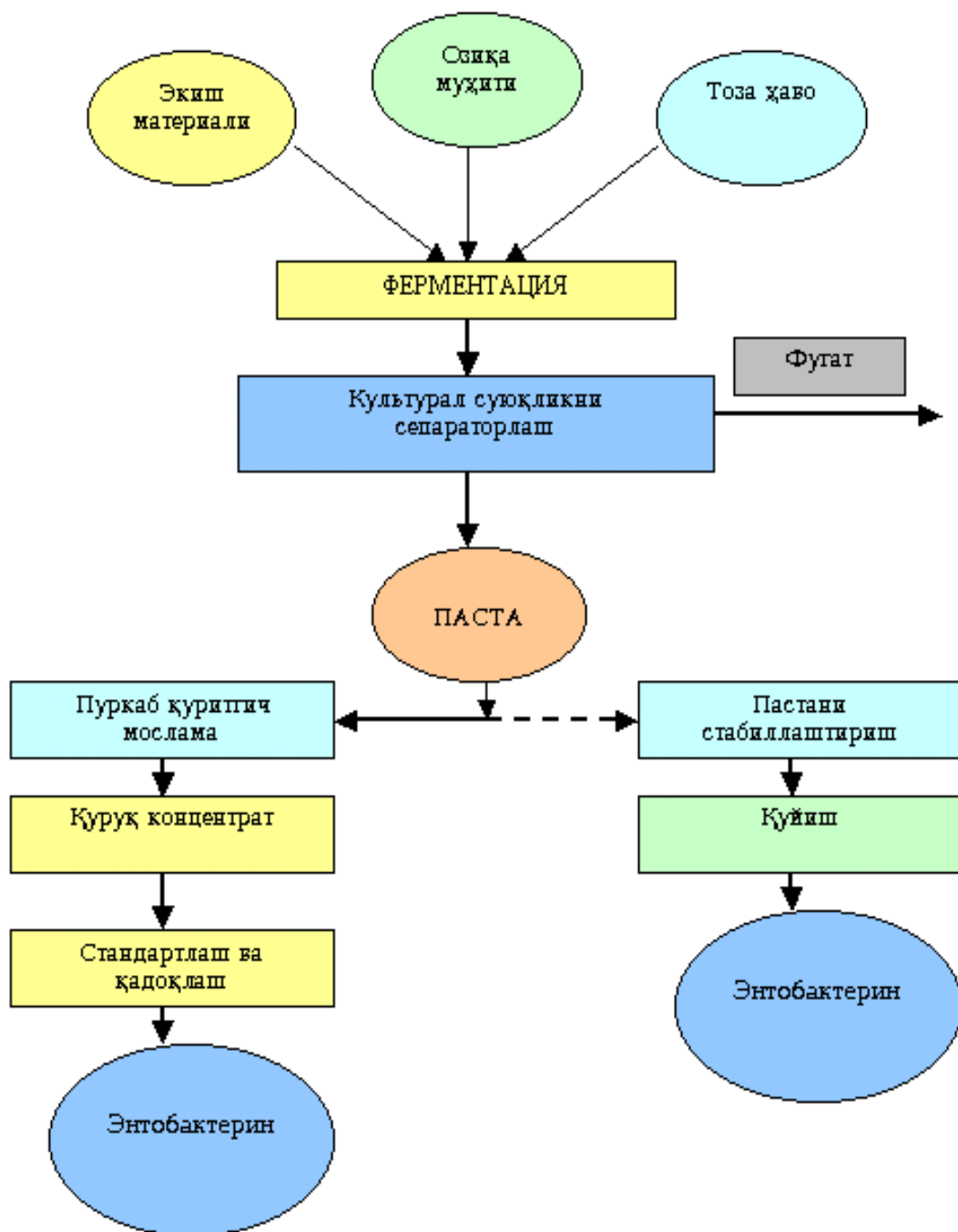
O'stirish davomiyligi 35–40 soatni tashkil etadi. Ekish materialini ishlab chiqarish fermentyoriga berilish oldidan unda yot mikroflora yoki faglar mavjudligi qat'iy ravishda tekshirishdan o'tkaziladi.

Fermentatsiya. Fermentatarga solingan ekish materialini ekish uskunasiidagi texnologik jarayonlar asosida o'stiriladi.

O'stirish jarayoni 35–40 soat davom ettiriladi. O'stirish jarayoni kultural suyuqlikda erkin spora kristallar miqdori 5–10% ni tashkil etganda yakunlanadi.

Kultural suyuqlik 1 ml da 1 mlrd. spora saqlashi lozim.

Kultural suyuqlikni quyuqlashtirish. Maxsus yig'gich-larda to'plangan kultural suyuqlik separatorga yo'llanadi. Separator da yig'ilgan pasta 30 minut davomida maxsus to'plash joyida aralashtiriladi va uning spora saqlashi, virulentligi, fag mavjudligi va namligi tekshiriladi. Odatda 1 m³ kultural suyuqlik separator dan o'tkazilganda 100 kg pasta chiqishi lozim. Pastaning namligi 85% bo'lib, taxminan 1 grammida 20 mlrd. sporalar titrini saqlashi kerak.



17.1-rasm. Entobakterin ishlab chiqarish texnologiyasining chizmasi

Quritish va entobakterinni tayyor maxsulot shaklida olish. Pasta muvofiq

nazoratlardan o'tkazilgandan so'ng purkab quritish moslamasiga yo'naltiriladi. Quritishdan so'ng preparatning namligi 10% dan oshmasligi lozim. 1 m³ kultural suyuqlikdan 12–13 kg quruq preparat chiqadi. Preparat 1 grammida 100–150 mlrd. sporalar titrini saqlaydi. Uni standartlash uchun qo'shimcha sifatida kaolin qo'shiladi va polietilenli almashtiriladigan tegishli ko'rsatmalar ko'rsatilgan etiketkalar yopishtirilgan to'rt qatlamli kraft–qopchalariga 20 kg dan joylanadi.

Tayyor entobakterin preparati 1 grammida 30 mlrd. dan kam bo'lmagan sporalar titri va shuncha miqdorda kristallar saqlaydi. Ushbu preparat bog', tomorqa va issiqxonada uchraydigan 60 dan ortiq zararkunanda hasharotlar turlariga qarshi samarali hisoblanadi. Zararkunanda bilan zararlangan o'simlikka entobakterin preparati suvli suspenziya ko'rinishida 0,5–1% miqdorida zararkunandaning faol oziqlanishi oldidan purkab sepiladi. Hasharotlarning asosiy qismi 2–10 kunlari nobud bo'ladi. Entobakterin preparati hozirda pasta ko'rinishida ham ishlab chiqarilmoqda. Bu holda ishlab chiqarish quruq preparatga nisbatan bir qadar arzon va qulaydir. Kultural suyuqlikdan olingan pasta, unga aniqlangan miqdorda stabilizator–karboksi-metiltsellyuloza (KSM) qo'shiladigan maxsus idishga yo'naltiriladi.

KMS molekulalari spora va oqsilli kristallarni sorbtsiya qiladi va buning natijasida ularning bir-biri bilan ma'lum nisbatda joylashishi va tarqalishini ta'minlaydi. Stabilizator qo'shiladigan vaqtda pastaga uzoq vaqt saqlanishini ta'minlab beradigan turli xil konservantlar ham qo'shiladi.

Fagolizisga qarshi kurashish. Entobakterin ishlab chiqarish texnologiyasida asosiy qiyinchilik, boshqa entomo-patogen preparatlar ishlab chiqarishdagi kabi fagolizisga qarshi kurashishda paydo nobud bo'ladi. Fag-bu bakteriyani nobud qiluvchi virusdir. Uning ta'sir etish mexanizmi xo'jayin–bakteriyada DNK sintezini to'xtatadi va natijada bakteriya nobud bo'ladi. Fag rivojlanishini chegaralab tashlash xususiyatiga ega bo'lgan turli xil birikmalar – antifag faktorlarini qo'shish fagolizisga qarshi kurashishning bir usuli hisoblanadi. Bunday birikmalarni olish juda qimmat bo'lganligi uchun keng miqyosda qo'llanilmaydi. Yana bir usul bu fagga bardoshli shtammlardan foydalanish hisoblanadi, ammo bunda ham ko'p mehnat talab qiladigan genetik va selektsiya ishlarini bajarish lozim bo'ladi.

Ishning borishi. Hasharotlar organizmidan kulturalarni Skring usulida ajratib olinadi. Bunda uning tanasining ustki qismi sterilizatsiya qilinadi va uning oshqozon-ichak sistemasidan mikroorganizmlar qattiq oziqa muhitiga ekib olinadi. O'sgan koloniyalar alohida ekib olinadi. Ularni biokimyoviy testlar orqali identifikatsiya qilinadi. *B.thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi peptonli agar (PA) oziqa muhitida 72 soat o'stiriladi. Bunda kulturalar 750 ml sig'imli kolbalarda 100 ml suyuq oziqa muhiti solib 48-72 soat mobaynida minutiga 180 marotaba tebranadigan (180 tez/min) chayqatgichda, 27-28⁰S haroratli xonada o'stiriladi. Tirik hujayralar miqdori qattiq agarli muhitda o'sgan alohida koloniyalar soniga qarab hisoblanadi. Spora-kristallar nisbati bo'yalgan mazokda taqqoslab o'rganiladi. Hujayralar soni Goryaev kamerasi yordamida sanab o'rganiladi. Bakteriya kulturalarining rivojlanishi davomida oziqa muhitida rN

ko'rsatgichini o'zgartirishi kultural suyuqlikda har 24, 36, 60 va 72 soatda tekshiriladi.

B.thuringiensis bakteriyasining zarakunanda hasharotlarga entomapatogen ta'sirini o'rganish uchun, kulturalar entomo-patogen ta'siri qo'ng'izlarda umumiy qabul qilingan usul yordamida o'rganiladi. Qo'ng'izlarning o'rtacha og'irligi 50 mg bo'lishi kerak. Kultura suspenziyasi (spora-kristalli aralashmasi, 2,0 x mln. hujayra/ml) 3 g miqdordagi qo'ng'izlar quruq oziqaga 1 ml qo'shiladi va Petri likobchasiga aralashtirib solinadi. Har bir Petri likobchasiga 10 tadan qo'ng'iz solinadi. Har bir preparat faolligi 30 ta qo'ng'izda, ya'ni nobud bo'lgan qo'ng'izlar sonining nazorat oziqa muhitiga nisbatan o'zgarishi 7 kungacha kuzatiladi.

B.thuringiensis bakteriyasi shtammlari morfo-kultural, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish uchun bakteriyalar o'lchami, uning kristall oqsilli yig'indisi va sporalari o'lchami okulyar mikrometrda o'rganiladi. Bundan tashqari bakteriyalar xarakatchanligi ularni yarim suyuq oziqa muhitiga (NaCl-0,5 g, K₂HPO₄- 0,5 g, MgSO₄-0,5 g, pepton-10 g, saxaroza-2 g, agar-agar 2,5 g, suv - 1000 ml) ekish orqali aniqlanadi. Ushbu oziqa muhitida o'sgan kulturalarning quyidagi xususiyatlari o'rganiladi: parda hosil qilish xarakteri, oziqa muhitining rangini o'zgartirishi (tiniqsizlanishi), qoldiq xarakteri, uning rangi va konsistentsiyasi, o'sish xarakteri, shakli, yuzasi, relfi, konsistentsiyasi, atsetil-metil-karbonol hosil qilishi aniqlanadi.



17.2-rasm. *Bacillus thuringiensis* entomopatogen bakteriyasi yordamida trasgen o'simlik olish

18-MAVZU:ZAMBURUG'LAR ASOSIDA OLINADIGAN

ENTOMOPATOLOGYeNPRYePARATLAR

Asbob-uskunalar va materiallar. Zamburug'larni o'stirish uchun qattiq va suyuq oziqa muhitlari, zamburug'larning sof kulturasi, yorug'lik mikroskopi, kulturalarni o'stirish uchun tebratgich, tirik hujayralar sonini aniqlash uchun Goryaev kamerasi, termostat va rN-metr.

Mavzuni tushuntirish. Zamburug'li entomopatogen preparatlar zararli hasharotlarda mikoz kasalligini tug'dirish orqali ularning nobud bo'lishiga olib keladi.

Entomopatogen bakteriyalar va viruslarga nisbatan zamburug'-lar quyidagi o'ziga xos xususiyatlarga ega:

- *nobud bo'lish ovqat hazm qilish yo'llari orqali emas, balki bevosita kutikula orqali ruy beradi;*
- *hasharotlar o'zining g'umboy va imago rivojlanishi fazasida nobud bo'ladi, bu boshqa mikroorganizmlar bilan nobud bo'ladigan o'zaro munosabatlarda kuzatilmaydi;*
- *zamburug'lar nisbatan tez o'sishi va juda katta reproduktiv qobiliyatiga egaligi bilan xarakterlanadi, entomopatogen faolligini pasaytmasdan spora holatida uzoq vaqtgacha tabiatda saqlanishi mumkin;*
- *ayrim hasharotlar turlarin nobud qilishda yuqori darajada spetsifik bo'lib, binobarin ularning virulentligi sezilarli darajada ishlatiladigan zamburug'larni shtammiga bog'liq nobud bo'ladi.*

Zamburug'li preparatning xashoratga ta'siri sporalarning tana bo'shlig'iga teri orqali kirishidan boshlanadi. Xasharot tanasiga tushgan zamburug' sporasi o'sib gifaga aylanadi, keyin mitseliyga, qaysiki ulardan gifali tanachalar entomopatogen zamburug'larning infektsiyali birligini tashkil qiluvchi konidiyalar ajralib chiqadi.

Kopidiyalar o'sib chiqqandan keyin to hasharotlar nobud bo'lishigacha nobud bo'ladigan oraliq vaqt hasharotlar katta-kichikligiga qarab 2–8 sutkagacha davom etishi mumkin.

Beauveria turkumiga mansub zamburug'lardan preparatlar olish ularning *B.bassiana* Vuill (60 dan ortiq turdagi hasharotlarni nobud qiladi) va *B.tenella* Del. (10 dan ortiq turdagi hasharotlarni nobud qiladi) turlari asosida sanoat miqyosida preparatlarni ishlab chiqarishga asoslangan.

Hozirgi paytda *B.bassiana* (Bals.)Vuill. ni gafolitseti konidiosporasini tashkil qiluvchi zamburug'li entomopatogen preparat-boverin ishlab chiqarish keng yo'lga qo'yilgan.

Tayyor holdagi bu preparat oq yoki kremsimon ko'rinishidagi poroshok bo'lib, 1 gr. preparatda 1,5 dan 6 mlrd. gacha konidiosporalar mavjud. Sporalar bilan bir qatorda boverin faolligi zamburug'da sintez qilinadigan toksin-boveritsin bilan ham belgilanadi. Bu preparatni qo'llash dexqonchilikda qo'llaniladigan kimyoviy preparatlarni 90% gacha qisqartirishga imkon beradi. Shu bilan birga preparat insonlar, issiq qonli hayvonlar uchun zararsizdir.

Boverinni sanoat asosida olish uchun ishlab chiqarish shtammini ham suyuq oziqada, ham qattiq oziqa muhitida o'stirish mumkin.

Konidiosporalar ishlab chiqarishda texnologik-iqtisodiy ko'rsatkichlar suyuq oziqada o'stirish bilan qattiq oziqa yuzasida o'stirish usullarida deyarli o'xshash nobud bo'ladi.

Biroq, konidiosporalarni suyuq oziqa fazasida o'stirish orqali olish oddiy ish emas, buning o'ziga xos texnik noqulayliklari mavjud.

B.bassiana Vuill zamburug'ini suyuqlik usuli orqali o'stiril-ganda ular vegetativ ko'payib, havo konidiosporalardan farq qiluvchi konidiya (blastospora, silindraspora) deb nomlanuvchi gifali tana hosil qiladi.

Hashoratlarga ta'siri yuzasidan konidiyalar, konidiyalardan qolishmaydi, ammo ishlab chiqarish sharoitida konidiyalar asosida yuqori faollikka ega preparatlar olish imkoni yo'q, chunki ular konidiylarga nisbatan quritish bosqichidagi yuqori haroratga o'ta darajada sezgir va chidamsizdir. An'anaviy yuqori haroratda purkab quritgich moslamalarda boverin ishlab chiqarishda preparatlar quritilganda 90% konidiospora va 20–50% konidiospora nobud nobud bo'ladi. Shuning uchun quritilgandan so'ng sporalar yashovchanligi va ularning virulentligiga ko'ra boverin ishlab chiqarishda e'tibor konidiospora miqdorini maksimal darajada olishga yo'naltirilgan.

B.bassiana Vuill zamburug'ini suyuq oziqada o'stirish orqali konidiospora olish muammosi oziqa muhiti va fermentatsiya sharoitini tanlash muammosi hal qilinganda yechildi.

Ishning borishi. Suyuq oziqada o'stirish usuli orqali boverin olish texnologiyasi. Bu usulda boverin olish qat'iy aseptik sharoitda olib boriladi. Bunda eng asosiy va zarur bosqichlardan biri bu ekish materialini olish texnologiyasini tanlash hisoblanadi.

Agarli kosyatlarda Sabur yoki pivo suslosi oziqa muhitlarida saqlanayotgan tabiiy shtamm dastlab kolbalarda 25–28⁰S haroratda 3–4 kun mobaynida suyuq oziqa muhitida aralashtir-gichda o'stirib olinadi. Olingan konidiosporalar liofilizatsiya usulida quritiladi. Bunday ekish materialini 1 yilgacha o'zining yashovchanligi va virulentligini yo'qotmasdan saqlash mumkin.

Fermentyorga oziqa muhitiga ekish materialini ekish ikki bosqichda: dastlab kulturalarni kolbalarda o'stirib olish, keyin inokulyatorda yoki to'g'ridan-to'g'ri inokulyatorda o'stirish. Orqali olib boriladi Asosiy uskunada ekilganda ekish materialli oziqa muhitining 2–10% nisbatda hajmni tashkil etishi talab etiladi. Sanoat asosida o'stirishning barcha bosqichlarida bir xil oziqa muhiti, tarkibi va harorat turli xil shtammlarga muvofiq ravishda qo'llaniladi. Oziqa muhiti tarkibida odatda: (%) lizirlanmagan oziqa achitqisi–2; kraxmall–1; natriy xlor–0,2; marganets xlor–0,001; kaltsiy xlor -0,005 miqdorda nobud bo'ladi.

Oziqa muhitiga barcha komponentlar solingandan so'ng, oziqa muhiti rN ko'rsatkichi 4,5-5,6 gacha bo'lishi kuzatiladi. Sporali ekish materialini o'stirish 25-28⁰S haroratda 25-28 soat mobaynida olib boriladi. O'stirishning davomi shu haroratda asosiy fermentyorda 3-4 kun olib boriladi. Zamburug'larni ekish moslamasida va ishlab chiqarish fermentyorlarida o'stirish doimiy aralashtirish va

doimiy bir xil aeratsiya sharoitida olib boriladi. Bunga sabab foydalanilayotgan shtammga bog'liq holda havo o'zlashtirilishi keskin o'zgarib turadi: bir minutda oziqa muhiti 1 hajmdan 2,5 hajmgacha o'zgarishi mumkin.

Asosiy moslamada ishlab chiqarishda oziqa muhiti aminli azot saqlashi katta ta'sir ko'rsatadi, uning yetishmasligi kulturaning o'sish tezligini keskin sekinlashtiradi va konidiosporalar hosil bo'lish foizini pasaytirib, konidiy hosil bo'lishini keskin oshirish qobiliyatiga ega. Oziqa muhitida aminli azotning mo'tadil miqdori 10-15 mg foiz hisoblanadi.

Suyuqlikda zamburug'ni o'stirishning birinchi 1–1,5 sutkasi davomida oziqa achitqisi to'liq lizis nobud bo'ladi, zamburug' esa bu vaqtda o'zining barcha o'sish fazalarini bosib o'tgan nobud bo'ladi (mitselialli, konidialli). Oziqada oqsil mahsulotlari saqlanishi konidiy hosil bo'lishining bir qadar yaxshilanishini ta'minlaydi. Zamburug'ni to'liq voyaga yetishi yakunlanganda mitseliy lizisi va konidiy to'planishni ta'minlashga olib keladigan maksimal darajada fermentlar ajratadi.

Kultural suyuqlikda konidiosporalar hosil bo'lishi produtsent-shtamm tabiatiga va uni o'stirish sharoitiga bog'liq holda 1 ml da 0,3 dan 1,3 mlrd. gacha o'zgarib turishi mumkin.

Bunda bu kultura 90–92% konidiospora, 3–5% miqdorda konidiy hosil qiladi, mitseliy to'liq bo'lmaydi. Tayyor kultural suyuqlik separatsiya yoki filtratsiya usulida cho'ktiriladi.

Filtrlangandan keyin 70–80% namlikdagi, 6–8 mlrd. spora titri bo'lgan pasta olinadi va u yuqori haroratda purkab, quritish moslamasiga o'tkaziladi. Quritilgan sporalar kichik zarrachasimon kukun ko'rinishda 10% namlikda bo'lib 1 grammda 8×10^9 gacha hujayra titri saqlaydi.

Olingan kukunning LK_{50} ko'rsatkichi aniqlangandan so'ng (letal miqdori, test-hashoratni 50% nobud qilishi zarur) muvofiq ravishda kaolinda standartlanadi. Tayyor preparatga ba'zan qo'shimchalar yopishuvchi xususiyat beradi.

Zamburug'ni yuza qismga ekish usuli orqali boverinolish texnologiyasi. Boverin olishning yana bir usuli zamburug'ning sporali qatlamini yuza qismga ekish orqali olinadigan texnologiyaga asoslanadi. Bu bir qadar uzoq vaqt va ko'p mehnat talab qiladi, shuning uchun undan foydalanish chegaralangandir.

Quyida biz bu usulning ishlab chiqarish va kichik ishlab chiqarishdagi ba'zi bir asosiy ko'rsatkichlari bilan tanishib chiqamiz.

Zamburug'ni yuza qismga ekish ham suyuq va yarim suyuq oziqaga ekishdagidek amalga oshiriladi, bu oziqa muhitida zamburug' juda yaxshi o'sish tezligini namoyon etadi. Uni mikrobiologik ishlab chiqarish sporali qatlam olingan bosqichida yakunlanib, keyin ajratiladi, quritiladi, maydalanadi va muvofiq miqdordagi qo'shimchalar bilan standartlanadi.

Boverinni ishlab chiqarishda yuza qismga ekish usullari bir-biridan farq qiladi:

- *Zamburug'ni sterilizatsiya qilinmagan suyuq oziqa muhitga ekiladi, aralashtiriladi va aeratsiya hosil qilinadi;*
- *Sterilizatsiyalangan qattiq va suyuq oziqa muhitiga ekiladi, aralashtirilmaydi*

va majburiy aeratsiyalanadi;

➤ *Aralash usullarda zamburug' qatlami o'stiriladi.*

Birinchi ikki usul asosida o'stirilganda zamburug' qishloq xo'jalik qoldiq mahsulotlari turli xil o'simlik substratlarida juda yaxshi o'sadi.

Zamburug' rivojlanishi uchun mo'tadil harorat 18–28⁰S atrofida bo'lib, janubiy tumanlarda zamburug'ni mavsumiy o'stirishda ob–havo haroratiga mos ravishda amalga oshiriladi.

Zamburug'ni sterilizatsiya qilinmagan suyuq oziqa muhitida, aralashtirmasdan va majburiy aeratsiya holatda o'stirishda oziqa muhiti sterilizatsiyalanmasdan, oddiygina qaynash darajasigacha qizdiriladi va yog'och karkaslarga (idish) quyilib ustiga yupqa polietilen plyonka yopiladi. Oziqa 35–40⁰S gacha sovutiladi va quruq sporalar ekiladi. Karkaslarning usti polietilen klyonka bilan yopiladi va zamburug' ekilgan sporali qatlam hosil bo'lgandan so'ng u ajratib olinadi.

Oziqa muhiti sifatida barcha qaynatmalardan, masalan qand lavlagi, kartoshka, oshqovoq va g'alla undan foydalanish mumkin.

Qattiq oziqa muhitlarida entomopatogen zamburug'larni o'stirish texnologiyasi. Zamburug'ni sterillangan qattiq va suyuq oziqa muhitida aralashtirmasdan va majburiy aeratsiyada, sterilizatsiyada, oziqa muhiti alohida sterilizatsiya qilinadi, qattiq-suslo - agar, kartoshka, sabzi, makkajo'xori, tarvuz po'stlog'i, ba'zan bug'doy doni va makkajo'xori 40 minut davomida 112⁰S da, shakar saqllovchi 7 % gacha, qand saqllovchi suyuq suslo 20 minut davomida 110⁰S da haroratda sterilizatsiya qilinadi.

Steril substratga quruq sporalar yoki ularni suspenziyasi ekiladigan material bir xil holatda tarqatiladi va 18–23⁰S haroratda saqlanadi.

Qattiq substratda konidiosporalar hosil bo'lishi 12–15 kun oxirlarida tugallanadi.

Zamburug' kulturalari substrat qoldig'i bilan birga stellajlarda 25–28⁰S haroratda quritiladi. Olingan tayyor preparat kukun holiga kelguncha maydalanadi. Suyuq substratlarda 7–10 sutkadan keyin spora hosil ko'zatiladi, 18–25 sutkada esa hosil bo'lgan sporali yupqa qatlam ajratiladi. Uni shishada quritiladi, ajratiladi, maydalanadi va torf yoki talk bilan aralashtiriladi.

Bu har ikkala usulni ham mahalliyashtirish mumkin. Bunday ishlab chiqarish sexlarida 1 oyda 1 grammida $1,5 \times 10^9$ spora bo'lgan 750–800 kg preparat tayyorlash mumkin.

Ishlab chiqarishga qulay bo'lgan usul zamburug' qatlamini kombinirlangan usulda o'stirish hisoblanadi. U quyidagilarni o'ziga birlashtiradi:

➤ *g'allada onalik kulturalarini olish;*

➤ *kolbalarda 12–17 soat davomida suyuq oziqa muhitida inokulyatni o'stirish;*

➤ *fermentyorlarda aralashtirib, majburiy aeratsiyada 22–28 soat davomida o'stirish va vegetativ kulturalarni to'plash;*

➤ *kyuvetalarga kultural suyuqliklarni qo'yish va sporali qatlamda hosil qilib o'stirish;*

➤ *sporali qatlamni quritish va miqdorlash;*

➤ *preparatni kaolin bilan standartlash.*

Zamburug'ni o'stirish uchun tarkibida: (%) melassa-6; makkajo'xori ekstrakti-1%; $MgSO_4$ -0,05%; K_3RO_4 -0,2 saqlovchi oziqa muhitidan foydalaniladi. O'stirish 24-26⁰S da olib boriladi. Konidiy titri inokulyat bosqichida 1 ml ekish materialida 0,5-2 mln.ni tashkil etadi.

Inokulyant miqdori fermentyorlarga ekilayotganda oziqa muhiti hajmining 2-4 % ini tashkil etishi zarur.

Tayyor kultural suyuqlikning 1 ml da 50-100 ml hujayra titri bo'ladi. Qatlamda o'stirish uchun kyuvetalar vertikal kameralardan tashkil topgan nobud bo'ladi (har biri 35-70 donadan). 25-26⁰S o'stiriladi 16-18 soatdan keyin yupqa qavat hosil bo'lishi ko'zatiladi, 3-4 sutkadan keyin spora hosil bo'lishi, 4-5 sutkadan so'ng to'liq konidiy hosil bo'lishi boshlanadi.

Bu davrda qatlam ajratiladi va quruq kyuvetkaga joylashtirilib, qopqog'i yopiladi va 2-3 kun miqdorlash uchun qoldiriladi. Shundan keyin ular ajratiladi va 28⁰S haroratda quritiladi. Quritilgan spora qatlami polietilen qopchalarga joylanib, 18-20⁰S haroratda quruq joylarda saqlanadi.

Boverin tayyorlanishidan avval tayyor sporali material sharsimon idishda maydalaniladi va qator elaklardan o'tkaziladi. Tayyor materialning titri aniqlanadi va 15-20 minut davomida zarur kaolin miqdori bilan aralashtiriladi. Tayyor preparatning 1 grammida 1,5 mlrd.dan kam bo'lmagan konidio-sporalar nobud bo'ladi.

Barcha amalga oshirilgan bosqichlar 11-12 kunni egallaydi, shundan inokulyat olish uchun-1 kun; fermentyorda o'stirish -1-1,5; shkaflarda ushlash--5; qatlamni dozalash-2; qatlamni quritish 2-3 kunni tashkil etadi.

Boverin qayrag'och barg kemiruvchi zararkunandalari, shuningdek olma, sharqiy mevaxo'r va o'rmon zararkunandalariga qarshi qo'llaniladi.

Boverinni kartoshka o'simligidagi kolorado qo'ng'iziga qarshi qo'llash samarali foyda beradi. Preparatga kimyoviy insektitsidlar qo'shib qo'llash 100% barcha yoshdagi lichinkalarni 100% gacha nobud qiladi. Boverinning sarf me'yori 1 gektarga 1-2 kg bo'ladi. O'simliklarga preparat purkash orqali sepiladi. Kimyoviy preparatlar bilan aralashtirish, preparatni qo'llashdan 2 soat oldin amalga oshiriladi.

V. KYeYSLAR BANKI

1. Mavjud vaziyat

Psixologiyada bolalik inqirozlari chuqur o'rganilgan. Odatda hayotning birinchi yilidagi inqiroz, uch yoshdagi, 6-7 yoshdagi va 10-12 yoshdagi o'smirlik inqirozlariga ajratiladi. Inqirozlar davomiyligi, shakli va ta'sir kuchi bolaning individual psixologik xususiyatlaridan ko'ra ijtimoiy sharoitlari oilada tarbiya va pedagogik tizim xususiyatlariga ko'ra inqirozlar sezilarli darajada farqlanadi.

Katta kishining asosiy faoliyati o'quv – kasbiy va kasbiy faoliyatlar bo'lganligi sababli bu o'zgarishlarni shaxsning kasbiy rivojlanish inqirozlari deyish tugri buladi. Bu inqirozlarning paydo bulishida asosiy faoliyatni almashtirish va o'zgartirish muhim ahamiyatga ega.

Kasbiy inqirozlarning bu turi sifatida ijodiy inqirozlar hisoblanadi. Bu inqirozlar ijodiy natijasizlik, ahamiyatli yutuklarning yo'qligi, kasbiy kuchsizlik bilan belgilanadi. Bu inqirozlar ijodiy kasb vakillari uchun ya'ni yozuvchilar, rejissiyorlar, aktyorlar, arxitektorlar va boshqalar uchun og'ir kechadi. Yoshdagi inqirozlar-chi? Ular inqirozli xossalarni keltirib chiqarishi mumkinmi?

Yosh – bu birinchi navbatda yetilish, o'zgarish, inson organizmining qarishi bilan belgilanadigan biologik omil hisoblanadi. Psixik qobiliyatlarni psixik o'zgarishi yoshdagi o'zgarishlar natijasi hisoblanadi. Demak biologik rivojlanishni keltirib chiqaruvchi inson yoshidagi o'zgarishlarni yoshdagi inqirozlarga sabab buladigan mustaqil omil sifatida ko'rish mumkin. Bu inqirozlar shaxs rivojlanishlarining ildamli xarakati uchun kerak buladigan normativ jarayonlar sarasiga kiradi.

Savol: “Shaxs kasbiy shakllanishi jarayonidagi inqirozlar”

Qanday qilib shaxs kasbiy shakllanishi jarayonidagi inqirozlarni yengib o'tadi?

Mavjud vaziyat

Kamol isimli bola kasbining endi yoqmay qolganini aytib o'tdi. Ayrim kasbiy faoliyat elementlaridan norozilik paydo buladi. Kasbiy tanlovning to'g'riligiga ikkilana boshlashadi. Kasbiga qiziqish pasayadi. Kasbiy tanlov inqirozi kuzatila boshlaydi. Odatda u ish davrining birinchi va oxirgi yillarida aniq namoyon buladi. Ammo kasbiy faoliyat talablarining yildan yilga oshishi kasbga yunaltirilganligi qoniqmaslikni pasaytiradi. Kamol o'z kasbiy faoliyatini boshlab mehnat jamoalariga kirib bordi. Rivojlanishning kasbiy vaziyati keskin o'zgaradi: yangi turli yoshdagi jamoa, boshqa munosabatlar, yangi ijtimoiy kasbiy qadriyatlar, yangi ijtimoiy rol va albatta asosiy faoliyatning yangi turi va boshqalar.

Ishning birinchi haftalari, oylari katta kiyinchiliklar bilan bog'liq, ammo ular inqirozli xodisalarni keltirib chiqarmaydi, asosiy sabab psixologik sabab hisoblanadi. Unga ko'ra real kasbiy hayot shakllanib bo'lgan tasavvurlar bilan tugri

kelmasligini aytish mumkin. Kasbiy faoliyatning tasavvurlarga nomuvafiqqligi, kasbiy ekspektatsiya inqirozini keltirib chiqaradi.

Bu holat yuzasidan qanday fikrdasiz va siz qanday yo'l tutgan bo'lardingiz?

Yuqorida keltirib o'tilgan vaziyatni tahlil eting. Siz Kamolning o'rnida bo'lganingizda qanday yo'l tutgan bo'lar edingiz? Kasbiy inqirozdan samarali chiqish yo'llarini ko'rsating.

1. Mavjud vaziyat

Kasblar tizimlashni muhim muammosi – bu kasbni tavsiflovchi ma'lumotlar to'plash usullaridir. Bularga kuzatish faoliyatini mustaqil bajarishi (mehnat usuli), ishchilar bilan savol javob, ish joyidan kuzatuvchi savol javob. Har bir shaxs turi ma'lum kasbiy muhitga yo'naltirilgan idealistik tur – moddiy buyumlar yaratishga texnologik jarayon va texnik qurilmalar iqtidor – aqliy mehnatga ijtimoiy – ijtimoiy mehnat bilan o'zaro aloqaga konventsional aniq tuzilgan faoliyatga ishbilarmonlik – odamlarga rahbarlik va badiiy – ijodga har bir shaxs turi modeli quyidagi sxema bo'yicha tuziladi: maqsadlar, qadriyatlar, qiziqishlar, qobiliyatlar, istalgan kasbiy rollar mumkin bo'lgan yutuqlar karera.

Masalan. Abdulla o'simlik va hayvonlarni parvarishlashni yoqtiradi. O'simlik va hayvonlar haqida kitoblarni o'qishga qiziqadi. Kitoblardan olgan saboqlarini amalda tadbiq qilishni yoqtiradi. Shuningdek, amaliy tajribalar o'tkazishga harakat qiladi. Ammo, o'tkazgan tajribalari ko'ngildagidek chiqmaydi.

Muammoli savol: yuqorida keltirib o'tilgan vaziyatni tahlil eting. Nima sababdan Abdullaning tajribalari yaxshi chiqmadi?

Mehnat ob'ktiga ko'ra 5 ta kasb turlari ajratiladi. Abdulla qaysi kasb turiga moyil?

2. Mavjud vaziyat

(Topshiriqli keys)

1-Topshiriq. «Kim ishlamasa ham bo'ladi ?»

Ko'rsatma: o'quvchilar guruhlariga savol bilan murojaat etiladi. 2 minut vaqt beriladi.

Savol : mehnat qilmasalar ham yashash tarzi va darajasiga salbiy ta'sir ko'rsatmaydigan insonlarning to'rt guruhini ajrating hamda ular nima uchun mehnat qilmasalar ham bo'laverishini tushuntirib bering.

To'g'ri javob : 1-guruh – bolalar, chunki ular ota-ona qaramog'ida (etim bolalar davlat qaramog'ida) hali mehnat layoqati yoshiga yetmagan;

2-guruh – keksalar, chunki ular nafaqada , mehnat layoqati yoshidan o'tishgan;

3-guruh – mehnatga yoroqsiz bo'lgan nogironlar, chunki ular o'zlari xatti-harakatlarini boshqarish va nazorat qilish imkoniga ega emaslar, nafaqada va davlat himoyasida;

4-guruh – «marxumlar, chunki ular bu moddiy dunyo ne'matlaridan hech biriga endi muxtojliklari yo'q».

Baholash tartibi : 1- , 2- , 3- guruhningina to'g'ri topgan guruhga 1 balldan,

4-guruhni ko'rsatgan guruhga yana 1 ball qo'shib beriladi.

5. Mavjud vaziyat

(Topshiriqli keys)

Topshiriq. «Paydo bo'lgan va yo'qolgan kasblarni top».

Ko'rsatma : Qisman yoki umuman yo'qolib ketgan hamda faqat XX-asrga kelib paydo bo'lgan kasb va mutaxassisliklarni toping. (Bu topshiriqning yana bir boshqacha ko'rinishida, tayyor kasb va mutaxassisliklar beriladi, o'quvchilar esa ular ichidan qisman yoki umuman yo'qolib ketgan hamda faqat XX-asrga kelib paydo bo'lgan kasb va mutaxassisliklarni ajratib olishadi).

Baholash tartibi : Eng ko'p va to'g'ri topilgan kasblar soni hisobga olinadi.

6. Mavjud vaziyat

(Topshiriqli keys)

Topshiriq. «To'rt guruhga ajrat».

Ko'rsatma : o'quvchilar bir nechta guruhlarga bo'linadi. Guruhlarga kasb va mutaxassisliklar, lavozimlar hamda ilmiy unvonlar yozilgan kartochkalar to'plami beriladi va ikki minut ichida ularni to'rt guruh : kasblar, mutaxassisliklar, lavozimlar, ilmiy unvonlarga ajratish so'raladi.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri ajratilgan kasblar, mutaxassisliklar, lavozimlar, ilmiy unvonlar soni va ajratishga ulgurilmay qolganlari soni hamda noto'g'ri ajratilganlari soni hisoblanadi.

7. Mavjud vaziyat

(Topshiriqli keys)

Topshiriq. «Juftini top».

Ko'rsatma : o'quvchilar bir nechta guruhlarga bo'linadi. Guruhlarga kasb va mutaxassisliklar, lavozimlar hamda ilmiy unvonlar yozilgan kartochkalar to'plami beriladi va ikki minut ichida ularni har birini juftlari topib berish so'raladi.

Baholash tartibi: har bir guruhdagi to'g'ri ajratilgan kasblar, mutaxassisliklar, lavozimlar, ilmiy unvonlar juftliklari soni va ajratishga ulgurilmay qolganlari juftliklar soni hamda noto'g'ri ajratilganlari juftliklar soni hisoblanadi.

8. Mavjud vaziyat

(Topshiriqli keys)

Topshiriq . «Ishtirokchilarni aniqlang».

Ko'rsatma : Ma'lum bir buyum, maxsulotni yaratishda ishtirok etuvchi yoki xizmat ko'rsatuvchi kasb va mutaxassisliklar ro'yxatini 2 minut ichida tuzing. Masalan, badiiy kinofilm ; non-bulka ; gazeta ; transportda biror axolii punkitiga borish ; o'rta ma'lumot olish imkoniyati va h.k.

Baxolash tartibi : eng ko'p hamda to'g'ri kasb va mutaxassisliklar ro'yxatini tuzgan guruh qolib bo'ladi.

9. Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb tipini aniqlash.

Ko'rsatma : turli kasblar yozilgan kartochkalar va beshta tip nomi yozilgan (Inson-Texnika, Inson-Tabiat, Inson-Inson, Inson-Belgili sistema, Inson- Badiiy obraz) kartochka beriladi. 1 minut ichida beshta tip bo'yicha kasblarni ajratib chiqish so'raladi.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb tipini aniqlash

Ko'rsatma : beshta tipga aloqador rasmlar tasvirlangan kartochkalarni (texnikani, tabiatni, insonni, belgili sitemani, badiiy obrazni ramziy ifodalovchi rasmlar, tasvirlar) va kasblar nomi yozilgan yoki kasblar tasvirlangan rasmlarni o'z tipii bo'yicha ajratish taklif etiladi. O'quvchilar rasmdagi tasvirlar qaysi tipga va qaysi kasbga aloqador ekanligini faximlashlari kerak.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb sinfini aniqlash.

Ko'rsatma : turli kasblar yozilgan kartochkalar va uchta kasb sinfi nomi yozilgan (Gnostik, O'zgartiruvchi, Kashf etuvchi) kartochka beriladi. 1 minut ichida uchta sinf bo'yicha kasblarni ajratib chiqish so'raladi.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb sinfini aniqlash

Ko'rsatma : uchta sinfga tipga aloqador rasmlar tasvirlangan kartochkalarni (Gnostik, O'zgartiruvchi, Kashf etuvchi) va kasblar nomi yozilgan yoki kasblar tasvirlangan rasmlarni o'z sinflari bo'yicha ajratish taklif etiladi. O'quvchilar rasmdagi tasvirlar qaysi sinfga va qaysi kasbga aloqador ekanligini faximlashlari kerak.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb bo'limini aniqlash.

Ko'rsatma : turli kasblar yozilgan kartochkalar va to'rtta kasb bo'limi nomi yozilgan (Qo'l mehnat qurollari, Mexanizatsiyalashgan mehnat qurollari, Avtomatlashgan mehnat qurollari, Inson organizimining funktsional vositalari) kartochka beriladi. 1 minut ichida to'rtta bo'lim bo'yicha kasblarni ajratib chiqish so'raladi.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb bo'limini aniqlash

Ko'rsatma : to'rtta bo'limga aloqador rasmlar, turli xil mehnat qurollari tasvirlangan kartochkalarni (Qo'l mehnat qurollari, Mexanizatsiyalashgan mehnat qurollari, Avtomatlashgan mehnat qurollari, Inson organizimining funktsional vositalari) va kasblar nomi yozilgan yoki kasblar tasvirlangan rasmlarni o'z

bo'limlari bo'yicha ajratish taklif etiladi. O'quvchilar rasmdagi tasvirlar qaysi bo'linga va qaysi kasbga aloqador ekanligini faximlashlari kerak.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb guruhini aniqlash.

Ko'rsatma : turli kasblar yozilgan kartochkalar va to'rtta kasb guruhi nomi yozilgan (Maishiy turmush mehnat sharoiti, Ma'naviy javobgarlik mehnat sharoiti, Ochiq havodagi mehnat sharoiti, G'ayrioddiy mehnat sharoiti) kartochka beriladi. 1 minut ichida to'rtta guruh bo'yicha kasblarni ajratib chiqish so'raladi.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb guruhini aniqlash

Ko'rsatma: to'rtta guruhga aloqador rasmlar, turli xil mehnat sharoitlari tasvirlangan kartochkalarni (Maishiy turmush mehnat sharoiti, Ma'naviy javobgarlik mehnat sharoiti, Ochiq havodagi mehnat sharoiti, G'ayrioddiy mehnat sharoiti) va kasblar nomi yozilgan yoki kasblar tasvirlangan rasmlarni o'z bo'limlari bo'yicha ajratish taklif etiladi. O'quvchilar rasmdagi tasvirlar qaysi guruhga va qaysi kasbga aloqador ekanligini faximlashlari kerak.

Baholash tartibi : har bir guruhdagi to'g'ri va noto'g'ri ajratilgan kasblar soni hamda ajratishga ulgurilmaganlari soni hisobga olinadi.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Kasb formulasini aniqlash.

Ko'rsatma : Mehnat xususiyatlari – klassifikatsion belgilarning nomlari ularning bosh xarfi bilan qisqartirib olinadi:

Kasb tipi: Te, Ta, I, Be, Ba ;

Kasb sinfi : G, O', K ;

Kasb bo'limi : Q, M, A, F ;

Kasb guruhi : m, j, o, g'.

Kasb nomlari yozilgan kartochkalar beriladi va guruhdan ularning 1 minut ichida formulalarini topish, ya'ni qaysi tip, sinf, bo'lim, guruhga mansubligini aniqlash so'raladi. So'ng uning taqdimoti o'tkaziladi. (Masalan, *shifokor* – IGFj, ya'ni shifokor kasbining predmeti - tipi «Inson», chunki mehnat jarayonida kasb

egasining diqqat-e'tibori ikkinchi bir insonga, bemorga qaratilgan bo'ladi; maqsadi-sinfi – «Gnostik», chunki mehnat faoliyati davomida shifokorning bosh maqsadi bemorga nima bo'lganini aniqlash; quroli-bo'limi – «Inson organizimining funktsional vositalari», chunki tashxis qo'yishda shifokor o'z bilim, malakasi, tajribasi va intuitsiyasiga tayanadi; sharoiti-guruhi – «Ma'naviy javobgarlik mehnat sharoiti», chunki mehnat jarayonida shifokor bemorning jismiga nisbatan tanlagan muolajalarni ko'rsatilayotgan tibbiy xatti-harakatlarning barcha o'rinli hamda to'g'ri ekanligiga, ruhiyatiga va umuman hayotiga javobgardir. *Oshpaz – TeO'Qm*, ya'ni oshpaz kasbining predmeti - tipi «Texnika», chunki mehnat jarayonida kasb egasining diqqat-e'tibori texnologik jarayon bo'lib hisoblanuvchi taomga qaratilgan bo'ladi; maqsadi-sinfi – «O'zgartiruvchi», chunki mehnat faoliyati davomida oshpazning bosh maqsadi mahsulotlar xossa va xususiyatlarini o'zgartirish, issiqlik ta'sirida qayta ishlash; quroli-bo'limi – «Qo'l mehnat qurollari», chunki mahsulotlarni qayta ishlash jarayonida ularga asosan jismoniy muskul kuchi ta'sirida ish bajaruvchi qurollardan foydalaniladi – pichoq, jo'va, kapgir va h.k ; sharoiti-guruhi – «Maishiy turmush mehnat sharoiti», chunki mehnat jarayonida taom tayyorlash uchun ajratilgan maxsus xona - oshxonada sodir bo'ladi).

Baholash tartibi : Har bir formulada to'g'ri va noto'g'ri aniqlangan mehnat xususiyatlarini soni hisoblanadi. Har bir formuladagi to'g'ri topilgan mehnat xususiyati 1 balldan hisoblanadi, ya'ni jami 4 ball.

Mavjud vaziyat

(mashqli keys)

Mashq. Formula bo'yicha kasbni top.

Ko'rsatma : Turli kasb formulalari yozilgan kartochkalar va bitta kasb nomi yozilgan kartochka beriladi. 1 minut ichida qaysi formula ushbu kasbning formulasi ekanligini aniqlash so'raladi. So'ngra taqdimoti o'tkaziladi. (Masalan, *TeO'Qm*, *BaKFm*, *IO'Fj* va h. k kasb formulalari hamda o'qituvchi kasbi. Formulalar ichidan o'qituvchi kasbiga tegishli bo'lgan formulani aniqlash kerak.) O'yinni murakkablashtirish maqsadida bir nechta formulalar va bir nechta kasblarni taklif etish mumkin.

Baholash tartibi : Formulalar va kasblarning o'zaro mosligining to'g'riligi hisobga olinadi.

Muammo: Hozirda talabalar o'z xotirasidan ko'p shikoyat qilada, yoki ma'lumotlar ko'p barchasini esda saqlab hololmaslik tabiiy hol deb tushunmoqda.

Muammoning yechimi:

1. Talaba zarur ma'lumotlarni tez-tez takrorlab turishi lozim
2. Talaba o'z vaqtida mashg'ulotlarga tayyorgarlik ko'rish lozim
3. Talaba o'z ustida ko'p ishlashi kerak

Muammo: O'z-o'zini anglash, o'zidagi mavjud sifatlarni baholash jarayoni ko'pincha konkret shaxs tomonidan og'ir kechadi, ya'ni inson tabiati shundayki, u o'zidagi o'sha jamiyat normalariga to'g'ri kelmaydigan, no'maqul sifatlarni anglamaslikka, ularni «yashirishga» harakat qiladi.

Muammoning yechimi:

1. Bugungi kun ko'pchilik odamlar psixologik bilimlardan xabardor bo'lishini hojlashadi
2. Bu ataylab qilinadigan ish bo'lmay, u har bir shaxsdagi o'z shaxsiyatini o'ziga xos himoya qilish mexanizmidir. Bunday himoya mexanizmi shaxsni ko'pincha turli xil yomon asoratlardan, hissiy kechinmalardan asraydi.
3. «Men» - obrazining ijobiy yoki salbiyligida yana o'sha shaxsni o'rab turgan tashqi muhit, o'zgalar va ularning munosabati katta rol o'ynaydi. Odam o'zgalarga qarab, guyoki oynada o'zini ko'rganday tasavvur qiladi

Kasbiy psixologiya fanining ilmiy tadqiqot metodlari

bo'yicha keys

Muammo: Zaiflik, kuchsizlik, ilojsizlik "boshqa iloji yuk", "doim shunday" hislariga ko'milib yurgan talaba vaziyat yaxshi tomonga hech qachon o'zgarmasligiga ishonch hosil qilgan. Hayot uning uchun dahshatli, "hammaga baribir" iborasida aks etgan.

Muammoning yechimi:

1. Kuzatish metodi orqali batafsil muammolarni o'rganish lozim
2. Suhbat metodlari bilan muammoga yo'l toping
3. "O'z-o'zini baholash" anketasini o'tkazing

Muammo: Ko'p yoshlar o'zhissiyotlarini sir tutishga o'rinishadi yoki jilovlay olmasdan "portlab" ketishlarini ko'rsatishadi. Ota-onalar bu holatga "yuragi tor", "injiq" deb baho beradilar.

Muammoning yechimi:

1. Aslida, ulardan yutuqlari, quvonchlari, baxtli holatlari, hayajonlari hakida so'rashlari kerak
2. Ular bilan dustlashish kerak, sirlashish kerak.
3. Talaba psixolog mutaxassislarga uchrab maslahat olishlozim

3-Muammo: Hozirda talabalar o'z xotirasidan ko'p shikoyat qilada, yoki ma'lumotlar ko'p barchasini esda saqlab hololmaslik tabiiy hol deb tushunmoqda.

Muammoning yechimi:

4. Talaba zarur ma'lumotlarni tez-tez takrorlab turishi lozim
5. Talaba o'z vaqtida mashg'ulotlarga tayyorgarlik ko'rish lozim
6. Talaba o'z ustida ko'p ishlashi kerak.

Faoliyatning psixologik talqini bo'yicha 3 keys.

<i>Muammoning turi</i>	<i>Muammoning kelib chiqish sabablari</i>	<i>Muammoni yechishda Sizning harakatlaringiz</i>	<i>Muammoni yechishda uchraydigan to'siqlar</i>
Maktabda 8-sinfda o'qiydigan Feruza ismli qiz sportning tekvondo turiga juda qiziqadi. U 2 oy davomida sport musobasalarida qatnashdi va mashg'ulotlarga bo'lgan qiziqishi yanada ortdi. Lekin o'sha paytda dars jarayonlariga to'liq qatnashmaganligi sababli darslarga bo'lgan qiziqishi sustlashdi. Qizning otasiga unga sport mashg'ulotlariga boshqa qatnashmasligini aytdi. Lekin Feruza darslarni holdairib bo'lsa ham, otasidan yashirincha sportga bordi. Ushbu holatga izoh bering, va o'z tavsiyalaringizni ayting.			

Tafakkur mavzusi bo'yicha 4 keys:

Tafakkurning shaxsgata'siri jihatlari		Tafakkurning rivojlanishida nimalarga e'tibor berish kerak?	
Muammolar	Yechimi	Muammolar	Yechimi

Talabalarda kreativ fikrlashni shakllantirish

<i>Muammolar</i>	<i>Muammoning sabablari</i>	<i>Muammoning yechimi</i>

TYeSTLAR NAMUNALARI

1.Rasmda berilgan kasb turini aniqlang?

	Kasb va uning tur
	Rahbar, “Inson-inson”
	O’qituvchi, “Inson-inson”
	Agronom “Inson-tabiat”
	Injener “Inson-texnika”
	Texnolog. “Inson-texnika”
	Fermer “Inson-tabiat”
To’g’ri javob:	

2.Kasblar turlarini aniqlang va jadvalga har bir rasimga mos javoblarni yozing. Shuningdek, qaysi kasb turiga kirishini ko’rsatinig.

Javoblar:

3.Ta’rifda tushurib holdirilgan so’zlarni yozing.

Kasbga kirib borishda va uni egallashda kasbning ijtimoiylashuvi kuzatiladi: ya’ni, ----- o’z o’rnini topish, kasbiy imkoniyatni ishlab chiqish, ---- - -----ni shakllantirish

4. Ta'rifda tushurib holdirilgan so'zlarni yozing.

.....-bu yo'nalish salohiyat va muhim kasbiy sifatlarning boyib borishi, mehnat faoliyati samaradorligini oshirib borish bilan belgilanadi.

5. Kasbiy konsultatsiya bosqichlari ketma – ketligini ifodalagan holda tegishli raqamlarni kataklarga yozing.

1) diagnost; 2) ma'rifat; 3) saralash ; 4) maslahat; 5)kasbga yo'llash; 6) kasbiy baholash.



6. Quyida shaxsning kasbiy shakllanishi determinatsiyasida kasbiy o'zini aniqlash usullarini toping.

29-jadval

<i>Yoshi</i>	<i>Kasbiy shakllanish bosqichlari</i>	<i>Kasbiy o'zini aniqlash usullari</i>
Maktabgacha bolalik (7 yoshgacha)		
Kichik maktab yoshi (11 yoshgacha)		
O'smirlik davri (15 yoshgacha)	Birlamchi ambivaler optatsiya	
Erta yoshlik	Ikkilamchi realisti optatsiya	
Yoshlik (23 yoshgacha)	Kasbiy talim va kasbi tayyorgarlik	
Yoshlik	Kasbiy moslashuv	

(27 yoshgacha)	Birlamchi professionalizatsiya	
Yetuklik davri (33 yoshgacha)	Ikkilachi professionalizatsiya	
Yetuklik (60 yoshgacha)	Kasbiy mahorat	
Qarilik davri (70 yoshgacha)	Mentoring – murabiychilik	

J: Kasbiy rolli o'yinlar, kasbiy induktsiyalar, kasbiy xayollar, romantik kasbiy maqsadlar, kasbiy o'quv yo'nalishning vaziyatli tanlovi, kasbiy ta'lim va kasbiy tayyorgarlik tanlovi, o'quv kasbiy xududda o'zini aniqlash, kasbiy yo'nalishning mustaxkamligi, aniq ish joyida o'zini aniqlash, kasbga o'zini aniqlash, kasbiy madaniyatda o'zini aniqlash, ijtimoiy fodalari va oilaviy maishiy hayotda o'zini aniqlash.

7. Quyida kasb psixologiyasi haqidagi qarashlari yozing.

1-jadval

Kasb psixologiyasi haqidagi qarashlari	Tavsiflar, toifalar, ajralib turadigan belgilar va shu kabilar	
	Fan taraqqiyotidagi o'rni	Shaxsiy fikr
Ye.A.Klimov		
V.G.Makushin		
Dj.Xolland		
D Paterson		

8. Kasb avlambor bu mahsus tayyorgarlikni talab etuvchi, inson doim tajribadan o'tkazuvchi va unga yashash uchun manba bo'lib xizmat qiluvchi mashg'ulotdir.

F	
S	
M	
U	

9. Mutaxassislik – kasbiy ta’lim, tayyorgarlik yili bilan ish jarayonida maxsus bilimlar, ko’nikma va malakalar kompleksi bo’lib ular yoki bu kasb doirasida ma’lum faoliyat turini bajarish uchun zaruriy hisoblanadi.

F	
S	
M	
U	

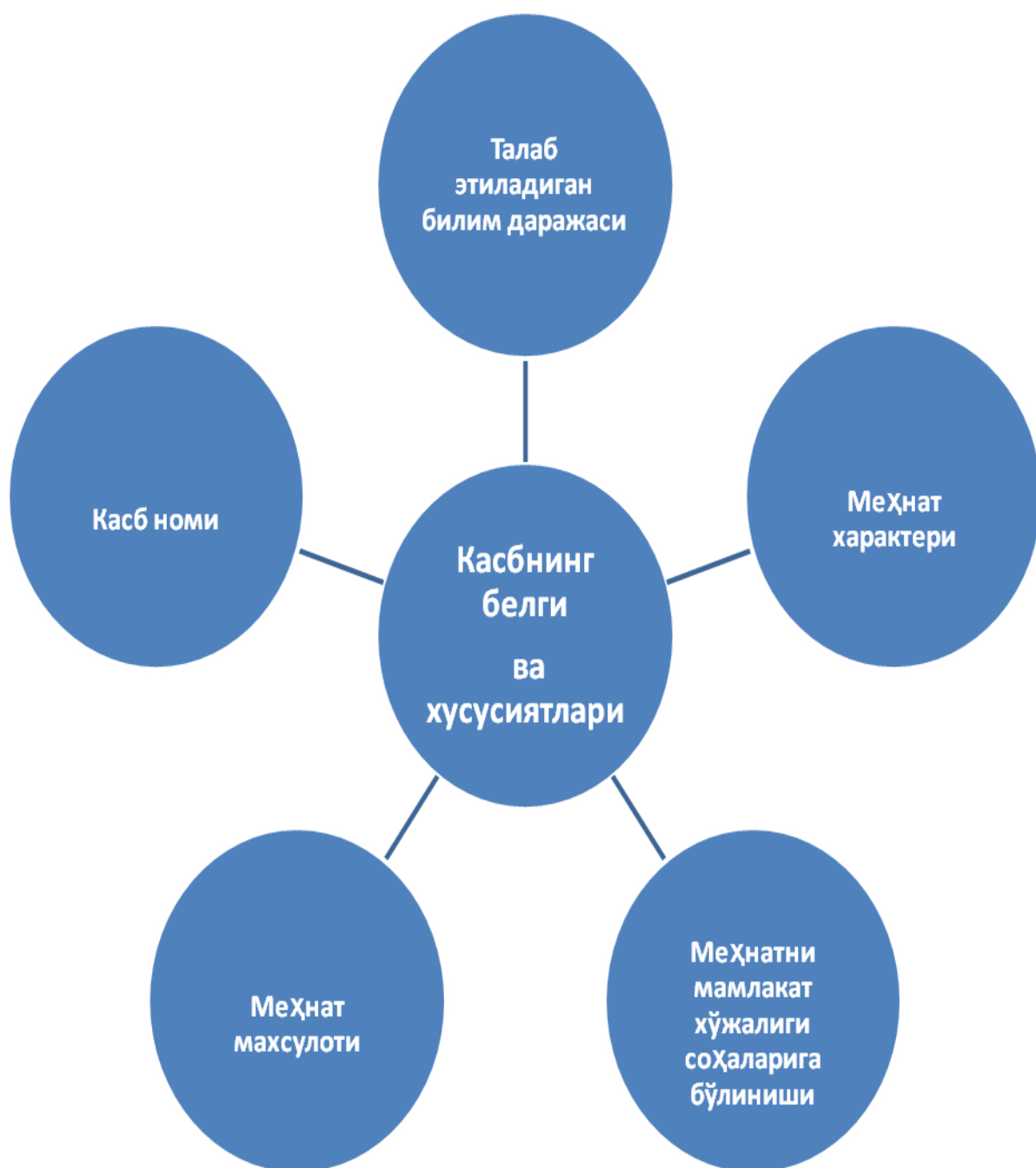
10. Kasb ta’limi turi va uni insonga talabqiladigan jihatlarni yozing.

2-jadval

	Kasb tili	Kasb ta’limi turi	Insondan talab qiladi
	Inson-texnika	Tokar, frezerchi, slesar, yig’uvchi-slesar, elektromontajchi, tikuvchi-motorist	
	Inson-inson	Tabiiy xizmat ko’rsatish (kichik hamshira) maktabgacha tarbiya muassasalari tarbiyachisi, savdo xizmati, oziq-ovqat mahsulotlari sotuvchisi, qandolatpaz, pazanda	
	Inson-belgi sanoq temasi	EHM operatori, programmist, mashinkada yozish va ish hujjatlari, chizuvchi va boshqalar	
	Inson-tabiat	O’simlikshunos, gulchi chorvador	
	Insonbadiiy obraz	Badiiy to’qish, rassommodeler, yog’ochga ishlov berish xalq ommaviy san’ati, ganchkorlik	



Kasbning belgi va xususiyatlari



VI. MUSTAQIL TA'LIM MAVZULARI

Mustaqil ta'limning shakli va mazmuni

Mustaqil ta'lim quyidagi shakllarda tashkil etiladi.

Talaba mustaqil ishining asosiy maqsadi – o'qituvchining rahbarligi va nazoratida muayyan o'quv ishlarini mustaqil ravishda bajarishi uchun bilim va ko'nikmalarni shakllantirish va rivojlantirishdan iboratdir.

Talaba mustaqil ishni tayyorlashda fanning muayyan xususiyatlarini hisobga olgan holda quyidagi shakllardan foydalanishi tavsiya etiladi:

- mavzularni me'yoriy xujjatlar va o'quv adabiyotlari yordamida
- mustaqil o'zlashtirish;
- darslik va o'quv qo'llanmalar bo'yicha fan bo'limlari mavzularini o'rganish;
- kompyuter va elektron versiya ma'lumotlaridan foydalanish;
- ma'ruza matni, rasmlar, jadvallar va ko'rgazmali jihozlardan foydalanib ma'ruza qismini o'zlashtirish.
- maxsus adabiyotlar bo'yicha fanlar bo'limlari yoki mavzulari ustida ishlash;
- talabaning o'quv-ilmiy tadqiqot ma'lumotlaridan foydalanib mavzularni chuqurroq yoritish;
- nazariy bilimlarni amaliyotda qo'llash;
- berilgan mavzular bo'yicha axborot (referat) tayyorlash;
- ilmiy maqola, anjumanlarga ma'ruzalar tayyorlash va h.k.

Tavsiya etilayotgan mustaqil ishlarning mavzulari

1. An'anaviy va zamonaviy biotexnologiya strukturasi
2. Transgen o'simliklar olishda transformatsiya usullari va ulardan foydalanish
3. Hujayrada hosil bo'lgan moddalarni toza holda ajratib olish va modifikatsiyalash usullari
4. Hosildorlikni oshirish biotexnologiyasi
5. Tuproq stress omillari (sho'rlanish, qurg'oqchilik) ga chidamli tuganak bakteriya-lar va azotobakteriyalar shtammlaridan biopreparatlar tayyorlash texnologiyasi

Dasturning informatsion-uslubiy ta'minoti

Mazkur fanni o'qitish jarayonida:

- ta'limning zamonaviy ilg'or interfaol usullaridan, pedagogik va axborot-kommunikatsiya texnologiyalarining prezentatsiya (taqdimot), multimedia va elektron-didaktik texnologiyalaridan foydalaniladi;
- ma'ruza darslarida aqliy xujum, guruxli fikrlash, muloqot kabi pedagogik texnologiyalaridan;
- laboratoriya darslarida esa kichik guruxlar musobaqalari, guruxli fikrlash kabi pedagogik texnologiyalarini qo'llash nazarda tutiladi.

6.1. Mustaqil ishni tashkil etishning shakli va mazmuni:

1. Ma'ruzani tinglay olish. Oliy o'quv yurtida ma'ruza jarayonida talabalardan ma'ruzachini diqqat bilan tinglash, fikr yuritish va eshitganlarini yozib borish (matnlashtirish) talab etiladi. Fikrni bir joyga to'plab, diqqatni ma'ruzachi bayon qilayotgan masalaga safarbar qilish, faollik ko'rsatish bilangina ma'ruza mazmunini to'g'ri tushunish, bilish va anglab o'zlashtirish mumkin.

Talaba o'quv-biluv maqsadini aniq tasavvur etib, ma'ruzaga oldindan tayyorlanib kelsa (oldingi ma'ruzada bayon qilingan masala – materialni ko'rib, darslikdan yangi mavzuni o'qib kelsa), ma'ruzachi bayoniga o'z fikrlarini to'plab, to'la safarbarlik bilan tinglay oladi. Buning uchun talabada ma'ruzani tinglashga kuchli motiv mavjud bo'lishi lozim.

Talaba ma'ruzani tinglash jarayonida asosiy tushunchalar, muhim g'oyalarni o'z daftariga yozib borishi kerak, bunda ham eshitish, ham ko'rish, ham harakat xotirasi ishlaydi, faoliyat asosida bilim o'zlashtiriladi.

2. Ma'ruzani yozib olish. Har bir ma'ruza mazmuni (jarayoni)da quyidagilar bo'ladi: ma'ruzaning asosini tashkil etadigan muhim g'oya; muhim g'oyani asoslash, juz'iy xulosalar; qisqa muddatli pauzalar; ta'riflar, tamoyillar, tushunchalar.

Ma'ruzani matnlashtirayotganida talaba asosiy g'oya, muhim masalalar, asosiy tushunchalar, tamoyillar, ta'riflar, xulosalarni o'z daftarida qayd etib, yozib borishi kerak. Ma'ruza jarayonida professor-o'qituvchi shu xil joylarni ovozi o'zgartirish, nutq tempini kamaytirish bilan ajratib beradi, e'tibor berib tinglansa, zarur joylarni yozib olish imkoni bo'ladi.

Yozib olish paytida ma'lum tartibga amal qilinsa (ma'ruzaning muhim masalalari; fakt, dalil, ta'rif, xulosalar; savol-javoblar, mulohazalar), tinglash jarayonida asosiy narsalarni ajrata olish malakasi hosil bo'ladi.

3. Matnlashtirayotganda quyidagilarga rioya qilish lozim:

- hoshiya qoldirish;
- har bir masalani tartib raqami bilan belgilash va satr boshidan yozish; ravshan yozish, ostiga chizib, ajratish;
- shaxsiy shartli qisqartirishlardan foydalanish: (qarama- qarshilik), kabi;
- sitatalarning hoshiyasini ko'proq qoldirish;
- imloga, husnixatga rioya qilish, tartibli, toza yozish;
- yozib ulgurmaganlariga joy qoldirib ketish;
- ruchkada yozish;
- yozuvlarni uyda o'qib chiqib, xatolarini to'g'rilash, to'ldirish, bu ishni iloji boricha o'sha kuni yoki vaqt ko'p o'tmay qilish;
- o'zingiz qatnashmagan ma'ruzani o'rtog'ingiz matnidan ko'chirib, kitoblardan o'qib o'rganish zarur.

4. Kitob, manbalar bilan ishlash. Yuqori malakali mutaxassis bo'lish, o'z bilimlarini muntazam oshirib borish uchun talaba kitob bilan, birinchi manbalar

bilan ishlash malakasiga ega bo'lishi zarur. Kitob bilan ishlay olish malakasi nazariy bilimlarni chuqurroq egallashning shartidir.

Birinchi kurs talabalari, odatda, zarur kitobni tanlash, topishga qiynaladilar, kitobni maqsadga muvofiq tarzda qunt bilan o'qish o'rniga ayrim joylarinigina o'zgarishsiz ko'chirib qo'ya qoladilar. Vaqolanki, talaba kitobni qanday topish va undan qanday foydalanishni bilmog'i lozim.

5. Talaba mustaqil o'qib o'rganishi zarur bo'lgan kitoblarni professor - o'qituvchi ma'ruza, seminar paytida tavsiya qiladi va kerakli maslahatlarni beradi. Oliy o'quv yurti talabasi DS va malaka talabalarining ijtimoiy-gumanitar, tabiiy-ilmiy, ixtisoslik va boshqa fan bloklariga doir kitoblar, manbalarni o'rganishi zarur. U professor-o'qituvchilarning maslahati va ko'rsatmalariga amal qilishi kerak. Shu tariqa zarur kitoblarni tanlash va mustaqil ta'lim olish malakalarini egallab oladi.

6. Mustaqil ta'lim olish uchun talaba bibliografiya qanday bo'lishi, qanday tuzilishini bilib olishi lozim. Bibliografiyaga doir yozuvlarni alohida daftarga, bloknotga yoki kartochkalarga qayd etib (yozib) borishi kerak. Bunda quyidagi tartibga amal qilinadi: avvalo, kitob yoki maqola muallifining familiyasi, ismi-sharifi, kitobning nomi, joy nomi, nashriyot nomi, chiqqan yili, hajmi (necha betligi) ko'rsatiladi (*masalan, G'. Shoumarov, Oila psixologiyasi. Toshkent, "Yozuvchi" nashriyoti 2010, 272-bet*).

Ilmiy jurnal yoki ilmiy to'plamda bosilib chiqarilgan maqola bo'lsa, unda avvalo muallifning familiyasi, ismi-sharifi, so'ngra maqolaning nomi, jurnal (to'plam)ning nomi, joyi, vaqti (yili), soni, so'ngra betlari ko'rsatiladi (*masalan, O.Avlaev. Muammoli ta'limning psixologik asosi "O'zMU", Toshkent, 2014 y, 132 bet*).

Shu bilan birga talaba kutubxonadan o'ziga kerakli kitobni qanday qidirib topishni ham bilishi lozim. Har bir kutubxonada mavjud kitoblar bibliografiyasi (ro'yxati) shifrlanib, bibliografik kartochkalar shkaflardagi qutichalarga alfavit tartibida hamda mavzular bo'yicha (sistemalashtirilib) joylashtirilgan bo'ladi. Talaba o'ziga kerakli kitobning nomi yozilgan kartochkadan kitobning nomi va shifrlarni aniqlab, kitob olishga buyurtma berishi mumkin.

7. Darslik, ilmiy asarlar yoki maqolalarni o'qib o'rganish tartibi quyidagicha bo'lishi mumkin: tavsiya etilgan kitob, risola, darslikning bobi, paragrafi (fasli) avvalo boshdan oxirigacha bir marta o'qib chiqiladi, umumiy tasavvur hosil qilinadi: muallifi, kitobning, maqolaning, bob yoki paragrafning nomi bilib olinadi; kitobning muqaddimasi, asarning boshida yozilgan va shu asarning mazmunini ifodalaydigan *sitata, annotatsiya, epigrafi* bilan tanishish shu kitobning muhim g'oyasi va yo'nalishi haqida tasavvur beradi.

So'ngra qo'lda halam (ruchka) bilan jiddiy e'tibor berib, asosiy matn o'qib o'rganiladi, muhim o'rinlari yozib boriladi. Kitobni bobma-bob yoki paragraflar bo'yicha o'rganish va asosiy g'oyalarni qisqa yozib borish maqsadga muvofiq.

Kitob o'qish ijodiy ish bo'lib, o'qish jarayonida fikr yuritish, tanqidiy yondashish, mulohaza qilish, lug'atlar, entsiklopediyalardan foydalanish lozim.

Kitob matnida berilgan jadval, rasm, sxema, grafik, shakl, ko'rgazmalarni sinchiklab o'rganish, matn mazmuniga solishtirib ko'rish, zarur bo'lsa, ko'chirib olish kerak. Kitobni o'qish jarayonida olingan ma'lumotlarni baholash va unga tanqidiy nuqtai nazardan qaramoq, shuningdek, uning muhimligini baqolamoq zarur bo'ladi.

O'qishda u yoki bu materiallarga har xil yo'llar bilan belgi qo'yish tavsiya etiladi.

8. Mustaqil ta'lim mavzulari

1. An'anaviy va zamonaviy biotexnologiya strukturasi.
2. Transgen o'simliklar olishda transformatsiya usullari va ulardan foydalanish.
3. Seleksiya va urug'chilikda biotexnologiyaning ahamiyati.
4. Mikroob biotexnologiyasi. Hujayrada xosil bo'lgan moddalarni toza xolda ajratib olish va modifikatsiyalash usullari
5. Hosildorlikni oshirish biotexnologiyasi.
6. Tuproq stress omillari (sho'rlanish, qurg'oqchilik)ga chidamli tuganak bakteriyalar va azotobakteriyalar shtammlaridan biopreparatlar tayyorlash texnologiyasi.
7. O'rmon resurslari genofondini saqlab qolishda va o'rmon o'simliklari selektsiyasida biotexnologiyaning o'rni.
8. Tuproq stress omillari (sho'rlanish, qurg'oqchilik)ga chidamli tuganak bakteriyalar va azotobakteriyalar shtammlaridan biopreparatlar tayyorlash texnologiyasi.
9. *Trichoderma zamburug'i* asosida biopreparat tayyorlash usullari.
10. *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi asosida preparat tayyorlash texnologiyasi.

VII. GLOSSARIY

№	Atamaning o'zbek tilida nomlanishi	Atamaning ingliz tilida nomlanishi	Atamaning rus tilida nomlanishi	Atamaning ma'nosi
1	Agar-agar	Agar	Agar-agar	ba'zi dengiz o'simliklaridan olinadigan mahsulot; uning eng muhim tarkibiy qismi uglevodlar qatoriga kiradi, u sovuq suvga solinganida bo'kadi, qaynoq suvda batamom eriydi, eritmasi soviganda ta'msiz va hidsiz, tiniq, iviq cho'kma hosil bo'ladi. Bu mahsulot mikroorganizmlarga qattiq oziqa muhiti tayyorlashda, qandolatchilikda shirinlik-lar tayyorlashda ishlatiladi. Turlari: o't (safro) suyuqligi va binafsha rang agar; jo'xori uni qaynatmasidagi agar; pivo atalasidagi agar; achitqi zamburug'li ekstraktli agar; suv peptonli agar; glitserinli agar; uzum shakarli agar; dezoksixolli agar; laktozali dezoksi-xolli agar; dektrozali agar; jelatinali agar; safroli agar; kartoshka va qonli agar; kraxmalli agar; qonli agar; laktoza-lakmusli agar mannitli agar; sut-peptonli agar; siydikli agar; yumshoq agar-mikroblarni ikki qatlamli oziqa muhitida undirishga ishlatiladigan agarning ustki qatlami; go'sht-peptonli agar; oziqali agar; yarim suyuq agar; oddiy agar; baliq-jelatinali agar; shakarli agar; qo'rg'oshin-sirkali agar; qiyshaytirilgan agar; pivo atalali agar; zardobli agar;

				fenolftaleinli agar; fuksinli agar; tuxum oqsilidagi agar; tuxum sarig'idagi agar
2	Agaroza	Agarose	Agaroza	dengiz suvo'tlaridan olinadigan poli-saxarid; elektroforez va xromatografiya-da gelli muhit sifatida foydalaniladi
3	Agregatsiya	Aggregation	Agregatsiya	ayrim organizm yoki hujayralarning to'planishi, g'uj bo'lib qolishi
4	Agrobiotsenoz	Agrobiocenosis	Agrobiotsenoz	ekin ekiladigan yerlarda yashaydigan organizmlar yig'indisi.
5	Adaptatsiya	Adaptation	Adaptatsiya	moslashish-organizmlarning evolyutsiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi.
6	Adventiv kurtaklar	Adventitious buds	Adventivные почки	o'simliklardagi kurtaklar, ular odatda paydo qilmaydigan hujayra va to'qimalar-dan hosil bo'ladi.
7	Adenillanish	Adenyl	Adenil	yo'li bilan fermentlar faolligi o'zgarishining bir turi.
8	Adenin	Adenine	Adenin	(aminopurin)-azotli organik birikma bo'lib, adenin nukleotidi tarkibiga kiradi
9	Azotobakterin	Azotobacterin	Azotobakterin	ushbuturga kiradigan bakteriyalardan tashkil topgan bakterial o'g'it.
10	Azotobakter	Azotobacter	Azotobakter	erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakteriyalar turi.
11	Akropetal transport	Acropetal Transport	Акрупетальный transport	o'simlikda moddalarning poya apikal meristemasi yo'nalishi bo'yicha tashilishi.
12	Amplifikatsiya	Amplification	Amplifikatsiya	xromosoma DNK ketma-ketligining qo'shimcha nusxasini hosil bo'lishi.
13	Anaeroblar	Anaerobe	Анаэробы	kislorodsiz muhitda modda almashinishi va

				ko'payishini davom ettira oladigan mikroorganizmlar; faqat anaerob sharoitda o'sadigan mikroorganizmlar; fakultativ anaeroblar kislorodli yoki kislorodsiz sharoitda o'sa oladigan mikroorganizmlar.
14	Androgenez	Androgenesis	Androgenez	mikrospora yoki chang donachalaridan somatik embriogenez yoki kallus hosil qilish orqali o'simlik yoki uning organlarining hosil bo'lish jarayoni.
15	Antagonist	Antagonist	Antagonist	raqib-mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.
16	Antibiotiklar	Antibiotic	Antibiotik	mikroorganizmlar hayot faoliyati davomida hosil bo'ladigan kimyoviy moddalar; juda oz miqdori ham boshqa mikroorganizmlarga zaharli ta'sir etadi. Antibiotiklar soni hozirda 2000 dan ortib ketgan bo'lib, ularning sintezlanishida zamburug'lar (aspergil-lar), sho''lasimon zamburug'lar va boshqa mikroorganizmlar xizmat qiladi; antibiotiklar ishlab chiqarishning Penicillium, Cephalosporium va Streptomyces avlodlariga mansub turlarida ishlab chiqariladigan penitsillinlar-asosiy tijorat antibiotiklar hisoblanadi;
17	Antigenlar	Antigen	Antigen	immun tizimda antitelalar hosil bo'lishini indutsirlovchi, antitela paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi spetsifik hamkorlik qiluvchi oqsillar.
18	Antitela	Antibody	Antitela	immun tizim tomonida yoki patogen agentlar;

				oqsillarni (antigenlar) yo'qotuvchi ta'sirga ega oqsillar.
19	Apikal dominantlik	Apicaldominance	Apikalnoe dominirovanie	apikal meristemadagi gormonlar yordamida yon navdalarning yuqori meristemi kurtaklari o'sishini to'xtatishi.
20	Attragirlash xususiyati	Attrability	Attragiruyushaya sposobnost	stimulyator fitogarmonlarning oziqa moddalarni o'suvchi organga katta miqdorda tashilishini faollash xususiyati.
21	Auksotrof mutantlar	Auxotroph	Auksotrof	jinsiy bo'lmagan xromosomalar to'plami (1, 2, 3, va hokazo sonlar bilan belgilanadi).
22	Bazal	Basal	Bazal'nyy	asosiy, asosga tegishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalar-eukariotik jonivorlar (oddiy jonivor-lar, suvo'tlar) xivchinlarini sitoplazma-ning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.
23	Bazipetal transport	Basipetal transport	Bazipetal'nyy transport	o'simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.
24	Bakteriofaglar	Bacteriophage	Bakteriofagy	bakteriyalarni infektsiyalovchi viruslar.
25	Binar	Binary	Binar	ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo'linish-hujayralarning ko'payish vaqtida ikkiga bo'linishi.
26	Biogenez	Biogenesis	Biogenez	tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo'lishi.
27	Biomassa	Biomass	Biomassa	mikroorganizmlarni o'stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko'rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho'l biomassaning 15-30% ini

				tashkil etadi; ho'l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho'ktirish natijasida suyuq oziqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.
28	Bioreaktor	Bioreactor	Bioreaktor	biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo'ljallangan sig'im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o'stirish uchun zarur bo'lgan sig'implarda hamda hujayra va fermentlarni to'plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.
29	Biosintez	Biosynthesis	Biosintez	fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.
30	Biotexnologiya	Biotechnology	Biotexnologiya	tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo'nalishi.
31	Vektor	Vector	Vektor	genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon.Tabiiy vektorlar-kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi; o'rnini olish vektori-klonlashtiruvchi vektor; o'simliklarda klonlash vektori-o'simlik hujayrasiga begona DNKni o'tkazish va joylashtirish bilan shug'ullanadigan gen muhandisligida ishlatiladigan vektor; plazmada vektori-begona, yot DNKdagi gen yoki bir necha genlarni bu xildagi genlari bo'lmagan

				organizmga o'tkazib qo'yishida qatnashadigan plazmida.
32	Viruslar	Virus	Virusı	birorta tirik organizmda rivojlanish qobiliyatiga ega bo'lgan, tarkibida nuklein kislotalar, oqsillar, ayrim hollarda lipidlar bo'lgan zarrachalar. Viruslar zarrachalardan tashkil topgan bo'lib, ular nuklein kislotalar va oqsillar po'stloqli holda bo'ladi. Viruslar 1892 yilda D. I. Ivanovskiy tomonidan ochilgan bo'lib, 1889 yilda "virus" atamasi M. Beyerink tomonidan taklif etilgan. Virus hamma tirik organizmlarda kasallik qo'zg'atadi va hamma yerda tarqalgan.
33	Gaploid	Haploid	Gaploid	bir organizm turiga hos bo'lgan butun to'plamning yarmi, xromosomalar to'plamining bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra, organizm.
34	Gen	Gene	Gen	genetik axborotlarning yagona strukturasi muayyan regulyator funktsiya, bir yoki bir nechta polipeptid zanjirlar, yoki RNK molekulasi strukturasi kodirlovchi xromosoma qismi (DNK molekulasi).
35	Gen muhandisligi	Genetic engineering	Geneticheskaya injeneriya	usullar va texnologiyalar; rekombinant ribonuklein va dezoksiribonuklein kislotalar olish texnologiyasi, organizm-lardan genlarni ajratish, ular bilan turli manipulyatsiyalar o'tkazish va ularni boshqa organizmlarga kiritish texnologiyalari.
	Genetik kod (GK)	Genetic code	Geneticheskii kod	nuklein kislotalar izchilligi ko'rinishi-dagi

			(GK)	nuklein kislotalari molekulalarida nasliy axborotning yozma tizimi. GK birligi bo'lib kodon yoki triplet xizmat qiladi. GK sintezlanayotgan polipeptid zanjiriga aminokislotalarning birikish tartibini aniqlaydi. Nuklein kislotalari molekulalarida ketma-ketlik ko'rinishida "yozilgan" irsiy axborotning tirik organizmlarga hos yagona tizimi. Genetik kodning birligi kodondir.
36	Genetik modifikatsiyalangan transgen organizmlar (GMO)	Genetically Modified Organism (GMO)	Geneticheski Modifitsirovannyi organizm (GMO)	gen – muhandisligi usullari yordamida genomiga begona genlarni kiritilishi orqali irsiyati o'zgargan o'simlik, hayvon, mikroorganizm va viruslar
37	Genetik havf	Genetic safety	Geneticheskaya bezopastnost	insonlar hayoti va sog'ligi, atrof-muhit uchun havfli bo'lgan kutilmagan irsiy o'zgarishlarning genomda paydo bo'lishi va organizmlar sifatining o'zgarishi.
38	Genlar bibliotekasi	Genomic library	Genomnaya biblioteka	butun genomni tutuvchi klonlangan DNK fragmentlari to'plami.
	Genlar ekspressiyasi	Gene expression	Ekspressiya gena	genda ribonuklein kislota, oqsil va fenotipik xususiyatlar shaklida yozilgan genetik axborotlarning yuzaga chiqishi.
39	Genom	Genom	Genom	mazkur organizm protoplazmasi organellalarida joylashgan xromosoma-lardan tashqari genlarini tutuvchi genlar yig'indisi. Diploid holatdagi turlar gametasida bittadan, somatik hujayra-larda esa ikkitadan genom bo'ladi.

40	Genoterapiya	Gene therapy	Genoterapiya	retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik ob'ekt to'qimalarida genetik sog'lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini davolash.
41	Genotip	Genotype	Genotip	asos genlarining to'plami. Irsiy asos-organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining vauning barcha genlarining majmui.
42	Genofond	Gene pool	Genofond	organizm turlari yoki populyatsiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.
43	Geterozis	Heterosis	Geterozis	bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang'ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo'lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.
44	Gibrid	Gybrid (Fusion)	Gibrid	duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o'zida mujassamlashtirgan organizm.
45	Ginogenez	Gynogenesis	Ginogenez	murtak xaltasi hujayralaridan o'simlik paydo bo'lish jarayoni.
46	Giflar	Hyphae	Gify	ipchalar-zamburug' tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo'lgan, mikroskopda arang ko'rish mumkin bo'lgan iplar.
47	Gormon retseptor kompleks	Hormone-receptor complex	Gormon retseptornyy kompleks	gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta'siri amalga oshishi-ning birinchi bosqichi.
48	Gormon statusi	Hormone status	Gormonalnyy status	ontogenezda o'simlik va hayvon gormon

				tizimining umumiy holati, endogen va ekzogen ta'sirlarga nisbatan hosil bo'lish jarayonlarida gormonlar miqdori va ular orasidagi nisbati, harakati, foydalanilish va inaktivatsiyasi.
49	Destruktsiya	Destruction	Destruktsiya	moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.
50	Didifferentsiya	Dedifferentiation	Didifferentsiya	ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differentsiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanish.
51	Diploid	Diploid	Diploid	mazkur turga hos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.
52	Diploidlash	Diploidisation	Diploidizatsiya	xromosoma to'plamini ikki marta ko'paytiruvchi model. Xromosomalarning diploid to'plami (avtodigaploid) ota yoki ona xromosomalarini tutuvchi ikkita gaploid xromosomalar to'plami.
53	Differentsiyalash	Deffertation	Differentsiatsiya	asosiy va yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.
54	DNK	DNA	DNK	dezoksiribonuklein kislotalar molekulasi, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.
55	DNK bo'shlig'i			DNK zanjirida bitta yoki bir nechta nukleotidlarning yetishmasligi.

56	DNK dupleksidagi uzilish	Gene duplication	Duplikatsiya DNK	ikki zanjirli DNKning zanjirlarining bittasida yonma-yon ikkita nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'ining yo'qligi.
57	DNK replikatsiyasi	DNA replication	Replikatsiya DNK	fermentlar to'plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekulalarini ikkilanishi (ikki marta ko'payishi).
58	Yopiq tizim	Closed system	Zakrytaya sistema	tashqi muhit bilan faqat energiya orqali almashinuvchi tizim.
59	Yopishqoq uchlar	Sticky ends	Lipkie kontsy	komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo'lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.
60	Jinsiy jarayon	Sexual process	Polovoy protsess	erkak (spermiya) va urg'ochi (tuxum hujayra) jinsiy hujayralarining qo'shilish, natijada diploid hujayra (zigota) hosil bo'ladi va asosning jinsi belgilanadi.
61	Jinsiy xromosomalar	Sexual chromosome	Половые хромосомы	asosning jinsini belgilovchi xromosomalar (X, Y, W, Z va boshqa harflar bilan belgilanadi).
62	Zatravka	Starting point	Zatravka	DNKning bitta zanjiri bilan komplementar hamkorlik qiluvchi qisqa izchillik (ko'pincha RNK); erkin 3 – ON – uch hosil qilib, u asosida DNK-polimeraza dezoksiribonukleotid zanjir sintez qila boshlaydi.
63	Identifikatsiya	Identification	Identifikatsiya	aynan o'xshatish, tenglashtirish-moddayoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.
64	Immobilizatsiya	Immobilization	Immobilizatsiya	membranalarda hujayra, fermentlarni

	(to'plash)			to'plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.
65	Invertirlangan takroriy izchilliklar			bir molekula tarkibidagi bir-biriga qarama – qarshi tomonlarda joylashgan bir xil izchillikning ikkita nusxasi. Bir-birlariga yonma-yon joylashgan invertirlangan takroriy izchilliklar palindrom hosil qiladi.
66	Ingibitor	Inhibitor	Ingibitorы	to'xtatuvchi-fermentlar, faolligini to'xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun'iy olingan).
67	Induktor	Inducer	Induktor	repressor bilan qo'shilib, uni operator bilan qo'shilish xususiyatini yo'qotadigan, nafaol holatga o'tkazadigan past molekulali modda.
68	Induktsiya	Induction	Induktsiya	ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.
69	Initsiatsiya	Initiation	Initsiatsiya	molekulyar biologiyadagi translyatsiya jarayonining birinchi bosqichi.
70	Inkubatsiya	Incubation	Inkubatsiya	o'stirish-ma'lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o'stirish.
71	Inokulyat	Inoculation	Inokulirovat	ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi oziqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.
72	Intron	Intron	Intron	genning transkribtsiyalanayotgan “sukunat saqlovchi” protsessing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.
73	Issiqlik shoki oqsillari (IShO)	(HSP)	Belok teplovogo shoka (BTSh)	haroratning normadan oshishiga organizm tomonidan hosil bo'ladigan oqsillar.

74	Klon	Clone	Klon	bitta hujayra yoki molekuladan olingan hujayra va molekulalar yig'indisi.
75	Klonlash	Cloning	Klonirovanie	populyatsiyalarning organlari bilan genetik bir xil hujayralar olish.
76	Klonli mikroko'paytirish	Clone micro-multiplication	Klonalnoe mikrorazmnojenie	<i>in vitro</i> jinssiz usul yordamida boshlang'ich o'simlik bilan genetik bir xil o'simliklar.
77	Kodon	Codon	Kodon	muayyan aminokislotalar yoki komplementar terminatsiyalovchi signalni kodirlovchi nukleotidlar tripleti.
78	Kompetentsiya	Sompetitiveness	Kompetentsiya	hujayra, to'qima, organ va organizmning indutsirlovchi ta'sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanish.
79	Komplementar zanjir	Complementary chain	Komplementarnaya sep	RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlan uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan biri.
80	Ligaza-DNK	DNA-ligase	DNK-ligaza	zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefirbog' hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.
81	Ligirlash	Ligation	ligirovat; ligirovanie	DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog'larining hosil bo'lishi. Bu ibora to'mtoq uchlarni biriktirish hollarida va RNK bog'lar hosil bo'lishida ham qo'llaniladi.
82	Lizis	Lysis	Lizis	erib ketish, parchalanish-fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta'sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofaglarining ko'payishi natijasida uning erib ketishi.

83	Marker (DNK)	Marker (DNA)	Marker (DNK)	elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.
84	Marker gen	Gene marker	Markernyy gen	joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.
85	Matritsa	Matrix	Matritsa	1) ma'lum bir tana (shakl) bo'lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo'lishi; 2) (molekulali biologiyada) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalaridagi azot asoslari-ning ketligi.
86	Mahsuldorlik jarayoni			moddalar hosil bo'lishi va metabolism-ning o'simlikda bir vaqtda kechayotgan fiziologik, biokimyoviy, biofizik va boshqa jarayonlarning yig'indisi, donor-aktseptor munosabatlar va genetik nazorat asosida o'simliklarning ho'jalik ahamiyati qimmatli organlarining shakllanishi, ikkilamchi almashinishni ta'minlanishi.
87	Meyoz	Meiosis	Meyoz	xromosomalar sonini reduktsiyasiga va genlar rekombinatsiyasiga olib keluvchi jinsiy hujayralarning bo'linish jarayoni.
88	Meristema	Meristem	Meristema	faol bo'linayotgan differentsiyalanmagan hujayralardan iborat to'qimalar.
89	Metabolizm	Metabolism	Metabolizm	oralik almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtdan oxirgi mahsulotlar hosil bo'lgunga qadar aylanishi; katabolizm va anabolizm jarayoni yig'indisi; qorong'ulikda kechadigan metabolism-

				mikroorganizmlar-ning (qirmizi bakteriyalar <i>Rhodospiril-lum</i>) qorong'ida aerob holda o'sish xususiyati. Buxususiyat bakteriyalarda nafas olish zanjirining kerakli qismlari borligidan dalolat beradi.
90	Metabolitlar	Metabolite	Metabolit	metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.
91	Mikoriza	Micorrhiza	Mikoriza	yuksak o'simliklar ildizi bilan zamburug' ipchalarining birga yashashi.
92	Mikroorganizmlar uyushmasi	Microbial associations	Assotsiatsii mikrobnые	har doim birga uchraydigan va bir-biri bilan bog'liq holda yashaydigan mikroorganizmlar birlashmasi.
93	Mikroflora	Microflora	Mikroflora	har xil turdagi mikroorganizmlarning ma'lum yashash muhitidagi to'plami; avtohton mikroflorasi; suv mikro-florasi; havo mikroflorasi; balchiq mikroflorasi; odatdagi mikroflora; organizm mikroflorasi; qo'shimcha mikroflora; tuproq mikroflorasi; rizofera mikroflorasi.
94	Mitoz	Mitosis	Mitoz	eukariot somatik hujayralarning bo'linish jarayoni.
95	Mitselliy	Mycelium	Mitselliy	zamburug' tana-zamburug', jumladan sho''lasimon zamburug'larning o'sadigan tanasi bo'lib, bir va ko'p hujayrali ipchalar (gif) dan iborat.
96	Modifikatsiya	Modification	Modifikatsiya	mikroorganizmlarning fenotipik o'zgarishi, ya'ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo'lmagan o'zgarishlar.
97	Morfogenez	Morphogenesis	Morfogenez	organ (organogenez), to'qima (gistogenez) va

				hujayralarning (tsitogenez yoki hujayralarning differentsiyalanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.
98	Mutagenez	Mutagenesis	Mutagenez	mutagenez o'zgarishning (mutagenezning) ro'y berishi-organizmda irsiy o'zgarish-lar-mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqllovchi va naslga o'tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasi o'zgarishi yotadi.
99	Mutagenlar	Mutagens	Mutageny	DNK molekulasi mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotalarini oshiruvchi omil. Irsiyatni o'zgartiruvchilar-mutatsiyalar hosil qiluvchi fizikaviy va kimyoviy omillar;
100	Mutatsiya	Mutation	Mutatsiya	gen, xromosomadagi nukleotid izchillik, genomning birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.
101	Nishon - hujayra	Target	Mishen, sel	u yoki bu fitogarmon retseptorini tutuvchi va fitogarmonning kontsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.
102	Nozern-blot-RNK	Northren blod RNA	Nozern-blot-RNK	bo'lakchalarini gellardan elyuitsiya qilishda ishlatiladi.
103	Nuklein kislotalar	Nucleic acids	Nukleinovyie kisloty	turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekulyar tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi:

				RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.
104	Operon	Operon	Operon	genetik regulator strukturaning birligi, tarkibida bitta yoki bir nechta o'zaro birikkan struktura, operon va regulator qismlar genlarini tutadi.
105	Organogenez	Organogenesis	Organogenez	uyushmasdan o'sayotgan kallus hujayralarida organlar (ildiz, boshlang'ich barglar va nihollar) hosil bo'lish jarayoni.
106	Ochiq tizim			tashqi muhit bilan energiya va moddalar bilan almashinadigan tizim.
107	Partenogenez	Parthenogenesis	Partenogenez	asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.
108	Plazmida	Plasmid	Plazmida	avtonom replikasiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK plazmid vektori asosi.
109	Poliadenillash	<u>Polyadenylation</u>	Poliadenilirovanie	poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3-uchiga uning sintezi tugaganidan so'ng birikishi.
110	Poliploidiya	Ploidy	Poliploidiya	organizm gaploid xromosomalar yig'indisining karrali ortishi bilan bog'liq bo'lgan irsiy o'zgaruvchanlik.
111	Proliferatsiya	Proliferation	Proliferatsiya	hujayra va to'qimalarning ko'payish yo'li bilan hosil bo'lishi.
	Promotor	Promoter	Promotor	genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.
112	Pronukleus	Pronucleus	Pronukleus	urug'langan tuxum hujayra yadrosi.

	Proton pompasi	Protonpump	Protonnaya pompa	maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o'tish jarayoni.
113	Protoplast	Protoplast	Protoplast	mexanik yo'l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig'idan mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o'simlik hujayrasi.
114	Profag	Prophage	Profag	bakteriya xromosomasiga o'rnanishgan fag genomi. processingLizogen bakteriyalardan yashiringan, yuqmaydigan shakldagi mo''tadil bakteriofag.
115	ProtsessingRNK	Processing RNA	Protsessing RNK	etilish jarayoni bo'lib, unda birlamchi RNK-transkript modifikatsiyasi uchraydi va yetilgan RNKga aylanadi.
116	Regeneratsiya	Regeneration	Regeneratsiya	hujayralar tiklanishi.
117	Rekombinant gen	Recombinant gene	Rekombinantnyy gen	turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.
118	Rekombinant DNK	Recombinant DNA	Rekombinantnaya DNK	turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.
119	Rekombinatsiya	Recombination	Rekombinatsiya	krossingover natijasida ota-onalar genlarining qayta guruhlanishi(tabaqalanishi).
120	Reparatsiya	Reparation	Reparatsiya	DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK molekulasi uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulalarni tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi.
121	Repressiya	Repression	Repressiya	gen ekspressiyasini va yoxud o'shanga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.
122	Repressor	Repressor	Repressor	ma'lum operonda RNK sintezini

				to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.
123	Restriktazalar	Restrictase	Restriktazy	kesuvchi fermentlar, restriksiya fermentlari, DNKni ma'lum bir nukleotidlar qatorida kesadigan fermentlar. Gen muhandisligida qo'llaniladigan vosita.
124	Rivojlanish determinatsiyasi			boshqa yo'nalishlardagi rivojlanish imkoniyatining cheklash bilan bir vaqtda boradigan organizm, organ, to'qima va hujayraning muayyan yo'l bilan rivojlanishga tayyorgarlik holati. Determinatsiya davrida rivojlanishning yangi yo'nalishi uchun ichki zaruriy sharoitlar yaratiladi.
125	Rivojlanishning yuvenil fazasi			urug' yoki vegetativ kurtakdan vegetativ organlarning reproduktiv organlar hosil qilish qobiliyatini namoyon bo'lishiga qadar o'sishi va rivojlanishi.
126	Rizosfera	Rhizosphere	Rizosfera	ildiz atrofidagi tuproqning mikroflorasi-mikroorganizmlarning ko'pligi bilan farqlanadigan 2-3 mm qalinlikdagi ildiz atrofida joylashgan tuproq qatlami.
127	RNK	RNA	RNK	tarkibiga nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, uratsil), riboza va fosfor kislotasi qoldiqlari kiruvchi ribonuklein kislota molekulasini.
128	RNK blottingi	Blot RNA	Blotting RNK	RNKni agarozali geldan nitrotsellyulda filtriga komplementar DNK bilan duragaylash uchun olinishi.
129	Sayt	Site	Sayt	o'rin, joylanish-genlar xaritasidagi nuqtali mutatsiya o'ri.

130	Sauzern bo'yicha DNK blottingi	Southern blot DNA	Blotting DNK po Sauzernu	denaturlangan DNKni komplementar nukleotid ketma-ketlik bilan duragaylash uchun agarozali geldan nitrotsellyulda filtrga olinishi.
131	Segment		Segment	karj, bo'lak.
132	Sekvenirlash			ketma-ketlikni aniqlash, sekvenirlash-oqsildagi aminokislota qoldig'ini va nuklein kislotalardagi nukleotidlar-ning ketma-ketligini aniqlash.
133	Seleksiya	Selection	Seleksiya	tanlash-hayvon, o'simlik va mikro-organizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.
134	Sinergizm	Synergism	Sinergizm	moddalar, jarayonlar va boshqa omillarning hamkorlikdagi ta'sirini oshiruvchi samara.
135	Skrining	Screening	Skrining	bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorganizmlarning aralash populyatsiyasidan keragini ajratish.
136	Somaklonal variabellik			kulturalangan somatik hujayralardan regeneratsiyalangan o'simliklardagi xususiyatlarning o'zgarib turishi.
137	Somaklonlar			boshlang'ich shakllaridan muayyan farqlar bilan farqlanuvchi somatik hujayralardan olingan reagent o'simliklar.
138	Somatik duragay			somatik hujayralar qo'shilishi (duragaylanishi) orqali olingan reagent o'simlik.
139	Somatik duragaylash	Somatic Hybridization	Somaticheskaya gibridizatsiya	jinsiy jarayondan tashqarida yadro va organellalar genlari va xromasomalarni genetik rekombinatsiyaga chaqirish jarayoni.

140	Somatik embriogenez	Somatic cell hybridization	Somatiicheskiy kletochnyy embriogenez	hujayra va to'qimalar kulturasida murtaksimon strukturalar (embrioidlar) hosil bo'lish jarayoni.
141	Stimulyatorlar	Stimulator	Stimulyator	o'simliklarning o'sishini kuchaytiruvchi omil - o'simliklarning o'sishini, hujayralarning bo'linishini tezlashtira-digan, kuchaytiruvchi moddalar.Ular tabiiy yoki sintetik holda bo'lishi mumkin. Tabiiylari auksinlar, gibberellinlar va sitokininlar.
142	Stress oqsillar	Stress protein	Stressovyy belok	noqulay sharoitlarda organizm tomonidan sintezlanuvchi va stress omillarning organizmga zarali ta'sirini kamaytirish imkonini beruvchi maxsus oqsillar.
143	Subbirlik			oqsil molekulalarini tashkil etuvchi (to'rtlamchi strukturasi) oqsil globulalari.
144	Subkulturalash	Sub-culter	Subkultura	transplantlarni (inokulumlarni) boshqa kultural idishga yangi oziqa muhitiga o'tkazish.
145	Substrat	Substrate	Substrat	oziqa muhit-mikroorganizmlarning o'sishi uchun kerak bo'lgan oziqa muhiti.
146	Termodinamik tizim			energiyani yutish, qayta hosil qilish, to'plash va foydalanish xususiyatiga ega o'zaro bog'liq elementlar kompleksi.
147	Totipotentlik	Totipotency	Totipotentnost	muayyan o'stirish sharoitida o'simliklar somatik hujayralarining o'zining ontogonik rivojlanishi irsiy dasturini to'liq amalga oshirish.
148	Transgenoz	Ttransgenesis	Transgenез	turli vektorlar yordamida donor, begona genlarni retsipient o'simlik, hayvon va

				mikroorganizmlar hujayrasiga kiritish jarayoni. Transduksiya moyil faglar yordamida genetik axborotni bakteriya hujayrasidan eukariotlar hujayrasiga sun'iy yo'l bilan o'tkazish.
149	Transduksiya	Transduction	Transduksiya	bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor hujayradan retsipient hujayraga olib o'tish.
150	Transkripsiya	Transcription	Transkripsiya	RNK polimeraza fermenti yordamida DNK matritsasida RNK-nusxasining hosil bo'lishi.
151	Translyatsiya	Translation	Translyatsiya	axborot, transport RNKsi va boshqa omillar ishtirokida ribosomalarda oqsillar sintezi.
152	Transplant (inokulyum)	Transplant (inoculum)	Transplant (inokulyum)	kallus (supenziyali) kulturasining boshqa yangi oziq muhitiga ko'chirib o'tkazishda foydalaniladigan qismi.
153	Transpozonlar	Transposon	Transpozon	DNKning bir bo'lagi bo'lib, molekula ichida bir joydan ikkinchi joyga va bir molekuladan ikkinchisiga o'tishga qodir.
154	Transformatsiya	Transformation	Transformatsiya	alohida ajratilgan DNK yordamida hujayraga genetik axborotni kiritish. Transformatsiya yordamida olingan hujayrada va undan keyingi avlodlarda yangi belgilar DNK yordamida olingan manbadagiga o'xshagan bo'ladi.
155	Uratsil	Uracil	Uratsil	RNK tarkibiga kiradigan pirimidin asosi.
156	O'simliklarni gormon tizimi			fitogormonlar, ularning retseptorlari vaikkilamchi vositachilaridan iborat reguliyator kompleks.
157	Faglar	Phage	Fagi	mikroorganizmlar ichiga kirib, unda

				ko'payib, keyin ularni eritib yuboruvchi viruslar.
158	Faollashtirish			1) faollikni qo'zg'atish va kuchaytirish; 2) molekulalar faolligini qo'zg'atib kimyoviy reaksiyaga kirishni tezlatish.
159	Fenotip	Phenotype	Fenotip	organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.
160	Fermenter	Fermenter	Fermenter	ayrim xomashyolarni mikroorganizmlar yordamida bijg'itish uchun ishlatiladigan hamma tomoni berk asbob.
161	Fermentlar	Enzyme	Fermentы	biologik tezlatkichlar, enzimlar-oqsilning o'ziga hos turi; tirik hujayralarda ham tezlatkich rolini bajaradi.
162	Fitoaleksinlar			o'simliklarning kasalliklarga qarshi chidamlilik tizimining patogenlar rivojlanishini pasaytiruvchi genotipik va real komponentlari.
163	Fitogormonlar biosintezi yo'llarining ajralishi			tashqi sharoit kompleksi bilan aniqlangan bir necha fitogarmonlar uchun asos bo'lgan oraliqdan u yoki bu fitogarmonning bir necha fitogarmonlarning fermentativ biosintezi yo'li.
164	Fitoregulyatorlar	Plant growth regulator	Regulyator rosta tasteniy	o'simliklarning o'sishi va rivojlanishiga ta'sir etuvchi, o'g'itlar va gerbitsidlar ta'siriga ega bo'lmagan tabiiy va sun'iy preparatlar.
165	Fosforobakterin	Phosphobacterin	Fosforobakterin	fosfor organik birikmalarni parchalash xususiyatiga ega bo'lgan bakteriyalardan tashkil topgan bakteriyali o'g'it.

166	Fotosintez	Photosynthesis	Fotosintez	yorug'lik energiyasi ishtirokida o'simliklar, suvo'tlari va ayrim bakteriyalar hujayralarida SO ₂ dan organik moddalar hosil bo'lish jarayoni.
167	Fragmentlar	Fragment	Fragment	parchalar, qismlar.
168	Xemosintez	Chemosynthesis	Xemosintez	ayrim mikroorganizmlarga hos bo'lgan oziqlanish turi. Ular ayrim anorganik moddalar (masalan, vodorod sulfat)ni oksidlanish natijasida hosil bo'lib, energiya hisobiga anorganik moddalardan (masalan, ko'mir kislotasi va suv) organik moddalar hosil bo'ladi.
169	Xromosomalar	Chromosome	Xromosoma	DNK va oqsillardan iborat hujayra yadrosini genetik struktura hosilasi. Xromosomalarda organizmning irsiy axboroti berilgan.
170	Hujayralar selektsiyasi	Cell selection	Kletochnaya selektsiya	selektiv sharoitlar yordamida genetik modifikatsiyalangan mutant hujayralar va somoklonal variantlar ajratish usuli.
171	Sentrifuga	Centrifuge	Sentrifuga	ajratkich, cho'ktirgich-markazdan qochish kuchiga asoslangan turli xil aralashma-larni qismlarga ajratuvchi asbob; analitik (laboratoriya) ajratkich; tebranuvchi ajratkich; gorizontaal ajratkich; bug'lantiruvchi ajratkich; cho'ktiruvchi ajratkich; tindiruvchi ajratkich; preparativ ajratkich; o'z-o'zini bo'shatadigan ajratkich; suzish yo'li bilan ishlaydigan ajratkich; ko'p bo'limli ajratkich; o'ta tez aylanadigan ajratkich; tabaqalashtiruvchi, tafovutli

				ajratkich.
172	Sitozin	Cytosine	Sitozin	DNK va RNK tarkibida bo'lgan pirimidin asosi.
173	Eksplant	Explant	Eksplant	oziqa muhitida inkubatsiya qilinayotgan to'qima yoki organ, yoki kallus to'qimasi olish uchun foydalaniladigan fragmentlar.
174	Elektroporatsiya	Electroporation	Elektroporatsiya	hujayra membranasida qo'shimcha teshiklarni hosil qilishga yordam beruvchi elektr toki yordamida hujayraga genlarni kiritish usuli.
175	Elektroforez	Electrophoresis	Elektroforez	elektr maydoni yordamida aralashmalarning bir joydan ikkinchi joyga o'tishi, bo'laklarga ajratish.
176	Endonukleazalar	Endonuclease	Endonukleaza	fosfodiefir bog'larining o'ziga hos bo'lmagan parchalanishi orqali nuklein kislotalarini parchalovchi fermentlar. DNKni purin yoki pirimidin qismlaridan kesuvchi fermentlar.
177	In vitro	In vitro	In vitro	tirik materialni probirkada sun'iy oziqa muhitlarda steril sharoitda o'stirish.
178	In vivo	In vivo	In vivo	tirik materialni tabiiy sharoitda o'stirish.

Glossary-Glossariy

№	Atamaning nomi	Atamaning ma'nosi
1	Agaroza	dengiz suvo'tlaridan olinadigan polisaxarid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.
2	Agregatsiya	ayrim organizm yoki hujayralarning to'planishi, g'uj bo'lib qolishi.
3	Agrobiotsenoz	ekin ekiladigan yerlarda yashaydigan organizmlar yig'indisi.
4	Adaptatsiya	moslashish-organizmlarning evolyutsiya jarayonida yuzaga kelgan yashash

		sharoitiga moslashuvi.
5	Adventiv kurtaklar	o'simliklardagi kurtaklar, ular odatda paydo qilmaydigan hujayra va to'qimalardan hosil bo'ladi.
6	Adenillanish	yo'li bilan fermentlar faolligi o'zgarishining bir turi.
7	Adenin	(aminopurin)-azotli organik birikma bo'lib, adenin nukleotidi tarkibiga kiradi.
8	Azotobakterin	ushbuturga kiradigan bakteriyalardan tashkil topgan bakterial o'g'it.
9	Azotobakter	erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakteriyalar turi.
10	Akropetal transport	o'simlikda moddalarning poya apikal meristemasi yo'nalishi bo'yicha tashilishi.
11	Amplifikatsiya	xromosoma DNK ketma-ketligining qo'shimcha nusxasini hosil bo'lishi.
12	Anaeroblar	kislorodsiz muhitda modda almashinishi va ko'payishini davom ettira oladigan mikroorganizmlar; faqat anaerob sharoitda o'sadigan mikroorganizmlar; fakultativ anaeroblar kislorodli yoki kislorodsiz sharoitda o'sa oladigan mikroorganizmlar.
13	Androgenez	mikrospora yoki chang donachalaridan somatik embriogenez yoki kallus hosil qilish orqali o'simlik yoki uning organlarining hosil bo'lish jarayoni.
14	Antagonist	raqib-mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.
15	Antibiotiklar	mikroorganizmlar hayot faoliyati davomida hosil bo'ladigan kimyoviy moddalar; juda oz miqdori ham boshqa mikroorganizmlarga zaharli ta'sir etadi. Antibiotiklar soni hozirda 2000 dan ortib ketgan bo'lib, ularning sintezlanishida zamburug'lar (aspergillar), sho''lasimon zamburug'lar va boshqa mikroorganizmlar xizmat qiladi; antibiotiklar ishlab chiqarishning Penicillium, Cephalosporium va Streptomyces avlodlariga mansub turlarida ishlab chiqariladigan penitsillinlar-asosiy tijorat antibiotiklar hisoblanadi;
16	Antigenlar	immun tizimda antitelalar hosil bo'lishini indutsirlovchi, antitela paydo

		bo'lishiga ta'sir etuvchi spetsifik hamkorlik qiluvchi oqsillar.
17	Antitela	immun tizim tomonida yoki patogen agentlar; oqsillarni (antigenlar) yo'qotuvchi ta'sirga ega oqsillar.
18	Apikal dominantlik	apikal meristemadagi gormonlar yordamida yon navdalarning yuqori meristemi kurtaklari o'sishini to'xtatishi.
19	Attragirlash xususiyati	stimulyator fitogarmonlarning oziqa moddalarni o'suvchi organga katta miqdorda tashilishini faollash xususiyati.
20	Auksotrof mutantlar	jinsiy bo'lmagan xromosomalar to'plami (1, 2 , 3, va hokazo sonlar bilan belgilanadi).
21	Bazal	asosiy, asosga tegishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalar-eukariotik jonivorlar (oddiy jonivorlar, suvo'tlar) xivchinlarini sitoplazmaning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.
22	Bazipetal transport	o'simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.
23	Bakteriofaglar	bakteriyalarni infektsiyalovchi viruslar.
24	Binar	ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo'linish-hujayralarning ko'payish vaqtida ikkiga bo'linishi.
25	Biogenez	tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo'lishi.
26	Biomassa	mikroorganizmlarni o'stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko'rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho'l biomassaning 15-30% ini tashkil etadi; ho'l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho'ktirish natijasida suyuq oziqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.
27	Bioreaktor	biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo'ljallangan sig'im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o'stirish uchun zarur bo'lgan sig'implarda

		hamda hujayra va fermentlarni to'plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.
28	Biosintez	fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.
29	Biotexnologiya	tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo'nalishi.
30	Vektor	genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar-kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi; o'rnini olish vektori-klonlashtiruvchi vektor; o'simliklarda klonlash vektori-o'simlik hujayrasiga begona DNKni o'tkazish va joylashtirish bilan shug'ullanadigan gen muhandisligida ishlatiladigan vektor; plazmida vektori-begona, yot DNKdagi gen yoki bir necha genlarni bu xildagi genlari bo'lmagan organizmga o'tkazib qo'yishida qatnashadigan plazmida.
31	Viruslar	birorta tirik organizmda rivojlanish qobiliyatiga ega bo'lgan, tarkibida nuklein kislotalar, oqsillar, ayrimhollarda lipidlar bo'lgan zarrachalar. Viruslar zarrachalardan tashkil topgan bo'lib, ular nuklein kislotalar va oqsillar po'stloqli holda bo'ladi. Viruslar 1892 yilda D. I. Ivanovskiy tomonidan ochilgan bo'lib, 1889 yilda "virus" atamasi M. Beyerink tomonidan taklif etilgan. Virus hamma tirik organizmlarda kasallik qo'zg'atadi va hamma yerda tarqalgan.
32	Gaploid	bir organizm turiga hos bo'lgan butun to'plamning yarmi, xromosomalar to'plamining bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra, organizm.
33	Gen	genetik axborotlarning yagona strukturasi muayyan regulyator funktsiya, bir yoki bir nechta polipeptid zanjirlar, yoki RNK molekulasini kodirlovchi xromosoma qismi (DNK molekulasini).

34	Gen muhandisligi	usullar va texnologiyalar; rekombinant ribonuklein va dezoksiribonukleinkislotalar olish texnologiyasi, organizmlardan genlarni ajratish, ular bilan turli manipulyatsiyalar o'tkazish va ularni boshqa organizmlarga kiritish texnologiyalari.
35	Genetik kod (GK)	nuklein kislotalar izchilligi ko'rinishidagi nuklein kislotalari molekulalarida nasliy axborotning yozma tizimi. GK birligi bo'lib kodon yoki triplet xizmat qiladi. GK sintezlanayotgan polipeptid zanjiriga aminokislotalarning birikish tartibini aniqlaydi. Nuklein kislotalari molekulalarida ketma-ketlik ko'rinishida "yozilgan" irsiy axborotning tirik organizmlarga hos yagona tizimi. Genetik kodning birligi kodondir.
36	Genetik modifikatsiyalangan transgen organizmlar (GMO)	gen – muhandisligi usullari yordamida genomiga begona genlarni kiritilishi orqali irsiyati o'zgargan o'simlik, hayvon, mikroorganizm va viruslar.
37	Genetik havf	insonlar hayoti va sog'ligi, atrof-muhit uchun havfli bo'lgan kutilmagan irsiy o'zgarishlarning genomda paydo bo'lishi va organizmlar sifatining o'zgarishi.
38	Genlar bibliotekasi	butun genomni tutuvchi klonlangan DNK fragmentlari to'plami.
39	Genlar ekspressiyasi	genda ribonuklein kislota, oqsil va fenotipik xususiyatlar shaklida yozilgan genetik axborotlarning yuzaga chiqishi.
40	Genom	mazkur organizm protoplazmasi organellalarida joylashgan xromosomalardan tashqari genlarini tutuvchi genlar yig'indisi. Diploid holatdagi turlar gametasida bittadan, somatik hujayralarda esa ikkitadan genom bo'ladi.
41	Genoterapiya	retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik ob'ekt to'qimalarida genetik sog'lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini

		davolash.
42	Genotip	asos genlarining to'plami. Irsiy asos–organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining vauning barcha genlarining majmui.
43	Genofond	organizm turlari yoki populyatsiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.
44	Geterozis	bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang'ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo'lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.
45	Gibrid	duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o'zida mujassamlashtirgan organizm.
46	Ginogenez	murtak xaltasi hujayralaridan o'simlik paydo bo'lish jarayoni.
47	Giflar	ipchalar-zamburug' tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo'lgan, mikroskopda arang ko'rish mumkin bo'lgan iplar.
48	Gormon retseptor kompleks	gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta'siri amalga oshishining birinchi bosqichi.
49	Gormon statusi	ontogeneza o'simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati, endogen va ekzogen ta'sirlarga nisbatan hosil bo'lish jarayonlarida gormonlar miqdori va ular orasidagi nisbati, harakati, foydalanilish va inaktivatsiyasi.
50	Destruktsiya	moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.
51	Didifferentsiya	ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differentsiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanish.
52	Diploid	mazkur turga hos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.
53	Diploidlash	xromosoma to'plamini ikki marta ko'paytiruvchi model. Xromosomalarning diploid to'plami (avtodigaploid) ota yoki ona xromosomalarini tutuvchi ikkita

		gaploid xromosomalar to'plami.
54	Differentsiyalash	asosiy va yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.
55	DNK	dezoksiribonuklein kislotalar molekulasini, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.
56	DNK bo'shlig'i	DNK zanjirida bitta yoki bir nechta nukleotidlarning yetishmasligi.
57	DNK dupleksidagi uzilish	ikki zanjirli DNKning zanjirlarining bittasida yonma-yon ikkita nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'ining yo'qligi.
58	DNK replikatsiyasi	fermentlar to'plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekulalarini ikkilanishi (ikki marta ko'payishi).
59	Yopiq tizim	tashqi muhit bilan faqat energiya orqali almashinuvchi tizim.
60	Yopishqoq uchlar	komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo'lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.
61	Jinsiy jarayon	erkak (spermiya) va urg'ochi (tuxum hujayra) jinsiy hujayralarining qo'shilish, natijada diploid hujayra (zigota) hosil bo'ladi va asosning jinsi belgilanadi.
62	Jinsiy xromosomalar	asosning jinsini belgilovchi xromosomalar (X, Y, W, Z va boshqa harflar bilan belgilanadi).
63	Zatravka	DNKning bitta zanjiri bilan komplementar hamkorlik qiluvchi qisqa izchillik (ko'pincha RNK); erkin 3 – ON – uch hosil qilib, u asosida DNK-polimeraza dezoksiribonukleotid zanjir sintez qila boshlaydi.
64	Identifikatsiya	aynan o'xshatish, tenglashtirish-moddayoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.
65	Immobilizatsiya (to'plash)	membranalarda hujayra, fermentlarni to'plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.

66	Invertirlangan takroriy izchilliklar	bir molekula tarkibidagi bir-biriga qarama –qarshi tomonlarda joylashgan bir xil izchillikning ikkita nusxasi. Bir-birlariga yonma-yon joylashgan invertirlangan takroriy izchilliklar palindrom hosil qiladi.
67	Ingibitor	to'xtatuvchi-fermentlar, faolligini to'xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun'iy olingan).
68	Induktor	repressor bilan qo'shilib, uni operator bilan qo'shilish xususiyatini yo'qotadigan, nafaol holatga o'tkazadigan past molekulali modda.
69	Induktsiya	ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.
70	Initsiatsiya	molekulyar biologiyadagi translyatsiya jarayonining birinchi bosqichi.
71	Inkubatsiya	o'stirish-ma'lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o'stirish.
72	Inokulyat	ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi oziqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.

ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. **Artikova R., Murodova S.S.** Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi. O'quv qo'llanma. Toshkent, "Fan va texnologiya" nashriyoti, 2010 y. -252 bet.
2. **Davranov Q.D.** Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. T.: 2008. 214 bet.
3. **Artamonova G.M., Gerasimova S.I. i dr.** Laboratorno-prakticheskie zanyatiya po selskoxozyaystvennoy biotekhnologii (Metodicheskie ukazaniya). Izdatelstvo MSXA, Moskva. 1991.-134 s.
4. **Burxanova X.K., Inogamova M.** – Mikrobiologiya va virusologiya asoslari. O'quv qo'llanma. Toshkent., 1983.-122 bet.
5. **Gariev B.G.** Mikrobiologiya. O'quv qo'llanma. Toshkent: Mehnat, 1990. -212 bet.
6. **Davranov Q.D. va boshq.** Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi. Uslubiy qo'llanma. Toshkent, 2000y. -156 bet.
7. **Davronov Q., Xo'jamshukurov N.** Umumiy va texnik mikrobiologiya. O'quv qo'llanma. Toshkent, 2005. -256 bet.
8. **Davronov Q.D., Artikova R.M., T.Yusupov.** Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi (Amaliy-laboratoriya mashg'ulotlari). ToshDAU. 2001, 63-bet.
9. **Yevtushenkov A.N., Fomichev Yu.K.** Vvedenie v biotekhnologiyu: Kurs lektsiy:/ A.N.Yevtushenkov, Yu.K.Fomichev. - Mn.: BGU, 2002. - 105 s.
10. **Лысак, V.V.** Mikrobiologiya : ucheb.posobie / V. V. Лысак. Minsk : BGU, 2007. – 345 s.
11. **Рыбчин V.N.** Основы генетической инженерии 2-е изд., перераб. I доп.: Учебник для ВУЗов СПб.: Изд-во СПбГТУ, 2002. -522 s.
12. **Тимошенко L.V., Чубик M. V.** Т417 Основы микробиологии и биотехнологии: учебное пособие / – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2009. – 194 s.
13. **Сыренков V.J.** Основы биотехнологии: Kultivirovanie izolirovannykh kletok i tkaney rasteniy: Uchebno-metodicheskoe posobie. – Ulan-Ude: VSGTU, 2003. -231s.
14. **Tepper Ye.Z., Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I.** Praktikum po mikrobiologii. – Izd. 2-e, - M.: Kolos, 1979. -216 s.
15. **Sheveluxa V.S. i dr.** Selskoxozyaystvennaya biotekhnologiya: Uchebnik/ Pod red. B.C. Sheveluxi. - 3-e izd., pererab. i dop.— M.: Vyssh. shk., 2008.— 710s.
16. **Sattarova R.K. va boshqalar.** Mikrobiologiya (ma'ruza mantlari) Toshkent., 2000. 56 bet.
17. **Uotson Dj. Tuz Dj., Kurts D.** Rekombinantnye DNK Krat kurs. M.1986.
18. **Xardi K.** Plazmidy. Metody. M.; Mir, 1990, 267s.
19. **Glik B., Pasternak Dj.** Molekulyarnaya biotekhnologiya. Printsipy i primeneniye. Per.s angl. – M.: Mir, 2002. -584 s. Uchebno-metodicheskoe posobie.

20. **Сыренюв В.И.** Основы биотехнологии: Kultivirovanie izolirovannykh kletok i tkaney rasteniy:– Ulan-Ude: VSGTU, 2003. – 58 s. Uchebno-metodicheskoe posobie.
21. **Maniatis T., Fritsch E., Sambrook D.J.** Molekulyarnoe klonirovanie.-M.: Mir,1984.-477s.Uchebno-metodicheskoe posobie.
22. **Piruzyan E.S.** Основы генной инженерии растений.-M.: Nauka, 1988. -304 s.Uchebno-metodicheskoe posobie.
- 23.(45) **Goldstein A.H., Liu S.T.** Molecular cloning and regulation of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola* // Bioresource Technology.-Hungary, 1987.- № 5. - R. 72-74.
- 24.**Goldstein A.H., Rogers R.D., Mead J** // Separating phosphate from ores via bioprocessing. Bioresource Technology, 1993.-№ 11. -R. 1250- 1254.
- 25.**Rodrigues H., Gonzales T., Selman G.**, Expression of the mineral phosphate solubilizing gene form *Erwinia herbicola* in two rhizobacterial strains // Journal of Biotechnology.- England, 2000. -№ 84, - R. 151-161.
- 26.**Mulan A., Quinn J.P., Mc Gras J.W.** Enhanced phosphate uptake and polyphosphate accumulation in *Burkholderia sepalia* grown under low pH conditions // J. Microbiol. Ecology. Parij. 2002. - № 44. - R.69-77.
- 27.**Safura B.K., Yeo T.S. , Martin W.L. Duron, M.R., Robert D.R., Goldstein A.H.** Cloning of a mineral phosphate solubilizing gene from *Pseudomonas sepalia* // Appl. Environ microbiology J. England. 1995.- № 61.- R.972- 978.
- 28.**Babu Khan S., Yeo T.S., Martin W.L., Duron M.D., Rogers R.D.** Cloning of a mineral phosphate solubilizing gene from *Pseudomonas cepacia* // Appl. Environ microbiology J. England. 1995.- № 61. - R.972-978.
- 29.**Liu S.T., Lee L.Y., Tai C.Y., Ilorng C.** Cloning of a *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB.101. // Journal Bacteriology Japan. 1992. - №174. - R.5814-5819.
30. Qishloq xo'jalik o'simliklarini zararkunanda, begona o'tlar va kasalliklardan himoya qilish to'g'risidagi qonunlar. 21 sentyabr 2000 yil.
31. O'zbekiston respublikasi xududini karantindagi zararkunandalar, o'simlik kasalliklari va begona o'tlardan muhofaza qilishga doir qonun xujjatlari. Toshkent., 2000 yil.

Internet saytlar:

1. <http://www.referat.ru>
2. <http://www.mycophyto.com>.
3. <http://www.zin.ru>
4. www.biotech.com
5. <http://www.minlesudm.ru/>
6. <http://www.cbio.ru>
7. <http://rt-biotechprom.ru>
8. <http://www.forestbiotech.org/>
9. <http://agribiotech.info/>