

M.Q. XO'JANAZAROVA, G.Q. XALMUMINOVA

O'SIMLIKLAR BIOTEXNOLOGIYASI



O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY TA'LIM, FAN VA INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI

M.Q. XO'JANAZAROVA, G.Q. XALMUMINOVA

O'SIMLIKLAR BIOTEXNOLOGIYASI

FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

O'quv qo'llanma

TOSHKENT
"INNOVATSIYA-ZIYO"
2025

UDK: 634.23:573

KBK: 40+28

O' 88

M.Q. Xo'janazarova, G.Q. Xalmuminova
O'simliklar biotexnologiyasi fanidan laboratoriya mashg'ulotlari. O'quv qo'llanma. - Toshkent: "INNOVATSIYA-ZIYO", 2025. - 116 b.

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

Taqrizchilar:

R.A. Alimova

TDAU, Biokimyo va Fiziologiyasi kafedrası dotsenti

A.N. Allayarov

Akademik M.Mirzayev nomidagi bog'dorchilik, uzumchilik va vinochilik ilmiy tadqiqot instituti "In vitro" laboratoriyasi bo'lim boshlig'i dotsenti

*O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2021-yil 24-dekabrda
PQ- 60-son qaroriga asosan Toshkent davlat agrar universitetining
2023-yil 15-dekabrda 1-9-6/430-sonli buyrug'iga asosan nashrga
tavsiya etilgan.*

ISBN 978-9910-707-87-2

© M.Q. Xo'janazarova, G.Q. Xalmuminova, 2025.

© "INNOVATSIYA-ZIYO". 2025.

KIRISH

Biotexnologiya yoki biologik jarayonlar texnologiyasi biologik agentlar yoki ularning majmualaridan (mikroorganizmlar, o'simliklar va hayvon hujayralari, ularning komponentlaridan) kerakli mahsulotlar ishlab chiqarish maqsadida sanoatda foydalanish degan ma'noni beradi.

Adabiyotlarda «Biotexnologiya» terminiga mutaxassis olimlar tomonidan turli xil ta'riflar berib kelinmoqdaki, fanning hozirgi rivojlangan davrida ham birorta aniq to'xtamga kelinmagan. Quyida biotexnologiya sohasining yetuk olimlari tomonidan ushbu terminga berilgan ta'riflarga to'xtalib o'tamiz.

a) Anbash, A.Xemferi, N.Millislarning (1975) fikriga ko'ra "Biotexnologiya" - yangi biokimyoviy ishlab chiqarishlar mahsulidir (vitaminlar, antibiotiklar).

b) "Biotexnologiya" moddalarni biosintez usuli orqali oziqa olish fanining bo'limi bo'lib, u «bioinjeneriya» sohasi bilan bog'liqdir.

v) A.Xasting (1983) fikri bo'yicha «Biotexnologiya» -pivo, vino, pishloq, vitaminlarni sanoat asosida olish jarayonidir.

g) 1980 yil Yevropa federatsiyasi Kengashi muhokomasida "Biotexnologiya" - biologik tizimlar asosidagi sanoat jarayoni deb qaralgan.

d) 1983 yil Bratislavada bo'lib o'tgan kengashda «Biotexnologiya» - moddalarni katta miqdordagi sanoat asosida (biokatalizatorlar orqali) olish va atrof muhitni himoya qiladigan fan deb ta'riflangan.

ye) A.A.Bayev (1986), Y.A.Ovchinnikov (1982) "Biotexnologiya" biologik jarayonlarni ishlab chiqarishga joriy etish to'g'risidagi fan deb ta'riflashgan.

Biotexnologiya jarayonlari mikroorganizmlardan, o'simlik va hayvon hujayralari va to'qimalaridan, hujayra organnellalari, ularni o'rab turgan membranalarning sof yoki ularning immobillashgan holatida oqsil, organik kislotalar, aminokislotalar, spirtlar, dorivor moddalar, fermentlar, gormonlar va boshqa organik moddalarni (masalan, biogaz) ishlab chiqarish (sintez qilishda), sof holda metall ajratish, oqava suvlarni va qishloq xo'jalik yoki sanoat chiqindilarini qayta ishlashda keng foydalaniladi.

Fan sifatida o'tgan asrning 60-yillaridan shakllana boshlagan biotexnologiyaning tarixiga chuqurroq nazar tashlasak

mikroorganizmlar yordamida "bijg'itish", "achitish" jarayonlari insoniyat tomonidan qadimdan keng ishlatilib kelinayotganligining guvohi bo'lamiz. Sutdan- qatq, uzumdan- vino va sirka, achitqilar yordamida -non tayyorlash va boshqa bir qancha biotexnologik jarayonlarning qachon ixtiro qilinganligi hozircha aniq ma'lum emas.

Umuman, yuqorida zikr etilgan mikroorganizmlar yordamida amalga oshiriladigan biotexnologik jarayonlardan hozirgacha ham insoniyatning ro'zg'or yuritishida keng qo'llanilib kelinmoqda.

Biotexnologiyani mohiyatini tushunish uchun misollarga murojaat qilaylik. Bakteriya hujayrasi har 20-60 minutda, achitqi zamburug'lari 1,5-2,0 soatda ikkiga bo'linib ko'paysalar, sut emizuvchilar hujayralarining ikkiga bo'linishi uchun 24 soat kerak bo'ladi. Bir kecha-kunduzda og'irligi 500 kilogrammli bo'lgan qoramol 500 gramm oqsil moddasi to'plasa, 500 kilogramm achitqi zamburug'i 500000 kilogramm yoki undan 1000 marotaba ko'proq oqsil to'playdi.

Yana bir misol: 1 kub metr oziqa muhitida achitqi zamburug'lari 24 soatda 30 kilogramm oqsil to'playdi, shuncha miqdorda oqsil to'plash uchun 18 gektar yerga no'xat ekib, uch oy parvarish qilish lozim bo'ladi.

Qolaversa, mikrob yetishtirish na ob-havoga va na faslga bog'liq. Ularni eng arzon oziqa muhitida- har xil chiqindilar, kletchatka, metanol, metan gazi va vodorodda o'stirish mumkin. Mikroorganizmlar nafaqat oqsil, balki turli fermentlar, yog'lar, vitaminlar, polisaxaridlar va boshqa bir qator foydali mahsulotlar sintez qiladi.

Bugunga kelib, zamonaviy biotexnologik usullar va gen muhandisligi yordamida farmatsevtika uchun interferonlar, insulin, somatotropin, gepatitga qarshi vaksina, fermentlar, klinik tadqiqotlar uchun diagnostik ashyolar (giyohvandlik, gepatit va boshqa bir qator yuqumli kasalliklarni aniqlash uchun test tizimlar, biokimyoviy tekshirishlar uchun turli xildagi reaktivlar, egiluvchan biologik plastmassalar, antibiotiklar, va boshqa ko'plab bioaralashmali mahsulotlar) ishlab chiqariladi.

1- Laboratoriya ishi

1-Mavzu. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi laboratoriyasining tuzilishi, asbob-uskunalar va laboratoriyada ishlash qoidalarini 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. Biotexnologiya laboratoriyasi uchun ajratilgan xona yorug', keng, uning tabiiy yoritilganligi 110 lk dan kam bo'lmashi 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. Biotexnologiya laboratoriyalarida 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 7 ham bo'lishi mumkin. Shuning uchun laboratoriyada xodim va talabalar o'zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmasliklari uchun ichki tartib qoidalariga qat'iy rioya qilishlari zarur. Ular quyidagilardir:

a) dastlab birkutilgan 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 jihozlarni ishga tushirmaslik kerak.

d) kimyoviy va boshqa reaktivlar bilan ishlaganda ehtiyot choralarni ko'rish kerak.

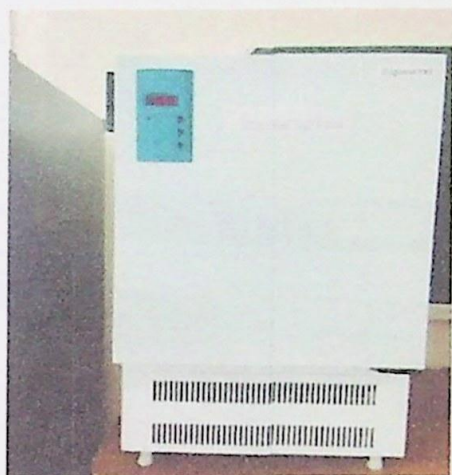
Biotexnologiya laboratoriyasida qo'llaniladigan asboblari:

Laminar-boks. Laminar-boks ajratilgan to'qma, hujayralarni o'stirish va boshqa steril sharoitni talab etuvchi ishlarni bajarish uchun mo'ljallangan. Bu erdagi steril sharoit laminar-boksga o'rnatilgan havo o'tkazadigan bakterial filtrlar yordamsida amalga oshiriladi



1-rasm. Laminar-boks.

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



2-rasm. Termostat

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



3-rasm. Quritish shkafi (Paster pechi).

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.



4-Avtoklav

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



5-rasm. Sovutkich

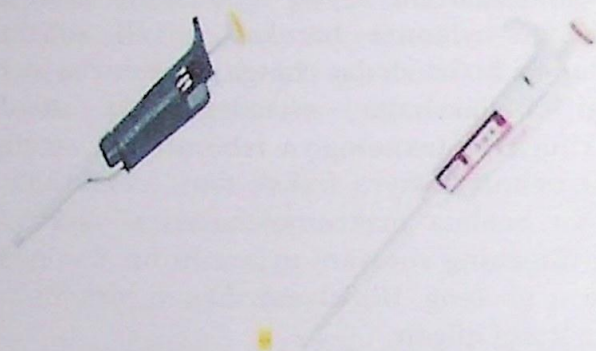
Sentrifuga. Markazdan qochuvchi aylanma kuchdan foydalanib suyuqlikdagi turli solishtirma og'irlikka ega moddalarni

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 fraksiyalari, 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.



6-rasm. Sentrifuga

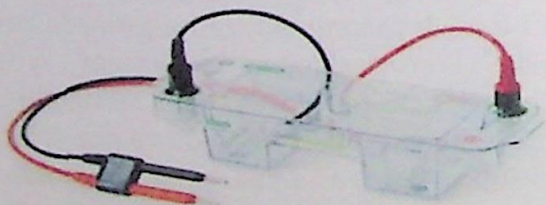
Avtomatik mikropipetkalar. Kichik hajmdagi [1-1000 mkl (μ l)] suyuqliklarni aniq va sifatli o'lchash uchun ishlatiladigan asboblardir. Ular biologik va kimyoviy tadqiqotlarda keng qo'llaniladi. Mikropipetkalar konsentrlangan kislotalar yoki emiruvchi eritmalarini o'lchash uchun ishlatilgandan so'ng ularning 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. Emiruvchi eritmalarining parlarini uzoq ta'sirida mikropipetka bo'laklari ishdan chiqishi mumkin. Bu esa ularda suyuqliklarni hajmini noto'g'ri o'lchashga sababchi bo'ladi.



7-rasm. Avtomatik mikropipetka

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. Elektroforez yordamida sirtning chuqur qismigacha kirib boradigan mayda boʻlakchalar yordamida yuzani qoplash mumkin.

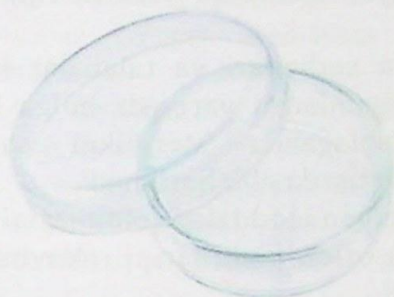
Elektroforez fizioterapiyada, kimyo sanoatida tutun va tumanlarni tarqatishda hamda eritmalar tarkibini oʻrganishda tatbiq etiladi. Kimyo, biokimyo va molekulyar biologiyada elektroforez moddalarni ajratishda va ularning komponentlarini taxlil qilishda eng muhim usullardan biri hisoblanadi.



8-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 o'simlik to'qimasi o'stiriladi. Petri likobchasi nemis olimi R.Koxning shogirdi Yu.R.Petri tomonidan birinchi bor 1887 yili mikroorganizmlarni o'stirish uchun ishlatilgan.



9-rasm. Petri likobchasi

Biotexnologik ishlarni olib borishda mehnat havfsizligi. Ishni olib borishda –tajriba xususiyatidan qat'iy nazar laboratoriyada ishlovchi har bir (talaba) uchun bajarilishi zarur bo'lgan, umumiy mehnat xavfsizligi qoidalariga rioya qilish zarur.

1. Ish paytida laboratoriyada tozalikka, tinchlikka va tartibga rioya qilish kerak. Eksperiment paytida begona kishilarning laboratoriyaga kirishi man etiladi.

2. Har bir ishni bajarishga, faqatgina ushbu ishni olib borishdagi maxsus jurnalda qayd etilgan texnika xavfsizligi qoidalari bilan tanish bo'lgan xodimlar va talabalargina kirishishi mumkin.

3. Ish joyini toza holda tutish kerak. U yerni idishlar, qog'oz va keraksiz materiallar bilan to'ldirib tashlamaslik zarur.

4. Probirkalarda yoki kolbalarda suyuqliklarni va qattiq jismlarni qizdirayotganda uning og'zini o'ziga yoki yonidagilarga qaratish mumkin emas.

5. Biror xil moddani tamini tatib ko'rish qat'iyman man etiladi.

6. Kimyoviy moddalarni o'lchashda ularni to'g'ridan to'g'ri tarozi pallasiga solish man etiladi.

7. Mineral kislotalar, ishqorlar va zaharli moddalar ishlatilgan barcha idishlarni zudlik bilan obdon yuvib tashlanadi.

8. Kimyoviy shisha idishlar va jihozlar bilan ishlashda ehtiyotkorlik choralariga rioya qilish kerak. Shisha idishni

ehtiyotkorlik bilan barmoqlarni siqmasdan ushlash kerak. Shisha tayoqcha va yershik cho'tka bilan shisha idishlarni yuvayotganda juda ham ehtiyot bo'lib yuvish kerak, chunki ular bilan shisha idish tubini yoki devorlarini teshib qo'yishi va oqibatda qo'llarni kesib olish mumkin.

9. Laboratoriya xodimlari va talabalar kimyoviy reaktivlar bilan ishlaganda kiyimlarini yaroqsiz holga kelib kolmasligi va laminar-boksda ishlaganda sterillikni saqlash maqsadida, tadqiqotlarni oq xalatlarda olib borishadi.

10. Sterillanayotgan moddalar qoldiqlarini (ayniqsa sulema va diatsid), ishlatilgan oziqa muhitlarini rakovinaga to'kib yuborish qat'iy man etiladi.

11. Ultrabinafsha lampalar yoqig'ligida laminar-boksda ishlash qat'iy man etiladi.

12. Trans illyuminator bilan ishlayotganda himoyalovchi ekrandan yoki maskadan foydalanish zarur.

13. Spirt lampasini toza holda tutish, ochiq alanganli joydan uzoqda spirt bilan to'ldirish, rezervuarni qattiq qizib ketishiga yo'l qo'ymaslik, spirt lampasini yoqilgan holda nazoratsiz qoldirmaslik kerak.

14. Eritmalarni va oziqa muhitlarini qizdirishda asbest to'rlar ustida shisha idishlardan foydalaniladi; ochiq alangada qizdirish faqatgina maxsus idishlar, masalan Keldal kolbasi ishlatilgandagina mumkin.

15. Laboratoriyada spirt va boshqa uchuvchi moddalar zaxirasi uncha katta bo'lmasligi, ya'ni kunlik ishlatish uchun zarur miqdordagina bo'lishi kerak. Ularni alanga manbasidan uzoqda alohida izolyatsiyalangan, eshiklari mahkam yopiluvchi, kigiz yoki asbest bilan qoplangan va ustidan qoplovchi tunuka bilan qoplangan shkaflarda saqlash talab etiladi.

16. Efirning asosiy zahira qismini xonada va faqatgina ish uchun zarur bo'lgan miqdorini laboratoriyalarda -alanga manbalaridan uzoqda bo'lgan joydagina saqlanadi.

17. Teriga kislota tushganda (xrompika) uni tezda bilan suv bilan yuviladi va zararlangan teri qismlarini sovunli eritma bilan ishlov beriladi. Tezda 30 sekund yoki 1 minut mobaynida rakovina oldiga boriladi va kiyimlarni suv bilan yuviladi.

18. Agarda qo'lga yoki terining boshqa ochiq qismlariga ishqor tushsa tezda teridan uni suv bilan yuvib tashlanadi, qoldiqlarini esa kamroq miqdordagi neytrallovchi bufer bilan neytrallanadi.

19. Laboratoriya zararlanganlarga birinchi yordam ko'rsatilishi uchun zarur bo'lgan meditsina aptechkasi bilan ta'minlangan bo'lishi kerak.

20. Avtoklav va distillyator bilan ishlaganda albatta instruksiyaga rioya qilish kerak.

21. Yong'in yuz bergan holatda, zudlik bilan gaz plitasini o'chiriladi, elektr asboblarni uziladi, qum bilan ko'miladi yoki yong'in o'chog'ini odeyal bilan yopiladi. Katta alangani o't o'chirish yordamida o'chiriladi.

22. Agarda biror xodimning kiyimi yonib ketsa, jabrlanuvchining ustidan tezlik bilan suv quyiladi yoki yerga yotqizilib ustiga odeyal yopiladi. Alanga o'chmaguniga qadar odeyal ustidan olinmaydi.

23. Kuchli yong'in chiqqanda zudlik bilan navbatchi o'ch o'chiruvchi tashkilotga xabar kilinadi.

24. Ishni tugatgach- laboratoriyada elektr asboblarni o'chirilganligini, suv yopilganligini tekshirib chiqish kerak, o'z ish joyini esa tartibga keltirib qo'yiladi.

Nazorat savollari

1. Laboratoriyada ishlaganda amal qiladigan jihozlar qanday nomlanadi?

2. Laboratoriyada ishlash uchun qanday havfsizlik qoidalariga amal qilinadi?

3. Laboratoriya jarayonida jihozlarni qanday ishlatish mumkin?

2-Laboratoriya ishi

2-Mavzu. Izolyatsiyalangan hujayra va o'simlik to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhitlarini tayyorlash

Asbob-uskunalar va materiallar: Izolyatsiyalangan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun oziqa muhitlari o'simlik uchun zarur bo'lgan barcha makroelementlardan: azot, fosfor, kaliy, kalsiy, oltingugurt, magniy, temir; mikroelementlardan: bor, sink, mis, manganets va boshq., hamda vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularning sintetik analoglarini o'z ichiga olgan bo'lishi kerak. Ba'zi oziqa muhitlari kazeinning gidrolizi aminokisloatlarni o'z ichiga oladi. Bundan tashqari oziqa muhitlari tarkibiga, hujayra uchun keng pH muhiti oralig'ida temirning shimilishiga yaxshi imkoniyat yaratuvchi, EDTA (etilendiamintetra sirka kislota) yoki natriy tuzi (trilon B) kiradi.

Mavzuni tushuntirish. Uglevodlar -izolyatsiyalangan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun zarur oziqa muhitlarida -tenggi yo'q komponentlardir, chunki ko'p hollarda ular avtotrof oziqlanishga qodirdir. Ko'pincha uglerod manbai sifatida 2-4 % li konsentratsiyada saxaroza yoki glyukozadan foydalanish mumkin. Polisaxaridlar odatda qo'llanilmaydi, ammo ba'zi to'qimalar masalan shishlar, faol gidrolitik fermentlar (amilaza va boshq.) ga ega bo'lganligidan ular oziqada erib ketuvchi kraxmal bilan o'sishi mumkin. Fitogormonlar hujayralarning dedifferensiyalash va hujayra bo'linishining induksiyasi uchun zarur bo'ladi. Shuning uchun kallus to'qimalar olishda oziqa muhit tarkibiga albatta hujayrani dedifferensiyasini chaqiruvchi auksinlar va hujayrani dedifferensiyalangan hujayralar bo'linishini induksiyalovchi sitokinlar kiritilishi kerak. Poya morfogenezi induksiyasi holatida auksinlar mavjudligi pasaygan bo'lishi mumkin yoki ular butunlay yo'qotilishi mumkin. Gormonsiz oziqa muhitda, moslashgan yoki shishlar (o'smalar) to'qimalari rivojlanadi. Ikkala gormonga ham yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik xususiyati bu, hujayralarning gormonlar produtsirovat (hosil qilish) qobiliyati bilan bog'liq. Oziqa muhitlarida auksinlar manbai sifatida, 2,4-dixlorfenoks sirkali kislota (2,4-D), IUK, a-naftil sirka kislota

(NUK) ishlatish mumkin. IUKni faolligi, 2,4-D ga nisbatan deyarli ZO marta pastdir. Kallusning induksiyasi uchun odatda yuqori konsentratsiyali auksinlar (ko'pincha bu 2,4-D) zarur bo'lib, keyingi qayta o'tqazishda ularning konsentratsiyalari kamaytiriladi.

Oziqa muhitlarida sitokininlarning manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminolurin (6-BAP), 2-izopenteni-ladenin (2iP), zeatin ishlatiladi. b-BAP n zeatin kinetinga nisbatan qaraganda izolyatsiya qilingan to'qimalarni o'sishini ta'minlashda va organogenez induksiyasi uchun ancha faol hisoblanadi. Adenin ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga kiradi.

Oziqa muhitlariga auksin va sitokinindan tashqari, ular kabi ta'sirga ega bo'lgan, ishtirok etishi shart bo'lmagan ammo ba'zi hollarda izolyatsiyalangan to'qimaning o'sishini stimullashtiruvchi gibberelli kislotani (GK) qo'shiladi.

Birlamchi kallusning induksiyasi uchun va kamdan kam holda uning faolligini ushlab turish uchun, ba'zida oziqa muhiti tarkibiga o'simliklar ekstraktlari yoki sharbatlari kiritiladi. Kokos daraxtining suyuq endo spermasi - kokos suti - eng faol o'stiruvchi xususiyatga egadir.

Qattiq oziqa muhitlarini tayyorlashda dengiz o'tlaridan olinuvchi agar-agar — polisaxaridi ishlatiladi. Bakterial agar (Vasto Agar yoki mahalliy ishlab chiqarilgan agar) eng kam miqdorda keraksiz aralashmalarga ega bo'lgan agardir. Odatda agarning konsentratsiyasi oziqada 0,7% ni tashkil qiladi.

Vaqtdan ratsional foydalanishda, ko'p martalab ishlatilishi mumkin bo'lgan makro- va mikro tuzlar, vitaminlar va fitogormonlarni ancha konsentratsiyali qilib tayyorlanadi. Konsentratsiyali (matochniye) eritmalarini xolodilnikda saqlanadi (va albatta vitaminlar eritmalarini saqlash uchun manfiy harorat bo'lishi shart).

Hujayralar, to'qimalar va o'simlik organlarini kulturalash uchun turli tarkibdagi oziqalardan foydalaniladi. Murasige — Skuga (MS), Uayt, Gamborga (V5) oziqalari eng ko'p qo'llaniladigan oziqalardir.

Ishning borishi. MS oziqa muhitini tayyorlanadi. Tuzlarning onalik eritmasini distillangan suvda tayyorlanadi. Har bir

makrotuzlarni alohida stakanchiklarda qizdirib eritiladi, so'ngra quyilib olinadi va 1l ga yetkaziladi, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ eritmasini esa oxirida cho'kmaga tushib qolishini oldini olish maqsadida, qizdirmasdan turib sovutilgan aralashmaga quyiladi. CaCl_2 tuzini esa alohida tayyorlanadi va saqlanadi. Temir xelat (FeSO_4 va Na_2EDTA eritmasi), qizdirib turib tayyorlanadi va alohida saqlanadi. Mikroelementlarning har bir tuzini xuddi shunday alohida eritiladi va umumiy stakanga quyiladi, hajmini esa 100 ml ga yetkaziladi. Makro- va mikroelementlarning olingan eritmalarini og'zi tiqin (probka) bilan yopiladigan kolbaga quyiladi (temir xelat - qoraytirilgan kolbaga quyiladi), etiketkalar yopishtiriladi va muzlatgichga joylashtiriladi.

Konsentratsiyali vitaminlar eritmalarini tayyorlash uchun 10-hissali tortmalar olinadi va ularni (har bir vitaminni alohida) 10 ml suvda eritiladi, 1 ml da gi vitamin konsentratsiyasida 1l MS oziqasini tayyorlash uchun zarur bo'lgan miqdor mavjud bo'ladi. Vitaminlar eritmalarini penitsillin flakonchalarida muzlatilgan holda saqlanadi.

Fitogormonlar eritmalarini quyidagicha tayyorlanadi: 10 mg modda olinadi, auksinlarni (2,4-D, IUK, NUK) 0,5-2,0 ml etanolda eritiladi, sitokinlarni (kinetik, zeatin, BAL, ZiP) - oz miqdorda 0,5 p. NSL yoki KON da, abssez kislotani (ABK) - 70%-li etanolda eritiladi. So'ngra eritmalarini (ABK dan tashqari) qizdiriladi va suv bilan 100 ml gacha yetkaziladi (1 ml da 1 mg garmon mavjud). Muzlatgichda ularni 4°C li haroratda 1 oydan oshiq bo'lmagan muddatda saqlash mumkin. Keyingi ishlarda foydalanish uchun MS oziqa muhitini onalik eritmalar asosida tayyorlanadi.

Oziqa muhitini tayyorlash: 1l hajmli kimyoviy stakanga 30 g saxarozani solinadi, distillangan suv bilan taxminan 400 ml ga yetkaziladi va so'ngra saxaroza erib bo'lgach, zarur bo'lgan makro, mikro tuzlar onalik eritmalarini (1-jadval), vitaminlar va gormonlarni qo'shiladi va shundan keyin eritmaning pH holati tekshirib ko'riladi. Agarda pH muhiti 5,5-5,6 dan ortsa unda oziqa muhitiga, 0,196-li NO eritmasi qo'shiladi. Bir vaqtning o'zida boshqa stakanda oldindan ivitilgan agar-agarni qizdiriladi, butunlay eriguniga qadar ehtiyotlik bilan aralashtirib turiladi. Uni tayyorlangan eritmalar bilan birgalikda 1l hajmgacha yetkaziladi.



10-rasm. Oziqa muhitini tayyorlash

1-jadval

MS onalik eritmasini tayyorlash

Oziqa muhiti komponentlari	tortmalar	1 l oziqa muhiti uchun zarur bo'lgan onalik eritmalar miqdori
1l onalik eritma uchun zarur makrotuzlar miqdori, g.		
KHO ₃	38	50
NH ₄ NO ₃	33	
KH ₂ PO ₄	3,4	
MgSO ₄ *7H ₂ O	7,4	5
CaCl ₂ * 2H ₂ O	88,8	
100 ml onalik eritma uchun zarur mikrotuzlar miqdori, mg.		
H ₂ BO ₃	620	1
MgSO ₄ *2H ₂ O	2230	
ZnSO ₄ 87H ₂ O	860	

KI	83	
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	25	
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	2,5	
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,5	
100 ml onalik eritma uchun zarur temir xelat, mg.		
FeSO_4	55,7	
Na_2EDTA	745	5

Tayyorlangan oziqa muhitini probirkalarga quyiladi, shisha bankalar yoki kolbalarni paxta tiqinlar bilan yoki (taxminan 1/3 hajmdagi), alyumin folga bilan yopiladi va avtoklavda sterilizatsiyalanadi.



11-rasm. Oziqa muhiti

Nazorat savollari

1. Izolyatsiyalangan hujayra va to'qimalarini kulturalash qanday amalga oshiriladi?
2. Kulturalar uchun oziqa muhitlari tayyorlanishini tushuntirib bering?
3. Oziqa muhitlarining turlari haqida ma'lumot bering?

3-Laboratoriya ishi

3-Mavzu. O'simlik hujayra va to'qimalari bilan ishlashda sterilizasiya usullari

Asbob-uskunalar va materiallar: *Petri likopchalari (3 dona, bittasi filtr qog'ozi), 300-500 ml kimyoviy stakanlar (2 dona), 1l distillangan suv solingan kolba, Murasige-Skuga oziqa solingan, gormon qo'shilmagan va gormon qo'shilgan (2,4-D-2, kinetin-0,2 mg/l), pensitlar, skalpellar (2 dona), kraft qog'oz, selofan, shpagat, qaychi va filtr qog'oz.*

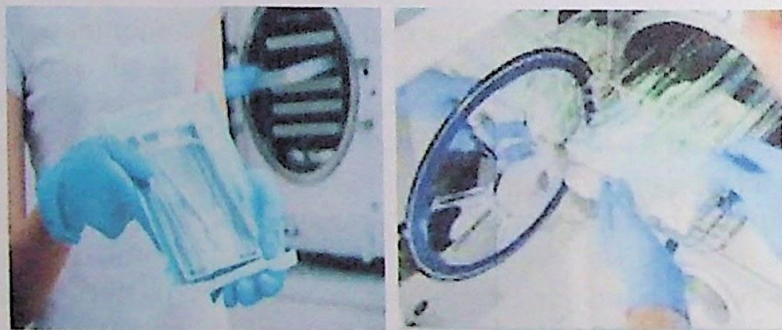
Mavzuni tushuntirish. O'simlikning a'zolaridan ajratilgan to'qima, hujayra va protoplastlarni muvaffaqiyatli o'stirish uchun steril sharoit yaratilishi zarur. Chunki sun'iy oziqa muhitida mikroorganizmlar ham yaxshi rivojlanadi. Bu esa mikroorganizmlar faoliyati natijasida oziqa muhitining tarkibi o'zgarib ketishga olib keladi. Ikkinchidan esa ajratilgan to'qima, hujayra va protoplastlar mikroorganizmlar tomonidan oson zararlanadi. Shu sababli hamma tajribalar steril sharoitda bokslarda yoki laminar boksdagi amalga oshiriladi. Boks, asboblar, idishlar, o'simlik materiallari, oziqa muhitlari va boshqa qolgan materiallarni hammasi ham sterillanadi.

Laminar-boksni sterillash. Laminar-boks ajratilgan to'qima, 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 laminar-boksdagi ultrabinafsha nurli bakteritsid lampasi yoqib qo'yiladi. Laminar-boksga lampa yoqmsadan spirt lampasini, gugurtni, 96% li spirt solingan chinni stakan, seril 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 xromlili sulfat kislotasi) eritmasi bilan yaxshilab yuviladi. Yuvilgan idishlar distillangan suvda chayilgandan so'ng quritish shkaftida quritiladi. Sterillangan idishlarni qayta ifloslanishiga yo'l qo'ymaslik uchun idishlar qog'ozga o'raladi.

So'ngra idishlar quritish shkaftiga joylashtirilib 2 soat davomida 1600°C haroratda saqlanadi. Bu davr ichida faqat bakteriyalar emas balki ularning sporalari ham nobud bo'ladi. Harorat 175°C 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.



12-rasm. Steril idishlar

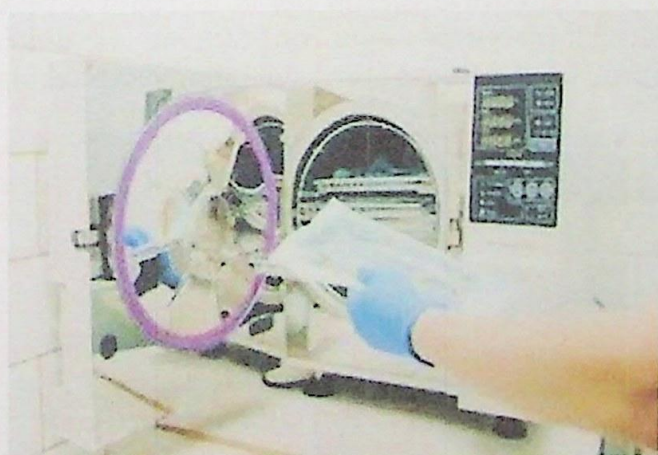
Asbob uskunalarni sterillash. Uskunalarni (skalpellarni, pinsetlarni, ignalarni va boshqalarni) oldindan sterillash 140°C haroratda quritish shkaftlarida 2 soat davomida quruq par yordamida amalga oshiriladi. Shpritslar va qaychilarni qaynatish qulay. Metal uskunalarni avtoklavda sterillash tavsiya etilmaydi, chunki ular zanglashi va o'tmaslanib qolishi mumkin. Ish boshlanishidan oldin uskunalarni (skalpellarni, pinsetlarni, 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 uskunalarini yana spirt yordamida kuydiriladi. Juda ingichka uchkunalar (igna, lezviylar) kuydirilganda o'z xususiyatini yo'qotganligi sababli ular faqat spirtga solish yo'li bilan sterillanadi.



13-rasm. Asbob uskunalarini sterillash

Materillarni sterillash. Paxta, doka, paxtadan yasalgan probkalar, filtr qog'ozlar, xalatlar, rumollar, avtoklavda 2 atmosfera bosim ostida 25-30 daqiqa davomida sterillanadi.



14-rasm. Materillarni sterillash

O'simlik materiallarni sterillash. Urug'larni, o'simlikni 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 gipoxlorid natriy yoki kaliy ishlatiladi.

Diatsidni tayyorlash uchun 300 ml issiq suvda 330 mg etanolmerkur 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 tvn-80 qo'shilib, maxkam yopilgan kolbada qorong'i joyda saqlanadi.

O'simlik to'qmasi sterillashdan oldin tozalanadi. Ildizmevalar, tuganaklar, o'simlikning seret poyalari oqib turgan iliq suvda shetka yordamida sovunlab yaxshilab yuviladi. Ildiz va ildizmevalarning po'sti archiladi. Barglarning po'sti distillangan 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 obyekt 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, pergidrol 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.



15-rasm. O'simlik materiallarni sterillash

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 qirg'iladi. Steril pinset bilan urug'lar steril Petri likobchalariga undirish uchun joylashtiriladi.

2-jadval

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

Obyekt	Sterillash vaqti			
	0,1 % li diatsid	0,1 % li sulema	5-7 % li (Na,Ca) gipoxloritlar	10-12 % li vodorod peroksidi
Urug'lar qurug'i	15-2	10-15	15-20	12-1
Ivtilgani	6-10	6-8	10-15	6-8
Ildiz, tugunaklarining to'qimalari	20-3	15-25	15-20	-
Yog'ochlangan poyalar	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 sterillash. Oziqa muhiti quyilgan probirkalarning og'zi probka bilan maxkam berkitiladi va ustidan selofan bilan yopiladi hamda 120°C haroratda 1 atmosfera bosim ostida 20 daqiqa davomida sterillanadi.

Sovuq sterillash. Yuqori haroratga chidamsiz bo'lgan organik suyuqliklarni bakteriyalardan xolos qilish ularni teshikchalarning diametri 0,45 mkm bo'lgan bakterial filtrlardan o'tkaziladi.

Ishning borishi. Steril o'simta va kallus to'qimalarini olish bo'yicha qilinadigan ishlarni amalga oshirish uchun asbo-uskuna, idish va oziqa muhitlarni sterillash zarur.

1. Quyidagi idishlar: Petri likobchalari (2 dona), 300-500 ml li kimyoviy stakanlar (2 dona), qalin qog'ozga o'ralib, quritish shkafida 160°C haroratda 2 soat davomida sterillanadi.

2. Skalpel va pinsetlarni 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.

Nazorat savollari:

1. O'simlik to'qimalarini sterillashda qanday amallar bajariladi?
2. Asbob-uskunalarini sterillash jarayonini aytib bering?
3. Steril o'simta deganda nimani tushunasiz?

4-Laboratoriya ishi

4-Mavzu. Bodring urug'idan (*Sucumis sativum* L.) va yumshoq bug'doy (*Triticum aestivum* L.) donidan steril eksplantlar olish

Asbob-uskunalar va materiallar: *bodring va bug'doy urug'lari (20 dona), 1-2 qavat filtr qog'ozli sterillangan Petri likobchasi, probirkalar, sterillangan distillangan suv uchun 250 ml li kolbalar (3 dona), sterillangan pinsetlar, qaychilar, sterillangan doka xaltachalar, 0,1%-li sulema eritmasi, 96%-li etil spirti, sterillangan kimyoviy stakanlar (3 dona) spirt lampasi, gugurt.*

Mavzuni tushuntirish. Bodring urug'i va bug'doy seleksion namunalaridan steril material olish ancha ko'pincha ancha qiyin bo'lib, bu sterilizatsiyalanuvchi agentni to'g'ri tanlanishi zarurligi bilan bog'liqdir. In-vitro kulturasida eng ko'p sterilizatorlar - faol xlor tutuvchi: 35 g/l konsentratsiyali kalsiy gipoxlorit va gipoxlorit natriy; sterillovchi eritmalar, 0,1% konsentratsiyadagi sulema va diatsid mavjud bo'lgan - simob; 10—12% konsentratsiyadagi vodorod peroksidi; 4—5 mg/l konsentratsiyali antibiotiklar hisoblanadi. Odatda bu modda, urug' qobig'i ostidagi o'suvchi va eng kam miqdordagi infeksiya mavjudligida ham yangitdan shakllanishga yaroqli to'qimani juda kam miqdorda zararlanishini ta'minlashi zarur. Eksplantlarning uzoq muddatli sterilligini ta'minlashni ham tanlash kerak.

Sterilizatsiyalashdan oldin urug'larni iliq suv ostida elakda yaxshilab yuviladi, so'ngra ularni genotip nomi ko'rsatilgan etiketkalar yopishtirilgan doka xaltachalarga solinadi va steril holdagi boksga qo'yiladi, va keyinchalik sterilizatsiyalash bo'yicha barcha operatsiyalar olib borilib turiladi. Urug'lardan olingan steril o'simalardan keyinchalik quyidagilarni: 1) uch tomonidagi meristema eksplantlarni (bodringda); 2) barg to'qimalaridan birlamchi kallus, qalqon segmentlari va izolyatsiyalangan o'simta (bug'doyda) olish uchun foydalaniladi.



16-rasm. Steril eksplant

Ishning borishi. Bodring va bug'doyning 10 tadan urug'ini ajratib olinadi va doka xaltachalarga solinadi, oqayotgan suvda yaxshilab yuviladi. Laminar-boks sharoitida urug'lar solingan doka xaltachalarni 0,19% 5-li sulema eritmasi yoki diatsidga 10—15 minut davomida botirib qo'yiladi. Shundan keyin urug'larni 3—5 hajmli steril holdagi distillangan suvda yuviladi va sal pal quritiladi. Pinset bilan Petri likobchalarga 1- 2 qavat filtr qog'oz ustiga 10 tadan urug'ni qo'yib chiqiladi va 10—15 ml dan sterillangan suv qo'shiladi, qopqog'ini parafin bilan yopiladi. Tayyorlangan ob'yektlar bilan Petri likobchasini 25°C haroratli termostatga yoki 2-3 kunga klimatik xonaga o'sib chiqishi uchun qo'yiladi. Ishchi daftarga sterilizatsiya sxemasini chizib boriladi.

Jadvalni (3-jadval) sterilizatsiyalanuvchi agentni, uning konsentratsiyasini va bodring va bug'doy urug'i sterilizatsiyasi uchun ekspozitsiyasini ko'rsatib to'ldiriladi.

3-jadval

Sterilizatsiya usullari

Sterilizatsiya usullari	Sterilizatsiya qilinuvchi modda	Konsentratsiya, %,ml	Ekspozitsiya s/min	Maqsad
1.Presterilizatsiya				
2.Sterilizatsiya				
3. Poststerilizatsiya				

Nazorat savollari

1. Bodring urug'idan qanday qilib steril eksplant olinadi?
2. Yumshoq bug'doy donidn steril eksplant olish jarayonini tushuntirib bering?
3. Steril eksplant o'simlik deganda nimani tushunasiz?

5-Laboratoriya ishi

5-Mavzu. Steril o'simtalar o'stirish

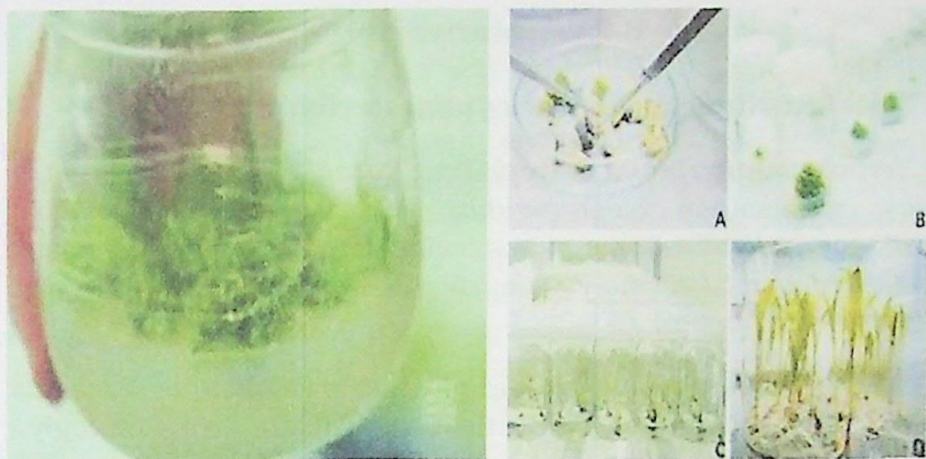
Asbob-uskunalar va materiallar: *kungaboqar, no'xot, loviya va boshqa urug'lar, sterillangan Petri likobchasi (1 dona), tubi ho'llangan paxta yoki filtr qog'oz bilan yopilgan 300—500 ml li sterillangan konussimon kolba, yarmigacha gormonli yoki gormonsiz oziqa muhiti quyilgan probirkalar, sterillangan suv, sterillangan kimyoviy stakanlar (2 dona).*

Mavzuni tushuntirish. Steril o'simtalarni, kallus to'qimalar olish uchun eksplantlarni izolyatsiyalash yoki o'simliklarni to'g'ridan to'g'ri regeneratsiyalash maqsadida o'stiriladi. Tajriba maqsadiga qarab, urug'larni suvda yoki agarli oziqa muhitida o'stiriladi.

Ishning borishi. 10 sog'lom, bir xil o'lchamdagi urug'larni ajratiladi, sovunli eritmada, so'ngra — vodoprovod va distillangan suvda yaxshilab yuviladi. Doka xaltachalarga joylashtiriladi va 1—2 minut 96%-li spirtga solib qo'yiladi, shundan so'ng 0,1%-li sulema eritmasi bilan 15 minut davomida sterilizatsiya qilinadi. So'ngra sterillangan suvda 5-6 marta almashtirilib yuviladi.

Laminar-boksda, 10 ta urug'ni sterillangan pinset yordamida sterillangan kolbaga ho'l paxta yoki filtr qog'oz ustiga joylashtiriladi; mayda urug'larni (tamaki, sabzi va boshq.)

Petri likobchada obdon ho'llangan filtr qog'oz ustida o'stirish mumkin. Sterillangan o'simtalarni olish uchun urug'larni gormonsiz agarli MS (1/2 normada) oziqada o'stiriladi. Har bir probirkaga bittadan urug' solinadi. Urug'lar solingan probirkalar, kolbalar va Petri likobchalarni, 25°C harorat ushlab turiluvchi termostatga yoki yorug' xonaga qo'yiladi.



17-rasm. Steril o'simtalar o'stirish

Nazorat savollari:

1. Steril o'simta qanday o'stiriladi?
2. Kallus to'qimani o'stirish jarayonini tushuntirib bering?
3. Laminar boks qanday ishlaydi va qanday tuzilgan?

6-Laboratoriya ishi

6-Mavzu. Ninabarglilar urug'idan steril o'simtalar olish

Asbob-uskunalar va materiallar: *Qarag'ay, yel va listvennitsa urug'i; sterillangan oziqa muhiti; sterillangan stakanchalar; sterillangan distillangan suv; sterillangan yostiqlar; asboblari; sterillovchi agent (sulema yoki kalsiy gipoxlorid); 96-% li etil spirti eritmasi; spirt lampasi.*

Mavzuni tushuntirish. Bugungi kunda o'rmonchilik sektorida ishlar, ekish materiallarini yetishtirish uchun biotexnologiya usullarini, o'rmonlarni himoya qilishda biologik vositalar, jumladan yog'ochli materiallarning kerakli yangi shakllarini yaratishda, gen muhandisligini qo'llagan holda, seleksiya navchilik ishlarining samradorligini oshirishda esa – molekulyar markerlash usullarini qo'llagan holda amalga oshirilmoqda. Bundan tashqari, genetik resurslarni saqlash maqsadida, In-vitro o'simlik materiallarining kriobanklari va deponentlik banklarini yaratishda, urug'larning genetik pasportlarini tuzish va sertifikatlashda bu usullardan foydalaniladi. Bu o'simlikning klonli mikroko'paytirish (somatik embriogenezni o'z ichiga olgan holda) usullari, o'rmon plantatsiyalarini yaratish uchun yuqori sifatli ekish xom ashyo materiallarini yetishtirish asosida, seleksiya yutuqlaridan tezkor foydalanishda, keng qo'llanilayotgan usul bo'lib hisoblanadi. Bu olib boriladigan barcha ishlarning birinchi bosqichi, tadqiqot o'tkazilayotgan ninabargli o'simliklar urug'lariga In vitro kulturasini kiritish va yaxshi o'suvchi steril o'simtalar olishdir.



18-rasm. Steril o'simtalar

Ishning borishi. Ish joyini tayyorlashni va asboblarni sterilizatsiyalashni 3-mavzudagi ishda keltirilgani bo'yicha bajariladi. Ninabargli ekinlarning sog'lom urug'lari ajratib olinadi, imkoni boricha bir xil o'lchamda va bir xil rangda bo'lishi lozim. Urug'larni doka xaltachalarga solinadi, sovunli eritmada yuviladi va oqib turgan vodoprovod suvida chayiladi.

Sterilizatsiyaning bu bosqichini sterillanmagan sharoitda olib boriladi. So'ngra doka xaltachalarni laminar -boksga o'tkaziladi va sterillangan stakanlarga solinadi va ustidan sterillovchi agent quyiladi. Sterilizatsiyani 0,1 % li Sulema eritmasi bilan 10-12 minut davomida o'tkaziladi, so'ngra 3 hissa steril holdagi distillangan suv bilan yuviladi. Sterillangan pinset yordamida urug'larni doka xaltachadan chiqarib oziqa muhitli har bir probirkaga 1-2 donadan o'tkaziladi. Probirkalarni plyonka bilan yopiladi va 25°C harorat va 16 soat kun yorug'lik ushlab turilgan yorug'lik xonaga o'tkazib qo'yiladi. Taxminan 2 chi, 3 chi sutkalarda urug'larning unib chiqishi qayd etiladi.

Nazorat savollari

1. Ninabarglilar urug'idan steril o'simtalar olish jarayonini tushuntirib bering?
2. Ninabarglilar urug'idan steril o'simtalar olish uchun qanday laboratoriya ishlari amalga oshiriladi?
3. Ninabargli o'simliklarga misollar ayting?

7-Laboratoriya ishi

7-Mavzu. Tamaki bargidan kallus to'qimasini olish

Asbob-uskunalar va materiallar: *tamaki o'simligi; etanol, 0,1%-li sulema eritmasi, sterillangan suvli kolba (2 dona), sterillangan yostiqchalar, sterillangan skalpel, pinset, sterillangan MS oziqa muhiti solingan probirkalar.*

Mavzuni tushuntirish. Tamaki ekini o'simliklar biotexnologiyasida model obyekt hisoblanadi. Bu esa tamaki ekini to'qimalari, yuqori morfogenetik potensialga ega bo'lganligi va hamda madaniylashtirish sharoitiga yaxshi moslashuvi bilan bog'liqdir. Shuning uchun tamaki barglaridan yaxshi proliferatsiyalangan kallus to'qimasini olish oson sanaladi.

Kallus to'qimasini o'zak parenximasidan, barglar, kurtaklar va ildiz eksplantlaridan olinadi. Barglar jarohatlanganida kallus hosil bo'lish jarayoni juda yaxshi yuz beradi. Kallus to'qimasi olish uchun barglarni intakt o'simlikdan va hamda in-vitro o'simlikdan izolyatsiyalash mumkin. Kallus hosil bo'lishi 2,4-D li va NUK li oziqa muhitlarida turli intensivlik bilan yuz berishi mumkin. Hosil bo'lgan kalluslar turlari tashqi ko'rinishi bilan va regeneratsiyalanish xususiyati bilan farq qiladi.

Ishning borishi. Sterilizatsiyalangan tamaki barglarini laminar-boksda steril yostiqchalarga qo'yiladi, steril holdagi skalpel bilan 1—1,5 sm uzunlikdagi segmentlar qirqib olinadi. Yaxshi kallus hosil bo'lishi uchun, qirqib olingan segmentlarni kesiladi (jarohatlantiriladi), so'ngra ularni 2,4-D yoki NUK mavjud bo'lgan MS oziqa muhitiga o'tkaziladi va yorug'lik xonaga yoki klimatik sharoitli kameraga joylashtiriladi. Uch haftadan keyin olingan natijalarni ko'rib chiqiladi va ish daftariga qayd etiladi.



19-rasm. Steril o'simta

Nazorat savollari

1. Tamaki bargidan apical meristemasini qanday ajratib olasiz?
2. Tamaki bargidan kallus to'qimasini olish jarayonini tushuntirib bering?
3. Ajratilgan kallus to'qimasi qanday oziqa muhitiga o'qaziladi?

8-Laboratoriya ishi

8-Mavzu. Bug'doyning yetilgan va yetilmagan murtaklaridan kallus to'qimalar olish

Asbob-uskunalar va materiallar: *bir sutka mobaynida ivitib qo'yilgan pishgan bug'doy donlari, pinset, preparoval ignalar (4 dona), skalpel, probirkalar yoki yetilgan o'simtalar uchun- 2 mg/l va yetilmagan o'simtalar uchun 2 mg/l 2,4-D qo'shilgan MS oziqa muhiti solingan Petri likobchasi; spirt lampasi, gugurt, sterillangan yostiqlar yoki Petri likobcha.*

Mavzuni tushuntirish. Bug'doy murtagidan olingan kallus to'qimasidan hujayra seleksiyasida tadqiqotlar uchun foydalaniladi. Ulardan izolyatsiyalangan protoplastlarning suspenziyalari kulturasini, regenerant-o'simliklar olishda, hamda ikkilamchi metabolitlarning miqdori va sifati bo'yicha olib boriladigan tadqiqotlarida foydalanish mumkin.

Ishning borishi. Pishib yetilgan bug'doy doni murtaklaridan kallus to'qimasi olish uchun, tadqiqot boshlashdan bir sutka oldin ivitilgan urug'larni, 25 minut davomida 0,1%-li sulema yoki diatsid eritmasida sterilizatsiyalanadi, shundan so'ng uni 5 marta sterillangan distillangan suvda yaxshilab yuviladi, sterillangan yostiqlarga yoyiladi va skalpel bilan murtakchalarini ajratiladi (izoliruyut). Barcha operatsiyalar laminar-boksda olib boriladi.

Izolyatsiyalangan murtaklarni agarli MS oziqa muhiti solingan probirkaga yoki Petri likobchaga joylashtiriladi. Murtaklarni klimatik kamerada yoki yorug'lik xonada 25°C li haroratda kulturalanadi. 3 haftadan so'ng ko'zdan kechiriladi va hosil bo'lgan kalluslarni chizib olinadi.

Yetilmagan murtaklardan kallus to'qimalarni olishda ularni bug'doy gullashi boshlanganidan 12-chi sutkasida izolyatsiyalanadi. Urug'larni keyinchalik 5 marta steril holdagi distillangan suvda yuvish sharti bilan 7 minut davomida 0,1%-li sulema yoki diatsid eritmasida sterilizatsiyalanadi.



20-rasm. Bug'doyning yetilgan va yetilmagan murtaklari

Preparoval ignalar va skalpel yordamida aseptik sharoitda zarodishlarni sterillangan yostiqchalarga olinadi. Murtaklarni 2 mg 2,4-D qo'shilgan MS oziqa muhitiga o'tkaziladi. Steril holdagi zarodishlar solnigan probirkalar yoki Petri likobchalarni 25°C li haroratda ushlab turilgan klimatik kameraga yoki yorug'lik xonaga qo'yiladi. 3 haftadan so'ng ularni ko'zdan kechiriladi va natijalari rasmi chizib olinadi.

Nazorat savollari

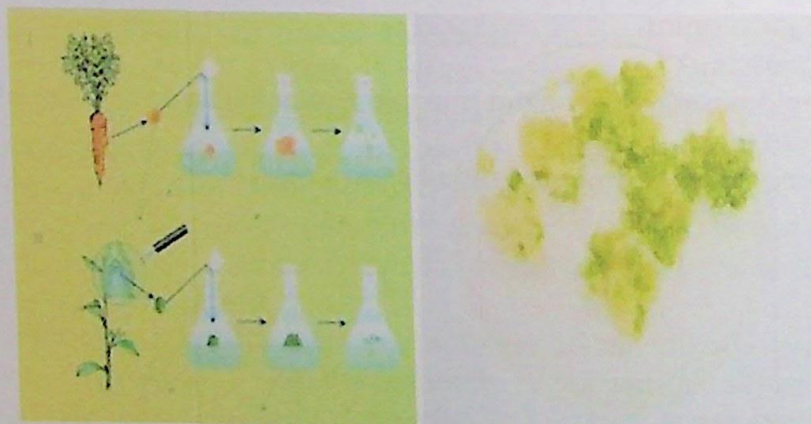
1. Bug'doyning yetilgan murtagidan apikal meristemasini ajratib olish jarayonini tushuntiring?
2. Bug'doyning yetilmagan murtaklaridan kallus to'qimalar olishni tushuntiring?
3. Steril holda o'simtani qanday o'stira olasiz?

9-Laboratoriya ishi

9-Mavzu. Sabzi ildiz mevasidan kallus to'qimalarini olish va ularni yangi ozuqa muhitga passirlash

Asbob-uskunalar va materiallar: *Petri likobchada kallusli to'qima; sterillangan asboblari (skalpel, pinset), sterillangan qog'oz, folga, Kallusli to'qimani kulturalash uchun oziqa muhitli Petri likobchalar (3 dona), analitik tarozi, farforli stakanda spirt, spirt lampasi, gugurt.*

Mavzuni tushuntirish. Kallus to'qimalarini passirlash (ko'chirib ekish) 4-6 hafta o'tgach (o'sish intensivligiga qarab) o'tkaziladi. Odatda parvarishlash sikli 4 haftaga to'g'ri keladi. Bu muddatda o'sish chizig'ini yaratish uchun kallusni 4 marta 3 qaytariqda (tarozi) o'lchanadi. O'sish xossalarini yo'qotishdan tashqari, kallus to'qimani ranggi va konsistensiyasini belgilab olinadi. Sabzining kallus to'qimasi naviga, qo'llanilayotgan gormonlarga va kulturalash sharoitiga qarab, oq, sariq, och-qo'ng'ir ranglarga ega bo'ladi va qarib borishi bilan ranglari qoraya boshlaydi.



21-rasm. Sabzi ildiz mevasidan kallus to'qimalarini olish

To'qimani konsistensiyasi (suyuqlik yoki quruqlik holati) bo'shq va zich bo'lishi mumkin. Suspensiya hosil bo'lishi uchun,

yaxshi proliferatsiyalanuvchi bo'sh kallusdan foydalanish ma'quldir. Zich kallus to'qimasini odatda morfogenez uchun qo'llaniladi.

Iskning borishi. Petri likobchani ochiladi, pinset bilan undan kallusli to'qimani chiqarib olinadi va uni bo'lakchalarga bo'lish uchun sterillangan bo'sh Petri likobchaga o'tkaziladi. Kallusli to'qimani taxminan 100—150 mg dan bo'linadi. Analitik tarozini ichki tarafidan spirt bilan artiladi. Sterillangan folgada kallusli to'qimani o'lchashni amalga oshiriladi va so'ngra oziqa muhitli Petri likobchalarga joylashtiriladi. Likobchalarni strich plenka bilan yopiladi va yorug'lik xonasiga qo'yiladi. 4 haftadan keyin kallusli to'qimani steril holda o'lchanadi, kallus to'qimasining o'sish intensivligini (O'I) quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$IP = \frac{\text{Сырая масса 2} - \text{сырая масса 1}}{\text{Сырая масса 1}} \cdot 100$$

Bunda; 1 ho'l massa — passaj boshidagi ho'l to'qima massasi, mg;

2 ho'l massa — passaj oxiridagi ho'l kallus to'qimasi massasi, mg.

Nazorat savollari:

1. Sabzi ildiz mevasidan kallus to'qimalarini qanday tartibda ajratib olasiz?
2. Ozuqa muhitga passirlashni manosi tushuntirib bering?
3. Kallus to'qimasi nechi gradusda rivojlanadi?

10-Laboratoriya ishi

10-Mavzu. Kartoshka kallus to'qimasi kulturasida poya morfogenezi induksiyasi

Asbob-uskunalar va materiallar. Probirkalar, morfogenezi uchun oziqa mug'itga ega kolbalar, uzun pinset, steril matraslar, probirkadagi yoki Petri likobchasidagi kartoshka kallusi, spirt lampasi, gugurt.

Mavzuni tushuntirish. Kartoshka o'simligining steril poyasi yoki bargidan olingan kallus to'qimasining eksplantini bir bo'lagini organogenezni induksiyalash uchun sitokinen yuqori bo'lgan oziqaga ko'chirib ekiladi, poyalarni hosil bo'lishini tezlashtirish uchun esa ularni auksini yuqori bo'lgan oziqa muhitiga ko'chirib ekiladi.

Morfogenezni induksiyalash va o'simlikni regeneratsiyalash murakkab, ko'pincha ko'p pog'onali jarayon hisoblanadi. Kartoshkadagi bu jarayonni bir necha bosqichga bo'lish mumkin: yashil meristemani induksiyalanishi, apekslarni paydo bo'lishi, regenerant-o'simlikni shakllanishi, regenerantni jadallashishi.

Kallus kulturasida qanchalik yosh bo'lsa, kallusning regeneratsiyalash xususiyati shunchalik yuqori bo'ladi. Kartoshkaning turli navlari uchun morfogenezni induksiyalash va o'simlikni regeneratsiyasiga ishlatiladigan oziqaning tarkibida farq bo'lishi mumkin, lekin ular uchun umumiy sitokininni (zeatin yoki BAP) yuqori bo'lishidir.

Ishning borishi. Probirkadagi kallus matrasga olinadi va kattaligi 5x5 mm bo'lgan bo'lakchalarga bo'linadi hamda morfogenezni induksiyalash uchun kerak bo'lgan oziqaga ega probirkada ko'chirib o'tkaziladi. Og'zi probka bilan berkitilgan probirka harorati 20-25°C, yoritilishi 10 ming lk va namligi 70% bo'lgan yoritish kamerasiga qo'yiladi. Bir xaftadan so'ng globulin moddasini, 3-5 xaftadan so'ng esa yorqin yashil rangdagi meristematik qismlarni paydo bo'lishi kuzatiladi. Yana 1-2 xafta o'tkach apekslar paydo bo'ladi. Har bir kallusda hosil bo'lgan apekslarning soni yozib olinadi. Apekslar kichik poyachalarga aylanadi. Bitta eksplantida bir qancha o'nlab poyalar hosil bo'ladi.

Bu poyalar 10 mm ga yetganda ularni ildiz otishi uchun oziqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. 5-10 kun o'tkach ularda ildizlar paydo bo'ladi.



22-rasm. Kartoshka kallus to'qimasi kulturasi



23-rasm. Kartoshka o'simligining steril o'simtasi

Nazorat savollari:

1. Kartoshka kallus to'qimasini rivojlanishini tushuntirib bering?
2. Kulturada poya morfogenezi induksiyasi ma'nosini aytib bering?
3. Induksiya so'zining ma'nosini tushuntirib bering?

11-Laboratoriya ishi

11-Mavzu. Bug'doy kallus to'qimasidan regenerant o'simlik olish

Asbob-uskunalar va materiallar: *Bug'doy bargidan olingan kallus to'qimasining kulturasi, MV 5 oziqa muhiti solingan 50 ml kolbalar, steril Petri likobchalari, steril skalpellar.*

Mavzuni tushuntirish. Tarkibida 0,2 mg/l BAP bo'lgan oziqaga bug'doyning kallus to'qimasi ekilganda kurtaklar va embriodlar induksirlanadi. 2-3 hafta o'tgandan so'ng kalluslarda 0,5-2 mm kattalikdagi yashil kurtaklar va embriodlar yuzaga keladi. ko'chib o'tkazilgandan keyin bir necha kun o'tgan kalluslar sirtida yashil nuqtalar hosil bo'ladi.

Embriodlar asosan bug'doyning tetraploid navlarida va duragaylarida yuzaga keladi, kurtaklar esa ko'pincha diploid shakllarda hosil bo'ladi. Lekin kurtaklar va embriodlar bir vaqtning o'zida bitta kallusda yuzaga kelishi ham mumkin.

Hosil bo'lgan poya va embriodlardan regenerant o'simliklar olish uchun ular gormonsiz oziqa muhitiga ko'chirib ekiladi va 2-3 haftadan so'ng o'simlik shakllanadi.

Ayrim xollarda o'simlik rivojlanishini meyorini buzganligini ham kuzatish mumkin. Bu vaqtda ekish materiali gormoni bo'lmagan va tarkibidagi moddalar ikki barobar kam bo'lgan oziqaga ko'chirib ekilish zarur. To'qima kulturasidan regeneratsiya qilingan o'simlik olish uchun barcha bosqichlarni amalga oshirishga 2 oyga yaqin muddat kerak bo'ladi.



24-rasm. Regenerant o'simlik olish

Ishning borishi. Bug'doy bargidan olingan kallus to'qmasini BAP (2 mg/l) bo'lgan yangi MV-5 oziqa muhitga ekiladi. Bu oziqa muhit meristema va embrional tipdagi kallusli hujayralardan olingan kallus to'qimalarni rivojlanishini jadallashtiradi. Ulardan kelgusida kurtak va embriodlar shakllanadi. Ko'chirib o'tkazilgan kallusni inkubatsiyasini amalga oshirish uchun 6 soat davomida yoritiladigan yoritish kamerasiga joylashtiriladi. 3 xaftadan so'ng yashil kurtak va embriodlarni hosil bo'lishi kuzatiladi. Natijalar chizib olinadi. Hosil bo'lgan embriodlar va kurtaklar regenerat o'simliklar olish uchun ishlatiladi. Buning uchun steril sharoitda ular gormoni bo'lmagan MV5 oziqa muhitga ko'chirib o'tkaziladi va yorug'lik kamerasida o'stiriladi. Sig'imi 50 ml va 25 ml oziqa solingan kolbaga 4-6 kurtak yoki embriod ekiladi. 3 xaftadan so'ng tajriba natijalari kuzatiladi va rasmi chizib olinadi. Poyalarni va o'simalarni hosil bo'lishini hamda regenerat o'simlikni shakllanishini belgilab qo'yish kerak.

Nazorat savollari

1. Bug'doy kallus to'qimasidan ajratishni gapirib bering?
2. Regenerant o'simlik olish deganda nimani tushunasiz?
3. Steril sharoit deganda qanday ma'noni tushunasiz?

12-Laboratoriya ishi

12-Mavzu. Kallus to'qimasidan suspenziyalı kultura olish (kartoshka misolida)

Asbob-uskunalar va materiallar. *Kartoshka kallusi, suyuq oziqa muhitli kolba (13 jadval), steril pinset, skalpel, Petri likobchasi, spirtovka va gugurt.*

Tushuntirish. Suspenziya steril sharoitda, ma'lum tarkibdagi suyuq oziqa muhitda o'suvchi, yakka hujayralar va agregatlardir. Suspenziyalı kulturadan model sistema sifatida ikkilamchi metabolizm jarayonini, fermentlar sintezini va genlar ekspressiyasini o'rganishda foydalanish mumkin. Hujayra suspenziyasi qimmatli biologik faol moddalar manbai (masalan, dori-darmonlar) hisoblanib, hujayra seleksiyasida boshlang'ich material bo'lib xizmat qiladi. Suspenziyalarni o'stirishning turli xil usullari mavjud: tebratgichda kolbalarda va fermentyorlarda. Suspenziya o'sishi uchun asosiy sharoitlaridan biri oziqa muhitning doimiy tebratgichda aralashtirilishi va chayqatib turilishidir, bu kulturaning aeratsiyasini vujudga keltiradi. Odatda suspenziya to'qimalaridan olinadi.



25-rasm. Suspenziyalı kultura olish

Ishning borishi. Kallusli Petri likobchasidagi po'k kallus bo'laklari steril pinset bilan boshqa steril Petri likobchalariga olinadi, och rangdagi qismlari ajratib olinib suspenziya uchun tayyorlangan steril oziqa muhitli kolbalarga solinadi. Suyuqlikka nisbatan kallusning miqdori quyidagicha: 100 ml suyuq muhitga 3-5 gramm kallus solinadi. Suspenziyaning miqdori kolba hajmining 10-20% ni tashkil qilishi kerak. Masalan, 500 ml li kolbaga 50-100 ml suspenziya solinadi. Kolbaning og'zi paxta dokali tiqin, selofan, folga bilan yopiladi va 3-4 haftaga tebratgichga qo'yiladi (birinchi ekishning meyoriy muddati).

Nazorat savollari

1. Kallus to'qimasidan suspenziyali kultura olish qanday bajariladi?
2. Kallus to'qimasini ajratib olishda qanday jarayonlar amalga oshadi?
3. Hujayra suspenziyasini manosi tushuntiring?

13-Laboratoriya ishi

13-Mavzu. Suspenzion kulturani passirlash hamda suspenzion kulturani zich agarli muhitga ekish.

Asbob-uskunalar va materiallar. *Suspenziyali kolba, uchi kesilgan steril pipetka, rezina nok, pensillin idishi, 20% li xrom kislotasi, uchi cho'zinchoq pipetka, Fuks-Rozental kamerasi (gemotsitometr), Garayeva kamerasi, mikroskop va yopqich oynalar.*

Mavzuni tushuntirish. Suspenziyadagi hujayra sistemasi holatini xarakterlovchi asosiy ko'rsatgichlardan biri bu hujayra populyasiyasining ichligidir. Hujayralar soni suspenziyaning matseratsiyasidan (hujayralarning bo'linishi) so'ng aniqlanadi. Hujayralarni hisoblash mikroskop ostida hisoblash kamerasida olib boriladi. Hujayralarni bo'luvchi modda sifatida 10-20% li xrom kislotasi ishlatiladi, u hujayralarni birlashtiruvchi oraliq plastinkani gidrolizlaydi. Matseratsiyadan so'ng hujayralarni bir-biridan ajratish uchun, ularni yo'g'on ignali shpiritsdan bir necha marta o'tkazish kerak (pipetkalash). So'ng hujayralar soni sanaladi. Suspenziyaga xrom kislotasi qo'shilganidan so'ng aralashma termostatga 60°C ga 10-30 daqiqa qo'yiladi. Isitish vaqti suspenziyaning xususiyatiga bog'liq (agregatsiyalanganligi, hujayra devorlarining kimyoviy tarkibi va hakoza). Odatda, suspenziyaning o'sish sikli uch fazaga bo'linadi: fag faza (2-3 kun), eksponensial o'sish fazasi (2-10 kun) va doimiy faza (10-15 kun). Yaxshi o'suvchi suspenziya S-simon o'sish egri chizig'ini hosil qiladi. O'sish sikli kulturaning doimiy fazaga o'tgunicha bo'lgan vaqtgacha belgilanadi. Fazalarning davomiyligi kallus kulturasi va suspenziyasi olingan o'simliklarning turiga va organiga, hujayralarning boshlang'ich miqdoriga (birlamchi inokulyat) va o'stirish sharoitlariga bog'liq. Odatda, ekishning davomiyligi (qayta ekishga bo'lgan vaqt) 14-16 kundan iborat. Bunda zichlik 5×10^4 - 10^5 huj/ml dan 10^6 - 5×10^6 huj/ml gacha oshadi (taxminan 20 marta). Subkultivatsiyalash (qayta ekish) uchun suspenziya o'sadigan qulay sharoit aniqlanadi: yashash qobiliyati yuqori bo'lganda (70-80%) S-simon egri chiziq olinadi.



26-rasm. Agarli muhitga ekilgan kultura

Ishning borishi. Uchi kesilgan pipetka bilan, oldindan chayqatib aralashtirilgan kolbadan, bir necha ml suspenziya olinadi. Oldindan hisoblash uchun 1 ta kolbadagi suspenziyadan foydalaniladi, o'sish egri chizig'ini chizish uchun esa 3 marta takrorlash kerak, ya'ni uchta kolbadagi suspenziya (taxminan har biridan 2 ml dan) bitta idishga quyiladi, so'ngra hamma muolajalar aralash supenziya bilan olib boriladi. Tekshiralayotgan suspenziyaning bir hajmiga 2 hajm xrom kislotasi (masalan, 1 ml suspenziyaga 2 ml $H_2Cr_2O_7$) solinadi va 10 daqiqaga $60^{\circ}C$ li haroratli termostatga qo'yiladi. Katta ninali shpritsdan suspenziya uch marta o'tkaziladi, bunda hujayralar bir-biridan ajraladi. Hamma muolajalar juda ehtiyotkorlik bilan olib borilishi kerak, chunki xrom kislotasi qo'llarda, kiyimlarda ish joyida dog' qoldiradi. Fuks-Rozental kamerasi va yopqich oynalar yaxshilab yuvib quritiladi. Yopqich oynalarni Nyuton xalqalari paydo bo'lgunga qadar kamera yopishtiriladi. Uchli pipetka bilan matseratsiyalanuvchi eritmadan olib yopqich oyna chetiga asta olib kelinib, kamera suyuqlik bilan to'ldiriladi va hujayralar mikroskop ostida sanaladi. Sanash diogonal bo'yicha joylashgan to'rtta katta kataklarda yoki butun kamera bo'yicha olib boriladi. Har galgi to'ldirishda yuqori va pastki kataklar hisoblanadi. To'g'ri natijalar olish uchun hisoblash 3-4 marta (odatda 1000 hujayra hisoblanadi)

qaytariladi. S-simon egri chiziqli jadval tuzish uchun kul'tivatsiyaning butun jarayoni davomida ko'rsatgichlar kunora olinadi. Suspenziyaning zichligi quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$X = \frac{M \times n \cdot 1000}{3,2}$$

x – hujayralar soni ml da

M – kameradagi hujayralar sonining 6-8 marta o'lchangandagi o'rtachasi

n – suyultirishi

Nazorat savollari:

1. Suspenzion kulturani passirlash deganda nimani tushundingiz?

2. Suspenzion kulturani zich agarli muhitga ekishni tushuntirib bering?

3. Agarli oziqa muhitini ta'rifini bering?

14-Laboratoriya ishi

14-Mavzu. Bodringning apikal meristemasini ajratish va In vitro da kulturalash

Asbob-uskunalar va materiallar. *Meristemalardan olingan regenerant-o'simlik solingan Petri likobchalar; bodringni mikroqalamchalash uchun modifikatsiyalangan (3 g\l faollashgan ko'mir va 10 g\l saxaroza qo'shilgan) sterillangan MS oziqa muhitli probirkalar; asboblari, qog'oz yostiqlar, 96-%li etil spirti eritmasi, spirt lampasi.*

Mavzuni	tushuntirish.	Bodringni	klonli
----------------	----------------------	------------------	---------------

mikroko'paytirishning eng keng tarqalgan usullaridan probirkalardagi kulturada mikroqalamchalash usulidir, meristemalardan olingan boshlang'ich regenerant-o'simlikni qismlarga, ya'ni - yonboshdan chiqqan kurtak bilan birgalikdagi bargchalar va poya to'qimasidan iborat bo'lgan mikroqalamchalarga ajratishdir. Qalamchalarni modifikatsiyalangan oziqa muhiti (3 g\l faollashgan ko'mir va 10 g\l saxaroza qo'shilgan) solingan probirkalarga qayta ekiladi. Bu klonli mikroko'paytirish usulining asosida, uch qismidagi kurtaklar o'sishining tezligi va yonbosh meristemalar o'sishining sekinligi ya'ni -apikal dominantlik yotadi. Apikal dominantlikning induktori bo'lib, poyaning uchki qismida sintezlanuvchi - auksin hisoblanadi. U, yonbosh kurtaklarga kirib boruvchi va ularning rivojlanishini tormozlovchi ingibitorlar (etilen, ABK) sintezini, stimullashtiradi. Bodringni qalamchalab ko'paytirishni, 7-10 sutka interval bilan 4 marta subkulturalash jarayonida amalga oshiriladi. Bitta o'simlikdan 7 tagacha qalamcha olinadi. 4 ta ko'payish jarayonini o'tagan bodring regenerantlarini ildiz ottiriladi. Ildiz oldirilgan regenerant o'simliklarning tuproq sharoitiga adaptatsiyalashishi - moslashuvi, sog'lomlashtirilgan ekish materiali bodringning keyingi- ko'payish etapi hisoblanadi. Probirkalardan tiqinlar olinadi va shu holatda o'simlikni 2-3 sutkaga qoldiriladi. So'ngra o'simlikni probirkadan agarli oziqa muhiti bilan birgalikda sug'urib olinib, tuproqli tuvakchalarga o'tkaziladi va polietilen plenkali

3-5 sutkadan keyin qalpoqlarni yechiladi, o'simlikni esa MS bo'yicha ikki marta suyultirilgan mikroelementlar bilan oziqlantiriladi. 10 sutkadan keyin hosil beruvchi o'simliklar olish uchun, o'simlikni doimiy o'sadigan joyi – issiqxonaga qayta ekiladi.

Ishning borishi. Ish joyini tayyorlashni va asboblarni sterilizatsiyalashni 3-mavzudagi ishda keltirilgani bo'yicha bajariladi. Bodringning meristemalardan olingan regenerant-o'simliklarini laminar boksda pinset bilan Petri likobchalardan olinadi, sterillangan qog'oz yostiqlchalarga qo'yiladi, skalpel bilan ularni segmentlarga bo'linadi va pinset yordamida modifikatsiyalangan MS oziqali probirkaga o'tkaziladi.

Ishni bajarilishida qat'iy sterillikka rioya qilish zarur. Probirkalarga mikroorganizmlar tushib qolishini oldini olish uchun maqsadida probirka og'izlarini spirt lampasi alangasida kuydirib olinadi va germitizatsiya uchun iste'mol plenksi bilan yopib qo'yiladi. Qalamchalar ekilgan probirkalarni rasmga olinadi va yorug'lik xonasiga qo'yib qo'yiladi.

Nazorat savollari

1. Bodringning apikal meristemasini ajratishni tusuntirib bering?
2. In vitro nima?
3. Kulturani ekish deganda nimani tushunasiz?

15-Laboratoriya ishi

15-Mavzu. Kartoshkaning apikal meristemasini ajratish va o'stirish

Asbob-uskunalar va materiallar. *Kartoshka tuganagi, binokulyar lupa, skalpellar, ajratish ninalari, pakki, ushlagichli qisqichlar, steril oziqa muhitli probirkalar.*

Mavzuni tushuntirish. Izolyatsiyalangan apikal meristemalar kulturasi, o'simliklarni mikroklonal ko'paytirish uchun ekiladigan virussiz materiallar olishda foydalaniladi. Virussiz material olish usuli 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 hujayralardan iboratdir. Asosan meristemani jarohatlarsiz bo'laklarga ajratish qiyin bo'lganligi sababli, uni 1-2 barg primordiylar (o'lchami 100-250 mkm apekslar) bilan ajratib olinadi. Kartoshkaning faol sog'lomlanishini oshirish uchun yuqori meristemalar usuli termoterapeya va 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 4-8°C da saqlanadi, so'ng qorong'ulikda 20-22°C da o'stiriladi. Meristemalarni bo'laklarga ajratish ishlari bakteriotsid lampalar bilan sterillangan laminar bokslarda amalga oshiriladi. Ish boshlashdan avval ish joylari, stol, binokulyar lupalar va probirkali shtativlar spirt bilan aritib chiqiladi. Bo'laklarga ajratish uchun ishlatiladigan asboblari (pinsetlar, skalpel va ignalar) har bir ajratishdan so'ng sterillanadi, buning uchun asboblari spirtga solinib, spirtovka alangasiga tutiladi. Nihollar 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 kalsiy 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 ajratiladi. Har bir bargni yulishda alohida sterillangan asbobdan foydalanish kerak.

Ajratilgan meristema ninaning uchida probirkadagi oziqa muhit yuzasiga joylashtiriladi. Probirka og'zi va paxta tiqin 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.

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 koeffitsientini 1:30-40 mingga yetkazish mumkin. So'ngra, 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 va Murasige-Skuga bo'yicha mikroelementlar bilan: 5 ml boshlang'ich eritmaning 1 x 100 konsentratsiyali 1 ml suvdagi eritmasi bilan oziqlantiriladi. 7-100 kundan so'ng o'simliklar virussiz tuganaklar olish uchun, issiqxonalarga doimiy joyiga o'tkaziladi va olingan hosil keyinchalik dalaga ekiladi.

Ishning borishi. Laminarda probirkadan kartoshka o'simligi Petri likobchasiga olinadi, har birida bargi va qo'litiq 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 muhiti 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 rivojlanishi bosqichlari chizib boriladi.

Nazorat savollari

1. Kartoshkaning apikal meristemasini ajratib olishni aytib bering?
2. Apikal meristemani tushunchasini ayting?
3. Murasige-skuga oziqa muhitini tayyorlanishini aytib bering?

16-Laboratoriya ishi

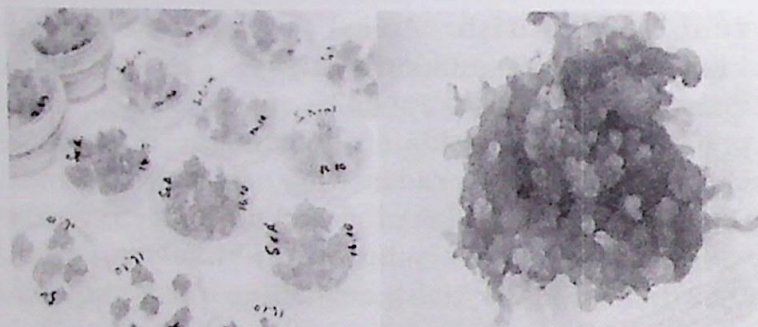
16-Mavzu. Kartoshka novdalarini qalamchalash yo'li bilan klonli mikroko'paytirish

Asbob-uskunalar va materiallar. *Kartoshkaning probirkadagi o'simligi, modifikatsiyalangan va sterillangan Murasige-Skuga oziqa muhitli probirkalar, steril skalpel, pinsetlar 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. Qalamchaning 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 koeffitsientini 1:30-40 mingga yetkazish mumkin. So'ngra, 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 va Murasige-Skuga bo'yicha mikroelementlar bilan: 5 ml boshlang'ich eritmaning 1 x 100 konsentratsiyali 1 ml suvdagi eritmasi bilan oziqlantiriladi. 7-100 kundan so'ng o'simliklar virussiz tuganaklar olish uchun, issiqxonalarga doimiy joyiga o'tkaziladi va olingan hosil keyinchalik dalaga ekiladi.

Ishning borishi. Laminarda probirkadan 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 muhiti 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 sўng kuzatiladi va ўsimlikning rivojlanishi bosqichlari chizib boriladi.



28-rasm. Kallus to'qimalar olish

Xrizantemani klonli mikroko'paytirish. Tushuntirish. O'simliklarni mikroklonal ko'paytirishda qo'llaniladigan asosiy usul bu – dominantligini yo'qotishga asoslangan, o'simlikda mavjud bo'lgan apikal meristemaning rivojlanishini faollashtirishdir. Bu ikki yo'l bilan amalga oshiriladi: a) poyaning uchki meristemasini olib tashlash va so'ngra In-vitro sharoitida gormonsiz oziqa muhitida poyani mikroqalamchalash; v) oziqa muhitiga ko'plab yonbosh poyachalarni rivojlanishini induksiya qiluvchi, sitokinin kabi ta'sirga ega bo'lgan modda qo'shilishi bilan olib boriladi. Odatda sitokinin sifatida 6-benzilamin-purin (BAP) yoki 6-furfurilaminopurin (kinetin), hamda 2iP va zeatin qo'llaniladi. Shunday yo'l bilan olingan poyalarni birlamchi onalik eksplantndan ajratiladi va yana qo'ltiq meristemalarni proliferatsiyasini stimullaovchi va yanada yuqoriroq qatorda poyalar hosil bo'lishi uchun, yangi tayyorlangan oziqa muhitida kulturalanadi. Bugungi kunda bu usul, - virussiz texnik (qand lavlagi, xmel, tamaki,

topinambur, staxis) va sabzavot ekinlari (pomidor, kartoshka, bodring, qalampir, qovoq, sparja va boshq.), qishloq xo'jalik ekish materiallari, hamda gulchilik sanoati ekinlarini (gvozdika, xrizantema, atirgul, gerbera) ko'paytirish uchun, meva va rezavor ekinlar (olma, olxo'ri, olcha, nok, uzum, malina, smorodina, krijovnik va boshq.), tropik va subtropik o'simliklarni (rododendron, azaliya, kameliya, choy) va yog'ochlik materiallari o'simliklari (terak, tol, olxa, qayin, ryabina, sekvoiya, tuyay, mojjevelnik) yetishtirishda keng qo'llaniladi. Kartoshka kabi ba'zi qishloq xo'jalik ekinlari uchun, klonli mikroko'paytirish texnologiyasi sanoat darajasiga qo'yilgan. O'simlik rivojlanishini faollashtiruvchi unda mavjud bo'lgan meristema faollashtirish usulini qo'llash, kartoshkaning bir meristemasidan bir yilda 10/5 dan oshiq o'simlik olish imkonini beradi va shu bilan bir qatorda bu texnologiya yordamida, qimmatli virussiz urug'lik material olish uchun - probirkalarda mikrotuganaklar olishni amalga oshiriladi.

Ishning borishi. Donor - o'simlik tuganaklarini kesiladi, doka qopchalarga solinadi va 5-8 minut 0,1%-li sulema eritmasida sterillanadi, shundan so'ng uch hissa steril holdagi distillangan suvda yuviladi. So'ngra tuganaklarni doka qopchalardan olinadi va sterillangan qohoz ustiga yoki Petri likobchasiga qo'yib chiqiladi va poyaning bazal qismini kesib qo'yiladi. Poyaning muvozanatini saqlagan holda uni agarli oziqa muhiti quyilgan probirkalarga vertikal holda joylashtiriladi. Probikaning og'zi spirt lampasida kuydirilgandan keyin ularni paxta tiqinlar yoki sterillangan shaffof plyonka bilan yopiladi.



29-rasm. Kallus to'qima va steril o'simta

Kulturalangandan 4-5 haftadan keyin har birini onalik eksplantidan ajratiluvchi yon poyachalar paydo bo'lishi kuzatiladi va miroqalamchalashdan keyin yangi tayyorlangan oziqa muhitida mustaqil ravishda kulturalanadi. Mikroqalamchalar bir yoki ikki yon kurtakli poya segmentlaridan iborat. Mikroqalamchalash jarayoni vaqti chegaralanmagan.

Shakllangan mikropoyachalarni ildiz oldirish uchun, 2 mg/l konsentratsiyali IUK yoki IMK qo'llaniladi.

Nazorat savollari

1. Kartoshka novdalarini qalamchalash yo'li qanday ko'paytiriladi?
2. Klonli mikroko'paytirishni tushuntirib bering?
3. Laboratoriya sharoitida qalamchalarni qanday y'llar bilan ko'paytirasiz?

17-Laboratoriya ishi

17-Mavzu. *In vitro* da regenerant o'simliklarni tuproq sharoitiga moslashtirish

Asbob-uskunalar va materiallar. *Suv va yuqori namlikdagi probirkadagi o'simlik, modifikatsiyalangan va sterillangan Murasige-Skuga oziqa muhitli probirkalar, steril skalpel, pinsetlar va Petri likobchalari.*

Mavzuni tushuntirish. *Ex vitro* moslashuv muammolaridir. Moslashishning asosiy qiyinchiliklari ko'p miqdorda suv va yuqori namlik, karbonat angidrid tanqisligi va kam yorug'lik bo'lgan sun'iy ozuqa muhitida *In vitro* sharoitida o'stirilgan regeneratsiyalangan o'simliklarning yuqori darajadagi transpiratsiyasining mavjudligidadir. idish. Bunday yetishtirish sharoitida qayta tiklangan o'simliklarda yomon rivojlangan ksilem o'tkazuvchi tomirlar mavjud, stomatal apparatlar ishlamaydi va mumning epikutikulyar qatlami deyarli yo'q. *In vitro* sharoitida fotosintetik faollik cheklangan, oziqlanish tabiatda fotomiksotrofik (saxarozaning ozuqaviy muhiti tufayli). *In vitro* kulturada hosil bo'lgan ildizlar anatomik jihatdan *ex vitro* ildizlardan farq qiladi. Ularda kamroq kraxmal donalari mavjud, lignin miqdori past va qon tomir to'qimalarining tarkibi nisbatan past. *In vitro* kulturada hosil bo'lgan ildizlarning yuzasi va ularning uchlari zich tuklar bilan qoplangan. *In vitro* moslashuv jarayonida ildizlar tuklarini yo'qotadi, ularning o'sishi qisman yoki to'liq to'xtaydi, ba'zi ildizlar nekrozga aylanadi. Shu bilan birga, moslashish jarayonida tuproqdan ozuqa moddalarini o'zlashtirishga va tez o'sishga qodir bo'lgan yangi ildizlar faol shakllanadi, ammo birinchi bosqichlarda ular o'simlikni barcha kerakli suv bilan ta'minlay olmaydi, bu esa o'simlik davrida to'ldiriladi. yaratilgan namlik tufayli moslashish davri. Yuqoridagi barcha omillar steril bo'lmagan sharoitda qayta tiklanadigan o'simliklarning sekin o'sishini belgilaydi va dastlab steril o'simliklarda patogen mikrofloraning faol ko'payishi moslashish samaradorligini minimal darajaga tushirishi mumkin.

Haddan tashqari transpiratsiyani oldini olish uchun moslashtirilgan o'simliklar uchun yuqori namlik sharoitlari yaratiladi - bunga ularni plastik plyonka, spybond bilan qoplash, moslashtirilgan o'simliklarni alohida plastik qoplarga ekish va regenerantlarni transpiratsiyani oldini oluvchi kimyoviy moddalar bilan davolash orqali erishiladi. O'simlik barglarini davolash va natijada transpiratsiyani kamaytirish uchun kimyoviy moddalarni (parafin va glitserin eritmalari) qo'llash usuli ko'plab nojo'ya ta'sirlar tufayli yaroqsiz bo'lib chiqdi. Shunday qilib, glitserin va kerosin o'z ichiga olgan aralashmalar ko'p turdagi mikroorganizmlar uchun ozuqa muhiti bo'lib, bu o'simlik barglarida patogen mikrofloraning ommaviy rivojlanishiga va keyinchalik moslashuvchan regenerantlarning o'limiga olib keladi. Regenerantlarni moslashtirish uchun individual paketlardan foydalanish juda yaxshi natijalar beradi, shu bilan birga o'simliklarning qayta infektsiyasi deyarli yo'q, ammo bu usul juda ko'p mehnat talab qiladi va qimmat. Yetarli namlikni yaratish, infektsiyani va xarajatlarni minimallashtirish nuqtai nazaridan eng yaxshi variant - tovoqlarni plastik plyonka bilan moslashuvchan o'simliklar bilan qoplash. Mikroo'simliklarni moslashtirish jarayonida patogen yukni kamaytirish uchun standart aseptik usullardan foydalanish samarali bo'ladi - o'stirish uchun steril substratlar va konteynerlar, madaniy binolarni insektitsidlar va antiseptiklar bilan doimiy davolash, shu jumladan: madaniyat xonalarini oylik ultrabinafsha nurlari bilan davolash; madaniyat binolarini aerosol bilan dezinfeksiya qilish (formalin, 40% suvli eritma (w.r.), 2% ishchi eritma); o'rgimchak oqadilar paydo bo'lganda madaniyat xonalarida o'simliklarni davolash (baktisurin, pasta, titri 45-60 mlrd yashovchan sporalar/g, 1-2% ishchi suyuqlik; fitoverm, 0,2% emulsiya konsentrati (masalan, 0,2% ishchi eritma).

Tadqiqotchilar va amaliyotchilar substratga ildiz otgan regenerantlarni ekish uchun eng yaxshi vaqt to'g'risida konsensusga ega emaslar, qish davrining afzalligi, shuningdek, fevraldan martgacha yomon omon qolish haqida ma'lumotlar mavjud. *Ex vitro* moslashuv bosqichida o'simliklarning yuqori darajada omon qolishi (90-100%), *in vitro* rivojlangan ildizlari

bo'lgan o'simliklarni substratlarga ekish orqali ta'minlanadi. Ildizlanishi qiyin o'simliklar uchun bu o'simliklarning *ex vitro* sharoitlariga moslashishining yagona yo'lidir. Biroq, ba'zi mualliflar mikroo'simliklarni bir vaqtning o'zida ildiz otish va moslashtirishni taklif qilishadi. Ularning tajribalarida steril bo'lmagan sharoitlarga o'tkazishdan 5-7 kun oldin auksinlarning yuqori konsentratsiyasi yordamida ildiz hosil bo'lishiga olib keldi. Natijada o'simliklarning ildizlari yaxshi rivojlandi va o'simliklarning o'zi osonroq moslashdi. Ba'zi malina navlari uchun sinov naychali o'simliklarning ildiz otishi ozuqaviy muhitda ildiz otish bosqichini chetlab o'tib, to'g'ridan-to'g'ri tuproq substratida amalga oshirilishi mumkin. Bundan farqli o'laroq, bir qator mualliflarning fikriga ko'ra, *in vitro*da oldindan ildiz otgan o'simliklar *In vitro* ildizlarning substratdan suvni singdirish qobiliyati tufayli yaxshiroq moslashadi va shu bilan stomataning yomon ishlashi natijasida o'simliklarning suvsizlanishini engillashtiradi.

Ishning borishi. *In vitro* ekishdan so'ng qayta tiklangan o'simliklarni moslashtirish jarayoni ikki bosqichda amalga oshirildi:

- 1-bosqich (moslashish bosqichi). O'simliklar hijob yoki ion almashinuvi substrati bilan to'ldirilgan 50 ml kasetlarda ekilgan. Moslashuvning 1-bosqichining davomiyligi 4-7 hafta.

- 2-bosqich (adaptatsiyadan keyingi bosqich). Moslashtirilgan o'simliklar torf substrati bilan 500 ml idishlarga ko'chirildi. Moslashuvning 2-bosqichining davomiyligi 16 hafta. Sug'orish musluk suvi bilan amalga oshirildi.

O'simlik ildizlari qoldiq muhitni olib tashlash uchun kaliy permanganatning zaif eritmasida yuviladi va hujayra diametri 4-5 sm bo'lgan kasetlarda, o'lik yoki substrat bilan to'ldirilgan mini-issiqxonalarda ekilgan. Yuqori namlik sharoitlarini yaratish uchun o'simliklar bilan kasetalar yosh barglar paydo bo'lguncha plastik plyonka (qopqoq) bilan qoplangan. Sug'orish distillangan suv bilan amalga oshirildi. Moslashuvning birinchi bosqichining davomiyligi madaniyatga qarab 2-4 hafta.

Moslashuvning birinchi va ikkinchi bosqichlari uchun substratlar. Amalga oshirilgan funktsiyalarning ko'pligi tufayli

substratlar, qoida tariqasida, ikki yoki uch komponentli aralashmalar bo'lib, ularda torf, qum, perlit, ion almashinadigan substratlar, vermikompost, mineral o'g'itlar va suv saqllovchi preparatlar kabi boshlang'ich moddalar mavjud. ishlatilgan. Tadqiqotlarimizda organik, mineral va sintetik substratlardan foydalanilgan. **Organik substratlar.** Torf o'simlik qoldiqlari va minerallardan iborat. Botqoqlar yuzasida yotgan va atmosfera bilan oziqlanadigan o'simlik qoldiqlari *baland bo'yli torfni*, er osti suvlari bilan oziqlanganlari esa *pastda joylashgan torfni hosil qiladi*. Ushbu ikki tur o'rtasida o'tish davri torf qatlami mavjud. **Yuqori moorli torf** substratlar ishlab chiqarish uchun javob beradi. U jigarrang yoki jigarrang rangga ega va baland botqoqlardan olinadi. Juda kislotali (pH - 3-4) va ozuqa moddalari kam. Yuqori torfda fosfor 0,1% dan kam, azot - taxminan 1%, kaliy - 0,05-0,15%. U sezilarli tamponlash qobiliyatiga va yuqori sorbsiya qobiliyatiga ega. Bu mineral o'g'itlarning yuqori stavkalaridan foydalanishga imkon beradi va shu bilan o'simliklar uchun zararli tuz konsentratsiyasini yaratish havfisiz keng oraliqlarda ovqatlanish darajasini tartibga soladi. Muhitning kuchli kislotali reaksiyasi va fenolik birikmalarning mavjudligi tufayli antiseptik xususiyatlarga ega. Yuqori g'ovaklik (95% gacha) va yuqori namlik sig'imi boshqa torf turlari bilan solishtiriladi - pasttekislik va o'tish. Yuqori torfda o'simliklarning o'sishi uchun optimal namlik og'irligi bo'yicha 77,7-84,6% oralig'ida. Bunday holda, teshik hajmining 35-50% havo bilan band bo'lib, bu ildiz tizimining normal ishlashi uchun juda muhimdir.

Hatto mo'l-ko'l sug'orish bilan ham, baland bo'yli torf uning teshiklarida 20% gacha havoni o'z ichiga oladi. U uzoq vaqt davomida mikrobiologik parchalanishga chidamli barqaror tuzilishga ega. Shu munosabat bilan, bu turdagi torf tuzilishda sezilarli o'zgarishlarsiz uch yoki undan ortiq yil davomida tuproq sifatida ishlatilishi mumkin. **Pasttekislik torf.** Etarli miqdorda barcha oziq moddalarni o'z ichiga oladi. U baland torfqa qaraganda ancha ko'p fosforni o'z ichiga oladi - 1% gacha va undan ko'p, azot - 2,5-3% (ba'zi konlarda - 4% gacha), kaliy - 0,05-0,15%. Bir oz kislotali yoki neytral (pH 5,5-7,0), ba'zan bir oz ishqoriy. Tuproqlarning fizik xususiyatlarini yaxshilashga yordam beradi:

namlik o'tkazuvchanligi, havo sig'imi, tuproq zichligi va g'ovakligi (qumni bog'laydi va gillarni bo'shatadi), tuproq eritmasining reaksiyasini kislotalashtirmaydi va hokazo. **Torf aralashmalari** pasttekislik va baland torfni turli nisbatlarda ohak, tabiiy qum, perlit va noyob unumdor xususiyatlarni ta'minlaydigan boshqa moddalar bilan birlashtirish orqali hosil bo'ladi. Torf aralashmasining xususiyatlarini yaxshilash noorganik komponentlarni qo'shish orqali erishiladi. Bu agrokimyoviy xususiyatlarni va suv-fizik xususiyatlarini optimallashtirish, mikrobiologik jarayonlarni faollashtirish imkonini beradi. Hozirgi vaqtda hijob aralashmalari yopiq ildiz tizimiga ega o'simliklarni etishtirish uchun optimal substrat hisoblanadi. *Ex vitro sharoitlariga* moslashtirish uchun torf substratlari majburiy sterilizatsiyani talab qiladi, buning natijasida begona o'tlar urug'lari, parazit hasharotlarning lichinkalari va tuxumlari nobud bo'ladi. Tadqiqotlarimizda biz tijorat hijob aralashmalaridan foydalandik: "Florabel-5" substrati quyidagi elementlar bilan to'yingan torfdir, mg/100 g: azot (N) - 130 ± 40 , fosfor (P_2O_5) - 130 ± 40 , kaliy (K_2O) - 170 ± 50 , tavsiya etiladi. sabzavot, manzarali ekinlar va ko'chatlar etishtirish. Torf substratidan olingan suv ekstraktining pH qiymati 7,7 ni tashkil qiladi. Ishlab chiqaruvchiga ko'ra Dvina tuproq torfining agrokimyoviy ko'rsatkichlari: torf turi - baland bo'yli, pH - 5,5-6,5, kul miqdori - 10% dan ko'p emas, yog'och qo'shimchalarining massa ulushi - 1,0% dan ko'p emas. Har 1000 g mutlaqo quruq moddaga ozuqa moddalarining harakatchan shakllarining tarkibi mg - N jami (220) va NO_3 nitrat (68,7), P_2O_5 (150), K_2O (270), Mg - (65,8), Cu - (4,67), Zn - (2,260), B - (2,95), parchalanish darajasi - 20% dan ko'p emas.

Sphagnum moxi gigroskopikdir (sfagnumning og'irligi bo'yicha bir qismga suvning 20 qismigacha), bu ichi bo'sh havo ko'taruvchi rezervuar hujayralarini o'z ichiga olgan ildiz va barglarning tuzilishi bilan ta'minlanadi. Sphagnum suv bilan teng ravishda to'yingan va shundan keyingina u ortiqcha namlikni chiqaradi. Shunday qilib, tuproq aralashmalarining bir qismi sifatida foydalanilganda, u har doim tuproqni botqoqlashsiz substratda etarli darajada namlikni saqlab turadi. Sphagnum qo'shilgan tuproq etarlicha nam, lekin ayni paytda engil va bo'sh,

bu o'simlik ildiz tizimining yaxshi rivojlanishi va o'sishiga yordam beradi. Antibakterial, dezinfektsiyali va antifungal xususiyatlarni sfagnumni tashkil etuvchi moddalar ta'minlaydi: bakteritsid fenolga o'xshash sfagnol moddasi, antibiotiklar (sfagnum kislotalari), kumarinlar, triterpen birikmalari va boshqalar.

Sphagnumda ko'paytirilganda chirigan so'qmoqlar ulushi eng past ko'rsatkichdir. boshqa barcha usullarga. Vodorod ionlarining chiqishi tufayli tuproqni o'rtacha darajada kislotalaydi. Bu bakteriyalarning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi. Tarkibida juda oz miqdorda ozuqa moddalari mavjud. Distillanmagan suv bilan sug'orilganda, mox sho'r bo'lishi mumkin, keyin uni yangisi bilan almashtirish kerak. **Mineral substratlar** sof shaklda yoki turli xil kombinatsiyalarda, shu jumladan organik substratlar bilan qo'llaniladi. Oziq moddalar eritmasi bilan o'zaro ta'siriga qarab, mineral substratlar inert (kengaytirilgan loy, mineral jun va boshqalar) va faol (seolit, vermikulit va boshqalar) bo'lishi mumkin. **Agroperlit** 1-5 mm fraksiyali kengaytirilgan perlit bo'lib, u vulkanik materiallarni issiqlik bilan ishlov berish natijasida olinadi (2.1-rasm, rangli qo'shimchaga qarang). Bu engil va go'zenekli material bo'lib, oq rangli, fraksiyalarga bo'lingan, qishloq xo'jaligida eng yaxshi natijalar qo'pol taneli perlitdan foydalanganda olinadi. Substrat steril bo'lib, ishlatishdan oldin sterilizatsiya qilishni talab qilmaydi. Perlitning oq rangi yaxshi aks ettirishni aniqlaydi: substratning yuqori qatlami yorug'lik energiyasini barglarning pastki yuzasiga osongina aks ettirishi mumkin; past zichlik substratning issiq havoda ham, lyuminestsent lampalardan ham qizib ketishini oldini oladi. Sovuq havoda substrat kamroq soviydi. Quruq holatda juda ko'p chang hosil qiladi, shuning uchun ishlatishdan oldin namlash kerak. Perlit ozuqa moddalarida kambag'al va organik moddalardan butunlay mahrum, bu ko'rsatilgan xususiyatlarga ega ko'p komponentli aralashmalarni tayyorlashda muhim ko'rsatkichdir. Substratlarga qo'shilsa, u ularning suv-fizik xususiyatlarini sezilarli darajada yaxshilaydi va shu bilan ildizlarning singishi, oziqlanishi va o'sishini oshiradi. Substratlarga kislorod yetkazib berishni optimallashtiradi. Kislorodga yopiq bo'lgan substratlar o'simliklarning nobud bo'lishiga olib keladi (ma'lumki, o'simlik

uchun zarur bo'lgan kislorodning 98% gacha uning ildizlari orqali keladi). Kengaygan perlitning og'ir tuproqlarga kiritilishi ularni bo'shashtiradi va osongina nafas oladi. Substratlarning suv rejimini yaxshilaydi. Tuproqdagi perlit zarralari miniatyura suv havzalari vazifasini bajaradi. Sug'orish paytida perlit zarralari o'z vaznining 400% gacha suvni o'zlashtiradi, ammo bunday yuqori gidrofillik bu suvni o'simlik ildizlariga osongina berishiga to'sqinlik qilmaydi. Perlit bilan to'ldirilgan substrat qatlami uzoq vaqt davomida teng ravishda namlanadi. Perlit namlikni pastki, namroq qatlamlardan yuqoriga tortib, bir xil namlikni ta'minlaydi. Ba'zi rezavorlar (bog 'qulupnaylari) torf perlitli substratda, shuningdek, sof perlitda muvaffaqiyatli rivojlanadi.

Kengaygan gil suv va kislorodning yaxshi o'tishiga imkon beradi. Kengaygan loyning maydalangan bo'laklari yaxshi g'ovaklikka ega, engilligi, oquvchanligi va sterilligi bilan ajralib turadi. Kengaytirilgan loydan foydalanishda tez-tez dezinfektsiya qilish shart emas, u arzon va kimyoviy jihatdan o'simliklar uchun zararli emas. Kamchilik - tuzlar vaqt o'tishi bilan kengaytirilgan loyning teshiklarida to'planib, o'simliklarni inhiye qiladi. Yopiq ildiz tizimiga ega o'simliklarni o'stirishda, so'qmoqlarni ildiz otishda drenaj sifatida ishlatiladi; sog'lom ekish materiali bo'lgan issiqxonalarda konteynerlar orasidagi bo'shliqlarda drenaj materiallari.

Qum substratlarga yumshoqlik va g'ovaklikni beradi, bu o'simliklarning ildizlariga suv va havoning kirib borishini osonlashtiradi va konteyner madaniyatida o'simliklarni etishtirishda mox, zamburug'lar va suv o'tlarining rivojlanishiga to'sqinlik qiladi. Agar kerak bo'lsa, substratlarning ozuqaviy qiymatini kamaytirishga yordam beradi. Qum gigroskopik va namlikni saqlay olmaydi. Yuqoriga quyilgan qo'pol qum shunchaki suvning kapillyar ko'tarilishini to'xtatadi, u erda tezda bug'lanadi, ya'ni idishdagi suvning bug'lanishini keskin kamaytiradi. Substratlarni tayyorlash uchun qo'pol daryo qumi ishlatiladi. O'simliklar uchun zararli bo'lgan qora birikmalar va boshqa metallarning oksidlari, shuningdek, substratni tsementlashi mumkin bo'lgan loy va loyli zarralarni o'z ichiga olgan mayda qizg'ish qum substratlarni tayyorlash uchun yaroqsiz. Ishlatishdan

oldin qum yuviladi yoki mayda zarralar va o'simlik qoldiqlari va boshqa qoldiqlarni olib tashlash uchun elakdan o'tkaziladi. Dag'al qum drenaj uchun va o'simliklarni kesish uchun mustaqil substrat sifatida ishlatiladi. Torf-qum aralashmalari o'simliklarni *Ex vitro sharoitlariga* moslashtirishda (masalan, gilosning hasharotli ildizpoyalari, olcha navlari), ularni keyinchalik yopiq ildiz tizimi bilan yetishtirishda muvaffaqiyatli qo'llaniladi.

Nazorat savollari

1. *Ex vitro* sharoitlariga nisbatan *In vitro* sharoitlar qanday farq qiladi?
2. Ozuqa muhitining komponentlari nimalardan tashkil etilgan?
3. Substratlar turlarini aytib bering?

18-Laboratoriya ishi

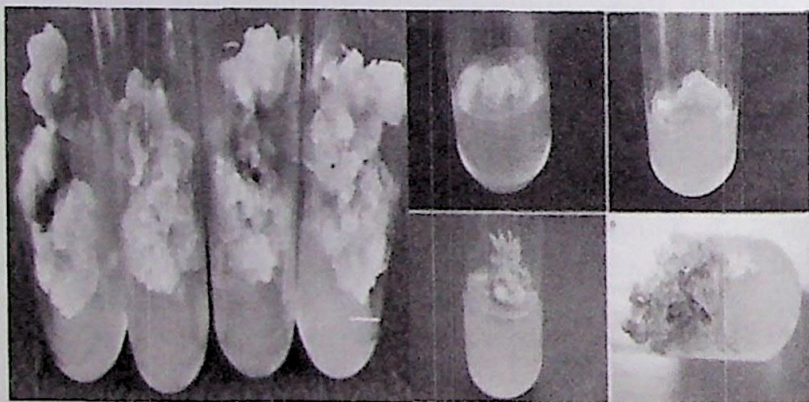
18-Mavzu. Qulupnayning apikal meristemalarini ajratish va kulturalash. Qulupnayni mikroklonal ko'payishi

Asbob-uskunalar va materiallar. *Qulupnay stolonlari, steril oziqa muhitli probirkalar, steril Petri likobchasi, skalpel, igna, spirtovka, gugurt, 96% li etil spirti, sulemaning (0,1% li) suvdagi eritmasi, doka xaltachalar, 1 litr steril suvli kolba va 2 ta steril kimyoviy stakan.*

Mavzuni tushuntirish. Qulupnay apikal meristemalari tarkibida kinetin (0,5-1 mg/l) miqdori yuqori bo'lgan oziqa muhitida o'stirilganida, shu gormon ta'sirida yuqori meristemaning apikal dominatligi pasaytirilib, yon meristemallarning faollashuvi yuzaga keladi. Natijada, meristemal kupol va 1-2 ta barg primoydiylaridan iborat izolyatsiyalangan, yuqori qismini oziqa muhitiga joylashtirilganidan taxminan ikki haftadan so'ng ochilayotgan barg asoslari oqarib kattalasha boshlaydi va tez orada ularning qo'ltig'idan rivojlanib kelayotgan kurtaklardan barglar ko'rina boshlaydi. Eksplantlar 1-2 oydan so'ng turli xil va turli kattalikdagi barglari rivojlangan konglomeratlarga aylanadi. Hosil bo'lgan kurtaklar bir-biridan oson ajraladi, yangi oziqa muhitiga o'tkazilganida yangi qo'ltiq kurtaklarni yuzaga kelishi davom etadi va shu bilan birga ildiz hosil qilmasdan o'sish nuqtalari sonining ko'payishiga olib keladi. Kurtaklar ildiz hosil qilishi uchun auksin tutuvchi oziqa muhitiga o'tkazilishi kerak.

Ishning borishi. Qulupnay stolonlari sovunli suvda yuviladi so'ng vodoprovod va distillangan suvda chayiladi. Qulupnay stolonlari barglari asosida joylashgan qo'ltiq kurtaklari skalpel bilan ajratiladi. Bu ishni laminardan tashqarida bajarish mumkin. Qolgan ishlarning hammasi laminarda olib boriladi. Kurtaklar doka xaltachalarga solinib, 0,1% li sulema eritmasida 6-10 daqiqa sterillanadi. So'ng xaltachalarni ipi orqali tortib olib 5-6 marta steril distillangan suvda yuviladi. Buning uchun 6 ta steril suvli stakanlar bo'lishi shart emas, chunki ular laminarda ko'p joy egallaydi.

Buning uchun ikkita stakan bo'lishi yetarli, kurtaklar solingan xaltachalar stakandagi suvga tushiriladi va bir necha daqiqa davomida chayiladi, so'ng suv ikkinchi stakanga to'kiladi va kolbadan steril suv solinib xaltachalar bir necha marta chayiladi. Sterillangan kurtaklarni xaltachalardan Petri likobchalariga olib, meristemalar ajratiladi. Buning uchun buyum oynasiga qo'yiladi va 9 marta kattalashtiruvchi mikroskop ostida ko'riladi. Kurtakni qoplovchi ko'pgina barg bo'rtiklaridan ajratish ninasi bilan ushlab turib, skalpel bilan tozalanadi va 1-2 barg primodiylaridan iborat meristemal kupol ajratib olinadi. So'ngra u skalpel bilan probirkadagi oziqa muhitiga o'tkaziladi. Probirka og'zi va paxta tiqin spirtovka alangasida sterillab yopiladi. Probirkalar selofan bilan yopilib 25°C haroratdagi klimatik yorug'lik kamerasiga qo'yiladi. To'rt haftadan keyin hosil bo'lgan konglomerat kuzatiladi va rasmi chizilib olinadi. Hosil bo'lgan kurtaklar soni aniqlanadi. Ulardan qulupnayni mikroklonal ko'payishida ildiz hosil bo'lish induksiyasi ishida foydalaniladi.



30-rasm. Qulupnayning apikal meristema va kallus to'qimasi

Nazorat savollari:

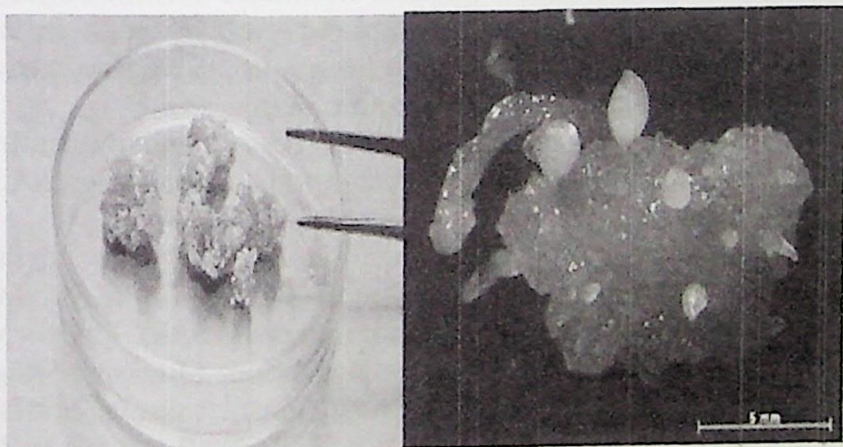
1. Qulupnayni apikal meristemasi qanday ajratiladi?
2. O'stirilgan kultura nechi gradusda saqlanadi?
3. Steril oziqa muhitini tushuntirib bering?

19-Laboratoriya ishi

19-Mavzu. Tokni (uzumni) klonli mikroko'paytirish

Asbob-uskunalar va materiallar. Tok eksplantlari, steril oziqa muhitli probirkalar, steril Petri likobchasi, skalpel, igna, spirtovka, gugurt, 96% li etil spirti, sulemaning (0,1% li) suvdagi eritmasi, doka xaltachalar, 1 litr steril suvli kolba va 2 ta steril kimyoviy stakan.

Mavzuni tushuntirish. Uzumchilik qishloq xo'jaligining uzluksiz rivojlanayotgan serdaromad sohalaridan biri hisoblanadi. Xalqaro uzum va vino tashkiloti (IOGW - XUVT) ning ma'lumotlariga ko'ra, jahondagi uzumzorlar 9,5-10 mln gektarga teng bo'lib, yalpi mahsulot oxirgi yillarda 60-70 mln tonnani tashkil etgan. Dunyoda yetishtirilgan uzumning 80-90% i qayta ishlash (vino, sok va boshqalar) uchun yuborilsa, 9-10% i yangi uzilgan holda iste'mol qilinadi hamda qolgan 5-6 % i quritiladi.



31-rasm.Tokni (uzumni) kallus to'qimasi

Bugungi kunda jahonda uzum yetishtirish bo'yicha yetakchi davlatlar Xitoy, Italiya, AQSH, Fransiya, Ispaniya va Turkiya hisoblanadi. Mayizbop navlar yetishtirish va mayiz tayyorlash bo'yicha Turkiya, AQSH va Eron ilg'or bo'lib, bu borada O'zbekiston 7-o'rinni egallaydi.

Bugungi kunga kelib O'zbekistonda uzum seleksiyasida biotexnologik usullardan foydalanish yaxshi o'rganilmagan masalalardan bo'lib hisoblanadi. Lekin yuqori hosildor, kasallik va zarkunandalarga chidamli yuqori potensial imkoniyatlarga ega yo'nalishli navlarni ishlab chiqarishga bo'lgan ehtiyoj o'sib bormoqda.

Oziqa muhitlarini muhim tarkibiy qismlaridan biri bu o'sish va rivojlanishni boshqaruvchi moddalar hisoblanadi. Ularni to'g'ri va sifatli tanlash, optimal konsentratsiyani bilash tokni in vitro da klonal mikroko'paytirishni muvaffaqiyatini oshiradi. Bunda sitokinin va auksin ta'siriga ega moddalarning nisbatini ahamiyati muhim hisoblanadi.

Ishning borishi. In vitro da o'simliklar regeneratsiyasi uchun oziqa muhitlar tanlash muhim ahamiyatga ega hisoblanadi. Tok eksplantlarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tanlash maqsadida Gotre va MS (Murasige-Skuga) oziqa muhitlari sinovdan o'tkazildi. Bu muhitlar organik qo'shimchalar va fiziologik faol moddalar tarkibi bo'yicha bir xil, ammo mineral moddalar tarkibi bo'yicha turlicha hisoblanadi. Tajribalar ma'lum bo'ldiki, oziqa muhitlari tarkibidagi mineral moddalar uzum eksplantlari regeneratsiya bo'la olish xususiyatiga turlicha ta'sir qilar ekan.

Tajriba natijalaridan ko'rinib turibdiki, uzum eksplantlarining eng yaxshi rivojlanishi modifikatsiyalangan Murasige-Skuga oziqa muhitlarida kuzatildi.

Sitokinin ta'siriga ega moddalarning 10 dan ortiq turlari aniqlangan bo'lsada, bugungi kunda In vitroda o'simlik to'qima va organlarini kulturalashda 6-benzilaminopurin (6-BAP), kinetin va zeatindan foydalaniladi. Biz modifikatsiyalangan Murasige-Skuga tarkibidagi 6-BAP ning turli konsentratsiyalarini tok eksplantlari rivojlanishiga ta'sirini o'rgandik. Bunda, 6-BAP ning 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 va 5,0 mg/l tajribada o'rganildi.

In vitro sharoitida tok qalamchalarini ildiz otishini stimullash. In vitro da o'simliklarni ko'paytirishning eng muhim mikronihollarni ildiz otish bosqichidir. Aynan shu davrda ildiz tizimini rivojlanishini ta'minlash kerak, shundan so'ng o'simliklarni tuproqqa ekish yoki past haroratlarda uzoq muddatli saqlashga joylashtirish mumkin.

Ma'lumki, auksin ta'siriga ega bo'lgan moddalar (2.4 Diklorfenoksi sirka kislota, Indolil sirka kislota (ISK), Indolil moy kislota (IMK)) ildiz hosil bo'lishini stimullash uchun ishlatiladi. Shuni inobatga olgan holda, Indolil moy kislotasini turli konsentratsiyalarini ildiz hosil bo'lishiga ta'sirini o'rgandik. Bunda, IMK ning 0.5; 1.0; 2.0; 5.0; va 10.0 mg/l konsentratsiyalari sinab ko'rildi.

Qalamchalar ekilgandan 15 kun o'tgach, ildiz hosil bo'lishi va ildiz uzunligining eng yuqori ko'rsatkichi 2.0 mg/l variantda kuzatilib, bunda ildizlar soni 2.8 ta ni, ildiz uzunligi esa 18 mm ni tashkil qildi. Keyinchalik ildiz hosil bo'lishi davom etib, 30-kun hisobga olinganda hosil bo'lgan ildizlar soni oshib bordi va ildiz otish foizi 95% ni tashkil qildi. Bunda paralel ravishda o'simlik intensiv o'sib, barg bandlari uzaydi va kengaydi va poyasi cho'zildi.

Nazorat savollari:

1. In vitro da o'simliklar regeneratsiyasi uchun oziqa muhitlarini qanday tarzda olib boriladi?
2. In vitro da o'stirish uchun qanday amallar bajariladi?
3. Regenerant o'simlik deganda nimani tushunasiz?

20-Laboratoriya ishi

20-Mavzu. Oddiy qarag'ay (*Pinus silvestris*) va oddiy qoraqarag'ayni (*Picea abies*) klonli mikroko'paytirish

Asbob-uskunalar va materiallar. *Oddiy qayrag'och yoki oddiy yel urug'lari; adventiv kurtak induksiyasi hosil bo'lishi uchun (oddiy qayrag'och uchun vitaminlar qo'shilgan Gresxoff va Dou oziqa muhiti (mineral elementlar) MS bo'yicha 0,1 mg/l IUK, 3 mg/l saxaroza), oddiy yel uchun 10 g/l saxaroza, 0,01 mg/l IUK, mg/l zeatin qo'shilgan MS, 0,1% li sulema eritmasi, sterillangan distillangan suv, sterillangan stakan (2 dona), asboblar, sterillangan Petri likobchasi, 96% li etil spirti eritmasi, spirt lampasi.*

Mavzuni tushuntirish. Ninabarglilar navlariga qiziqish asosan, ularning manzaralilik xususiyatlari va ularni qalamchalab ko'paytirish murakkabligidan ba'zi navlarning genofondini saqlab qolinishiga qaratilgan. Masalan: mojjevelnik uchun klonli mikroko'paytirishni qo'llash eng istiqbolli usul hisoblanadi chunki, bu navning urug'lari past unuvchanlik xususiyatiga ega bo'lib, murtaklarining degenerizatsiyalanishi kuzatiladi, qalamchalab ko'paytirishda esa qalamchalarning ildiz olish foizi 5-8% dan oshmaydi. Kulturaga kriptomeriyning kiritilishi va asosan manzaralilik xususiyati bilan qimmatli bo'lganligidan, uning keyinchalik bog'larda va istirohat bog'larida o'tqazish uchun ishlatiladigan kerakli miqdorda ekish materiallarini ko'paytirilishi uchun zarurdir. Ninalar kriptomeriysi juda quyuq bo'lib, qishki mavsumda ranggini o'zgartirish xususiyatiga ega bo'ladi va bu holat navni yanada ko'rkamlashtiradi. Qolgan navlarga kelganda esa, ba'zi qayrag'ochlar oilasiga mansub turlardan tashqari ekish materiallarini ko'paytirish, asosan shaharlarni ko'kamlashtirishda ishlatiladi.

Bugungi kunda, qator yog'ochli daraxtlarning ninabargli navlari uchun, izolyatsiyalangan to'qimalarni in vitro sharoitida kulturalash texnikasi ishlab chiqilgan. Rossiyaning o'rmonlarini tashkil qiluvchi ninabargli navlar, avvalo oddiy qayrag'och va oddiy yelning izolyatsiyalangan o'simtalar kulturasini olish usulini

seleksiya tizimiga kiritish istiqbollari, yog'och yetishtiruvchi xo'jaliklar oldiga maqsad qilib qo'yilgan. Bunda ekish materiallarini olish muddati taxminan 3,5-4 martaga qisqaradi. Kanada (Ontario) da esa har yili o'rmon ekinlari maydonlariga steril sharoitda izolyatsiyalangan o'simtalardan yetishtirilgan 60 mln. dan ortiq qora yel ko'chatlari o'tqaziladi.

Ishning borishi. Ish joyini tayyorlashni va asboblarni sterillashni 3 ishda keltirilgani bo'yicha bajariladi. Qayrag'och yoki yel urug'ini 0,1% li sulema eritmasi bilan 20 minut davomida sterillanadi, sterillangan distillangan suvda ikki marta 20 minutdan ushlab yuviladi, shundan so'ng urug'larni, ularning bo'rtib chiqishi va o'simtalarning izolyatsiyalash jarayonini osonlashtirish uchun kechasiga (15-20 soatga) suvda qoldiriladi.

O'simtalarni izolyatsiyalashni, metall asboblarni yordamida steril sharoitda o'tkaziladi. Buning uchun urug'ni pinset bilan siqiladi va skalpel bilan o'rtasidan kesiladi. Shundan keyin urug'ning o'rta qismidan murtakni izolyatsiyalab olinadi va har bir probirkaga gorizontol holda 2-3 donadan sterillangan oziqa muhitiga joylashtiriladi.

Izolyatsiyalangan zarodishli probirkalarni, muntazam ravishda 25-260 li harorat, 16-soatlik fotodavrga ega, oq lyuminissent lampalar bilan 3-5 ming lk. yoritilgan, 70% li havo namlikka ega yorug'lik xonasiga yoki klimatik kameraga qo'yiladi.

To'qima va organlarni yangi oziqa muhitiga qayta ekishni bir oyda bir marta amalga oshiriladi.

Qoida bo'yicha, adventiv kurtaklarning hosil bo'lishi murtakning apikal qismida va qisman barglarning urug'pallasida yuz beradi. Adventiv kurtaklarning hosil bo'lish jarayoni, adventiv kurtaklar rivojlanishining boshlanishiga olib keladi va natijada pufaksimon shaklga kiruvchi barglar urug'barglarining sezilarli bo'rtishi sabab bo'ladi. 3 haftadan keyin shu urug'barglarda, adventiv kurtaklarning rivojlanishini boshlovchi meristematik o'choqlar hosil bo'ladi. Bunday sharoitda bir murtakda, ma'lum sharoitlarda kulturalanganda mikropoyachalarda 10-15 dona de novo kurtak yetilishi sodir bo'ladi.

Mikropoyachalar olish uchun hosil bo'lgan kurtaklarni murtak to'qimasidan ajratiladi va yangi oziqa muhitiga o'tkaziladi. Buning

uchun murtakni probirkadan chiqariladi, sterillangan Petri likobchalarga joylashtiriladi va onalik eksplantadan adventiv kurtaklarni kesib olinadi. Kurtaklarni tarkibida 10 g/l konsentratsiyali faollashtirilgan ko'mir mavjud bo'lgan, tegishli oziqa muhitiga joylashtiriladi. Novdalarda kulturalashning 5-6 haftasi davrida, keyinchalik ko'paytirish yoki ildiz oldirish maqsadida foydalanish mumkin bo'lgan, bo'yi 10-15 mm balandlikdagi kurtaklar rivojlanadi.

Ildiz oldirish uchun 2-3 mg/l konsentratsiyali IMK qo'shilgan oziqa muhiti qo'llaniladi. Rizogenez jarayoni 1-1,5 oy davomida yuz beradi. Shakllangan o'simliklarni tuproqli substratga o'tkaziladi.

Nazorat savollari:

1. Oddiy qarag'ay (*Pinus silvestris*) klonli mikroko'paytirish jarayonini tushuntirib bering?
2. Oddiy qoraqarag'ayni (*Picea abies*) klonli mikroko'paytirish haqida ma'lumot bering?
3. Klonli mikroko'paytirish haqida ma'lumot bering?

21-Laboratoriya ishi

21-Mavzu. Izolyatsiyalangan protoplastlar kulturasi

Asbob-uskunalar va materiallar. *Kartoshka (tamaki) bargi mezofilli; Erlenmeyyer kolbalari; shisha filtrlar; Komovskiy nasosi; Sheyker; №70 kapron (g'ovaklar kattaligi 93 mkm) setkasi; 100-1000 ob/min. sentrifuga; Fuks-Rozental kamerasi; Petri likobchalar; paster pipetkalari; shisha voronkali kolbachalar; 10 ml li sentrifuga probirkalari, asboblari, modifikatsiyalangan MS (0,35 M mannit, 3 mg/l NUK, 2 mg/l 2,4-D, 20 g/l saxaroza qo'shilgan) oziqa muhiti; 96 %-li etil spirti eritmasi; spirt lampasi.*

Mavzuni tushuntirish. Izolyatsiyalangan protoplastlarning qo'shish yo'li bilan jinssiz gibridlar yaratilishi, somatik gibridlash deyiladi. Bu usul, o'simliklarning oddiy jinsiy yo'l bilan chatishtirish mumkin bo'lmagan, assimetrik gibridlar olinadigan uch yoki undan ko'p otalik hujayrasining qo'shilib ketishini chaqiruvchi, ko'pgina xromosomalar yoki genlar qatorida yoki faqatgina boshqasining organellasi va sitoplazmasi bilan birgalikda, otasi yoki onasining barcha genlari to'plamini tashuvchi, filogenetika bo'yicha uzoq turlarini chatishtirish imkonini beradi. Somatik hujayralarning gibridlanishi, bir yadroda bir biridan uzoq o'simlik turlarining genlarini qo'shish imkoninigina bermasdan, gibrid hujayrada sherigining sitoplazmatik hujayralarining kombinatsiyasini ham yaratadi.

Izolyatsiyalangan protoplastlarni qo'shilishi, ajratib olish va kulturalash. Somatik gibridlash usulining qo'llanilishi uchun, o'simlikni regeneratsiya qilish va bo'linish qobiliyatiga ega bo'lgan, protoplastlar olish bo'yicha tegishli texnologiyani ishlab chiqish zarur. O'simlik hujayralari protoplastlarini plazmolizlash va ularning hujayra devorini mexanik buzish va ajratish amaliyoti, XIX asrning boshlaridayoq amalga oshirilgan. Biroq faqatgina, I.K.Kokking (1960) birinchi bo'lib hujayra devorining fermentativ buzilishini va yalang'och protoplastlar ajratishni amalga oshirgachgina, izolyatsiyalangan protoplastlar usuli rivojlana boshladi.

Bugungi kunda protoplastlarni ajratib olish usulini ishlab chiqish va sun'iy oziqa muhitlarida kulturalashni mukammallashtirish ishlari davom ettirilmoqda.

Izolyatsiyalangan hujayra va to'qimalarni kulturalashda qo'llaniladigan oziqa muhitlaridan, protoplastlarni kulturalashda ham foydalaniladi. Kulturalashning boshlang'ich yetaplarida, mannit yoki CaCl_2 ning yuqori konsentratsiyasi bilan ta'minlanuvchi osmotik bosimning oshishi, protoplastlar uchun farq qiluvchi chiziqdır.

Kulturalash jarayonida izolyatsiyalangan protoplastlar, yangi hujayra devorini regeneratlaydi va bo'linishga qobiliyatli, kallus to'qimasi hosil bo'la boshlashini ta'minlovchi, hujayraga aylanadi. Protoplastlar tomonidan koloniyalar shakllanishiga oziqa muhiti tarkibi ta'sir ko'rsatadi.

Keyingi vazifa - kallus to'qimalardan regenerant - o'simlik olishdir. Hozircha, ko'pgina boshqoli ekinlar (bug'doy, arpa) protoplastidan regenerantlar olishga erishilmadi. Ammo, ituzumdoshlar (tamaki, kartoshka, pomidor) va boshqa ekinlar protoplastidan regeneratsiyalash muvoffaqiyatli amalga oshmoqda.

Protoplastlarni kalluslar hujayra suspenziyasidan yoki poya, barg meristemi hujayrasidan ajratiladi. Barglardan protoplastlarni ajratishda avval epidermis qavati olib tashlanadi, bargni segmentlarga bo'lib qiriyiladi va so'ngra selluloza va pektinaza bilan enzimli ishlov beriladi.

Izolyatsiyalangan protoplastlarning qo'shib ketishi juda kamdan kam holda, to'satdan yuz beradi. Indutsiyalangan izolyatsiyalangan protoplastlar qo'shilishi birinchi bo'lib 1970 yildi Kokking laboratoriyasida uning xodimlaridan Pauero va boshqalar tomonidan olingan. Induktor sifatida ular natriy nitratdan foydalanishgan. Ammo bu usul kam samarali bo'lgan va bugungi kunda boshqa fyuzogenlar (qo'shilish induktorlari) topilgan. Bulardan eng samaralisi, yuqori Ph (9-11) ga ega va yuqori konsentratsiyadagi kalsiy ionlari (100-300 mM) mavjud eritmalaridir. Protoplastlarni oldindan, 1500-6000 molekulyar massali konsentratsiyalangan polietilenglikol (PEG) eritmasi yordamida agglyutinlashtiriladi. U Simmerman o'z xodimlari bilan,

hayvonlar hujayrasi protoplastlarining, induktor sifatida elektr toki impulsari ishlatilgan lipos yordamida qo'shilishining, fizikaviy usulini ishlab chiqishdi.

Protoplastlarning qo'shilishi gibridlar yoki sibirid hosil bo'lishiga olib keladi. Sibiridli hujayra ikkala sherikning ham sitoplazmalaridan, yadrosi esa ulardan bittasinikidan tarkib topgan bo'ladi. Bu shu holatda yuz berishi mumkin ya'ni, protoplastlarning qo'shilishidan keyin yadrolar qo'shilishi yuz bermaydi va bitta yadro degeneratsiyalanadi. Quyidagicha ya'ni, protoplastlardan bittasi yadroga ega bo'lmasa yoki u nurlantirish yo'li bilan inaktivatsiyalanganda holatda ham sibirid hosil bo'lishi mumkin.

Sibiridlashtirish SMS (sitoplazmatik steril erkaklik) belgilarini tashuvchi, sitoplazmatik genlarni kiritish, ba'zi gerbitsidlar va patogenlarga chidamlilikni yaratish imkonini beradi.

Somatik gibridlashda eksperiment, mikroorganizmlar genetikasi bo'yicha tajribalar kabi olib boriladi. Boshqacha aytganda, har ikkala avlod hujayralarining katta populyatsiyasidan foydalaniladi. Protoplastlarning aralash suspenziyasini fyuzegenlar bilan ishlov berilganda ularning bir qismi bir biri bilan qo'shilishadi, ammo qo'shilmagan protoplastlar suspenziyada qoladi. Ularning barchasi, gibridlarni ham kiritganda, keyinchalik hujayra devorini regeneretlaydi va bo'linishga o'tadi. Umumiy massadan - gibrid namuna ajratib olish vazifasi yuzaga keladi. Gibridlash seleksiyasini hujayra darajasida yoki regeneratsiya stadiyasida qo'llash mumkin va bu bir necha usullar bilan amalga oshiriladi.

Yuksak o'simliklarning turlar orasidagi birinchi jinssiz gibridlar, 1972 yilda tamakining ikkita *Nicotiana glauca* va *N.langsdorfii* turining izolyatsiyalangan protoplastlari qo'shilishidan olingan.

Bugungi kunda paraseksual gibridlash usuli bilan, turlar o'rtasidagi, oilalar o'rtasidagi va triblar o'rtasidagi ko'p sonli gibridlar olingan. Biroq, ko'p hollarda bu yo'l bilan olingan gibrid o'simliklar u yoki bu darajada g'ayritabiidir. Monstr-o'simlik hisoblanuvchi arabidopsis va turneps o'rtasidagi somatik gibridlar, bunga misol bo'lishi mumkin. Yuzaga keladigan anomaliyalar xromosomalarining mos kelmasligining natijasidir (Gleba, 1982).

O'simliklar va hayvonlar hujayralari protoplastlari qo'shilishidan olingan duragay gibridlar, alohida qiziqish uyg'otadi.

Gibridlarni identifikatsiyalashda plastidalardan foydalaniladi. Masalan, tamaki va sabzining protoplastlari qo'shilishida -selektiv marker sifatida tamakining ko'k protoplastlaridan va sabzining sariq-qizil xromoplastlaridan foydalanilgan.

Ishning borishi. Tajriba uchun probirkada modifikatsiyalangan MS oziqa bajariladi.

Steril sharoitda kartoshka (oziqa muhitiga qalamcha ekilgan muddatdan keyingi 15-20 sutkalik o'simlik) barglarini ingichka (1 mm gacha) qilib kesiladi va 100 ml ferment eritmasi solingan Erlenmeyyer kolbaga (0,25 g barg to'qimasini 10 ml eritmaga) joylanadi. Ferment sifatida inkubatsiya eritmasi 6,1 Ph muhitdagi 2% konsentratsiyali ksilantaza fermenti, eng yaxshi samarali ta'sir ko'rsatadi. Ferment eritmasini 3-4 minut mobaynida Komovskiy vakuum-nasosi yordamida shisha filtrlardan o'tkazib filtrlanadi. To'qimani eritma yuzasida 25°C haroratda 5 soatga sheykerda (80 ob/min) qoldiriladi. Bu muddatda bargning mezofill protoplastlari hujayra devoridan deyarli butunlay ajraladi va inkubatsion oziqada suspenziyalanadi.

Epidermis va barg iplari qoldiqlarini yo'qotish uchun protoplast suspenziyasini filtrlab olinadi va so'ngra uni, 0,05% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ qo'shilgan oldingi ko'rsatilgan konsentratsiyali mannit eritmasida 2- marta sentrifugalab fermentlardan tozalanadi. Protoplastlar suspenziyasida hujayra devori qolmaganligini quyidagi holat ko'rsatadi, ya'ni 2000 molekulyar og'irlikda va 25% li konsentratsiyadagi polietilenglikol mavjudligida protoplastlar osongina qo'shiladi.

Izolyatsiyalangan protoplastlar eritmaning osmotik bosimiga va osmotik bosim turiga juda ta'sirchan bo'ladi. Protoplastlarni ekish uchun 1 ml ga 130000 protoplastlar zichligigacha (zichlikni Fuks-Rozental kamerasida aniqlanadi) suspenziyalanadi.

Protoplastlarni modifikatsiyalangan suyuq MS oziqa muhitida kulturalanadi. Petri likobchalarga steril holatda 1,5 ml dan suspenziya quyiladi va yorug'lik xonaga qo'yiladi. Kulturalash sharoiti 25°C haroratda, 16 soatlik yorug'lik davrini talab etadi.

Nazorat savollari:

1. Izolyatsiyalangan protoplastlar kulturasini tushunchasini bering?
2. Protoplastlar nima?
3. Izolyasiya qilish tushunchasini ta'rif bering?

22-Laboratoriya ishi

22-Mavzu. O'simlik protoplastlarini qo'shilishi. Mexanik izolyasiyalash va yagona geterokoritsiotsitlarni o'stirish

Asbob-uskunalar va materiallar. *Maxsus mikroskop; 1000 ob\minutli sentrifuga; 1 mkl li yarim avtomat pipetka; o'simlik material (probirkada yetishtirilgan o'simlik, kallus to'qima); protoplastlarni ajratib olish uchun fermentli aralashma; sterillangan Petri likobchalar; mikropipetkalar uchun nakonechniklar; protoplastlarni ajratish va standart usul bo'yicha kulturalash uchun laboratoriya idishlari va asboblari; 96%-li etil spirti eritmasi, spirt lampasi.*

Mavzuni tushuntirish. So'nggi paytgacha yangi, yanada rivojlangan o'simlik shakllari faqat jinsiy chatishtirish orqali va keyinchalik kerakli genotiplarni tanlash orqali yaratilgan, bu genlarni birlashtirish imkoniyatiga ham, seleksiya jarayonining tezligiga ham bir qator cheklovlar qo'ydi. Protoplastlar qo'shilishi va qo'shilishdan hosil bo'lgan mahsulotlarning yaxlit o'simlikkacha regeneratsiyalash yo'li bilan, somatik gibridlash texnologiyasini ishlab chiqilishi, jinsiy jarayonga xos cheklovlarning bir qismini chetlab o'tishga imkon beradi va genetiklar, fiziologlar, bioximiklar va seleksionerlar oldida perspektivalarni ochadi.

Somatik gibridlash usuli tufayli, filogenetik jihatdan bir biridan uzoq bo'lgan o'simlik turlarini tabiiy chatishishmasligini muvoffaqiyatli yengib o'tiladi va bundan tashqari, naslning o'zaruvchanligi bo'yicha qo'shimcha zaxiralar yaratiladi. Yuksak o'simliklarning somatik gibridlanishi bo'yicha tadqiqotning 3 ta asosiy yo'nalishga ajratish mumkin: plazmagenlar rekonstruksiyasi va uni o'rganish; filogenetik jihatdan bir biridan uzoq bo'lgan o'simlik hujayralarini gibridlash; seleksionerlar uchun amaliy qiziqish taqdim etuvchi gibrid materiallar olish.

Individual qo'shilish mahsulotlarini mexanik izolyatsiyalash va keyinchalik ularni kulturalash bilan – va ba'zi bir rekombinant shakllarning aniq tanlanishi va protoplastlar hujayralari qo'shilishidan paydo bo'lgan va bundan tashqari protoplastlarning

umumiy spektri bilan bog'liq bo'lmagan mexanik usulni ko'rib chiqamiz. Bu tadqiqotlarni olib borishda, shubhasiz ota-ona juftliklar aralashmasida turuvchi gibrid hujayralarni identifikatsiyalashni aniq o'rganish zarur. Odatda, vizual markerga ega bo'lgan ya'ni, bittasi kallus to'qimasi bilan, boshqasi esa - mezofil protoplastlar bilan taqdim etilgan juftliklar olinadi.

Ishning borishi. Ish joyini tayyorlashni va asboblarni sterilizatsiya qilishni 3 ishda keltirilgani bo'yicha bajariladi. Yangi induksiyalangan (1-2 passajdagi) va hamda oldindan, 25°C haroratli qorong'ilikda agarli yoki suyuq oziqa muhitida 2-3 passajni o'tagan uzoq muddat o'stirilgan kallus to'qimalari, kallus protoplastlarini olish manbasi bo'lib xizmat qilishi mumkin. Mezofil protoplastlar olish uchun material sifatida, dalada yoki issiqxonada yetishtirilgan o'simlik barglaridan foydalaniladi. Aseptik sharoitda yorug'lik xonasida yetishtirilayotgan o'simlik barglari, ishlash uchun ancha ko'proq qulaydir.

Kallus to'qimalaridan ko'plab miqdorda protoplastlar olish uchun, W-5 oziqasi asosida tayyorlangan fermentlar aralashmasidan, mezofil protoplastlar olish uchun esa - 0,45 M li mannitol eritmasidan yoki 0,5 M saxarozadan foydalaniladi. Fermentatsiyani 20 - 25°C haroratda 10-16 soat mobaynida qorong'ilikda olib boriladi.

Izolyatsiyalangan protoplastlarni g'ovaklari 60- 100 mkm diametr bo'lgan kapron to'rli voronka orqali filtrlanadi, filtratni 3-4 minut davomida 500-700 ob/minut tezlikda sentrifugalanadi. Cho'kma ustidagi suyuqlikni to'kib tashlanadi, protoplastlarni esa 10 ml W-5 oziqada yoki 0,45 M li mannitol eritmasida resuspenziyalanadi, muolajani 1-2 marta qaytariladi.

Protoplastlarning qo'shilishi. Odatda protoplastlarning induksiyalangan qo'shilishini, "PEG- yuqori Ph muhiti - Sa ionlari yuqori miqdorda mavjud bo'lgan" bilan olib boriladi.

Fermentlardan yuvib tozalangan kallusli va mezofil protoplastlarni, suspenziyaning oxirgi hajmi 1-2 ml bo'lgungacha 1:1 yoki 2:1 nisbatda aralashtiriladi. Protoplastlar suspenziyasini pipetka bilan 4 sm diametrda Petri likobchalarga solinadi va 10-20 minut cho'kishi uchun qoldiriladi. Solinayotgan tomchilar diametri taxminan 1 sm. 10-20 minutdan keyin, Petri likobchasi tubiga

cho'kkan protoplastlar aralashmasining ustidan yoki yon tomonidan ehtiyotlik bilan 1-3 tomchi PEG eritmasi qo'shiladi va 5-25 minut ushlab turiladi. Petri likobchasi tubi bilan qotishgan ota-ona avlod protoplastlarining yopishishi va agregatsiya yuz beradi. Ular o'zlarining sferik shakllarini o'zgartiradi va protoplastlarning 2-3 qavatli cho'kmasi bir vaqtning o'zida bir qavatli "setochkaga" aylanib biroz plazmollashadi.

20-25 minutdan keyin preparatga 5-6 tomchi bufer eritma quyiladi. 10 minut intervalda bu muolajani 2 marta qaytariladi. Aniq o'simlik materialga qarab, buferli aralashmani suyultirishni bir marta ya'ni, har bir idishga 0,5-1,0 ml bufer aralashmasi qo'shib borib o'tkazish mumkin.

Preparatni bufer aralashma PEG eritmasi bilan ishlov berilgandan 30 minut keyin - buferni ehtiyotlik bilan protoplast qavatlarini yalang'ochlamasdan pipetkada tortib olinadi va 5-10 minut intervalda uch qayta MO-1 (8-10 ml umumiy hajmda) oziqa muhiti bilan yuviladi. Keyinchalik gibridlar va ota-onalik protoplastlarini MO-1 oziqa muhitining yupqa qavatida (3-jadval) 25°C haroratli tarqoq yorug'lik 3-10 sutka kulturalanadi.

3-jadval

MO-1 oziqa muhitining tarkibi

Oziqa muhiti komponentlari	Konsentratsiyasi, mg\l
Mineral tuzlar va vitaminlar	MC
Saxaroza	10000
Mannitol	62000
Glyukoza	10000
Mezoinozit	100
Biotin	0,5
Prolin	2,0
Kazein gidrolizati	300
Drojji ekstrakti	300
Tuxum albumini	200
NUK	2,0
IUK	1,0
BAP	1,5
2,4-D	1,0
Zeatin	0,1

Mexanik izolyatsiyalash va yagona qo'shilish mahsulotlarini kulturalash.

Gibridli va juftlik protoplastlari aralashmasi qo'shilishidan keyin, birinchi gibrid hujayralari bo'linishi boshlangunga qadar, organik komponentlar bilan boyitilgan oziqa muhitlarida kulturalanadi. Optimal oziqa muhitlarini tanlash deyarli har doim empirik ravishda hal qilinsada, odatda ular ota-onalardan birining kallus protoplastlarini bo'linishini induksiyalovchi oziqa muhitlarida faol bo'linishadi. Qo'shilish materiallarining yagona mahsulotini mexanik "tutish" bo'yicha ishni boshlashdan 2-12 soat oldin protoplastlar kulturasini yangi oziqa muhiti bilan suyultiriladi (5-10 martada) va Petri likobchalarga 6 sm diametrli o'lchamda o'tkaziladi. Bo'linuvchi gibrid hujayralarni yarim avtomat mikropipetkalarda ajratib olinadi. Invertlangan mikroskop yordamida, 2-3 bo'linishga uchragan qo'shilish mahsulotlarini identifikatsiya qilinadi. Ular kallusli hujayralarning morfologiyasiga ega bo'ladi, biroq yadro atrofida va qisman sitoplazmada ikkinchi roditelning mezofil yashil xloroplastlarini saqlaydi. Hujayralarni "tutish" uchun mikroskopni, 100-200 karra kattalikka sozlanadi. Mikropipetka nakonechnigini gibrid hujayraga olib boriladi va sekinlik bilan 1 mkl oziqani tortib olinadi. Olingan hujayrani ehtiyotlik bilan Petri likobchasining ichki kamerasidagi raqamli yacheykaga botirib qo'yiladi va bunda mikropipetkani vertikal holda tutib, nakonechniklarni yacheyka tubiga tekkizmasdan ishlatiladi. Petri likobchasida bo'linuvchi geterokariotsitlarni 6-8 sutka mobaynida kulturalanadi, shundan so'ng har bir yacheykaga 1 mkl yangi oziqa muhiti qo'shiladi. 14-20 sutkadan so'ng gibrid koloniyalarni yangi oziqa muhiti (100-200 mkl) tomchilariga joylashtiriladi va sekin-asta (5-6 sutkadan keyin) pasaytirilgan osmotik konsentratsiyali oziqaga qayta (0,45 M-0,3 M-0,2 M sxemasi bo'yicha) ekiladi. 7 sutkalik o'stirilgandan so'ngra 0,2 M osmotikli suyuq oziqa muhitida gibrid hujayralar koloniyasini 2 qismga ajratiladi. Bir qismini organogenezni induksiyalash uchun sitokinin qo'shilgan agarli oziqa muhitiga o'tkaziladi va ikkinchi qismini xromosomalar sonini va morfologiyasini o'rganish hamda hujayra yadrosiga qarab

gibridligini tasdiqlash maqsadida, sitogenetik tahlillarda foydalaniladi.

Qator hollarda, qat'iy foydalanilayotgan o'simlik materialiga qarab, 10 va undan ko'proq hujayra stadiyasidayoq, gibrid koloniyalarini aniq identifikatsiyalashga erishiladi. Unda, "tutilgan" klonlarni yarim suyuq oziqa tomchisiga o'tkizib turib, 30-50 mkl hajmda kulturalash uchun mexanik izolyatsiyalash operatsiyasini soddalashtirish mumkin. Bunday oziqalarni, suyuq oziqa muhitiga 0,2% agar qo'shish yo'li bilan tayyorlanadi. Mini tomchilarni (10-15 dona) mikropipetkalar bilan, uning yon tomon bo'shliqlarini (perimetriga qarab) zarur namlikni ushlab turish uchun, oldindan yarim suyuq oziqa bilan to'ldirilgan Petri likobchasiga 4 sm diametrli qilib qo'yib chiqiladi. 15-20 sutkadan keyin, osmotik konsentratsiyasi pasaytirilgan oziqaga, mikrokoloniyalarni yuqorida keltirilgan sxema bo'yicha qayta ekiladi.

Nazorat savollari:

1. O'simlik protoplastlarini qo'shilishi ma'nosini tushuntirib bering?
2. Mexanik izolyatsiyalash va yagona geterokoritsiotsitlarni o'stirishni ta'riflang?
3. Steril o'simtalarni o'stirish qanday amalga oshiriladi?

23-Laboratoriya ishi

23-Mavzu. Auksin analoglarini loviya qalamchalari poyalarida ildiz hosil bo'lishiga ta'siri

Asbob-uskunalar va materiallar. *Loviyaning o'n kunlik niholari, fitoregulyatorlarni eritmasi, auksinni 10 ml/l konsentratsiyadagi etalon eritmasi, skalpellar, pinsetlar, Petri likobchalari, filtr qog'oz, eritmalarini tayyorlash uchun o'lchovli shisha idish va termostat.*

Mavzuni tushuntirish. Auksin fitogormonining funksiyalaridan biri ildiz hosil bo'lishini jadallashtirishdir, lekin tabiiy auksin-indol-3 sirka kislotasi yorug'lik ta'sirida tez parchalanadi. Shu sababli ildizlarni hosil qilish uchun auksinni turg'un analoglari ishlatiladi. Loviyaning yosh barglari auksinli ta'sirga ega preparatlarga juda ta'sirchan bo'lib, ildizchalarni hosil qiladi.

Ishning borishi. Kerakli konsentratsiyaga ega fitoregulyatorlarning eritmaları tayyorlanadi. Petri likobchasi ostiga 2 qavat qilib filter qog'ozi to'shaladi. Har bir likobchaga 10 ml dan eritma solinadi. Loviya barglari bo'laklarga bo'linib, Petri likobchalariga terib chiqiladi (har bir likobchalarga 10 tadan bo'lak). So'ngra 25°C haroratli, yorug'dan himoyalangan termostatga qo'yiladi. 7 kundan so'ng ular kuzatiladi. Har barg qalamchalarida hosil bo'lgan ildizchalar soni hisoblanadi, va har bir variant uchun o'rtacha miqdor hisoblab topiladi. Fitogormonlar konsentratsiyasiga qarab ildizlarni hosil bo'lishiga tegishli grafik tizimi, tajriba variantlarini bir-biri bilan solishtirgan holda eng samarasini tanlab olish kerak.

Nazorat savollari

1. Auksin analoglarini loviya qalamchalari poyalarida ildiz hosil bo'lishiga ta'sirini izohlang?
2. Auksin qanday fitogarmon?
3. Auksinni o'simlikka ta'sirini ta'riflang?

24-Laboratoriya ishi

24-Mavzu. Fitoregulyatorlarni bug'doy o'simtlarini osmotik va harorat stresslarini yengib o'tishiga ta'siri

Asbob-uskunalar va materiallar. *Bug'doyning o'n kunlik niholari, fitoregulyatorlarni eritmasi, auksinni 10 ml/l konsentratsiyadagi etalon eritmasi, skalpellar, pinsetlar, Petri likobchalari, filtr qog'oz, eritmalarini tayyorlash uchun o'lchovli shisha idish va termostat.*

Mavzuni tushuntirish. Ekzogen fitohormonlarning kuzgi va bahorgi bug'doy mahsuldorligiga ta'siri Annotatsiya. Bug'doy o'simliklarida turli xil o'sish regulyatorlari: indolilatsirka kislota, kinetin, absizing kislota bilan davolashning fitohormonlarning endogen darajasining tarkibi va nisbatiga ta'siri o'rganildi. Amaldagi fiziologik faol moddalar ta'sirida gormonal holatning o'zgarishi fonida kuzgi va bahorgi bug'doy donining sifati yaxshilandi. Fitohormonlar, kuzgi va bahorgi bug'doy, hosildorlik, don sifati. Ma'lumki, ekin navlarining mahsuldorligi, bir tomondan, o'simlik genomiga, ikkinchi tomondan, o'sish sharoitlariga bog'liq. Turlar nafaqat stressga chidamliligi va oziqlanish darajasiga javob berishi, balki fitohormonlar tarkibi va ekzogen regulyatorlarga sezgirligi bilan ham farqlanadi. Ekzogen o'sish regulyatorlari fiziologik jarayonlarga to'g'ridan-to'g'ri emas, balki bilvosita gormonal tizim orqali ta'sir qiladi, individual gormonlar kontsentratsiyasini va ularning nisbatini o'zgartiradi. Gormon bu kimyoviy signal bo'lib, uning holati va signal intensivligiga qarab tirik tizim har xil javob berishi mumkin. Oksinlar o'simliklarda kashf etilgan birinchi fitohormonlardan biridir. Ular turli o'sish va rivojlanish jarayonlarida muhim tartibga soluvchi rolga ega. Oksinlar turli xil metabolik tizimlarga ta'sir qiladi: nuklein kislotalarning sintezi, oqsil, uglevod va lipid almashinuvi, ikkilamchi moddalar sintezi, fotosintez, nafas olish. Bug'doy boshog'idagi indolilatsetik kislota (IAA) miqdori va undagi quruq moddalarning to'planishi o'rtasida ijobiy bog'liqlik ko'rsatilgan. Arpani IAA eritmasi bilan puskurtmek (10 mg/l) yuklash

bosqichida o'simliklarning yangi vaznini oshirdi, ayniqsa gormon bilan davolashdan 20-30 kun o'tgach. Adabiyotlarda o'simliklarda auksin hosil bo'lishi sitokininlar tomonidan qo'zg'atilganligi haqida dalillar mavjud. Sitokininlar ko'p funktsiyali gormonlar bo'lib, o'simliklarda sodir bo'ladigan turli xil fiziologik jarayonlarga ta'sir qiladi. Sitokinin faolligi bo'lgan o'sish regulyatorlariga: kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP), zeatin va boshqalar kiradi. O'simlik hayoti davomida o'sish, rivojlanish va boshqa funktsiyalarga ta'siri sitokininlar kontsentratsiyasining o'zgarishi orqali amalga oshiriladi, deb taxmin qilinadi. Aniqlanishicha, yirik donli navlar mayda donalarga nisbatan yuqori sitokinin faolligi bilan ajralib turadi.

Ishning borishi. Bug'doy donini sintetik sitokinin - 6-benzilaminopurin (6-BAP) (10-4%) bilan davolash yashil massa va boshqalar hosilini oshirdi. Ozuqa aralashmasiga 6-BAP (5-50 mg/l) qo'shilganda bug'doy ko'chatlarida ham kurtaklar vazni ortgan. Bu kurtaklardagi endogen IAAning sezilarli o'sishi fonida sodir bo'ldi. Kuzgi bug'doyning ikki navi bilan o'tkazilgan dala tajribalarida yuklash bosqichida 6-BAP (20 mg/l) eritmasi bilan purkash ta'sirida yangi vazn va o'simlik unumdorligi sezilarli darajada oshganini ko'rsatdi. 6-BAP bilan ishlov berilgan arpa o'simliklari boshqalarning don miqdori va don mahsuldorligi oshishi bilan ajralib turardi. Muhimi, 6-BAP bilan davolash tabiiy sitokinin zeatin miqdorini oshirdi.

Sitokininlar va auksinlardan farqli o'laroq, absis kislotasi (ABA) bilan davolash ko'plab donli ko'chatlarning yangi vaznini taxminan 23-27% ga kamaytiradi. Quruq vazn yo kamayadi yoki nazorat varianti darajasida qoladi. Bu ko'chatlarda endogen ABA ko'payishi fonida sodir bo'ladi. Arpa bilan o'tkazilgan tajribalarda, bayroq bargini ABA ga bir marta ta'sir qilish donlarning quruq og'irligi oshishini ko'rsatdi. ABA ning o'simlik poyalari va kurtaklari o'sishiga inhibitiv funktsiyasi haqida ko'plab ma'lumotlar keltirilgan. ABA bilan ekzogen davolash nafaqat o'sish ko'rsatkichlariga, balki o'simliklarning rivojlanishiga ham ta'sir qiladi. Shunday qilib, Kurapov va boshqalarning (1996) ishlarida ABA gullaydigan daikon o'simliklari sonini sezilarli darajada kamaytirdi. Ma'lumki, o'simliklarning turli tabiatdagi stress

omillariga javoban birinchi nonspesifik reaksiyalaridan biri ABA ning to'planishi bo'lib, u o'ndan ortiq stress oqsillari, shu jumladan issiqlik zarbasi oqsillari (HSP) sintezini qo'zg'atishda asosiy rol o'ynaydi. Zeatindan farqli o'laroq, bahorgi bug'doy boshloqlarida ABA miqdori sutdan mumsimon pishishgacha bo'lgan davrda ortadi, bu o'simliklarning uyqu holatiga o'tishida ushbu gormonning roli haqidagi ma'lumotlarga mos keladi. Gormonlarning o'zaro ta'siri haqida ma'lumotlar ma'lum. Shunday qilib, IAA sitokinin biosintezi uchun fermentlarni kodlovchi genlarning ekspressiyasini kuchaytirishi ko'rsatilgan.

Abciscic kislota o'sishni inhibe qilish bilan tavsiflanadi, uni qisman boshqa gormonlar, xususan, auksinlar va sitokininlar bilan bartaraf etish mumkin. Pishgan donda ABA miqdori kraxmal to'planishi bilan bir vaqtda ortadi va ABA darajasi yuqori bo'lgan arpa urug'lari ertaroq pishadi, lekin hajmi kichikroq bo'ladi. Yuqoridagilar bilan bog'liq holda, taqdim etilgan ishning maqsadi sintetik o'sish regulyatorlari - fitohormonlar analoglarining kuzgi va bahorgi bug'doy navlarida endogen fitohormonlar tarkibiga ta'sirini o'rganishdir. Tadqiqot ob'ektlari kuzgi va bahorgi bug'doy navlari edi: - kuzgi yumshoq bug'doyning standart navi Mironovskaya 808 - Mironovskiy nomidagi bug'doy seleksiyasi va urug'chiligi ilmiy-tadqiqot institutida guruh bo'yicha yetishtirilgan va bug'doyni yo'naltirilgan o'zgartirish natijasida olingan manba materialidan ommaviy tanlash. bahorgi yumshoq bug'doyning xilma-xilligi

Artemovka qishga. Kuchli, qishga chidamli plastik nav. Qurg'oqchilikka, yashashga va to'kishga qarshilik o'rtacha. - kuzgi yumshoq bug'doy Truzhenitsa navi Butunrossiya dukkakli va donli ekinlar ilmiy-tadqiqot institutida K.A. Timiryazev nomidagi Moskva qishloq xo'jaligi akademiyasi bilan birgalikda yuqori mahsuldor, qisqaroq shakllarni individual tanlash usuli bilan, zich boshloqli, gibrilid populyatsiyadan L 140/2 (Mironovskaya 808 x Pliska). Qishga chidamli, yuqori mahsuldor. Tik turgan donning joylashishiga, to'kilishiga va unib chiqishiga, namlanishga va ho'llashga chidamli. - bahorgi yumshoq bug'doyning Krestyanka navi - V.V.Dokuchaev nomidagi Qishloq xo'jaligi ilmiy-tadqiqot instituti Markaziy avariya zavodi Saratovskaya 46 x Meritni kesib

o'tib, keyinchalik individual tanlab olingan. Turar joy uchun chidamli. Asosiy zararli qo'zg'atuvchilarga sezgir (barg zanglari, poya zanglari; bo'shashgan smut). Ba'zi yillarda u ildiz chirishiga toqat qiladi. Eksperimental variantlarga quyidagilar kiradi: bug'doy donini nazorat qilish va qayta ishlash. Shu maqsadda donalar 6 soat davomida IAA, kinetin, ABA eritmalarida quyidagi konsentratsiyalarda namlangan: $5,7 \cdot 10^{-6} \text{M}$; $4,7 \cdot 10^{-5} \text{M}$; $7,5 \cdot 10^{-6} \text{M}$, mos ravishda, nazorat - suvda.

O'simlik moddasi qaynayotgan etanol bug'ida mahkamlangan. Namunalar termostatda $55-60^{\circ}\text{C}$ da quritildi. V.I. laboratoriyasida ishlab chiqilgan kompleks usul yordamida bir namunadan o'rganilayotgan fitohormonlar guruhlarini ajratib olish amalga oshirildi. Kefeli. Fitohormonlarning tarkibi ferment bilan bog'liq immunosorbent tahlili bilan aniqlandi. Tahlillar natijasida bug'doyning Mironovskaya 808, Trujenitsa, Krestyanka navlari tarkibidagi endogen fitohormonlar (IAA, zeatin, ABA) jihatidan sezilarli darajada farqlanishi aniqlandi. Shunday qilib, kuzgi bug'doyning Mironovskaya 808 navida indolilatsirka kislotasi darajasi bug'doy Truzhenitsa va bahorgi bug'doy Krestyanka navidagidan (mos ravishda 15,8; 35,5 marta) oshib ketdi.

Krestyanka navidagi endogen sitokininlar (zeatin) va ABA miqdori Trujenitsa navidagi gormonlar darajasidan 6-7 marta yuqori bo'lgan. Kuzgi va bahorgi bug'doy navlarini IAA bilan davolash endogen gormonlar tarkibida turli xil fiziologik reaksiyalarni keltirib chiqardi (1-jadval). 1-jadval. IAA bilan ishlov berish ($5,7 \cdot 10^{-6} \text{M}$) ta'sirida 4 kunlik ko'chatlarda fitohormonlarning tarkibi (mkg / g quruq vaznda) nav nazorati (suv) IAA Zeatin ABK IAA Zeatin ABK Mironovskaya 808. (standart) 7,10 4,48 0,16 5,90 11,25 1,13 Mehnatkash 0,45 1,42 0,14 3,99 2,00 0,04 Dehqon 0,20 8,93 1,13 w 14,16 8,93 1,13 14,16 ning qishki balansi sezilarli darajada o'zgargan 2,502 ly bilan solishtirganda, fitogormonlar tarkibi va nisbati ortishi tomon standart bug'doy navi Mironovskaya 808. Krestyanka va Mironovskaya 808 navlarida IAA tarkibida sezilarli farq aniqlanmadi. Aksincha, Mironovskaya 808 da ABA va zeatin darajasi Krestyankaga qaraganda 2,2 va 5 baravar yuqori edi. Kraxmal miqdori yuqori bo'lgan kuzgi bug'doyning Truzhenitsa navi fitohormonlarning eng

kam miqdoriga ega edi. Binobarin, ozuqaviy tarkibiy qismlarni jalb qilishga yordam beruvchi element bo'lib, fitohormonlar yuqori proteinli navlarda ko'proq miqdorda sintezlanadi.

Kinetin bilan davolashga javoban, Krestyanka bahorgi bug'doy navi gormonlar tarkibidagi o'zgarishlarga eng sezgir bo'lib chiqdi. Mironovskaya 808 bug'doy navida zeatin (2 marta) va ABA (35 marta) miqdori ortadi. Shunisi qiziqki, kinetin bu navdagi IAA darajasini pasaytirgan (2,4 marta), Truzhenitsa navida esa ABA miqdorini 17 marta oshirgan. 2-jadval. Kinetin ($4,7 \cdot 10^{-5}$ M) bilan ishlov berish ta'sirida 4 kunlik ko'chatlarda fitohormonlarning tarkibi (mkg / g quruq vaznda) nav nazorati (suv) IAA Zeatin ABK IAA Zeatin ABK Mironovskaya 808 (standart) 7,10 4,48 0,16 2,99 8,93 5,64 Mehnatkash 0,45 1,42 0,14 2,00 5,64 2,52 Dehqon 0,20 8,93 1,13 14,16 14,99 10,02 Miqdorini pasaytiradigan abscaidlar va IAA80 kislotalari bilan ishlov berish. yilda 32 va 16 marta, lekin uning mazmuni 6 marta oshdi va Truzhenitsa va Krestyanka navlarida - 10 baravarga (3-jadval). Kuzgi bug'doyning Truzhenitsa navida, ABA bilan davolashga javoban, IAA va zeatin darajasi mos ravishda 3 va 5 marta kamaydi. Ma'lumki, zeatin xlorofill sintezida ishtirok etadi, siklik bo'lmagan fotofosforlanishni kuchaytiradi va shu bilan fotosintezning intensivligini oshiradi. Shuning uchun, Truzhenitsa navida kinetin bilan davolash uglevod tarkibining ko'payishiga olib keldi. 3-jadval. ABA bilan ishlov berish ($7,5 \cdot 10^{-6}$ M) ta'sirida 4 kunlik ko'chatlarda fitohormonlarning tarkibi (mkg/g quruq vaznda) nav nazorati (suv) IAA Zeatin ABA IAA Zeatin ABA Mironovskaya 808 (standart) 7,10 4,48 0,16 0,22 0,28 0,89 Mehnatkash 0,45 1,42 0,14 0,13 0,32 1,42 Dehqon 0,20 8,93 1,13 3,56 4,48 10,02 Protein tarkibining umumdorligi va sifatiga ta'sirini o'rganishlar natijasida aniqlandi. IAA davolashda pasayish tendentsiyasi mavjud barcha navlar 0,2-1,2% ga (eksperimental xato ichida) uglevod tarkibining ko'payishi fonida. ABA va kinetin kuzgi bug'doy Truzhenitsa navida kraxmalni kamaytirishga eng katta ta'sir ko'rsatdi. IAA va kinetin bilan ishlov berilganda, bahorgi bug'doy navi Krestyanka boshqoq va hosildorlikni ko'paytirdi; standart kuzgi bug'doy Mironovskaya 808 navi uchun - boshqoqdagi donlar soni, boshqoqdagi boshqoqlar soni; kuzgi bug'doy Truzhenitsa navi uchun - hosildorlik, bosh boshiga don vazni. Auxin barcha

navlarda 1000 dona vazniga eng katta ta'sir ko'rsatdi. Fitohormonlar bilan davolash ta'sirida bug'doy donining mahsuldorligi va sifati Turli Tarkib, % Boshqodagi boshhoqlar soni, dona.

Bir boshqodagi donlar soni, dona. Og'irligi, g don kraxmal oqsili boshiga 1000 dona Hosildorlik, c/ga Mironovskaya 808 (standart) nazorat (suv) 15,0 61,8 15 33 1,4 42 34,3 IAA 14,6 63,2 16 35 1 BC3614. ABC3614. 1,3 42 29,2 kinetin 15,8 60,6 16 35 1,6 42 34,2 Truzhenitsa nazorati (suv) 10,2 65,4 16 42 1,6 46 29,0 IAA 10,0 66,2 16 43 1,7 47 32,4 ABA61219.9. 6 kinetin 11,3 63,8 16 41 1,7 46 31,8. Dehqon nazorati (suv) 11,5 63,3 14 30 1,4 32 28,4 IAA 10,3 63,4 15 32 1,6 34 29,5 ABK 11,4 62,7 12 29 1,3 26 27,8 kinetin 10,3 26 27,8 10,83, 10,84, ishlab chiqarish jarayoni turli fitogormonlar bilan davolash orqali tartibga solinishi mumkin.

Nazorat savollari:

1. Fitagormonlarning qaysi turlari qo'llanilgan?
2. Bug'doy donini fitogormonlar bilan ishlov berishni tushuntirib bering.
3. Hosildorlik uchun fitogormonlar bilan ishlov berish qanday amalga oshadi?

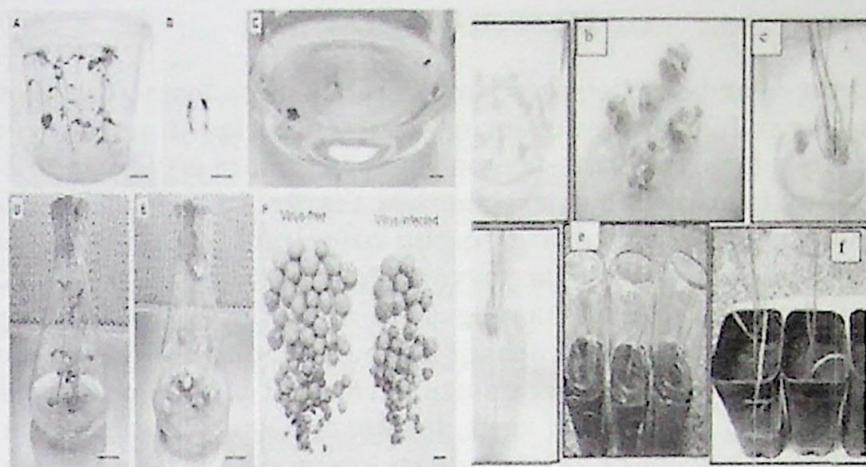
25-Laboratoriya ishi

25-Mavzu. Fitoregulyatorlar yordamida kartoshka tuganaklarini tinim holati 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 idish, termostat va qog'oz paketlar.*

Mavzuni tushuntirish. 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 darida 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 – abssiz kislotasining faoliyatini buzilishi sababachi bo'ladi. Kartoshka tuganaklariga etilen hosilalari bilan ishlov berish abssiz kislotasining biosintezini jadallashtiradi, bu esa tuganaklarni uzoqroq saqlanishiga olib keladi.



32-rasm. Fitoregulyatorlar yordamida kartoshka tuganaklarini olish

Ishning borishi. Tegishli konsentratsiyadagi gibberellin va 2-kloretilfosfon kislotasining eritmasi tayyorlanadi. Kartoshka tuganaklari shu eritmalarida 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° C haroratli termostatga joylashtiriladi. 14 sutka o'tkach unib chiqqan ko'chatlar hisoblanib chiqiladi. Olingan ma'lumotlar asosida preparatninig tuganaklarni tinim daridan chiqaradigan va o'sishini jadallashtiradigan optimal konyentratsiyasi aniqlanadi.

Nazorat savollari:

1. Fitoregulyatorlar yordamida kartoshka tuganaklarini tinim holati va uyg'onishini boshqarishda qanday jarayonlar amalga oshiriladi?
2. Fitoregulyatorlarning asosiy vazifasi nimalardan iborat?
3. Qanday guruhli fitoregulyatorlarni bilasiz?

TAYANCH IBORALAR

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 shirinliklar 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 dezoksixolli agar; dektrozali agar; jelatinali agar; safroli agar; kartoshka va qonli agar; kraxmalli agar; qonli agar; laktoza-lakmusli agar mannitli agar; sut-peptonlimagar; siydikli agar; yumshoq agar-mikroblarni ikki qatlamli ozuqa muhitida undirishga ishlatiladigan agarning ustki qatlami; go'sht-peptonli agar; ozuqali agar; yarim suyuq agar; oddiy agar; baliq jelatinali agar; shakarli agar; qo'rg'oshin-sirkali agar; qiyshaytirilgan agar; pivo atalali agar; zardobli agar; fenoltaleinli agar; fuksinli agar; tuxum oqsilidagi agar; tuxum sarig'idagi agar.

Agaroza-dengiz suvo'tlaridan olinadigan polisaxarid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.

Agregatsiya-ayrim organizm yoki hujayralarning to'planishi, g'uj bo'lib qolishi.

Agrobiotsenoz-ekin ekiladigan erlarda yashaydigan organizmlar yig'indisi.

Adaptatsiya-moslashish-organizmlarning evolyusiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi.

Adventiv kurtaklar-o'simliklardagi kurtaklar, ular odatda paydo qilmaydigan hujayra va to'qimalardan hosil bo'ladi.

Adenillanish- yo'li bilan fermentlar faolligi o'zgarishining bir turi.

Adenin - (aminopurin)-azotli organik birikma bo'lib, adenin nukleotidi tarkibiga kiradi.

Azotobakterin- ushbu turga kiradigan bakteriyalardan tashkil topgan bakterial o'g'it.

Azotobakter-erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakteriyalar turi.

Akropetal transport-o'simlikda moddalarning poya apikal meristemasi yo'nalishi bo'yicha tashilishi.

Amplifikatsiya-xromosoma DNK ketma-ketligining qo'shimcha nusxasining hosil bo'lishi.

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.

Androgenez-mikrospora yoki chang donachalaridan somatik embriogenez yoki kallus hosil qilish orqali o'simlik yoki uning organlarining hosil bo'lish jarayoni. **Antagonist**-raqib-mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.

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;

Antigenlar-immun tizimda antitelalar hosil bo'lishini indutsirlovchi, antitela paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi spetsifik hamkorlik qiluvchi oqsillar

Apikal dominantlik-apikal meristemadagi gormonlar yordamida yon navdalarning yuqori meristemasi kurtaklari o'sishini to'xtatilishi.

Attragirlash xususiyati-stimulyator fitogarmonlarning oziqa moddalarni o'suvchi organga katta miqdorda tashilishini faollash xususiyati.

Auksotrof mutantlar-jinsiy bo'lmagan xromosomalar to'plami (1, 2, 3, va hokazo sonlar bilan belgilanadi).

Bazal-asosiy, asosqategishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalareukariotik jonivorlar (oddiy jonivorlar, suvo'tlar) xivchinlarini sitoplazmaning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.

Bazipetal transport-o'simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.

Bakteriofaglar-bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.

Binar-ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo'linish-hujayralarning ko'payish vaqtida ikkiga bo'linishi.

Biogenez-tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo'lishi.

Biomassa- mikroorganizmlarni o'stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organism 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 ozuqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.

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.

Biosintez-fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.

Biotexnologiya-tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo'nalishi.

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 plazmada.

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 erda tarqalgan.

Gaploid-bir organizm turiga xos bo'lgan butun to'plamning yarmi, xromosomalar to'plamining bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra, organizm.

Gen – genetik axborotlarning yagona strukturasi muayyan regulyator funksiya, bir yoki bir nechta polipeptid zanjirlar, yoki RNK molekulasini strukturasi kodirlovchi xromosoma qismi (DNK molekulasini).

Genlar bibliotekasi-butun genomni tutuvchi klonlangan DNK fragmentlari to'plami.

Genlar ekspressiyasi – genda ribonuklein kislota, oqsil va fenotipik xususiyatlar shaklida yozilgan genetik axborotlarning yuzaga chiqishi.

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.

Genoterapiya-retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik ob'ekt to'qimalarida genetik sog'lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini davolash.

Genotip-asos genlarining to'plami. Irsiy asos-organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining va uning barcha genlarining majmui.

Genofond-organizm turlari yoki populyasiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.

Geterozis – bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang'ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo'lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.

Gibrid-duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o'zida mujassamlashtirgan organizm.

Ginogenez – murtak xaltasi hujayralaridan o'simlik paydo bo'lish jarayoni.

Giflar-ipchalar-zamburug' tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo'lgan, mikroskopda arang ko'rish mumkin bo'lgan iplar.

Gormon retseptor kompleks-gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta'siri amalga oshishining birinchi bosqichi.

Gormon statusi – 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.

Destruksiya – moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.

Didifferensiya - ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanish.

Diploid – mazkur turga xos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.

Diploidlash – xromosoma to'plamini ikki marta ko'paytiruvchi model. Xromosomalarning diploid to'plami (avtodigaploid) ota yoki ona xromosomalarini tutuvchi ikkita gaploid xromosomalar to'plami

Differensiyalash – asosiy va yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.

DNK – dezoksiribonuklein kislotalar molekulasini, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.

DNK bo'shlig'i-DNK zanjirida bitta yoki bir nechta nukleotidlarning etishmasligi.

DNK dupleksidagi uzilish – ikki zanjirli DNKning zanjirlarining bittasida yonma-yon ikkita nukleotidlar orasidagi fosfodjefir bog'ining yo'qligi.

DNK replikatsiyasi – fermentlar to‘plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekulalarini ikkilanishi (ikki marta ko‘payishi).

Yopiq tizim – tashqi muhit bilan faqat energiya orqali almashinuvchi tizim.

Yopishqoq uchlar-komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo‘lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.

Jinsiy jarayon – erkak (spermiya) va urg‘ochi (tuxum hujayra) jinsiy hujayralarining qo‘shilish, natijada diploid hujayra (zigota) hosil bo‘ladi va asosning jinsi belgilanadi.

Jinsiy xromosomalar – asosning jinsini belgilovchi xromosomalar (X, Y, W, Z va boshqa harflar bilan belgilanadi).

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.

Identifikatsiya-aynan o‘xshatish, tenglashtirish-moddayoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.

Immobilizatsiya (to‘plash) – membranalarda hujayra, fermentlarni to‘plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.

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.

Ingibitor-to‘xtatuvchi-fermentlar, faolligini to‘xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun‘iy olingan).

Induktor-repressor bilan qo‘shilib, uni operator bilan qo‘shilish xususiyatini yo‘qotadigan, nafaol holatga o‘tkazadigan past molekulali modda.

Induksiya-ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o‘xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.

Initsiatsiya-molekulyar biologiyadagi translyasiya jarayonining birinchi bosqichi.

Inkubatsiya-o‘stirish-ma‘lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o‘stirish.

Inokulyat-ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi ozuqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.

Intron – genning transkripsiyalanayotgan “sukunat saqlovchi” protsessing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.

Issiqlik shoki oqsillari (ISHO) - haroratning normadan oshishiga organizm tomonidan hosil bo'ladigan oqsillar.

Klon – bitta hujayra yoki molekuladan olingan hujayra va molekulalar yig'indisi.

Klonlash – populyasiyalarning organlari bilan genetik bir xil hujayralar olish.

Klonli mikroko'paytirish – In vitro jinssiz usul yordamida boshlang'ich o'simlik bilan genetik bir xil o'simliklar

Kodon – muayyan aminokislotalar yoki komplementar terminatsiyalovchi signalni kodirlovchi nukleotidlar tripleti.

Kompitensiya – hujayra, to'qima, organ va organizmning indutsirlovchi ta'sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanish.

Komplementar zanjir – RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlan uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan biri.

Ligaza-DNK zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefirbog' hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.

Ligirlash – DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog'larining hosil bo'lishi. Bu ibora to'mtoq uchlarni birlashtirish hollarida va RNK bog'lar hosil bo'lishida ham qo'llaniladi.

Lizis-erib ketish, parchalanish-fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta'sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofaglarining ko'payishi natijasida uning erib ketishi.

Marker (DNK) –elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.

Marker gen – joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.

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 asoslarining ketligi.

Mahsuldorlik jarayoni – moddalar hosil bo'lishi va metabolizmning o'simlikda bir vaqtda kechayotgan fiziologik, biokimyoviy, biofizik va boshqa jarayonlarning yig'indisi, donor-akseptor munosabatlar va genetik nazorat asosida o'simliklarning ho'jalik ahamiyati qimmatli organlarining shakllanishi, ikkilamchi almashinishni ta'minlanishi.

Meyoz – xromosomalar sonini reduksiyasiga va genlar rekombinatsiyasiga olib keluvchi jinsiy hujayralarning bo'linish jarayoni.

Meristema – faol bo'linayotgan differensiyalanmagan hujayralardan iborat to'qimalar.

Metabolizm- oraliq almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtdan oxirgi mahsulotlar hosil bo'lgunga qadar aylanishi; katabolizm va anabolizm jarayoni yig'indisi; qorong'ulikda kechadigan metabolizm-mikroorganizmlarning (qirmizi bakteriyalar Rhodospirillum) qorong'ida aerob holda o'sish xususiyati. Bu xususiyat bakteriyalarda nafas olish zanjirining kerakli qismlari borligidan dalolat beradi.

Metabolitlar-metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.

Mikoriza-yuqori o'simliklar ildizi bilan zamburug' ipchalarining birga yashashi.

Mikroorganizmlar uyushmasi-har doim birga uchraydigan va bir-biri bilan bog'liq holda yashaydigan mikroorganizmlar birlashmasi.

Mikroflora-har xil turdagi mikroorganizmlarning ma'lum yashash muhitidagi to'plami; avtohton mikroflorasi; suv mikroflorasi; havo mikroflorasi; balchiq mikroflorasi; odatdagi mikroflora; organizm mikroflorasi; qo'shimcha mikroflora; tuproq mikroflorasi; rizosfera mikroflorasi.

Mitoz – eukariot somatik hujayralarning bo'linish jarayoni.

Mitselliy-zamburug' tana-zamburug', jumladan sho"lasimon zamburug'larning o'sadigan tanasi bo'lib, bir va ko'p hujayrali ipchalar (gif)dan iborat.

Modifikatsiya-mikroorganizmlarning fenotipik o'zgarishi, ya'ni hujayraning genetic apparatlariga aloqador bo'lmagan o'zgarishlar.

Morfogenez – organ (organogenez), to'qima(gistogenez) va hujayralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyalanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.

Mutagenez-mutagenez o'zgarishning (mutagenezning) ro'y berishi-organizmda irsiy o'zgarishlar-mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqlovchi va naslga o'tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasi o'zgarishi yotadi.

Mutagenlar – DNK molekulasida mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotalarini oshiruvchi omil. Irsiyatni o'zgartiruvchilar-mutatsiyalar hosil qiluvchi fizikaviy va kimyoviy omillar;

Mutatsiya – gen, xromosomadagi nukleotid izchillik, genomning birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.

Nishon - hujayra– u yoki bu fitogarmon retseptorini tutuvchi va fitogarmonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.

Nozern-blot-RNK bo'lakchalarini gellardan elyuitsiya qilishda ishlatiladi.

Nuklein kislotalar – 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.

Operon – genetik regulyator strukturaning birligi, tarkibida bitta yoki bir nechta o'zaro birikkan struktura, operon va regulyator qismlar genlarini tutadi.

Organogenez – uyushmasdan o'sayotgan kallus hujayralarida organlar (ildiz, boshlang'ich barglar va nihollar) hosil bo'lish jarayoni.

Ochiq tizim – tashqi muhit bilan energiya va moddalar bilan almashinadigan tizim.

Partenogenez – asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.

Plazmida – avtonom replikatsiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK plazmid vektori asosi.

Poliadenillash – poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3-uchiga uning sintezi tugaganidan so'ng birikishi.

Poliploidiya – organizm gaploid xromosomalar yig'indisining karrali ortishi bilan bog'liq bo'lgan irsiy o'zgaruvchanlik.

Proliferatsiya – hujayra va to'qimalarning ko'payish yo'li bilan hosil bo'lishi.

Promotor – genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.

Pronukleus – urug'langan tuxum hujayra yadrosi.

Proton pompasi – maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o'tish jarayoni.

Protoplast – mexanik yo'l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig'idan mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o'simlik hujayrasi.

Profag – bakteriya xromosomasiga o'rnashgan fag genomi. Lizogen bakteriyalardan yashiringan, yuqmaydigan shakldagi mo'tadil bakteriofag.

Protssessing – etilish jarayoni bo'lib, unda birlamchi RNK-transkript modifikatsiyasi uchraydi va etilgan RNKga aylanadi.

Regeneratsiya – hujayralar tiklanishi.

Rekombinant gen – turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.

Rekombinant DNK – turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.

Rekombinatsiya – krossingover natijasida ota-onalar genlarining qayta guruhlanishi (tabaqalanishi).

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.

Repressiya-gen ekspressiyasini va yoxud o'shanga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.

Repressor-ma'lum operonda RNK sintezini to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.

Restriktazalar - kesuvchi fermentlar, restriksiya fermentlari, DNKni ma'lum bir nukleotidlar qatorida kesadigan fermentlar. Gen muhandisligida qo'llaniladigan vosita.

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.

Rivojlanishning yuvenil fazasi - urug' yoki vegetativ kurtakdan vegetativ organlarning reproduktiv organlar hosil qilishga qobiliyatini namoyon bo'lishiga qadar o'sishi va rivojlanishi.

Rizosfera-ildiz atrofidagi tuproqning mikroflorasi-mikroorganizmlarning ko'pligi bilan farqlanadigan 2-3 mm qalinlikdagi ildiz atrofida joylashgan tuproq qatlami.

RNK - tarkibiga nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, uratsil), riboza va fosfor kislotasi qoldiqlari kiruvchi ribonuklein kislota molekulasini.

RNK blottingi - RNKni agarozali geldan nitrotsellyulda filtriga komplementar DNK bilan duragaylash uchun olinishi.

Sayt-o'rin, joylanish-genlar xaritasidagi nuqtali mutatsiya o'rni.

Sauzern bo'yicha DNK blottingi-denaturlangan DNKni komplementar nukleotid ketma-ketlik bilan duragaylash uchun agarozali geldan nitrotsellyulda filtrga olinishi.

Segment-karj, bo'lak.

Sekvenirlash-ketma-ketlikni aniqlash, sekvenirlash-oqsildagi aminokislota qoldig'ini va nuklein kislotalardagi nukleotidlarning ketma-ketligini aniqlash.

Seleksiya-tanlash-hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.

Sinergizm – moddalar, jarayonlar va boshqa omillarning hamkorlikdagi ta'sirini oshiruvchi samara.

Skrining-bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorganizmlarning aralash populyasiyasidan keragini ajratish.

Somaklonal variabellik – kulturalangan somatik hujayralardan regeneratsiyalangan o'simliklardagi xususiyatlarning o'zgarib turishi.

Somaklonlar – boshlang'ich shakllaridan muayyan farqlar bilan farqlanuvchi somatic hujayralardan olingan reagent o'simliklar.

Somatik embriogenez – hujayra va to'qimalar kulturasida murtaksimon strukturalar (embrioidlar) hosil bo'lish jarayoni.

Stimulyatorlar -o'simliklarning o'sishini kuchaytiruvchi omil-o'simliklarning o'sishini, hujayralarning bo'linishini tezlashtiradigan, kuchaytiruvchi moddalar.Ular tabiiy yoki sintetik holda bo'lishi mumkin. Tabiiylari auksinlar, gibberelinlar va sitokininlar

Stress oqsillar – noqulay sharoitlarda organizm tomonidan sintezlanuvchi va stress omillarning organizmga zarali ta'sirini kamaytirish imkonini beruvchi maxsus oqsillar.

Subbirlik – oqsil molekulalarini tashkil etuvchi (to'rtlamchi strukturalari) oqsil globulalari.

Subkulturalash – transplantlarni (inokulumlarni) boshqa kultural idishga yangi oziqa muhitiga o'tkazish.

Substrat-ozuqa muhit-mikroorganizmlarning o'sishi uchun kerak bo'lgan ozuqa muhiti.

Termodinamik tizim – energiyani yutish, qayta hosil qilish, to'plash va foydalanish xususiyatiga ega o'zaro bog'liq elementlar kompleksi.

Totipotentlik – muayyan o'stirish sharoitida o'simliklar somatik hujayralarining o'zining ontogonik rivojlanishi irsiy dasturini to'liq amalga oshirish.

Transgenoz – turli vektorlar yordamida donor, begona genlarni retsipient o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayrasiga kiritish jarayoni. Transduksiyaga moyil faglar

yordamida genetic axborotni bakteriya hujayrasidan eukariotlar hujayrasiga sun'iy yo'l bilan o'tkazish.

Transduksiya-bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor hujayradan retsipient hujayraga olib o'tish.

Transkripsiya – RNK polimeraza fermenti yordamida DNK matritsasida RNK-nusxasining hosil bo'lishi.

Translyasiya – axborot, transport RNKsi va boshqa omillar ishtirokida ribosomalarda oqsillar sintezi.

Transplant (inokulyum) – kallus (supenziyali) kulturasining boshqa yangi oziq muhitiga ko'chirib o'tkazishda foydalaniladigan qismi.

Transpozonlar-DNKning bir bo'lagi bo'lib, molekula ichida bir joydan ikkinchi joyga va bir molekuladan ikkinchisiga o'tishga qodir.

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.

Uratsil-RNK tarkibiga kiradigan pirimidin asosi.

O'simliklarni gormon tizimi – fitogormonlar, ularning retseptorlari vaikkilamchi vositachilaridan iborat regulyator kompleks.

Faglar-mikroorganizmlar ichiga kirib, unda ko'payib, keyin ularni eritib yuboruvchi viruslar.

Faollashtirish-1) faollikni qo'zg'atish va kuchaytirish; 2) molekulalar faolligini qo'zg'atib kimyoviy reaksiyaga kirishni tezlatish.

Fenotip-organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.

Fermenter-ayrim xomashyolarni mikroorganizmlar yordamida bijg'itish uchun ishlatiladigan hamma tomoni berk asbob.

Fermentlar-biologik tezlatkichlar,enzimlar-oqsilning o'ziga xos turi; tirik hujayralarda ham tezlatkich rolini bajaradi.

Fitoaleksinlar – o'simliklarning kasalliklarga qarshi chidamlilik tizimining patogenlar rivojlanishini pasaytiruvchi genotipik va real komponentlari.

Fitogormonlar biosintezi yo'llarining ajralishi – tashqi sharoit kompleksi bilan aniqlangan bir necha fitogormonlar uchun asos bo'lgan oraliqdan u yoki bu fitogormonning bir necha fitogormonlarning fermentativ biosintezi yo'li.

Fitoregulyatorlar – o'simliklarning o'sishi va rivojlanishiga ta'sir etuvchi, o'g'itlar va gerbitsidlar ta'siriga ega bo'lmagan tabiiy va sun'iy preparatlar.

Fosforobakterin-fosfor organik birikmalarni parchalash xususiyatiga ega bo'lgan bakteriyalardan tashkil topgan bakteriyali o'g'it.

Fragmentlar-parchalar, qismlar.

Xemosintez-ayrim mikroorganizmlarga xos 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.

Xromosomalar – DNK va oqsillardan iborat hujayra yadrosini genetik struktura hosilasi. Xromosomalarda organizmning irsiy axboroti berilgan.

Sentrifuga-ajratkich, cho'ktirgich-markazdan qochish kuchiga asoslangan turli xil aralashmalarni qismlarga ajratuvchi asbob; analitik (laboratoriya) ajratkich; tebranuvchi ajratkich; gorizontal 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.

Sitozin-DNK va RNK tarkibida bo'lgan pirimidin asosi.

Eksplant – oziqa muhitida inkubatsiya qilinayotgan to'qima yoki organ, yoki kallus to'qimasi olish uchun foydalaniladigan fragmentlar.

Elektroporatsiya – hujayra membranasida qo'shimcha teshiklarni hosil qilishga yordam beruvchi elektr toki yordamida hujayraga genlarni kiritish usuli.

Elektroforez-elektr maydoni yordamida aralashmalarning bir joydan ikkinchi joyga o'tishi, bo'laklarga ajratish.

Endonukleazalar-fosfodiefir bog'larining o'ziga xos bo'lmagan parchalanishi orqali nuklein kislotalarini parchalovchi fermentlar. DNKni purin yoki pirimidin qismlaridan kesuvchi fermentlar.

In vitro – tirik materialni probirkada sun'iy oziqa muhitlarda steril sharoitda o'stirish.

In vivo – tirik materialni tabiiy sharoitda o'stirish

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR HAMDA AXBOROT MANBAALARI

1. Альбер Сассон. Биотехнология: свершения и надежды. Издательство «Мир», 1987.
2. Абелев Г.И. Моноклональные антитела // СОЖ, 1998, № 1
3. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу М. «Наука» 1989. 157 с.
4. Евтушенков А.Н., Фомичев Ю.К. Введение в биотехнологию. Курс лекций. Минск, БГУ, 2002
5. Davronov.Q. Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. Toshkent, 2008. 504 -b
6. Зупаров М.А. и др. Сельскохозяйственная биотехнология // Ташкент 2018, 100-с.
7. Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений // СОЖ, 1998, № 6
8. Кузьмина Н.А. Основы биотехнологии.
9. Корочкин Л.И. Клонирование животных // СОЖ, 1999, №4
10. Лещинская И.Б. Генетическая инженерия // СОЖ, 1996, № 1
11. Лещинская. Современная промышленная микробиология // СОЖ, 2000, № 4
12. Лтова Л.А. Генетическая инженерия растений: свершения и надежды // СОЖ, 2000, № 10
13. Семенова М.Л. Зачем нужны трансгенные животные // СОЖ, 2001, №
14. Xalmuminova G.Q. Biotexnologiyada ilmiy tadqiqot uslublari // "Shafoat Nur Fayz" Toshkent 2021. 100-b.
15. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. М. «Высшая школа» 1998 415 с.

MUNDARIJA

KIRISH	3
1-Laboratoriya ishi. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi laboratoriyasining tuzilishi, asbob-uskunalar va laboratoriyada ishlash qoidalari bilan tanishish.....	5
2-Laboratoriya ishi. Izolyatsiyalangan hujayra va o'simlik to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhitlarini tayyorlash.....	14
3-Laboratoriya ishi. O'simlik hujayra va to'qimalari bilan ishlashda sterilizasiya usullari.....	19
4-Laboratoriya ishi. Bodring urug'idan (<i>Sucumis sativum</i> L.) va yumshoq bug'doy (<i>Triticum aestivum</i> L.) donidan steril eksplantlar olish	25
5-Laboratoriya ishi. Steril o'simtalar o'stirish.....	28
6-Laboratoriya ishi. Ninabarglilar urug'idan steril o'simtalar olish.....	30
7-Laboratoriya ishi. Tamaki bargidan kallus to'qimasini olish.....	32
8-Laboratoriya ishi. Bug'doyning yetilgan va yetilmagan murtaklaridan kallus to'qimalar olish.....	34
9-Laboratoriya ishi. Sabzi ildiz mevasidan kallus to'qimalarini olish va ularni yangi ozuqa muhitga passirlash....	36
10-Laboratoriya ishi. Kartoshka kallus to'qimasi kulturasida poya morfogenezi induksiyasi.....	38
11-Laboratoriya ishi. Bug'doy kallus to'qimasidan regenerant o'simlik olish.....	40
12-Laboratoriya ishi. Kallus to'qimasidan suspenziyali kultura olish (kartoshka misolida).....	42
13-Laboratoriya ishi. Suspenzion kulturani passirlash hamda suspenzion kulturani zich agarli muhitga ekish.....	44
14-Laboratoriya ishi. Bodringning apikal meristemasini ajratish va <i>In vitro</i> da kulturalash.....	47
15-Laboratoriya ishi. Kartoshkaning apikal meristemasini ajratish va o'stirish.....	50
16-Laboratoriya ishi. Kartoshka novdalarini qalamchalash yo'li bilan klonli mikroko'paytirish.....	53
17-Laboratoriya ishi. <i>In vitro</i> da regenerant o'simliklarni tuproq sharoitiga moslashtirish.....	57

18-Laboratoriya ishi. Qulupnayning apikal meristemalarini ajratish va kulturalash. Qulupnayni mikroklonal ko'payishi.....	65
19-Laboratoriya ishi. Tokni (uzumni) klonli mikroko'paytirish.....	67
20-Laboratoriya ishi. Oddiy qarag'ay (<i>Pinus silvestris</i>) va oddiy qoraqarag'ayni (<i>Picea abies</i>) klonli mikroko'paytirish.....	70
21-Laboratoriya ishi. Izolyatsiyalangan protoplastlar kulturasini.....	73
22-Laboratoriya ishi. O'simlik protoplastlarini qo'shilishi. Mexanik izolyatsiyalash va yagona geterokoritsitsitlarni o'stirish.....	78
23-Laboratoriya ishi. Auksin analoglarini loviya qalamchalari poyalarida ildiz hosil bo'lishiga ta'siri.....	83
24-Laboratoriya ishi. Fitoregulyatorlarni bug'doy o'simtlarini osmotik va harorat stresslarini yengib o'tishiga ta'siri.....	84
25-Laboratoriya ishi. Fitoregulyatorlar yordamida kartoshka tuganaklarini tinim holati va uyg'onishini boshqarish.....	90
TAYANCH IBORALAR.....	92
FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR HAMDA AXBOROT MANBAALARI.....	107

Аннотатсия

Zamonaviy biotexnologiyalar inson hayoti sifatini sezilarli darajada yaxshilashi va mamlakat iqtisodiy o'sishining rivojlanishiga yordam berishi mumkin. Biotexnologiya tufayli yangi samarali diagnostika vositalari, vaksinalar, dori-darmonlar, oziq-ovqat mahsulotlari yaratilmoqda, qishloq xo'jaligi ekinlarining, jumladan, don mahsulotlarining hosildorligi oshmoqda.

O'simliklar biotexnologiyasi fanining tez sur'atlar bilan rivojlanib borishi, talabalardan va magistrlardan bu fanning beqiyos imkoniyatlarini chuqur tushunib yetishni taqozo etadi. Butun dunyoda zamonaviy biotexnologiya investorlarning diqqat e'tiborida bo'lib, biotexnologiya sanoatiga kiritilgan investitsiyalarning o'sishi 32% ni tashkil etdi.

Yurtimizda ishlatiladigan biotexnologik mahsulotlarning 90% dan ortig'i import qilinadi. Shu bilan bir qatorda, rivojlangan va, hatto, rivojlanayotgan mamlakatlar bilan ham solishtirganda biotexnologiya mahsulotlaridan foydalanish ko'rsatkichi bizda o'ta past. Biotexnologiya sohasi qanchayin istiqbolli va yangi bozorlarni zabt etishda ulkan salohiyatga ega bo'lmasin. Biroq biotexnologiyalar sanoatining yo'qligi bois aksariyat ishlanmalar ishlab chiqarishga joriy etilmay qolib ketyapti, biotexnologiya mahsulotlarining o'zi esa kichik hajmlarda laboratoriya uskunalarida ishlab chiqarilmoqda. Albatta, hozirgi kunda o'simliklar biotexnologiyasi tezkorlik bilan rivojlanishi, yangi, tezkor hamda aniq usullari ishlab chiqishga olib keladi. Shuning uchun ham ushbu qo'llanmani o'simliklar biotexnologiyasi fanining asosiy usullari deb qarash maqsadga muvofiq bo'ladi.

Ushbu qo'llanma ilk bor lotin tilida yozilganligi uchun ham ba'zi-bir kamchiliklardan holi emas. Shu sababli uni tuzuvchilari – talabalarni, magistrnlarni, ilmiy tadqiqotchilar, ilmiy xodimlar va professor-o'qituvchilarni fikr mulohazalarini inobatga olishga tayyor ekanligini bildiradi.

"O'simliklar biotexnologiyasi" o'quv qo'llanmasi mikrobiologiya, va unga yaqin bo'lgan boshqa sohalarda mutaxassislar tayyorlashda qo'llanma sifatida tavsiya etiladi.

Аннотация

Современные биотехнологии способны существенно улучшить качество жизни человека и способствовать экономическому росту страны. Благодаря биотехнологиям создаются новые эффективные средства диагностики, вакцины, лекарства, продукты питания, увеличивается урожайность сельскохозяйственных культур, в том числе зерновой продукции.

Бурное развитие науки о биотехнологии растений требует от студентов и магистров глубокого понимания несравненных возможностей этой науки. Современные биотехнологии находятся в центре внимания инвесторов всего мира, а рост инвестиций в биотехнологическую отрасль составил 32%.

Более 90% биотехнологической продукции, используемой в нашей стране, импортируется. Кроме того, у нас очень низкий уровень использования продуктов биотехнологий по сравнению с развитыми и даже развивающимися странами. Какой бы перспективной ни была сфера биотехнологий, она имеет большой потенциал для завоевания новых рынков. Однако из-за отсутствия биотехнологической промышленности большая часть разработок не внедряется в производство, а сама биотехнологическая продукция производится в небольших количествах на лабораторном оборудовании. Конечно, в настоящее время бурное развитие биотехнологии растений приводит к разработке новых, быстрых и точных методов. Поэтому уместно рассматривать данное руководство как основной метод науки биотехнологии растений. Данное руководство впервые написано на латинице, поэтому не лишено некоторых недостатков. Поэтому в нем говорится, что оно готово учитывать мнение своих создателей - студентов, магистров, научных исследователей, научных сотрудников и профессоров.

Учебное пособие «Биотехнология растений» рекомендуется в качестве руководства для подготовки специалистов в области микробиологии и других близких к ней областей.

Annotatsion

Modern biotechnologies can significantly improve the quality of human life and help the country's economic growth. Thanks to biotechnology, new effective diagnostic tools, vaccines, medicines, food products are being created, and the productivity of agricultural crops, including grain products, is increasing.

The rapid development of the science of plant biotechnology requires students and masters to have a deep understanding of the incomparable possibilities of this science. Modern biotechnology is the focus of investors all over the world, and the growth of investments in the biotechnology industry was 32%.

More than 90% of biotechnological products used in our country are imported. In addition, we have a very low rate of use of biotechnology products compared to developed and even developing countries. No matter how promising the field of biotechnology is, it has great potential for

conquering new markets. However, due to the lack of a biotechnology industry, most of the developments are not put into production, and the biotechnology products themselves are produced in small quantities in laboratory equipment. Of course, today, the rapid development of plant biotechnology leads to the development of new, fast and accurate methods. Therefore, it is appropriate to consider this manual as the main methods of the science of plant biotechnology.

This manual is written in Latin for the first time, so it is not without some shortcomings. Therefore, it states that it is ready to take into account the opinions of its creators - students, masters, scientific researchers, scientific employees and professors.

The study guide "Plant Biotechnology" is recommended as a guide for training specialists in microbiology and other fields close to it.

M.Q. XO'JANAZAROVA, G.Q. XALMUMINOVA

O'SIMLIKLAR BIOTEXNOLOGIYASI

FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

O'quv qo'llanma

Toshkent – "INNOVATSIYA-ZIYO" - 2025

Muharrir: Xolsaidov F.B.

Bosishga 06.03.2025.da ruxsat etildi.

Bichimi 60x90. "Cambria" garniturası.

Ofset bosma usulida bosildi.

Shartli bosma tabog'i 7. Nashr bosma tabog'i 7.

Adadi 100 nusxa.

"METODIST NASHRIYOTI" MCHJ matbaa bo'limida chop etildi.

Manzil: Toshkent shahri, Shota Rustaveli 2-vagon tor ko'chasi, 1-uy.



+99893 552-11-21

Nashriyot rozilgisiz chop etish taqiqlanadi.

ISBN 978-9910-707-87-2



9 789910 707872