

146  
ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ҚИШЛОҚ  
ВА СУВ ХЎЖАЛИГИ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ДАВЛАТ АГРАР  
УНИВЕРСИТЕТИ



# СОҒЛОМЛАШТИРИЛГАН КАРТОШКА ОЛИШНИНГ БИОТЕХНОЛОГИК УСУЛЛАРИ ВА УНИ БАҲОЛАШ

*(магистратура талабалари учун маъруза матнлари)*



ТОШКЕНТ-2016

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ҚИШЛОҚ ВА СУВ  
ХЎЖАЛИГИ ВАЗИРЛИГИ**

**ТОШКЕНТ ДАВЛАТ АГРАР УНИВЕРСИТЕТИ**

**СОҒЛОМЛАШТИРИЛГАН КАРТОШКА  
ОЛИШНИНГ БИОТЕХНОЛОГИК УСУЛЛАРИ  
ВА УНИ БАҲОЛАШ**

*(магистратура талабалари учун маъруза матни)*

**Тошкент – 2016**



«Соғломлаштирилган картошка олишнинг биотехнологик усуллари ва уни баҳолаш» фанидан маъруза матни намунавий дастур асосида ёзилган бўлиб, ушбу фанга тегишли асосий тушунча ва маълумотлар қисқача баён этилган.

Сизга тавсия этилаётган маъруза матни биотехнология соҳасидан билим олаётган ва илмий изланишлар олиб бораётган магистрлар ҳамда аспирантлар, шунингдек илмий ходим ва ўқитувчилар учун мўлжалланган.

#### Тузувчилар:

|                 |                                                                           |
|-----------------|---------------------------------------------------------------------------|
| М.А.Зупаров     | Ботаника ва агробиотехнология кафедраси доценти, биология фанлари номзоди |
| М.С.Мамиев      | Ботаника ва агробиотехнология кафедраси доценти, биология фанлари номзоди |
| А.А.Хакимов     | Ботаника ва агробиотехнология кафедраси катта ўқитувчиси                  |
| У.Н.Рахмонов    | Ботаника ва агробиотехнология кафедраси катта ўқитувчиси                  |
| А.Н.Аллаяров    | Ботаника ва агробиотехнология кафедраси ассистенти                        |
| Г.Қ.Халмуминова | Ботаника ва агробиотехнология кафедраси ассистенти                        |

#### Такризчилар:

|                |                                                                                                                                       |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ф.М.Бойжигитов | Ўзбекистон ЎХҚИТИ Қишлоқ хўжалик экинларининг касалликларини ўрганиш лабораторияси катта илмий ходими, қишлоқ хўжалик фанлари номзоди |
| Н.Т.Хакимова   | ТошДАУ Ўсимликлар химояси ва карантини кафедраси доценти                                                                              |

Маъруза матни ботаника ва агробиотехнология кафедрасининг №2 сон баённома 09.09.2016 йил ва Селекция, уруғчилик ва ўсимликларни химоя қилиш факультети ўқув-услугий комиссияси №3 сонли баённома 28.10.2016 йил, ТошДАУ ўқув-услугий кенгашининг №5 баённома 28.11.2016 йил қарорида кўриб чиқилган ва чоп этишга тавсия этилган.



**Мавзу–1. Соғломлаштирилган картошка олишнинг биотехнологик усуллари ва уни баҳолаш фанининг аҳамияти ва вазифалари**

**Режа:**

- 1. Фанни предмети, вазифаси ва аҳамияти**
- 2. Биотехнологиянинг асосий йўналишлари**

Биотехнология ёки биологик жараёнлар технологияси биологик агентлар ёки уларнинг мажмуаларидан (микроорганизмлар, ўсимликлар ва ҳайвон ҳужайралари, уларнинг компонентларидан) керакли маҳсулотлар ишлаб чиқариш мақсадида саноатда фойдаланиш деган маънони беради.

Адабиётларда «Биотехнология» терминига мутахассис олимлар томонидан турли хил таърифлар бериб келинмоқдаки, фаннинг ҳозирги ривожланган даврида ҳам бирорта аниқ тўхтамга келинмаган. Қуйида биотехнология соҳасининг етук олимлари томонидан ушбу терминга берилган таърифларга тўхталиб ўтамиз.

а) Анбаш, А.Хемфери, Н.Миллисларнинг (1975) фикрига кўра «Биотехнология» - янги биокимёвий ишлаб чиқаришлар маҳсулидир (витаминлар, антибиотиклар).

б) «Биотехнология» моддаларни биосинтез усули орқали озика олиш фанининг бўлими бўлиб, у «биоинженерия» соҳаси билан боғлиқдир.

в) А.Хастинг (1983) фикри бўйича «Биотехнология» - пиво, вино, пишлок, витаминларни саноат асосида олиш жараёнидир.

г) 1980 йил Европа федерацияси Кенгаши муҳокомасида «Биотехнология» - биологик тизимлар асосидаги саноат жараёни деб қаралган.

д) 1983 йил Братиславада бўлиб ўтган кенгашда «Биотехнология» - моддаларни катта миқдордаги саноат асосида (биокатализаторлар орқали) олиш ва атроф муҳитни химоя қиладиган фан деб таърифланган.

е) А.А.Баев (1986), Ю.А.Овчинников (1982) «Биотехнология» биологик жараёнларни ишлаб чиқаришга жорий этиш тўғрисидаги фан деб таърифлашган.

Биотехнология жараёнлари микроорганизмлардан, ўсимлик ва ҳайвон ҳужайралари ва тўқималаридан, ҳужайра органеллалари, уларни ўраб турган мембраналарнинг соф ёки уларнинг имобиллашган ҳолатида оксил, органик кислоталар, аминокислоталар, спиртлар, доривор моддалар, ферментлар, гормонлар ва бошқа органик моддаларни (масалан, биогаз) ишлаб чиқариш (синтез қилишда), соф ҳолда металл ажратиш, оқава сувларни ва қишлоқ хўжалик ёки саноат чиқиндиларини қайта ишлашда кенг фойдаланилади.

Фан сифатида ўтган асрнинг 60-йилларидан шакллана бошлаган биотехнологиянинг тарихига чуқурроқ назар ташласак микроорганизмлар ёрдамида «бижғитиш», «ачитиш» жараёнлари инсоният томонидан қадимдан кенг ишлатилиб келинаётганлигининг гувоҳи бўламиз. Сутдан- катик, узумдан- вино ва сирка, ачиткилар ёрдамида -нон тайёрлаш ва бошқа бир



канча биотехнологик жараёнларнинг қачон ихтиро қилинганлиги ҳозирча аниқ маълум эмас.

Умуман, юқорида зикр этилган микроорганизмлар ёрдамида амалга ошириладиган биотехнологик жараёнлардан ҳозиргача ҳам инсониятнинг рўзгор юритишида кенг қўлланилиб келинмоқда.

Биотехнологиянинг моҳиятини тушуниш учун мисолларга мурожаат қилайлик. Бактерия хужайраси ҳар 20-60 минутда, ачитки замбуруғлари 1,5-2,0 соатда иккига бўлиниб қўпайсалар, сут эмизувчилар хужайраларининг иккига бўлиниши учун 24 соат керак бўлади. Бир кеча-кундузда оғирлиги 500 килограмми бўлган қорамол 500 грамм оксил моддаси тўпласа, 500 килограмм ачитки замбуруғи 500000 килограмм ёки ундан 1000 мартаба қўпроқ оксил тўплайди.

Яна бир мисол: 1 куб метр озика муҳитида ачитки замбуруғлари 24 соатда 30 килограмм оксил тўплайди, шунча миқдорда оксил тўплаш учун 18 гектар ерга нўхат экиб, уч ой парвариш қилиш лозим бўлади.

Қолаверса, микроб етиштириш на об-ҳавога ва на фаслга боғлиқ. Уларни энг арзон озика муҳитида- ҳар хил чиқиндилар, клетчатка, метанол, метан гази ва водородда ўстириш мумкин. Микроорганизмлар нафакат оксил, балки турли ферментлар, ёғлар, витаминлар, полисахаридлар ва бошқа бир қатор фойдали маҳсулотлар синтез қилади.

Бугунга келиб, замонавий биотехнологик усуллар ва ген муҳандислиги ёрдамида фармацевтика учун интерферонлар, инсулин, соматотропин, гепатитга қарши вакцина, ферментлар, клиник тадқиқотлар учун диагностика ашёлар (гидрохлорид, гепатит ва бошқа бир қатор юқумли касалликларни аниқлаш учун тест тизимлар, биокимёвий текширишлар учун турли хилдаги реактивлар, эгилувчан биологик пластмассалар, антибиотиклар, ва бошқа қўллаб-қувватлаш маҳсулотлари) ишлаб чиқарилади.

Пиво, спирт, кир ювиш воситалари ишлаб чиқариш, тўқимачилик ва тери ошлаш каби жараёнларда ишлатиладиган фермент препаратлари ишлаб чиқариш ва қўллаш ҳам кенг йўлга қўйилган.

Биотехнологиянинг асосий йўналишларини, шартли равишда, қуйидагича тавсифлаш мумкин:

- озика маҳсулотлари биотехнологияси;
- қишлоқ хўжалигида ишлатиладиган препаратлар биотехнологияси;
- саноат маҳсулотлари биотехнологияси;
- доривор моддалар, диагностика ва реактивлар биотехнологияси;
- биогидрометаллургияда ишлатиладиган биотехнология;
- табиатни муҳофаза қилиш учун зарур бўлган биотехнологиялар.

Одатда, микроорганизмларни фойдали ва зарарли деб ўрганишга ҳаракат қилинади. Бу фикр мутлақо тўғри эмас. Фикримизча, барча микроорганизмлар фойдали, чунки улар табиатда модда алмашинувида фаол қатнашади ва қўллаб-қувватлаш хилма-хил ҳаётий зарур моддалар синтез қилади.



Бинобарин, микоорганизмлар биз яшаб турган дунёнинг энг қудратли ишлаб чиқарувчи кучидир.

Улар ҳар хил физик-кимёвий муҳитга чидамли, тез мосланувчан, турли озика муҳитида яшаш қобилиятига эга.

Биологик жараёнларда ачитки замбуруғлари, микромицетлар, бактериялар ва актиномицетлар (шуълали замбуруғлар) каби микроорганизмлардан фойдаланилади. Бутун мавжудот микроорганизмларсиз яшай олмайди, микроорганизмларнинг ўзи эса яшайверади. Айтайлик, овқат ҳазм қилиш тизимида фаол қатнашадиган микроорганизмлар микдори камайиб кетса, дисбактериоз ва у билан боғлиқ бўлган бошқа касалликлар рўй беради. Яна бир мисол, тупроғи стерилланган, яъни микроблари ўлдирилган тувакларга ўсимлик ўтказиб барча керакли минерал ўғитларни ҳам стерилланган ҳолда солсангиз, кўчат 4-5 кундаёқ сўлиб қолади.

XXI – асрга замонавий биотехнология улкан ютуқлар билан кириб келди. Инсон геномининг тўла ўқилиши, олдиндан режалаштирилган хусусиятларга эга бўлган штаммларни ярата билиш, қаримаслик сирларини очиш сари интилиш, бир сўз билан айтганда абадийликка интилиш, бугунги кун фани ютуқлари олдида афсона эмаслиги ҳаммага маълумдир.

Ўтган асрнинг 80 – 90 йилларидан бошлаб, дунё олимларининг “XXI – аср биотехнология асри бўлади” деган башоратомуз сўзлари бежиз эмаслиги кўплаб мисоллар билан ўз тасдиғини топмоқда.

Ривожланган, замонавий биотехнология фанининг асосида унинг улкан ютуқлар манбаи бўлмиш микроорганизмлар дунёси ётади. Шундай экан эришилган ютуқларда кўз илғамас, жажжи организмларнинг ҳам ўз ўрни бор, албатта.

Келинг, энди ушбу тармоқларнинг республикамызда ривожланиши учун нималарга эътибор беришимиз лозимлиги ҳақида фикр юритайлик. Дастлаб, эътиборимизни бутун жаҳон диққат эътиборида тургач оксил танқислиги муаммосига қаратмоқчимиз. Статистик маълумотларга кўра: дунёда оксил танқислиги йилига деярли 12 – 15 млн. тоннани ташкил этади. Бу билан боғлиқ бўлган куйидаги маълумотлар сизларни бефарқ қолдирмайди деб ўйлаймиз:

Дунё бўйича 850 млн. дан ортиқ киши оксилга муҳтож, шундан 200 млн. дан ортиқроғи 5 ёшгача бўлган болалардир. 50 млн. дан ортиқ киши очликдан вафот этади, улардан 40 млн дан ортиқроғи ёш болалардир. 1 суткада ўртача 11000 ёш бола ҳаётдан кўз юмади. Албатта, келтирилган жумлалар ҳар бир инсонни ларзага солмай қўймайди.

Хўш, оксил танқислиги муаммосини ҳал қилиш учун қандай ишлар амалга оширилмоқда, қолаверса, биотехнология саноати бунга қай даражада ҳисса қўшмоқда.

Оксил муаммосини ҳал қилиш учун дастлабки уринишлар эру-хотин Таусонларнинг ачиткилар ва бактерияларни ўстириш учун парафиндан фойдаланишни таклиф этишгандан бошланган эди. Т.А.Таусон ачиткиларнинг парафиндан оксидланиш жараёнининг айрим оралик



махсулотлари ва В<sub>1</sub> витаминини синтез қилишини исботлаб берди. Бу дастлабки уринишлар эди, албатта. Шундан кейин С.И.Кузнецова, Б.И.Исоченко, Л.Д.Штурим, Г.Н.Могилевский ва бошқа шу каби олимларнинг изланишлари, назарий ва амалий тажрибалари кўпгина микроорганизмлар углеводородларни оксидлай олиши мумкинлигини рад этиб бўлмас даражада исботлади.

Бу тадқиқотлар инсоният айниқса, олдида оксил танқислиги ўткир муаммо бўлиб турган бир пайтда катта эътиборни жалб этади.

Франция, Италия, Япония ва АҚШ каби жаҳоннинг ривожланган мамлакатларида ҳам нефтдан оксил олиш муаммоларини ечиш учун илмий изланишлар олиб борилди ва бир қадар ўз ечимини топди.

Фикримизни кенгайтирган ҳолда ўқувчиларга тушунарли бўлиши учун бу жараёнда микроорганизмлар фаолияти механизми ҳақида тўхталиб ўтишни жоиз деб ҳисоблаймиз.

Ачитки ва бактериялар парафиндан биомасса ҳосил қилиш учун ўзларига керакли бўлган углеродни ва хужайранинг ҳаётий фаолияти учун энергия манбаи бўлиб хизмат қиладиган, оксил ва витаминларни синтезлайдиган, рақиб ва душманлардан ҳимоя қиладиган водородни топиб оладилар. Шунинг учун ҳам биосинтезнинг нихоятда юқори босқичда ўтиши ва ўта маҳсулдорлиги ажабланарли ҳол эмас.

Фикримизнинг исботи сифатида қуйидаги мисолларни келтирмакчимиз: Микроорганизмлар 1 тонна мўътадил тузилишдаги парафинлардан (10% намликдаги тайёр маҳсулотга ҳисобланганда) 580–630 кг оксил саклаган 1 тонна биомасса ҳосил қилади. Айни пайтда гидролиз заводлари эса шунча миқдордаги ачитки маҳсулоти ишлаб чиқариш учун 5,5–6,4 тонна мутлақо курук ҳолатдаги ёғоч кипикларидан фойдаланадилар. Орадаги фарқ албатта жиддий, қолаверса, парафинда ёғочга нисбатан углерод ва водородлар миқдори нихоятда кўп бўлиб, биосинтез жараёнига сезиларли таъсир кўрсатади.

Гидролиз маҳсулотларидан фаркли равишда бу маҳсулотни оксил – витаминли концентрат (ОВК) деб юритила бошланди. Узоқ вақтлар давомида олиб борилган илмий изланишлар натижасида, ОВК нинг чорва молларига ва инсонларга безарар эканлиги исботланди.

Келинг, шу ўринда эътиборимизни чорвачиликда оксилга бўлган талабга қаратайлик. Дастлаб эътиборингизга қуйидаги статистика маълумотларини ҳавола этмоқчимиз: мамлакатимизда, биргина паррандачилик комплекси 200000 т. озиқа ишлатади, бу озиқага 20000 т. ОВК, 200 т. амилаза, 200 т. целлюлаза, 80 т. лизин ва 60 т. метионин кўшиш керак бўлади.

Хўш, буларнинг ўрнини қандай қондириш мумкин? Маълумки, дон чорвачилик учун асосий энергия ва оксил манбаи ҳисобланади. Паррандачиликда деярли 100%, чўчкачиликда 80%, қорамолчиликда 30% озиқа – бу маккажўхори, арпа, буғдой ва жавдар каби бошоқли экинлар ҳиссасига тўғри келади.

Ҳайвонларнинг маҳсулдорлигини унга бериладиган озиканинг тўйимлилиги, шунингдек ундаги оксилнинг танқис аминокислоталарга



бойлиги таъминлайди. Бирок, асосий фураж экинлари – маккажўхори ва бўғдой – бу талабларга жавоб бермайди. Фикримизнинг исботи сифатида кишлоқ хўжалик фанлари доктори Г.В.Редчиковнинг куйидаги илмий маълумотини келтирамиз: “Бўғдой, арпа, маккажўхори донида оксил микдори жуда кам бўлиб, энг муҳими чўчка болалари учун зарур бўлган лизиннинг атиги 23 – 37%, жўжалар учун эса атиги 20 – 32% мавжуд. Лизиннинг бунча етарли бўлмаган микдорини ҳам хайвонлар тўлалигича ўзлаштира олмайдилар, яъни чўчка арпа дони таркибидаги лизиннинг 26, маккажўхоридаги лизиннинг 72, бўғдойдагининг 50 фоизини ўзлаштириши мумкин, холос (Дон оксилени яхшилаш ва уларни баҳолаш: М. Колос, 1978. 168 б)

Маълумки, хайвонлар озиқадаги фақат танқис аминокислоталар улушига тенг келадиган оксил қисмидан самарали фойдаланиш қобилятига эга. Бундан келиб чиқадиган бўлса, дон озиқасига энг қимматли компонент – оксил, агар у лизинга тўйинмаган бўлса, хайвонлар организми уларни ўз организмлари ва тўқималарида оксил ҳосил қилишга эмас, бошқачароқ айтганда гўшт, сут, тухум ёки жун ҳосил қилишга эмас, балки ички энергия манбаи сифатида сарфлайдилар. Донда танқис аминокислоталар – сифатида треонин ва триптофан етишмаси ҳам шу ҳолат юз беради.

Хўш, бошоқли экинлардаги бундай табиий етишмовчиликни қандай бартараф этиш мумкин? Бунинг учун донли озиқа таркибига балиқ ва суяк уни, сут кукуни, соя (дондан ёғи ажратиб олингандан кейин қолган шрот ёки қунжараси) ва озиқа ачитқисини қўшиш керак.

Мутахассисларнинг ҳисобларига кўра, ишлаб чиқариш ҳажмининг энг юқори унумдорлиги шароитида қорамолларни боқиш учун балиқ ва суяк уни, сут кукуни, соя қунжараси ишлатилиб, 1995–2000 йилларда чорвачиликнинг оксилга бўлган талабини бор йўғи 28–30% микдорида қондиради, дейилганди.

Бу етишмовчиликни бартараф этиш учун биотехнология саноати маҳсулотлари энг аввал чорвачиликни комплекс омухта емини бойитишга мўлжалланган турли маҳсулотларидан фойдаланади. Улар орасида озиқа ачитқиси алоҳида ўрин тутди.

Озиқа ачитқиси–тўйимлилик хусусияти бўйича барча юксак ўсимликлардан устун туради. Хайвон оксил рационининг 25% ни ачитқи замбуруғи оксиге ташкил этади. Бу оксил самарадорлиги бўйича сут оксиге – казеиндан кам фарқ қилади. Ачитқиге оксигенинг 80% дан кўпроғи ўзлаштирилади. Ачитқиге оксигенинг ҳазм бўлиш коэффициентиге қорамоллар, қўйлар ва жўжаларда 83– 91% оралиғида ўзгариб туради. Уларнинг устун томони шундаки, айнан ачитқиге таркибида донли озиқада етарли бўлмаган танқис аминокислоталар кўп бўлади.

Мисол тариқасида куйидагиларни эътиборингизга ҳавола этамиз. Бир тонна ачитқиге 41–42 кг танқис аминокислота (лизин) бўлса, 1 т. арпа ва сўлида бу микдор 10 маротаба камдир: бошқа танқис аминокислоталар (треонин, метионин, триптофан) ачитқиге арпа ва сўлидагидан 3 – 5 марта



кўп. Глутамин кислота эса 1 тонна ачиткида 65 – 110 кг атрофида бўлиб, дондагидан анча кўп бўлади.

Бу кўрсаткичлар ачиткининг унча кўп бўлмаган микдори (хажмига нисбатан 5 – 6%) ўсимлик оксилининг сифатини ва хазм бўлишини кескин орттиришига ҳамда улар сарфини анча камайтиришга имкон яратади.

Микроб биотехнологияси саноати таклиф этаётган озиқа ачиткилари В гурухи витаминларининг ҳам манбаи бўлиб ҳисобланади.

Маълумки, чорва моллари учун зарур бўлган витаминлардан ҳатто бирортаси етишмаган тақдирда ҳам улар меъридагидек ривожлана олмайди. Модда ва энергия алмашинуви бузилиб, организмнинг химоя кучи заифлашади. Ўсимлик озиқасида эса витамин кам бўлади ва ҳатто бор витаминлар ҳам уларни тайёрлаш, сақлаш ва қайта ишлаш вақтида тез бузилади, айрим ҳаётгий витаминлар эса ўсимликларда умуман ҳосил бўлмайди.

Озиқа ачиткиси таркибида арпа, сўли, нўхат ва сояга нисбатан – рибофлавин ( $B_2$ ) микдори 20–75 марта, пантатен кислотаси ( $B_3$  витамини) 5–10 марта, холин ( $B_4$ ) эса 2–6 марта кўп бўлади. Бу витаминлар ҳайвон организмда аминокислоталар алмашинувида, ўсимлик озиқасидаги протеиндан фойдаланишда ва оксил биосинтезида ҳал қилувчи роль ўйнайди.

Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, озиқа ачиткисида  $B_{12}$  (цианокобаламин) витамини бўлмайди. У ўсимликларда ҳам синтез бўлмайди. Уни фақат одам ва ҳайвонлар ичагида яшовчи бактериялар ва актиномицетлар синтез қиладилар. Чўчкалар, паррандалар ва ёш қорамолларда бу витамин жуда кам ҳосил бўлади.

Шу билан бирга  $B_{12}$  витамини қон ҳосил бўлишда, метионин, холин - нуклеин кислоталар синтезида, оксил, ёғлар ва углеводларнинг алмашуви жараёнида муҳим аҳамиятга эга.  $B_{12}$  витамини етишмаслиги жўжалар, чўчка болалари, кўзичок ва янги туғилган бузоқларнинг ўсишидан қолишига, касалланишига ва ўлимига олиб келади, ҳамда чорва моллари маҳсулдорлигини камайтириб, ўсимлик озиқаси оксилининг хазм бўлишини кийинлаштиради.

Шунинг учун рационга унчалик кўп бўлмаган микдорда  $B_{12}$  витамини кўшиш (1 тонна озиқа ҳисобига бор йўғи 0,015 – 0,025 грамм) кўшиш ажойиб натижалар бериб, юқоридаги барча кўнгилсизликларнинг олдини олади.

Микробиологик биотехнология саноатида эса  $B_{12}$  витаминини ацетон-бутил ишлаб чиқаришдаги чиқиндиларни метанобактериялар билан ачитиш орқали олиш мумкин.

Бундан ташқари чорвачиликда биотехнологик саноатнинг ажойиб маҳсулоти – ферментли препаратлардан фойдаланиб қўшимча гўшт ва сут етиштириш мумкин. Рацион таркибига қўшилган фермент препаратлари тирик организмга, айниқса улар анча ёш бўлганда, озиқа моддаларининг яхши ҳазм бўлишида ёрдам беради. Шу туфайли чўчка болалари, бузоқлар ва кўзичоклар ўсиши тезлашади. Уларнинг ўрта суткалик вазни 10–12% га ортади, озиқа сарфи тежалади. Бироқ бу ҳали ҳаммаси эмас. Яхши озиқа массасини сут ачитувчи бактериялар ҳосил қиладиган сут кислотаси билан



кишга силос тайёрлаш, консервалаш мумкин. Силос тайёрланганда озика моддалари, жумладан, витаминлар одатдаги пичан тайёрлашдагига нисбатан анча кам нобуд бўлади.

Демак, чорвачиликни ривожлантиришнинг энг муҳим томонларидан бири – бу озика сифатини такомиллаштиришдир.

Биз шу пайтгача микроорганизмларни фойдали томонлари чорвачилик озика рационини бойитиш йўллари хақида хикоя қилдик. Энди эса бактериялар ва замбуруғлардан фойдаланган ҳолда одамнинг овқатланиш рационини такомиллаштиришга эътиборимизни қаратмоқчимиз.

Ғалла ва бошқа қишлоқ хўжалик экинларини етиштириш учун қанчалик куч ғайрат ва меҳнат сарф қилиниши ҳеч қимга сир эмас. Шунингдек, чорвачиликда ҳам буни қўриш мумкин. Мисол тариқасида қуйидаги маълумотларни эътиборингизга ҳавола этмоқчимиз: Ҳар бир тонна ҳайвон оксили синтези учун камида 4,8 – 4,9 тонна енгил ҳазм бўладиган озика оксили сарф қилишга тўғри келади. Агар биз исътемола қиладиган ҳайвон маҳсулотларини алоҳида олиб қўрадиган бўлсак, қуйидаги манзара намоён бўлади: 1 т сут оксилини тайёрлаш учун 3,8 – 4,0 т; 1 т. тухум оксили учун – 3,9 – 4,1 т; 1 т. парранда гўшти оксили учун – 4,5 – 4,7 т; 1 т. мол гўшти оксили учун эса 9,3 – 9,7 т. ҳисобига озика оксили сарфланиши аниқланган.

Ҳайвонларни бундай катта – сарф харажатлар билан узоқ вақт парвариш қилиш чорва маҳсулотларидаги оксил таннархининг қимматлашиб кетишига олиб келади.

“Хўш, нима қилиш керак?” – деган савол туғилиши табиийдир. Биотехнология, микробиология ва кимё фанлари ижодий ҳамкорликда озика моддалари, биринчи навбатда уларнинг энг муҳим ва қимматли қисми – оксил олишнинг замонавий технологияларини ишлаб чиқди. Яъни, ачитки замбуруғлар озика маҳсулотларининг таркибини бойитишнинг энг асосий манбаларидан бири эканлиги исботланди.

Шунингдек, *Candida* авлодига мансуб, тез ривожланувчи ачиткилар ва секин ўсадиган *Saccharomyces* авлодига мансуб ачитки замбуруғлар вакиллари нонвойчилик ва пивочилик соҳаларида ишлатилиши барчамизга маълумдир. Мазкур микроблар ёрдамида ўша танқис аминокислоталар – лизин, триптофан, треонин ва метионин ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Аминокислота ва ачиткилардан биринчи навбатда энг асосий озика маҳсулоти, ризк-рўзимиз бўлган ноннинг озика қийматни оширишда фойдаланиш мумкин.

Олимларнинг аниқлашича нонда оксил миқдори унчалик кўп эмас: жавдар унидан тайёрланган ноннинг 100 грамида ҳаммаси бўлиб 6,5 граммгача, бугдой унидан тайёрланган нонда – 8,3 грамм оксил бўлади, холос. Бирок, олимлар ўрта ёшли кишининг бир кунда 450 г нон ейиши туфайли оладиган оксил миқдори бор – йўғи 29 граммга яъни унинг ўртача суткалик эҳтиёжининг учдан бирига тенг қилишини аниқлаганлар. Шунингдек, нонда лизин, триптофан, метионин етишмайди. Умуман бугдой ноннинг биологик қиймати 38% ни ташкил этса, оксилнинг соф парчаланиши



33% га тенг. Хўш, қандай усуллар билан ноннинг биологик самарадорлигини ошириш мумкин?

Бунда бизга яна биотехнологик жараён орқали олинган лизин ёрдам бериши мумкин. Олимларнинг таъкидлашларича: 1 т унга атиги 150 грамм лизин қўшилганда нондаги оксил сифати кескин ошиши аниқланган.

Бугдой унига биргина танқис аминокислота – лизин қўшилгандагина натижалар ана шундай. Агар ун таркибига етишмаётган барча танқис аминокислоталар қўшилса, нима бўлади?

Демак, бугдой унига танқис аминокислоталарга бой бўлган аминокислоталарни, замбуруғларни (хамиртуруш) солиш орқали биз аминокислоталар таркиби ва биологик қиммати бўйича сут ва тухум оксилларига яқин ва мол гўшти оксилларидан қолишмайдиган нон маҳсулотларини олишимиз мумкин. Хамиртуруш фақатгина танқис аминокислоталарга эмас, балки витаминларнинг миқдори ва сифати бўйича ҳам анча бойдир.

Умуман, биотехнология ва саноат микробиологиясининг ривожланиши фақат кўп тоннали қимматли озиқа ишлаб чиқаришни эмас, балки турли хилдаги физиологик фаол моддалар ишлаб чиқариш имконини ҳам беради.

Бу борада биотехнология саноати имкониятлари бекиёсдир. Уларнинг яна бир тармоғи ўсимлик қолдиқларидан (шоҳ – шабба, ғўзапоя, маккажўхори пояси, сомон ва ҳоказо) шакар ва унинг ўрнини босувчи маҳсулотлар ишлаб чиқаришдир.

Микробиолог олимларнинг тажриба – саноат синовлари ва ҳисобларининг кўрсатишича, 1 т. курук ёғочдан 450 – 500 килограммга етказиб шакар ёки бир кубометр зичланган ёғоч кипиғи, дарахт парчалари ва ўтиндан эса 180 – 200 кг гача шакар олиш мумкин. Олинган тоза шакар моддаси микробиология саноати учун оксил моддалари ачиткилари, витаминлар, спирт ва бир қатор моддалар ва маҳсулотлар ишлаб чиқаришга яроқли бўлади. Худди шу йўл билан глюкозани ишлаб чиқариш ҳам мумкин. Бунда яна биотехнологлар ёрдамига таянамиз.

Бунинг учун ўсимликнинг целлюлоза сакловчи қолдиқларига кимёвий ёки ферментатив ишлов берилади ва натижада 55% глюкоза ва 45% фруктозалардан иборат шарбат олиш мумкин. Бундай аралашма ширинлиги бўйича биз одатланган сахарозага тенглашиб, саноат йўли билан олинадиган лавлагли шакари ўрнини босиши мумкин.

Глюкозаизомеразанинг кашф этилиши ва унинг кенг қўлланилиши шакарли моддалар ишлаб чиқариш йўлида катта бурилиш ясади. Иммобилизация қилинган бу фермент ёрдамида АҚШ, Япония, Дания, Финландия каби бир қатор ривожланган мамлакатларда қанд лавлагидан эмас, балки анча арзон ва етарли бўлган хомашё маккажўхори донидан миллионлаб тонна шакарли озиқа маҳсулотлари ишлаб чиқарилмоқда. 2000 йилнинг ўзида 3 млн. тонна глюкоза фруктоза шарбати ишлаб чиқарилган ва бу жараён учун зарур бўлган глюкозаизомераза ферменти 40 млн. АҚШ доллари ҳажмида ишлаб чиқарилган.



Шу ўринда эътиборингизни ширин таъм берувчи моддаларга талаб даражасининг ошиб бораётганлигига қаратмоқчимиз.

Эндиликда биотехнология саноати ширин моддалар ишлаб чиқариш соҳасида мутлақо янги саҳифа очмоқда. Бу борада дастлабки самарали ишни Англиянинг Кент университети профессори К.Стеси бажарди, у ўз ходимлари билан ҳамкорликда замонавий биотехнология ва ген муҳандислиги усуллари билан шакарга нисбатан минг марта ширинроқ бўлган оксил синтез қиладиган генни ажратиб олди ва бактерияга (*E. coli*) ўтказди. Бактерия бу маҳсулотни ишлаб чиқара бошлади. Шунинг аълоҳида таъкидлаб ўтиш лозимки, янги трансген микроб-организм, одам организми тана ҳароратидан юқори ҳароратда ўсиб қўпаяди. Шунинг учун ҳам у инсон учун умуман хавфли эмас.

Айни пайтда биотехнологик ишлаб чиқариш амалиётида қуйидаги ширин таъм берувчи маҳсулотлар ишлаб чиқарилмоқда. Аспартам-200,0, Стевезд-150,0, Тауматин-сахарозадан 3000,0 маротаба ширин бўлган маҳсулотлардир. Буларнинг барчасини синтез қилувчи генлари ичак таёқчаси (*Escherichia coli*) бактериясига трансформация қилинган ва саноатда фойдаланилмоқда.

Бундай микроорганизмларни саноат миқёсида қўпайтириш жуда катта самара бериши табиий ҳолдир. Айни вақтда мамлакатимизда шакар маҳсулотига бўлган талабни қондиришда бу усул жуда асқотади деб ҳисоблаймиз.

Бундан ташқари микробиологик синтез йўли билан олинган оксил ва бошқа озиқ моддалардан, суний озиқ-овқат маҳсулотлари тайёрлаш мақсадида фойдаланилганда тўла қийматли озиқ ишлаб чиқаришни амалда чекланмаган ҳажмда ташкил қилиш мумкин.

Ёшлик даврини узайтириш, кексаликкача бўлган муддатни имконият даражасида чўзиш, меҳнат ва ижтимоий қобилиятни узоқ йиллар сақлаб қолиш муаммолари қўп мўнода одамнинг оқилона ва сифатли овқатланишига боғлиқ.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. — Тошкент: 2008. -504 с



## Мавзу–2. Соғломлаштирилган картошка олишда in vitro кўпайтириш усули

Режа:

1. Хужайра тўқималарини in vitro усулида кўпайтириш
2. Озиқа мухитлар
3. Культуралаш шаронти

Ажратилган тўқималар культураси билан ишлашнинг асосий шарти стерилликка қатъий риоя қилишдир. Озиқа мухитининг бой таркиби микроорганизмлар ўсиши учун ҳам яхши субстрат ҳисобланади. Озиқа мухитда культураланаётган ўсимлик қисмларини (эксплантлар) микроорганизмлар осон зарарлайди. Шунинг учун эксплант ҳам, озиқа мухити ҳам стерилланган бўлиши шарт. Ажратилган тўқималар билан олиб бориладиган барча ишлар (культурага ўтказиш, янги озиқа мухитига кўчириш) стерил хоналарда, (ламинар боксларда) стерил асбоблар ёрдамида амалга оширилади, ажратилган тўқималарни ўстириш даврида ҳам стерилликни сақлаш лозим, чунки ҳарорат пасайганда, ёки намлик юзага келганда идишнинг нам тикини орқали пробирка ичига микроорганизмлар кириши мумкин.

Эксплант ва уруғлар 5-20 мин стерилловчи эритмада стерилланиб, сўнг бир неча марта стерил сувда ювилади. Стериллаш вақти эксплантни табиатига ва стерилловчи эритманинг фаоллигига боғлиқ. Уруғлар 10 –20 мин, вегетатив қисмлар эса 5-10 мин стерилланади (1-жадвал).

Культуралаш учун олинган ўсимлик эксплантлари олдин совунли сувда ишқалаб ювилади ва дистилланган сувда чайилади, сўнг бир неча секундга 70 % ли этанолга солинади, уруғлар эса 1-2 мин.га спиртга солиб қўйилади. Спирт тўқималарни стериллаш билан бирга асосий стерилловчи эритманинг стериллаш самарасичи ҳам оширади. Спиртдан сўнг тўқималар стерил сувда ҳам чайилади.

1-жадвал

Ўсимлик материалларини стериллаш (Р.Г.Бутенко 1990)

| Объект                                 | Стериллаш вақти    |                    |                                        |                                    |
|----------------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------------------------|------------------------------------|
|                                        | 0,1 % ли<br>диацид | 0,1 % ли<br>сулема | 5-7 % ли<br>(Na,Ca) гипо-<br>хлоридлар | 10-12 % ли<br>водород<br>пероксида |
| Курук уруғ                             | 15-20              | 10-15              | 15-20                                  | 12-15                              |
| Ивитилган уруғ                         | 6-10               | 6-8                | 10-15                                  | 6-8                                |
| Илдиз, тугунаклари-<br>нинг тўқималари | 20-30              | 15-25              | 15-20                                  | —                                  |
| Ёғочланган поялар                      | 20-40              | 20-25              | 20-25                                  | —                                  |
| Барглар                                | 1-3                | 1-3                | 3-6                                    | 3-5                                |
| Апекслар                               | 1-10               | 1-7                | 3-15                                   | 2-7                                |



Ташки стериллаш фақат ташқаридаги инфекциялардан холи қилади. Агар эксплант да ички инфекция мавжуд бўлса, у ҳолда антибиотиклар билан ишлов бериш зарур. Асосан тропик ва субтропик ўсимлик тўқималари ички инфекцияларга бой бўлади. Замбуруғ ёки бактериялар билан зарарланган культурани экилганидан 1-14 кундан сўнг аниқлаш мумкин. Микроорганизмлар билан зарарланган культураларни хонага тарқалиб хавони ифлослантормасдан уларнинг олдини олиш зарур.

Озиқа муҳитлари автоклавда 120°C ҳароратда 0,75 – 1 атм босимда 20 минут давомида стерилланади. Агар озиқа муҳит таркибига юқори ҳароратда парчаланиб кетувчи моддалар киритилган бўлса, у ҳолда бу моддалар махсус бактериал филтрлардан ўтказиб тозаланади, сўнг автоклавланган ва 40°C га ча совитилган асосий озиқа муҳитга қўйилади.

Идишларни олдиндан зар қоғозга ёки оддий қоғозга ўраб, қуритиш шкафларида 160°C ҳароратда 2 соат давомида стериллаш лозим.

**Озиқа муҳитлар.** Ажратилган хужайра ва тўқималарни культуралаш учун озиқа муҳитлари таркибида ўсимлик учун зарур бўлган барча макроэлементлар (азот, фосфор, калий, кальций, магний, олтингугурт, темир) микроэлементлар (бор, марганец, рух, мис, молибден ва бошқалар) шунингдек витаминлар, углеводлар, фитогормонлар ёки уларнинг аналогларини тутиши зарур. Баъзи озиқа муҳитларга казеин гидролизати, аминокислоталар ҳам қўшилади. Бундан ташқари, хужайранинг темирга бўлган талабини кондириш учун озиқа муҳитлар таркибига ЭДТА (этилендиаминтетрасирка кислота) ёки унинг натрийли тузи киритилади.

Каллус тўқимаси олиш учун баъзи ҳолларда озиқа муҳит таркибига кокос ёнғоғининг суюқ эндосперми (какос сути), каштан қўшилади. Углеводлар ажратилган хужайра ва тўқималар культураланаётган озиқа муҳитнинг зарурий таркиби ҳисобланади. Чунки улар артотроф озиқланиш хусусиятига эга эмас. Углевод манбаи сифатида 2-3% ли концентрацияда сахароза ёки глюкозадан фойдаланилади.

Фитогормонлар хужайраларнинг дедифференцияланиши ва хужайралар бўлинишини тезлаштириш учун зарур. Шунинг учун каллус тўқималар олишда озиқа муҳит таркибида албатта ауксинлар (хужайралар дедифференциясини чакиради) ва цитокининлар (хужайралар бўлинишини чакиради) бўлиши шарт. Поя морфогенезини юзага келтиришда озиқа муҳитдаги ауксиннинг миқдори камайтирилади ёки умуман қўшилмайди.

Гормонсиз муҳитда шиш тўқималари ёки кўниккан тўқималар ўсади. Улар ўзлари гормон синтез қилиш хусусиятига эга бўлади.

Озиқа муҳитларда ауксин манбаи сифатида 2,4-дихлорфеносирка кислота (2,4-Д), индолил 3-сирка кислота (ИСК), нафтилсирка кислотаси (НКС) дан фойдаланилади. Говак, (пўк) яхши ўсувчи каллус тўқимаси олиш учун асосан 2,4-Д дан фойдаланилади, чунки унинг фаоллиги ИСКга нисбатан 30 марта юқори.



Сунъий озика мухитларда цитокинин манбаи сифатида кинетин, 6-бензиламинопурин (БАП), зеатиндан фойдаланилади. Ажратилган тўқималарни ўстиришда, органларни ҳосил қилишда кинетинга нисбатан 6-БАП ва зеатиндан фойдаланиш кўпроқ самара беради. Баъзи озика мухитлар таркибига аденин қўшилади.

Ҳозирги вақтда таркиби жиҳатидан бир-бирларидан фарқ қилувчи бир нечта озика мухитлари маълум. Лекин ажратилган хужайра ва тўқималарни *in vitro* ўстириш учун асосан 1962 йилда Т. Мурасига ва Ф. Скуга томонидан яратилган таркибдаги озика мухитларидан фойдаланилади. Бу мухитда озика моддалар таркиби балансланган бўлиб, аммонийли ва нитратли азотнинг нисбати билан бошқаларидан фарқ қилади.

Қаттиқ озика мухити тайёрлаш учун денгиз сув ўтларидан олинадиган полисахарид агар-агар моддасидан фойдаланилади (2-жадвал).

Макро-микро элементлар тузлари эритмаларини, шунингдек витаминлар ва фитогормонларнинг концентрланган (микдори оширилган) эритмаларини тайёрлаб, улардан оз микдорда олиб, суялтириб ишлатиш мумкин. Концентрланган бошланғич эритмалар совутгичда сақланади.

2-жадвал

Ўсимликнинг ажратилган тўқималарини культуралаш учун озика мухитлар таркиби

| Озика мухит<br>компонентлари                        | Концентрацияси мг/л |          |                        |                   |
|-----------------------------------------------------|---------------------|----------|------------------------|-------------------|
|                                                     | Мурасига-<br>скура  | Гамборга | Шенка-<br>хильдебрандт | Грессхофф-<br>доу |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$                            | 1650                | 2500     | 2500                   | --                |
| $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$                  | --                  | --       | 300                    | --                |
| $\text{KNO}_3$                                      | 1900                | --       | --                     | 1000              |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 440                 | 150      | 200                    | 150               |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 370                 | 250      | 400                    | 250               |
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$                        | --                  | 130      | --                     | 200               |
| $\text{H}_2\text{PO}_4$                             | 170                 | --       | --                     | --                |
| $\text{Ca}_2\text{ЭДТА}$                            | 37,3                | 37,3     | 20,0                   | 37,3              |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 27,95               | 27,85    | 15,0                   | 27,8              |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  | --                  | 150      | --                     | 90                |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 6,2                 | 3,0      | 5,0                    | 3,0               |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 22,3                | 10,0     | 10,0                   | 10,0              |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 8,6                 | 2,0      | 1,0                    | 3,0               |
| KI                                                  | 0,83                | 0,75     | 1,0                    | 0,75              |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0,25                | 0,25     | 0,1                    | 0,25              |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$           | 0,025               | 0,025    | 0,2                    | 0,25              |
| $\text{CoU}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$            | 0,025               | 0,025    | 0,1                    | 0,25              |
| Глицин                                              | 2,0                 | --       | --                     | 2,0               |



|                   |        |         |        |        |
|-------------------|--------|---------|--------|--------|
| Мезоинозит        | 100    | 100     | 1000   | 10     |
| Никотин киодотаси | 0,5    | 1,0     | 5,0    | 1,0    |
| Пиридоксин -HCl   | 0,5    | 1,0     | 0,5    | 0,1    |
| Тиамин-HCl        | 1      | 10,0    | 5,0    | 0,1    |
| 2,4-Д             | --     | 0,1-1,0 | --     | --     |
| Кинетин           | --     | 0,1     | 0,1    | --     |
| Глутамин          | --     | --      | --     | 2,0    |
| Сазароза          | 30 000 | 30 000  | 30 000 | 20 000 |

**Културалаш шаронти.** Ажратилган хужайра ва тўкималарни културалашни амалга ошириш учун ўстиришнинг зарурий шартларига амал қилиш лозим.

Аксарият каллус тўкималари ёруғликка мухтож эмас, чунки уларнинг хужайраларида хлоропластлари бўлмади ва гетеротроф озикланади. Баъзи яшил каллус тўкималари масалан, мандрагоралар бундан мустасно. Айрим ҳолларда каллус тўкималари авторотроф озикланишга қодир бўлмасалар ҳам узлуксиз ёруғлик шаронтида ўстирилади, бу муваффиқиятли морфогенез ҳосил бўлишининг зарурий шарти ҳисобланади. Асосан каллус тўкималарини олиш учун қоронғулик ёки сочма ёруғлик шаронти яратилади.

Шакллана бошлаган тўкималар ёруғликда 1000-4000 лк ёритиш остида култураланади.

Изоляцияланган меристемаларни културалаш ва уларни микроқўпайтириш ёруғликда амалга оширилади. Хоналарни ёритиш даражаси културага боғлиқ ҳолда 3000-10000 лкни ташкил қилиши керак.

Мазкур култураланаётган объект учун зарур бўлган фотодаврни ҳисобга олиш зарур. Културалар ўсаётган хонада намлик 60-70% ни ташкил этиши керак. Агар пробирка ёки қолбалар оғзи пахта тикин билан ёпилган бўлса, кўрук ҳаво озик мухитлар қуришига ва концентрациясининг бузилишига сабаб бўлиши мумкин. Хонадаги намликнинг микдорини ошириш учун идишларда сув қўйиб қўйиш мумкин. Қўпчилик култураланаётган тўкималар учун оптимал ҳарорат 25-26°C, тропик ўсимликлар тўкималари учун эса 29-30°C ни ташкил қилади. Морфогенез индукциясини амалга оширишда ҳарорат 18-20°C га пасайтирилади. Ёруғлик, ҳарорат ва оптимал намлик режимини климатик камералар ёрдамида яратиш мумкин.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с



**Мавзу-3. Хўжалик аҳамияти қимматли бўлган картошка :  
шакллари олиш**

**Режа:**

**1. Хўжалик аҳамияти қимматли бўлган картошка шакллари олишда  
ген мухандислиги усулларида фойдаланиш**

Қишлоқ хўжалик экинларининг хўжалик аҳамияти қимматли бўлган шакллари олишдаги вазифалардан энг муҳим уларнинг озикавий ва техник қийматни белгиловчи синтез бўладиган моддаларни: оксил, мой, полисахаридлар ва бошқаларни сифатини яхшилашдан иборатдир. Бу озика моддалар бир неча ўзаро ўхшаш структурага эга ва геномини нуклеопидлар таркиби бўйича яқин мультигенлар оиласида кодланади. Одатда бу генларнинг экспрессияси ўзига хос бўлиб, улар ўсимликнинг ривожланишининг махсус босқичида содир бўлади.

Анавий селекция усулларида фойдаланиб картошканинг озикавий таркибини яхшилаш жуда қийин. Бунга сабаб қишлоқ хўжалик экинларининг қимматли хўжалик белгиларини сакловчи генлар боғланган ҳолда бўлиб, бошқа кераксиз белгилар ҳам биргаликда юзага чиқиши мумкин.

Шу сабабли хўжалик аҳамияти қимматли бўлган шакллари олишда ген мухандислиги усуллари қўллаш истикболли ҳисобланади. Мазкур усуллар ёрдамида қишлоқ хўжалик экинларининг геномига керак бўлмаган белгилардан холи ва фақат фойдали белгиларга эга генлар киритилади.

Бу усулда ишларни амалга ошириш бин неча босқичда амалга оширилади:

1) озикавий қийматни яхшиловчи генларни клонлаш; 2) мазкур механизмни белгиловчи генни ДНК занжири қаторига киритиш; 3) генлар кетма-кетлигини жойлашишини мақсадли ўзгартириш; 4) ўзгартирилган ген саклаган векторни ҳосил қилиш; 5) модификация қилинган генни ўсимликка киритиш.

Хўжалик аҳамиятли қимматли бўлган трасген картошкани олишни катта гайёргарлик кўрмасдан туриб, яъни бутун генни ва қимматли озикани синтетик жавоб берувчи элементларни синчиклаб ўрганмасдан туриб амалга ошириб бўлмайди.

Ҳозирда юқоридаги усуллар ёрдамида бошқа қишлоқ хўжалик экинларининг қимматли бўлган шакллари олинган.

**Адабиётлар**

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с



#### Мавзу: 4. Экинларни клонли-микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари

##### Режа:

1. Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари
2. *In vitro* усулини ўсимликларни кўпайтиришдаги аҳамияти

Уруғли ўсимликлар икки хил йўл билан: уруғдан ва вегетатив йўл билан кўпаяди. Бу иккала йўлни устиворлиги ҳам камчилиги ҳам бор. Уруғдан кўпайишнинг камчилигига энг аввало, олинган кўчатларни генетик хилма-хиллиги ва ювенил (уруғдан чиққан майсадан ёки вегетатив куртақдан репродуктив органлар ҳосил қилиш) даврининг узунлигини кўрсатиш мумкин.

Вегетатив кўпайишда она ўсимликни генотипи сақланиб қолади ва ювенил давр қисқарок бўлади. Аммо кўпчилик турлар (энг аввало ёғоч ҳосил қиладиганлар) учун вегетатив кўпайиш муаммоси охиригача ўз ечимини топгани йўқ. Бунга асосий сабаблар қуйидагилар:

*Биринчидан, кўпчилик турлар (навлар) ҳаттоки, ювенил босқичда ҳам вегетатив усулда керакли самара билан кўпаявермайди (эман, тилоғоч, ёнғоқдошлар ва бошқалар);*

*иккинчидан, кўпчилик дарахтли ўсимликларни 10-15 ёшдан кейин, қаламча ёрдамида кўпайтириши мумкин эмас;*

*учинчидан, ҳар доим ҳам стандарт экинчи материали олиш мумкин эмас (юқумли касалликлар тўпланиши ва ўтиши мумкин);*

*тўрттинчидан, пайванд қилиш орқали катта ёшли (ёғочли) ўсимликларни кўпайтириши жуда ҳам қийин ва мураккаб;*

*бешинчидан, йил давомида бир хил генетик материални олиш учун ишлаб чиқилган технологиялар самарадорлигининг ўта пастлигидир.*

Хужайра ва тўқималар культуралари соҳасида эришилган ютуқлар вегетатив кўпайишни тубдан янги бўлган усули клонал микрокўпайтириш (*in vitro* шаронтида (пробиркада), жинсий бўлмаган йўл билан, ўсимликларни дастлабки нусхаси билан генетик бир хил бўлган навини яратиш) усулининг яратилишига олиб келди.

Бу усул асосида ўсимлик хужайраларигагина хос бўлган ноёб хусусият, тотипотентлик хусусияти, яъни ташқаридан келадиган таъсир орқали бутун ўсимлик организми ҳосил бўлишига туртки бўлиши ётади. Албатта, бу усулни бошқа анъанавий усуллардан устунлик томонлари жуда ҳам кўп: энг аввало бу устунликлар қуйидагича изоҳланиши мумкин:

- генетик бир хил экув материалнинг олиниши;
- меристема тўқималари культуралари ишлатилиши ҳисобида ўсимликларни вирусли ва бошқа юқумли касалликлардан ҳоли бўлиши;
- кўпайиш коэффициентининг юқорилиги (ўтчил ва гулли ўсимликлар учун  $10^4$ - $10^5$ ; нинабаргли ўсимликлар учун  $-10^4$ );



- селекция даврининг қисқариши;
- ўсимлик ривожланишини ювенил даврдан репродуктив фазага ўтишини тезлаштириш;
- анъанавий йўллар билан қийин кўпаядиган ўсимликларни кўпайтириш;
- ишни йил давомида таъкил этиш имкониятларининг мавжудлиги ва кўчат материаллари ўстириш учун керак бўлган майдонни тежаш;
- ўстириш жараёнини автоматлаштириш имкониятлари ва ҳ.к.

Клонал микрокўпайтиришни дастлабки муваффақиятлари ўтган асрнинг 50-йиллари охирида француз олими Жорж Морел орхидея ўсимлигининг регенерантини яратганда эришилган эди. Бу муваффақиятга ўша вақтларда яратилган, *In vitro* шароитида ўсимликларни апикал меристемааларини кўпайтириш техникаси ўз хиссасини қўшган. Одатда олимлар бирламчи эксплант сифатида ўтчил ўсимликларни устки меристемааларидан фойдаланадилар, ва озика муҳити таркибини ўсимликни регенерация ва пайдо бўлиш жараёнларига таъсирини ўрганадилар. Худди шу мақсадда чиннигул, хризантема, кунгабокар, нўхат, маккажўхори, кокиўт ва бошқа ўсимликлар ўрганиб чиқилган эди.

Ж.Морель ўз тажрибаларида худди шундай қилиб, цимбидиум (орхидеялар оиласига мансуб ўсимлик)ни учки қисмини ишлатган. У ўсиб келаётган конуссимон кўринишдаги ва икки-уч барг олди элементларидан иборат бўлган ва ундан маълум шароитда куббали, юмалоқ-прокоримлар пайдо бўлишини кузатган эди.

Хосил бўлган (етилган) протокормларни бўлиш ва уларни кейин алоҳида мустақил равишда, янги тайёрланган озика муҳитида барг ва илдиз пайдо бўлгунча ўстиришга эришилган эди. Натижада Ж.Морель бу жараёни чегарасиз эканлигини ва шу йўл билан юқори сифатли генетик бир хил, вируссиз экув материални жуда ҳам кўп миқдорда тайёрлаш мумкинлигини кузатган эди.

Россияда клонал микрокўпайтириш профессор Р.Г.Бутенко номи билан боғлиқ. К.А.Темиряев номидаги ўсимликлар физиологияси институтида бу олима ўз шогирдлари билан, картошка, қанд лавлаги, чиннигул ва бошқа гулларни клонал кўпайтириш шароитларини ишлаб чиққан.

Мамлакатимизда бу усул илмий лабораторияларда синаб кўрилмоқда. Хусусан, Тошкент Давлат Аграр университети биотехнология кафедраси илмий лабораториясида картошкани клонал микрокўпайтириш усуллари орқали касалликларга, иссиққа, шўрланишга чидамли навларини яратиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Шуни ҳам эслатиб ўтиш ўринлики, микрокўпайтиришдан фойдаланиш доираси жуда кенг бўлиб, кундан кунга янада ошиб бормоқда. Энг аввало бу *in vitro* шароитида ўсимликларни ёғочли турларини, нина баргли ва айникса, йўқолиб кетаётган ўсимликлар ҳамда доривор ўсимликларни кўпайтириш мақсадида бу усулдан фойдаланиш катта самара бериши исботланган.

Ёғочли (дарахтларни) ўсимликларни тўқима культураси бўйича биринчи илмий ишлар 1920 йилларда чоп этилган бўлиб, француз олими Готре номи



билан боғлиқ. Бу мақолаларда тилогоч дарахти камбиал тўкималарини *in vitro* шароитида қаллусогенезга имкониятлари (кобилиятлари) борлиги хабар қилинган. 1960 йилларда Матес деган олим биринчи марта осин дарахти регенерантини олишга эришган ва уни тупроққа экишгача етказган. Нина баргли ўсимликларни *in vitro* шароитида ўстириш узок вақт давомида тажриба сифатида ишлатилиб келинган. Бу нина баргли (ювенил) ҳамда қари ўсимликлар тўкималаридан ўсимлик етиштириш мақсадида фойдаланиш анча қийинчиликларга олиб келиши билан боғлиқ.

Маълумки, ёғоч ҳосил қилувчи дарахтлар, айникса, нина баргли ўсимликлар жуда ҳам секин ўсадилар, қийин томир оладилар, жуда кўп миқдорда иккиламчи бирикмалар (феноллар, терпенлар ва бошқа моддалар) сақлайдилар, бу моддалар эса алоҳида ажратиб олинган тўкималардаги фенолаза ферментлари таъсирида оксидланадилар. Ўз навбатида фенолларни оксидланган маҳсулотлари одатда хужайрани ўсишини ва бўлинишини ингибирлайдилар, бу эса бирламчи эксплантларни нобуд бўлишига ёки ёғочли ўсимликлар тўкимасини регенерация имкониятларини пасайишига ва ёши улғайган сари секин-аста, бутунлай йўқолишига олиб келади. Аммо, қанчалик қийин бўлишига қарамадан олимлар изланиш манбаи сифатида тез-тез ёғочли ўсимликларни тўкима ва органларидан фойдаланиб келмоқдалар. Ҳозирги вақтга келиб, *in vitro* шароитида кўпайтирилган ёғочли ўсимликлар сони 40 оилга мансуб бўлган 250 турдан ошиб кетган (каштан, дуб, қайин, заранг, тоғ тераги, толни тоғ тераги билан гибриди, сосна, арча ва х.к.).

**Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари.** Клонал микрокўпайтириш жараёнини тўрт босқичга бўлиш мумкин:

*биринчи* – донор ўсимликни танлаш, эксплантларни ажратиш ва яхши ўсадиган стерил культура олиш;

*иккинчи* – микрокўпайтиришни ўзи, мори克隆ларни энг кўп (максимал) миқдорини олишга эришилган даврни ва шароитни танлаш;

*учинчи* – кўпайтирилган наводани илдиз олиши ва уларни тупроқ шароитига мослаштириш, керак бўлганда регенерант – ўсимликларни совуқ ҳароратда ( $+2^{\circ}$ ,  $+10^{\circ}$ ) сақлаш;

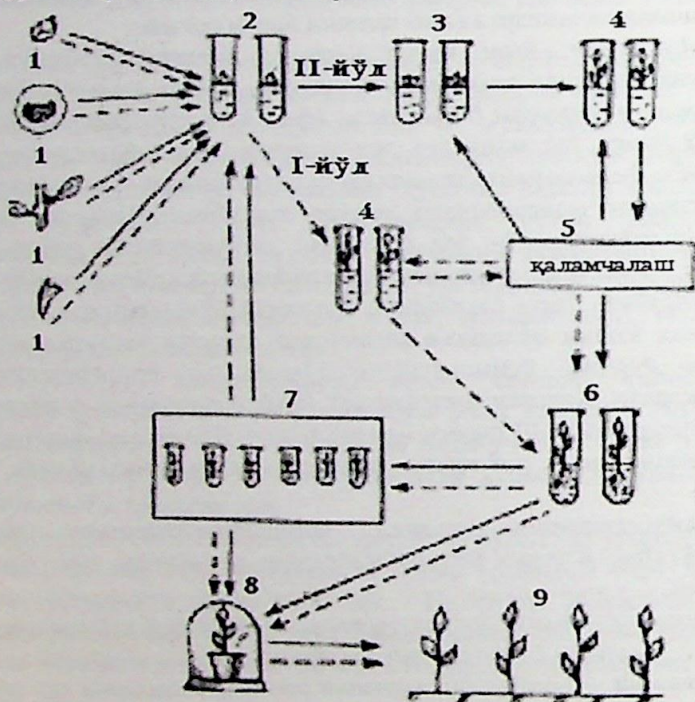
*тўртинчи* – ўсимликни иссиқхона шароитида ўстириш ва уларни майдонга чиқариб экиш ёки сотишга тайёрлаш (1-расм).

Клонал микрокўпайтиришни кўп усуллари маълум. Кўплаб муаллифлар эксплантларни ўстиришга шароитни морфогенез жараёнига таъсирини ўргана бориб, ўстириш шароитини ўзгаришига ҳар хил морфогенетик реакция бўлишини кузатганлар, бу эса клонал микрокўпайтириш методларини янги классификациясини яратилишига олиб келди.

Илмий адабиётлардан маълум бўлган, ўсимликларни микрокўпайтириш услублари асосида, бу жараёни қуйидаги йўллар билан амалга ошириш мумкин:



- ўсимликда бор бўлган меристемааларни ривожланишини жадаллаштириш (поя апекси, пояни куртаклари);
- эксплантлар тўқималарида тўғридан - тўғри адвентив куртаклар ҳосил бўлишини индукция қилиш;
- соматик эмбриогенезни индукция қилиш;
- бирламчи ва кўчат олувчи каллусли тўқималарда адвентив куртакларни табақалаштириш.



1-расм. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш

1-йўл – бор меристемааларни ривожланишини фаоллаштириш усули;

2-йўл- эксплантда адвентив куртаклар ҳосил бўлишини индукция қилиш.

1-дастлабки эксплант танлаш; 2-стерил культура олиш; 3-бирламчи эксплантда, тўғридан – тўғри адвентив куртаклар ҳосил бўлиш; 4- куртакларни ўсиши ва микро навдаларни ҳосил бўлиши; 5-микронавдаларни кўпайтириш (қаламча); 6-микро новдаларни илдиз олиши; 7-регенерант ўсимликни паст ҳароратда сақлаш; 8-ўсимликларни иссиқхона шаронтига ўтказиш; 9- регенерант ўсимликларни далага экиш.

Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришда ишлатиладиган асосий усул – бу ўсимликларда бор бўлган меристемааларни ривожланишини фаоллаштириш бўлиб, у апикал устиворликни олиб ташлашга асосланган (2-расм). Бунга икки йўл билан эришиш мумкин:

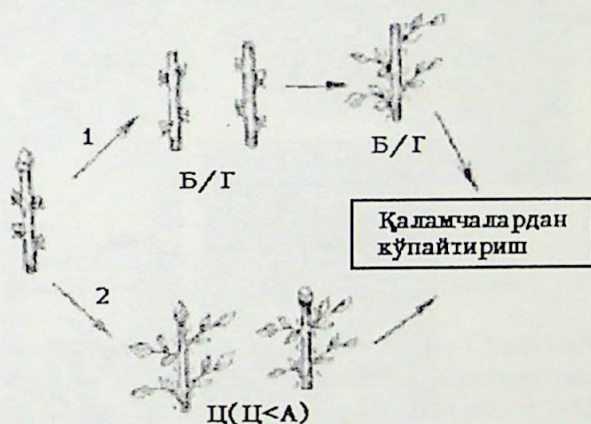
- *пояни тепа меристемаасини олиб ташлаш ва кейин наведани in vitro шароитида гормон сақламаган муҳитда микроқаламчалаш;*



➤ *озика муҳитига цитокинин таъсирига эга бўлган моддалар қўшиш (навдалани ўсишини кучайтириш).*

Одатда, цитокинин сифатида – 6-бензиламинопурин (БАП), 6-фурфуриламинопурин (кинетин), ҳамда 2-изопентениладенин (2ip) ва зеатин ишлатилади.

Шундай йўл билан олинган навдаларни бирламчи она эксплантдан ажратилади ва қайтадан янги тайёрланган озиқа муҳитида ўстирилади. Ҳозирги вақтда бу усул кишлок хўжалик ўсимликларини вируссиз экув материалларини тайёрлашда кенг қўлланилади. Шу йўл билан қанд лавлаги, тамаки, хмель, топинамбур, помидори, картошка, бодринг, қалампир, ошқовок ва бошқа ўсимликларни соғломлаштирилган қўчатларини тайёрлаш йўлга қўйилган.



2-расм. Ўсимликларни бор меристемааларини фаоллаштириш усули билан кўпайтириш чизмаси:

1-тепа меристемаасини юлиб ташлаш йўли; 2-озика муҳитига цитокининлар қўшиш йўли  
Б/Г – гормонсиз муҳит; Ц-цитокининлар, А-ауксинлар.

Баъзи бир кишлок хўжалик ўсимликлари учун (масалан, картошка ўсимлиги) клонал микрокўпайтириш технологияси саноат даражасига кўтарилган. Ўсимликларда бор бўлган меристемааларни фаоллаштириш усулини ишлатилиши бир йилда бир дона картошка меристемаасидан  $10^5$  дона ўсимлик етиштириш имконини беради, бундай технология пробиркада микро туганаклар - кимматбаҳо вируссиз уруғлик яратишни ўз олдига қўйган (3-расм.).

**Иккинчи усул** – Бу эксплант тўқималарида тўғридан-тўғри адвентив куртаклар пайдо бўлишини кучайтириш (индукция қилиш). Бу усул ўсимликни ажратиб олинган қисмини қулай озиқа муҳитида етишмаган

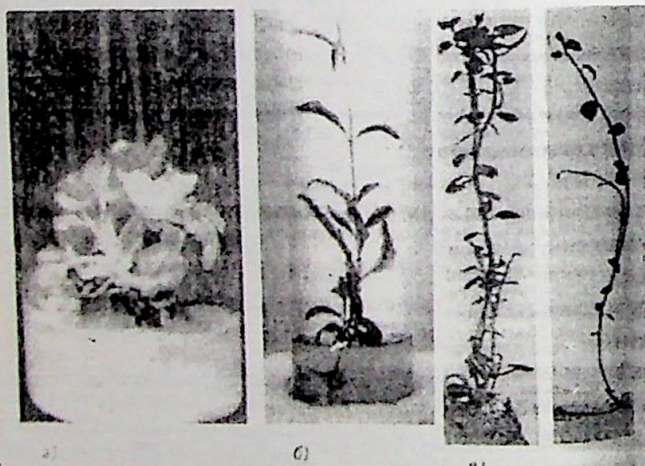


кисмини (органларини) ҳосил қилишига асосланган, шундай қилиб, бутун ўсимликни ренерация (ҳосил) қилиш.

Адвентив куртак ҳосил қилишни ўсимликни хоҳлаган органи ва тўқимаси (ажратиб олинган куртак, барг, поя, уруғпалла, илдизни бир қисми ва ҳ.к) асосида ташкил этиш мумкин.

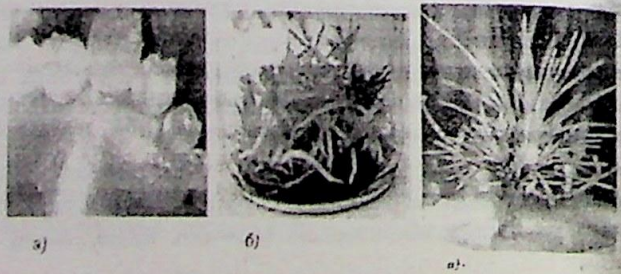
Аммо, материал захарланмаган (юқумли касалликлардан холи) бўлиши шарт. Бу жараён, одатда алоҳида цитокинин ёки уни ауксин билан аралашмаси (10:1 ёки 100:1) сақлаган озиқа муҳитида амалга ошади. Ауксин сифатида кўпроқ  $\beta$ -индолил-3-сирка кислота (ИУК) ёки  $\alpha$ -нафтилсирка кислота (НУК) ишлатилади.

Бу микрокўпайтиришни энг кенг тарқалган усули бўлиб, шу усул билан илдиз меваги гуллар (нарцисса, лилия, гиацинт, гладиолус, лолакизғалдок); Brassica авлодига мансуб ўсимликлар (рангли карам) шунингдек пиёз, саримсоқпиёз, помидор ва бошқа бир қатор ўсимликлар кўпайтирилган (4-расм).



3-расм. Ўсимликларни *in vitro* шароитида бор бўлган меристемааларни ўсишини фаоллаштириш усули:

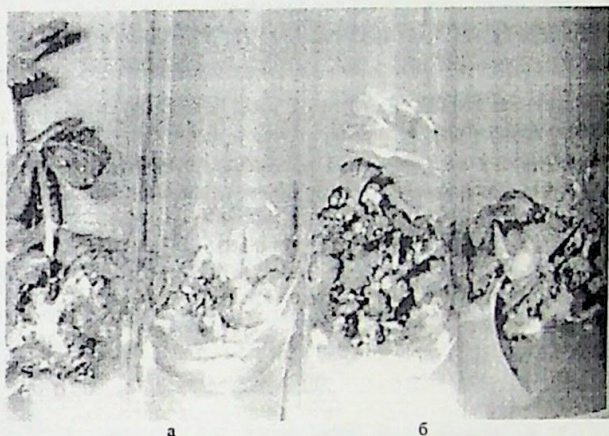
а – стахис; б – анор; в – картошка.





4-расм. Ўсимликларни адвентив куртакни индукция қилиш орқали кўпайтириш:  
а- бугдой; б- орхидея; в- сосна.

Ер тутти (земляника) ўсимлигини апикалли меристемааларини ўстиришга асосланган клонал микрокўпайтириш технологияси ҳам яхши йўлга қўйилган (5-расм.).



5-расм. Ер тутини клонал кўпайиши  
а - микрокўпайишни ўзи; б - адаптация бўлган ўсимлик.

Ёш ва вирус билан касалланмаган, соғлом ўсимликни юкори меристемаасини ажратиб олиб, уни Мурасига ва Скугани модификация қилинган озика муҳитида ўстирилади. Озика муҳити 0,1-0,5 мг/л 6-бензиламинопурин (БАП) саклаши керак. 3-4 ҳафта ўтгандан кейин меристемаа майсага айланади ва уни асосида адвентив куртаклар ҳосил бўла бошлайди, ҳамда тез ривожланиб, янги куртак соладилар. 6-8 ҳафта мобайнида куртакларни тартибсиз йиғиндиси (конгломерати) ҳосил бўлади. Бу куртаклар ривожланишни ҳар хил босқичида бўлиб, бир-бирлари билан боғловчи тўқималар орқали боғланган бўлади. Калта қаламчалардан барглар пайдо бўлади, уларни тагида эса янги адвентив куртаклар чиқа бошлайди.

Мана шу куртакларни ажратиб олиб, янги озика муҳитига экилади. Цитокинин саклаган муҳитда новдаларни пролиферацияси (кўпайиш орқали янги хужайра ва тўқималарни ҳосил бўлиши) давом этади, гормон сакламаган муҳитда эса 4-6 ҳафта давомида нормал ҳолатдаги, илдиз ва баргли ўсимлик ҳосил бўлади. Эксплантни морфогенетик фаоллиги 3-4 йил мобайнида сакланади. Шундай қилиб, битта ўсимликдан бир йилда бир неча миллион регенерант ўсимлик етиштириш мумкин.

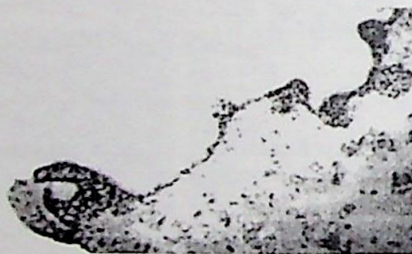
Табиийки, изланувчиларни адвентив куртакларни келиб чиқиши, хусусан меристемаани табақаланишида қайси бир хужайра қавати иштирок этиши қизиқтиради. Ҳозирча бу масалада бир хил фикр йўқ. Масалан, Тран Тан Ван ўзини тамаки тўқималари билан олиб борган ишларида энг фаол



тўкима эпидерма эканлигини, ундан озиқа муҳити таркибидаги гормон балансига караб, куртак, каллус ёки илдиз чиқишлигини кўрсатиб берган.

Шунингдек, адвентив куртаклар меристемаатик хужайраларни юкори катламидан пайдо бўлиши ҳам кўрсатиб ўтилган. Сосна дарахти мисолида адвентив куртакни уруғпалласини ва субэпидермал каватларида пайдо бўлиши кузатилган ва бу жараён сосна учун ишлатиладиган цитокининларга боғлиқ эмаслиги кўрсатиб ўтилган (6-расм).

**Клонал микрокўпайтиришда қўлланиладиган учинчи усул.** Соматик хужайралардан, ташқи кўриниши зиготали куртакчага ўхшаган куртаксимон структурани табақаланишига (дифференциация) асосланади. Бу усул соматик эмбриогенез деб ном олган. *In vitro* шароитида куртак ҳосил бўлишини *in vivo* (табiiй) ҳолатдагидан фарқи шундан иборатки, соматик куртаклар, куртак қопчасидан ташқарида асексуал ривожланадилар ва ўзларини ташқи кўринишлари бўйича бир вақтни ўзида поя ва илдизни апикал меристемааларини ривожланиши кузатиладиган икки полярли тузумани эслатадилар.



6-расм. Эксплантни эпидермал ва субэпидермал хужайра каватида адвентив куртакларни ҳосил бўлиши

Стевардни тушунтиришича, соматик куртаклар ривожланишни уч босқичини ўтадилар: глобуляр, юраксимон, торпедосимон ва оқибатда майса бўлиб униб чиқади. 1950 йилларда сабзи хужайраларида биринчилардан бўлиб кузатилган бу кўриниш ҳозирги даврда *Orchidaceae* ва *Rutaceae* оилаларига мансуб бўлган, шунингдек, бошқоқларни баъзи бирларини (буғдой, арпа) беда, редис, ток ва баъзи дарахтлар каби кўплаб ўсимликларни кўпайтириш учун ишлатилиб келинмоқда.

Тўкима културасида эмбрионидларни пайдо бўлиши икки босқичда амалга ошади:

- Биринчи босқичда хужайра эксплантлари озиқа муҳити таркибига солинган ауксинлар, энг аввало 2,4 – дихлорфеноксирка кислотаси (2,4 - Д) ҳисобидан эмбрионалга айланади.
- Иккинчи босқичда ҳосил бўлган хужайраларни эмбрионидларгача ривожланишига мажбур қилиш керак бу эса, озиқа муҳит таркибидаги ауксинларни миқдорини камайтириш ёки уларни бутунлай чиқариб ташлаш орқали амалга оширилади.



Соматик эмбриогенезни тўғридан – тўғри бирламчи эксплантлар тўқималарида, ҳамда каллусли культураларда кузатиш мумкин. Шунинг ҳам таъкидлаб ўтиш лозимки, каллусли культуралардан клонал микроўпайтиришда фойдаланиш камроқ самара беради, чунки шу йўл билан тайёрланган эквивалент материаллари (кўчатлар) донор – ўсимликка нисбатан генетик турғун (мустахкам) бўлмайди. Кўпинча, каллусли хужайраларни суяк озиқа муҳитида ўстирилганда, соматик эмбриогенез келиб чиқади ва энг кийин операциялардан ҳисобланади. Бунга сабаб, ҳар доим ҳам хужайраларга хос бўлган тотипотентлик амалга ошармайди.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с

#### Мавзу–5. Соғломлаштирилган, вирусдан холи экиш материаллари олиш

##### Режа:

1. Соғломлаштирилган, вирусдан холи экиш материаллари олиш
2. Термотерапея усули
3. Хемотерапея усули

Соғломлаштирилган, вирусдан холи экиш материаллари олиш. Клонли микроўпайтиришнинг афзаллиги генетик бир хил вируссиз экиш материаллари олиш мумкинлигидир. Бунга апекс тўқималари ва пояга хос куртаклар меристемасидан фойдаланиб эришиш мумкин. Меристема ўсиш конуси ва бир ёки икки барг асосидан (примордий) иборат бўлиб, вирусдан холи бўлади. (7-расм)





Вирус билан зарарланган ўсимликларнинг меристема тўкималари вирусдан холи эканлиги биринчи бўлиб Чунг (1938) ва П.Р.Уайт (1943) томонидан аниқланган, XX асрнинг 50 йилларда георгина ўсимлигини ўсиш нуктасидан вируссиз ўсимлик олиш бўйича биринчи муваффақиятли тажриба амалга оширилди. Бу усул муаллифлари Ж.Морель ва С.Мартинларнинг тахминича, касалланган ўсимликларда вируслар тарқалиши бўйича тез ўсаётган ёш органлардан орқада қолади, айниқса дифференцияланмаган ёш тўкималарда вируснинг микдори йўқ даражада бўлади. Бу усул асосига қўйилган назарий концепция сабаби кейинги вақтларда аниқлана бошлади.

Амалиётда қўлланиладиган ҳолатида структуравий асос бўлиб, ўсимлик ўсиш нуктаси тузилишининг спецификаси хизмат қилади; унинг апикал меристема деб аталувчи дисталь қисми турли ўсимликларда турлича ўлчамга эга бўлиб, ўртача 200 мкм диаметрга ва 20-150 мкм узунликка эга бўлади. Дифференцияланаётган меристемани хужайраларни пастроқ қатламида ўтказувчи система боғламларини пайдо қилувчи прокабий ҳосил қилади. Маълумки, клонли микрокўпайтиришдаги муваффақият меристема эксплантини ўлчамига боғлиқ, барг асослари ва поя тўкималари қанча катта бўлса, морфогенез жараёни шунча енгил кечади ва нормал пробирка ўсимлиги ҳосил бўлиши билан тугайди. Шу билан биргаликда, вирус зарраларидан холи зона турли вируслар учун турличадир. Бу ўсимликнинг турлари ва навларига билан боғлиқ. Донли экинлар колеоптилида, масалан, ўтказувчи найлардан холи учки қисмининг ўлчами 250 мкм га етиши, мумкин. Апикал меристемани бундай ўзига ҳос тузилиши ўтказувчи тизимлар орқали вирусларни тез ташилишини истисно қилади, лекин плазмодезма орқали бириктирувчи меристема хужайраларига секин тарқалиш имкониятига йўл қўяди. Картошкани 200 мкм ўлчамдаги апикал меристемасини озиқа муҳитда культуралаш ва кейинчалик регенерант ўсимлик олишда аниқланича, олинган ўсимликлардан фақат 10 % гина Х- вирусдан, аммо 70 % У-вирусдан холи экан.

Электрон микроскоп орқали, баъзи вируслар билан ўсимликлар меристемаларининг ҳам зарарланганлиги аниқланган бўлиб, бу зарарланган ўсимликнинг меристемаларига ҳам вируснинг етиб борганлигидан далолат беради.

Шундай қилиб, апикал меристемаларни вирус билан зарарланган ўсимликларни соғломлаштириш усулида қўллаш ҳам кам самара берар экан. CarMV ва CarVMV вируслари билан зарарланган чиннигул, цимбидиум ўсимликлар апикал меристемаларидан *in vitro* шароитида зарарланган (инфекцияга учраган) мериклонлар олингани тажрибаларда кўрсатилган.

Умуман олганда, зарарланган ўсимликдан вируссиз апикал меристемалар олиш мумкин, бунинг учун соғлом тўқимага вируснинг



тушиш ҳавфини нолгача пасайтириш лозим. Бунинг учун бошланғич ўсимлик олдиндан термотерапея ёки хемотерапея усуллари ёрдамида вирусдан тозаланиши керак.

**Термотерапея** усули *in vivo* шароитида, шунингдек *in vitro* шароитида ҳам қўлланилиб, куруқ, иссиқ хаводан фойдаланишга асосланган. Термотерапея жараёни орқали ўсимликларни вирусдан холи қилиш механизми ҳақида турли назариялар мавжуд. Улардан бири юкори харорат вирус заррачаларига тўғридан-тўғри уларнинг рибонуклеин кислоталари ва оксил қобиғи орқали таъсир этиб, уларнинг физик парчаланишига ва вирус заррачаларининг зарарлаш қобилятини йўқолишига олиб келади деган фикр берса, иккинчи назария эса, юкори харорат вирусларга ўсимликларни метаболизми орқали таъсир этади, деган тахминни илгари суради. Юкори харорат таъсирида вирус заррачаларини синтези ва деграцияси орасидаги мувозанат бузилади. Агар синтез амалга ошса, унда зарарланган тўқималарда вируслар концентрацияси ошади.

Термотерапея қилинаётган ўсимликлар махсус термокамераларга жойлаштирилади ва биринчи ҳафтада харорат 25° дан 37°С гача ҳар кун 2°С дан ошириб борилади. Термотерапеяда бутун жараён давомида опимал режимни яратиш ва уни ушлаб туриш ҳам муҳим бўлиб, харорат 37°С, кундузги лампа ёруғлиги 5 минг лк, культурага қараб, фотодавр бир суткада 14-16 соат, термокамеранинг ҳаво намлиги 90 % ни ташкил этиши лозим.

Термотерапеяни давомийлиги вирус таркибига ва уларнинг юкори хароратга чидамлилиқ даражасига боғлиқ. Масалан, агар чиннигулга 10-12 ҳафталик иссиқлик таъсири етарли бўлса, хризантемани Б-вирусида холи қилиш учун эса бу муддат 12 ҳафта ва ундан кўпроқни ташкил этади. Аммо, пиёзли ўсимликлар, цимбидиум, атиргуллар ва бошқа шу каби ўсимликларга узок вақт *in vivo* термотерапея қилиш салбий таъсир кўрсатади. Бундай ўсимликлар учун термотерапеяни *in vitro* регенерант ўсимликларда ўтказиш мақсадга мувофиқдир.

Термотерапеяни ўсимликларни вирусдан тозалашдаги ижобий таъсири билан бирга юкори хароратнинг *in vitro* шароитида баъзи ўсимликларни ўсиш нуктасига ва морфогенез жараёнига ҳам яхши таъсир кўрсатиши аниқланган. Термотерапеяни қўллаш орқали кўпайтириш коэффицентини 50-60% га ошириш, пробирка регенерант ўсимликларини тупроқ шароитига мослашишини яхшилаш ва шунингдек, бошланғич вируссиз ўсимликлар сонини кўпайтириш имконини беради.

Термотерапеяни меристема культураси билан биргаликда қўллаш орқали нина барглиларни регенерант ўсимликларини 70%ини хлороз вирусидан, кулупнай ўсимлигини 90 %, қизил ва қора қарағат (смородина) 20%и, маймунжоннинг 50%и, картошка ўсимликларининг 80% соғломлаштирилган, вирусдан холи ўсимликларини олиш мумкин.



Ўсимликларда вируснинг мавжудлигини иммунофермент ташхиси, электрон микроскоп ва ўтчил индикатор – ўсимликлар ёрдамида аниклаш мумкин.

Вируссиз, ўсимликлар олишнинг бошқа усули – **хемотерапея** усули бўлиб, бу усул апикал меристемалар культураланаётган озика мухитга гуанозинни аналогини –  $1\beta$ -Д-рибофуранозил-1,2,4-триазол-3 – карбоксимид (вирозол деб ҳам аталади) 20-50 мг/л концентрацияда қўшишдан иборат. Бу вирусга қарши препарат бўлиб кенг таъсир спектрига эга. Вирозолни культурал мухитда қўлланилганда вируссиз меристема ўсимликларини олиш фоизи вирус одатий бўлиб қолган ўсимликлар учун 80-100 % назоратда эса 0-41 % га ошди. Хемотерапея усули олхўри, гилос, маймунжон, турли гуллар ва бошқа ўсимликларга қўлланилганда яхши натижалар олинган. Вируссиз экиш материаллари олишнинг хемо ва термотерапея усуллари иктисодий кам фойда беради. Шунинг учун Ҳозирги вақтда трансгеноз усуллари ёрдамида ўсимликларни вирусга генетик чидамли шакллари яратилмоқда.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с

#### Мавзу–6. Клонли микрокўпайтиришни турли босқичдаги ўсимликлар тўқималарини культуралаш техникаси

##### Режа:

##### Клонли микрокўпайтиришнинг босқичлари

*In vitro* усулида ўстирилган ўсимликларни дала шаронтида таштириш

Клонли микрокўпайтиришнинг босқичлари. Тўқималарни туралашдаги тўртта босқичнинг ҳар бирида, муайян таркибдаги қам мухитидан фойдаланиш зарур бўлади.

I-босқич. Бу босқичда яхши ўсадиган стерил культура олишга эришиш лозим. Бунинг учун ўсимлик тўқималари симоб тутувчи эритмаларда (сулема ёки диацид, 0,1-0,2% лиги) ёки хлор тутувчи (10-15 % ли хлорамин, 5-7 % ли натрий ёки кальций гипохлориди) эритмаларида нозик, тез зарарланадиган тўқималар 5-10 мин, калин, зич пўстли тўқималар 10-12 минут давомида стерилланади. Шундан сўнг ўсимлик тўқималари стерил дистилланган сувда яхшилаб ювилади ва олдиндан тайёрлаб қўйилган озика мухити юзасига жойлаштирилади.



Агар эксплантнинг стерил бошланғич культурасини олиш кийин бўлса, у ҳолда озиқа муҳити таркибига антибиотиклар (тетрациклин, бензилпенициллин ва бошқалар) 100-200 мг/л микдорда қўшилади. Бу биринчи навбатда дарахтсимон ўсимликларга тааллуқли бўлиб, уларда ички инфекцияни тўпланиш тенденциясини кузатиш мумкин.

Биринчи боскичда, Мурасига ва Скуга рецепти бўйича минерал тузлар, шунингдек, турли биологик актив моддалар ва ўсиш стимуляторларни (ауксинлар, цитокининлар) объектга қараб турли нисбатда тутувчи озиқа муҳитлардан фойдаланилади. Бирламчи эксплантнинг озиқа муҳитга токсин моддалар (феноллар, терпенлар ва бошқалар) ажратиши ҳисобига, уларнинг ўсиши тўхтаганлиги кузатилган ҳолларда, ўсишни яхшилаш мақсадида антиоксидантлардан фойдаланилади. Буни икки йўл билан: эксплантни антиоксидантнинг кучсиз эритмасида 4-24 соат давомида ювиш: антоксидантни тўғридан-тўғри озиқа муҳитига қўшиш орқали амалга ошириш мумкин. Антоксидантлар сифатида аскорбин кислота (1-60 мг/л), глутатион (4-5 мг/л), дитиотриетол (1-3 мг/л), диэтилдитиокарбамат (2-5 мг/л), поливинилпирролидон (5000-10000 мг/л) дан фойдаланилади. Баъзи ҳолларда озиқа муҳитга 0,5 – 1 % микдорда адсорбент-активланган кўмир қўшиш мақсадга мувофиқдир. Биринчи боскичнинг давомийлиги 1 ойдан 2 ойгача, натижасида меристема тўқималарининг ўсиши ва бирламчи ниҳолларнинг шаклланишини кузатиш мумкин.

II боскич – хусусий микроқўпайтириш. Бу боскичда мериклонларнинг максимал микдорига эришиш лозим, лекин шуни унутмаслик керакки, субкультуралаш ошиши билан ғайритабиий морфологияга эга регенерант ўсимликлар сони ҳам орта боради, баъзи ҳолларда мутант ўсимликлар ҳам пайдо бўлиши мумкин. Биринчи боскичдаги сингари турли биологик фаол моддалар ва ўсимликларни ўсиш регуляторларини тутувчи Мурасига ва Скуга озиқа муҳитидан фойдаланилади. Эксплантларни культуралашни оптимал шароитини танлашда озиқа муҳит таркибига киритилган цитокинин ва ауксинларни миқдори ва нисбати асосий ролни ўйнайди. Цитокининлардан БАП I дан 10 мг/л, ауксинлардан ИСК ва НСК 0,5 мг/л микдордаги концентрацияларидан фойдаланилади. Ўсимлик тўқималари ауксиннинг миқдори оширилган озиқа муҳитларда узок вақт ўстирилганда, тўқималарда ауксиннинг аста-секин тўпланиб, зарур бўлган физиологик миқдоридан юқори бўлганда, захарли таъсир этиб, морфологияси ўзгарган ўсимлик пайдо бўлишига олиб келади. Шунингдек, клонли микроқўпайтириш учун ноҳуш бўлган самарасини ҳам кузатиш мумкин, буларга учки меристема хужайралари бўлинишини камайиши, хужайралари таркиби сув билан тўйинган ниҳоллар пайдо бўлиши, ўсимликнинг илдиз отиш ва ўсиш хусусиятларининг йўқолиши каби таъсир самарасини бериши мумкин. Цитокининларни ноҳўя таъсирини бартараф этиш учун Н.В.Ката ва Р.Г.Бутенко берган маълумотлардан фойдаланиб минимал микдорда цитокинин тутувчи озиқа муҳитлардан



фойдаланилганда микрокўпайтиришни тургун коэффициентига эришиши мумкин.

III, IV- боскичлар – микронихолларни илдиз оттириш, уларни тупрок шаронтига кўниктириш ва далага экишга тайёрлаш каби ниҳоятда кўп меҳнат талаб этади. Қоида бўйича учинчи боскичда озика муҳитининг асосий таркиби ўзгартирилади: Мурасига ва Скуга бўйича қўшиладиган минерал тузлар миқдори икки, уч баробар камайтирилади ёки Уайт муҳити билан алмаштирилади, қанд миқдори 0,5 – 1% гача камайтирилади ва гормонлардан фақат ауксиништирок этади, цитокининдан умуман фойдаланилмайди. Илдиз ҳосил бўлиш стимулятори сифатида  $\beta$ -индолил-3-мой кислота (ИМК), ИСК ёки НСК дан фойдаланилади: Микронихолларда илдиз ҳосил қилиш икки хил усул ёрдамида амалга оширилади: 1) микронихоллар бир неча соат давомида (2-4 соат) стерил, миқдори оширилган (концентрланган) ауксин эритмасига (20-50 мг/л) солиб қўйилади ва гормонсиз агарли муҳитда ёки бевосита мос келувчи тупрок субстратида (импульсли ишлов) культураланади;

2) микронихолларни 3-4 ҳафта давомида кам концентрацияда (1-5 мг/л) ауксин тутувчи озика муҳитда тўғридан-тўғри культуралаш. Сўнгги вақтларда пробирка ўсимликларини гидропоника шаронтида илдиз оттириш усулидан ҳам фойдаланила бошлади. Бу усул илдиз отиш жараёнини бир оз осонлаштириб, бир вақтнинг ўзида табиий шаронтга мослашган ўсимлик олиш имконини беради. Картошка учун субстратсиз гидропоникани қўллаб, кичик тугунаклар олиш мумкин. Культурал идишларнинг пастки қисми қалин қора мато билан ўралади ёки озика муҳит таркибига активланган кўмир киритилганда микронихолларни илдиз отишига имкон беради.

Регенерант ўсимликларни субстратга кўчириб ўтказиш маъсулиятли скич бўлиб, микрокўпайтириш жараёнини яқунлайди. Пробирка ликларини кўчириб ўтказиш учун энг қулай вақт баҳор ва ёзининг анғич даври ҳисобланади. Икки ёки уч баргли ва илдиз тизими ривожланган ўсимликлар колба ёки пробиркалардан узун учли ёки илмоқлар ёрдамида чиқариб олинади. Ўсимлик илдизлари олдиқларидан ювиб тозаланади ва олдиндан 85-90°C да 1-2 соат ида стерилланган тупрокли субстратга экилади. Кўпчилик ликлар учун субстрат сифатида торф, кум (3:1); торф, тупрок, лит (1:1:1); торф, кум перлит (1:1:1) дан фойдаланилади. Олдиндан айёрланган тупрокли субстрат билан қути ёки торфли идишлар тўлдирилади ва унга ўсимликлар экилади. Ўсимликлар экилган идишлар ҳарорати 20-22°C, ёруғлиги 5 минг лк дан ортик бўлмаган, намлиги 65-90 % бўлган иссиқхоналар (теплица)га жойлаштирилади. Ўсимликларни яхши ўсиши учун сунъий туман яратилади. Бундай шаронтларни яратиш имкони бўлмаган ҳолларда ўсимликлар ўсаётган идишлар шиша банкалар ёки полиэтилен пленка халталар билан ёпилади, сўнг ўсимлик батомом кўниккунига қадар аста – секинлик билан очиб борилади.



Яхши илдиз отган ўсимликлар кўчириб ўтказилгандан 20-30 кундан сўнг Кнудсон, Муръсиге ва Скуга, Чесноков, Кноплар томонидан таклиф этилган таркибдаги ўсимлик турига боғлиқ холда минерал тузлар эритмалари билан ёки комплексли минерал ўғитлар билан озикалантирилади. Ўсимликлар ўса бориши билан уларни янги субстрат солинган каттароқ идишларга кўчириб ўтказиш лозим.

Акклиматизацияланган ўсимликларни бундан кейинги ўсиши ҳар бир индивидуал турдаги ўсимликлар учун қабул қилинган агротехникасига мос равишда бўлади.

Пробирка ўсимликларини тупроқ шароитига мослашиш жараёни анча қимматли ва кўп меҳнат талаб қиладиган операциядир. Кўпинча ўсимликлар тупроққа кўчириб ўтказилганда ўсишдан тўхташи, баргларини тўкиши ва ўсимликнинг нобуд бўлиши кузатилади. Бу биринчи навбатда пробирка ўсимликларини барг оғизчаси (оғизча) аппарати фаолиятининг бузилиши натижасида катта миқдордаги сувнинг йўқолиши билан боғлиқ.

Иккинчидан, баъзи ўсимликларда *in vitro* шароитида илдиз популари ҳосил бўлмайди, бу ўз навбатида тупроқдаги минерал тузлар ва сувнинг ютилишини бузилишига олиб келади. Шунинг учун клонли микрокўпайтиришни иккинчи ёки учинчи босқичида ўсимликларни сунъий микоризациялашни (микротрефлар учун) қўллаш мақсадга мувофиқдир. Улар ўсимликларни минерал ва органик озиқа моддалар, сув, биологик фаол моддалар билан таъминлашда ва шунингдек ўсимликларни патогенлардан химоя қилишда ижобий рол ўйнайди. Ўсимликларни микориза ҳосил қилувчи замбуруғлар билан зарарлашнинг икки хил усули мавжуд; 1) *in vitro* (стерил шароитида); 2) *in vivo* (табiiй шароитда). Биринчи усул қулай усул ҳисобланиб, бу ҳолатда тупроқнинг бошқа микроорганизмлар билан зарарланишининг олди олинади. Бундан ташқари *in vitro* шароитида микоризани нормал шаклланиши учун культуралаш шароитини (ёруғлик, ҳарорат, намлик) назорат қилиш ва субстрат танлаш (рН, аэрация) имконияти бор. *In vitro* шароитида кўпайтирилган ўсимликлар агар уларнинг илдиз тизими микориза ҳосил қилувчи замбуруғлар билан алоқада бўлса яхшироқ ривожланади. Бундай ҳолларда уларнинг азот билан таъминланиши яхшиланиб, ўсимликларни тупроққа кўчириб ўтказилганда уларнинг тутиб кетиши 1,5-2 баробарга ортади, шунингдек, ер усти массасининг ўсиши яхшиланади. Бундай тажрибалар қайин, эвкалипт, каштан, коракарағай, лох ва олхани турли клонларида ўтказилган.

***In vitro* усулида ўстирилган ўсимликларни дала шароитида мослаштириш.** Ҳинд олимлари томонидан *in vitro* ўстирилган ўсимликларни дала шароитига кўчириб ўтказилган ўсимлик баргларининг тез сувсизланиб қолишини олдини олишнинг оддий усули таклиф этилган. Усулнинг моҳияти шундан иборатки, ўсимлик барглари бутун акклиматизация даврида 50% ли глицериннинг сувли эритмаси, ёки парафин аралашмаси, ёки диэтил эфирдаги мой (1:1) билан



пуркалиши лозим. Бу усулни қўллаш оркали пробирка ўсимликларини чиниктиришда узок ва кийин жараёнлардан кутулиш мумкин ва ўсимликларнинг 100% яшаб кетиши таъминланади.

Россия олимлари томонидан токнинг пробирка ўсимлиги адаптациясини соддалаштириш усули ишлаб чиқилган. Бу усул шундан иборатки, ўсимликларни адаптацияси пробиркаларда ўтади, яъни бунинг учун пробирка ичидаги ўсимликнинг бўйи пробирка тикинига етганда, тикинлар олиб ташланади. Шундай ҳолатда ўсимлик 1,2 ҳафтага қолдирилади. Бу даврнинг охирида пробирка устида ўсимликни иккита барги пайдо бўлади ва бундай ўсимлик тупрокка ўтказишга тайёр ҳисобланади. Ўсимликлар стерил тупроқли субстратга агар билан биргаликда экилади, бунда ўсимлик илдиз тизими механик тарзда зарарланишининг олди олинади. Ниҳоллар тупроқ субстратига экилганда бир-икки баргли поя тупроқ устида қўмилмай қолади. Ток ўсимлигини тупроқда ўсишига мослашишида бу усулининг қўлланилиши, ўсимликлар аклиматизацияси техникасини соддалаштиради ва арзонлаштиради. Бу ҳолларда туман ҳосил қилувчи қурилмадан фойдаланилмайди (Б. А. Бургутин 1988).

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с

#### Мавзу–7. Ўсимликлар клонли микроқўпайтириш шаронтини оптималлаштириш

##### Режа:

1. Ўсимликларнинг клонли микроқўпайтиришда озика-мухитини танлаштириш

##### Оптималлаштириш критерийсини танлаш

Ўсимликларнинг клонли микроқўпайтиришда озика-мухитини танлаштириш. Алоҳида ажратилган хужайра ва тўқималарни танлаштиришнинг муҳим шарт-шароити – озика мухитдаги минераллар, углеводлар, фитогормонлар ва бошқаларни танлаштиришдан иборатдир.

Културага янги турдаги ўсимлик киритилганда тадқиқотчилар уни турли озика мухитларида синаядилар. Бу жараён узок бўлиб, кўпинча керакли натижани бермайди. Оптимал таркибдаги озика мухитни танлаш учун, тажрибани математик режалаштириш усулидан



фойдаланилади. Бу усул кам ҳажмдаги тажрибалар ёрдамида сўпайтиришнинг юкори тезлигини таъминловчи культуралаш шароитини аниклаш, микроқўпайтириш жараёнга таъсир этувчи омиллар йиғиндисига боғлиқлигининг ўрганиш, шунингдек омиллараро ўзаро боғлиқликни борлигини ва самарадорлигини ўрганиш имконини беради. Олдинга қўйилган мақсадга мувофиқ ҳолда тажриба бутун ёки касрий режа асосида ўтказилади.

**Оптималлаштириш критерийсини танлаш.** Оптимизациянинг муваффақияти, оптималлаш критерийсининг қанчалик тўғри танланганига боғлиқ. Микроқўпайтиришни биринчи босқичда кейинчалик етук ўсимлик организмни ҳосил қилишга кодир эксплантнинг ҳар қандай морфогенетик реакциясини микдорий баҳолаш критерийси бўлиб хизмат қилади. Масалан, ниҳолнинг узунлиги, дифференциаланаётган поя апекслари, ниҳоллар, эмбрионидларнинг сони. Иккинчи босқичда ривожланаётган ниҳолларни, эмбрионидларни, умумий сони ҳисобга олинади. Учинчи босқич оптимизацияси критерийси бўлиб, илдиз отган ўсимликлар фоиизи, илдиз тизимини узунлиги, бир микронихол учун илдизлар сони хизмат қилади. Бунда ҳам ўсимликнинг узунлиги, умумий ҳолати ва унинг тупроққа қўчириб ўтказилгандаги тутувчанлигини ҳисобга олиш зарур.

Математик режалаштиришни ўрганилаётган жараёнга ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$  ва ян) таъсир этувчи омилларни танлашдан, уларни энг асосий аҳамияти (юкори ва паст даражаси) ва тажриба схемаси (матрица) дан бошлаш зарур. Шундан сўнг тажрибада фойдаланиладиган эксплантлар ажратиб олинади. Бунда бошланғич ўсимлик материални хилма-хиллигини, ва культураланаётган тўкималарни гетерогенлигини ҳисобга олиш лозим. Шунинг учун, ўсимлик материалларини тажрибанинг турли вариантлари орасида тенг тақсимлаш керак. Культуралашни оптимал шароити барча эксплантларни ўсишини қониқарли даражада таъминлаш шарт.

Қўп омилли тажрибалар натижаларига статистик тарзда ишлов берилади ва регрессия тенгламасини олиш учун қуйидаги кўрсаткичлар ҳисобланади: 1) эркин аъзо регрессияси коэффиценти; 2) ўрганилаётган омиллар регрессияси коэффиценти; 3) омиллараро ҳамкорлик регрессияси коэффиценти; 4) қаторли дисперсиялар; 5) Кохрен критерийсини аҳамияти; 6) натижалар адекватлиги.

Масалан, помидорнинг олти генотипи гипоктилийсини (уруғпалла ости) культуралаш шароитини оптималлаштиришда 24/16 тўлик омилли тажриба матрицаси бўйича биринчи тартибли тажриба қўйилган. 2-омиллар синалган тенгламалар сони; 4- тажрибада ўрганилаётган омиллар сони; ( $X_1$ -инозит,  $X_2$  –сахароза,  $X_3$ –зеатин,  $X_4$ -ИСК); 16-эксперимент схемаси бўйича тажрибалар сони.

Статистик ҳисоблаш натижасида регрессиянинг қуйидаги тенгламаси олинган.  $Y + 3,756 + 1,619X_2 - 0,419 X_1X_2 - 0,244 X_2X_3X_4$  (калус ўлчами бўйича);



$Y_1 + 2,438 + 0,738X_2 - 0,662X_3 - 0,43X_4 + 0,433 X_2X_3 + 0,462 X_1X_2X_3 + 0,437 X_1X_4 + 0,537 X_1X_2 X_4 - 0,312 X_1X_2 X_3X_4$  (битта калыңсағи куртаклар сони бўйича).

Тенгламадан кўриниб турибдики,  $X_1$  дан ташқари барча омиллар ўрганилаётган жараёнларга ижобий ёки салбий таъсир кўрсатади. Демак, иккала тенгламадаги  $X_2$  омилнинг аҳамияти шундан иборатки, бу омил озика мухитга қўшилганда унда ўсаётган каллус тўқималарининг ўсишини ва тасодифий куртакларни пайдо бўлишини стимуллади, зеатин ва ИСК ( $X_3$  ва  $X_4$  омиллар) микдорининг камайиши эса бир каллусдан тасодифий куртакларнинг пайдо бўлишини оширади. Шундай тарзда битта тажриба орқали каллус ва тасодифий куртакларнинг пайдо бўлишига таъсир этувчи омиллар ва помидорнинг бирламчи каллуси орқали клонли микроўпайтиришнинг бошланғич этапи учун озика мухитнинг оптимал таркиби аникланди. Кейинги йилларда қанд лавлаг, дуккаклар, раувольфия, женшеннинг каллус тўқималарини культуралашнинг шароитини оптималлаштириш учун, герберия, фрезия, каперслар, шувок, оддий қарағай ва бошқа баъзи ўсимликларни клонли микроўпайтириш жараёни шароитларини оптималлаштириш учун кўп омилли тажрибалардан фойдаланилмоқда. Математик режалаштириш усули ўсимлик тўқималарини *in vitro* культуралаш ва ўсимликларни клонли микроўпайтиришни оптималлаштиришда самарали ва иқтисодий жиҳатдан фойдали усул ҳисобланади.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с

#### Мавзу–8. Ўсимликларни клонли микроўпайтиришга турли омилларнинг таъсири

##### Режа:

1. Генетик ва физиологик омиллар
2. Гормонал омиллар
3. Физик омиллар

Клонли микроўпайтириш усуллари яратилганда албатта, генетик, физиологик, гормонал ва физик омилларнинг таъсирини ҳисобга олиш зарур. Маълум бир турнинг клони учун ишлаб чиқилган усул, ҳар доим ҳам шу турнинг бошқа вакиллари ёки бошқа турдаги ўсимликларни кўпайтиришда қўлланилмаслиги мумкин. Микроўпайтиришга генотип, бошланғич ўсимликни ёши, ажратилган мавсуми, шунингдек бирламчи



эксплантни ўлчами таъсир кўрсатади. Гормонал таъсирлардан цитокин ин ва ауксинларни нисбати, озика мухитни минерал моддалар, витаминлар, сахароза бўйича таркиби, физик омиллардан эса мухит консистенцияси (суюқ ёки агарланганлиги), кислоталилиги, ёритиш шароити, шунингдек, ҳарорат режими ва ҳавонинг намлиги таъсир кўрсатади.

**Генетик ва физиологик омиллар.** Клонли микрокўпайтиришни муваффақиятини белгилловчи омиллардан бири, бошланғич ўсимликнинг генотиби катта аҳамиятга эга. Икки паллали ўтчил ўсимликлар бир паллали ўсимликлар, дарахтларга нисбатан катта морфогенетик потенцияга эга, яъни уларнинг адвентив куртаклар пайдо қилишга, нихолларни ўсиши, илдиз отиши ва кўпайтиришни юкори коэффицентига эга бўлиши тажрибаларда аниқланган. Масалан, қанд лавлаги, тетроплоид шаклдаги дурагайлардан энг кўп регенерант ўсимликлар олинган, энг ками диплоидлардан, триплоид дурагайлардан олинган ўсимликлар сони оралик ҳолатни эгаллайди.

Микрокўпайтириш жараёнида морфогенетик потенциални амалга ошишида бошланғич эксплантнинг нав ва туркум хусусиятлари ҳам муҳим таъсир кўрсатади. Маълумки, вегетатив кўпайтиришга яхши бериладиган ўсимликлар *in vitro* културада одатда юкори регенерацион қобилиятини намоён қилади. Юкори морфогенетик потенциалга эга бўлган туркумлар орасида Solanaceae, Umbelliferae, Cruciferae, Compositae оиласи вакиллари мисол бўлади, Gramineae оиласига мансуб ўсимликлар қийин регенерацияланади. Она ўсимлик генотиби ҳам клонли микрокўпайтиришга катта таъсир кўрсатади.

Хмел ўсимлиги турли навларидан ажратилган, апекслари озика мухитидаги гормонларнинг иштирок этишига турлича сезгирлик намоён қилиши аниқланган. Смолистий нави учун БАПни оптимал концентрацияси 1 мг/л, Истринский—15 нави учун 0-5-1,5 мг/л, ва ИСКани оптимал концентрацияси 0,05 м/л деб топилган. Смолистий нави апексларига озика мухитга ИСК ва 2,4-Д, қўшилиши таъсир кўрсатмади. Истринский – 15 навида эса 0,05 мг/л ИСК ва 0,05 мг/л 2,4-Д солинган озика мухитда нихоллар бўйича ўсиши тезлашиши кузатилади. Шунингдек, крижовник ўсимлиги навларининг ажратилган апекслари ҳам културалаш шароитига морфогенетик реакцияси турлича бўлиши аниқланди.

Морфогенетик потенциалнинг ўсимликлар туркумининг ўзига хослигига боғлиқлиги бошқоқли ўтларда аниқланган. Тажрибалар натижасида макро ва микроэлементлар, органик компонентлар (аминокислота, казеин гидролизати, ачитқи экстракти, биотин), ўсиш регуляторларларига нисбатан уларнинг эҳтиёжи турлича эканлиги аниқланди. Бошланғич оналик шаклларга нисбатан дурагайлар юкори морфогенетик фаолликни намоён қилиши тасдиқланган. Микронихолларни илдиз оттиришда ҳам навларнинг хусусияти юзага чиқиши мумкин, масалан, гилосни микронихолларига ИМК билан



ишлов берилганда Шубина навини 52 %, Владимирская навини 18 %, Любский навини 13 % илдиз отганлигини Россия олимлари томонидан аниқланган. Қора смородинани турли навлари микронихолларининг илдиз отишидаги фарқи ўрганилган.

Бошланғич эксплантнинг ёши ҳам морфогенезни намоён қилиш қобилияти жихатидан аҳамият касб этади. Етилган муртаклар, 20-30 кунлик ўсимталар ёки уларнинг турли қисмлари (ювенил материал) етук ўсимлик тўқималарига нисбатан юқори морфогенетик потенциалга эга ва катта микдорда адвентив куртакларни ҳосил қилади, келгусида яхши ўсадиган ва илдиз ҳосил қиладиган ниҳоллар пайдо қилувчи ички меристемаларни ривожланишини стимуллади. Бундай ҳолларда битта муртақдан бир йилда 10-100 минг ўсимлик олинса, етилган ўсимликнинг ички ёки апикал меристемасидан кўпайиш коэффиценти 1-2 баробарга камаяди.

Бирламчи эксплантнинг ёши *in vitro* кўпайтирилган микронихолларнинг илдиз отишига ҳам муҳим таъсир кўрсатади. Бошланғич материалнинг ёши катталаша борган сари ниҳоллар ва каламчаларнинг илдиз отиши қобилияти пасаяди.

Масалан, олманинг 8 та тури билан иш олиб борилганда ниҳолларни илдиз отиши ювенил материалдан олинган микротуганакларнинг илдиз отиши 80-90 %, 2-3 йиллик ўсимликлардан ажратилган апикал куртаклардан 50 %, ундан каттарок ўсимликлардан 20-30 % ни ташкил қилган.

Амалий жихатдан ўсимликларни, айниқса, дарахтларни 20 йилдан сўнг яъни ҳўжалик аҳамияти муҳим белгилари баҳоланганидан сўнг кўпайтириш мақсадга мувофиқдир. Лекин улардан бундай қари ўсимликларни *in vitro* кўпайтириш катта қийинчиликлар туғдиради. Биринчидан, катта ёшдаги ўсимликларни барча тўқима ва органлари замбуруғ, бактериялар билан энтоген зарарланган бўлиб, бу асептик култура олишда қийинчиликлар туғдиради. Иккинчидан, етук дарахтларнинг куртаклари ёки бошқа органлари ўтчил ўсимликларга нисбатан *in vitro* шароитини турлича қабул қилади. Бу културага қайта ўтказилган эксплантларнинг яхши ўсиши ва ривожланишини таъминловчи оптимал шароитни танлаш бўйича махсус тажрибалар ўтказишни тақазо қилади.

Ҳозирги вақтда ўсимликлар ёши билан боғлиқ бўлган тўсиқни бартараф этиш учун, реювенилизация йўли билан яъни *in vivo* ва *in vitro* ишларини биргаликда олиб бориш орқали амалга оширилади.

Реювенилизацияни (қайта ёшартириш) бир неча усуллар билан амалга ошириш мумкин: 1) эксплант олишдан аввал ўсаётган дарахт ёки алоҳида шохларини цитокинин эритмаси билан қайта-қайта ишлов бериш орқали; 2) такрорий каламчалаш; 3) дарахт танасидан ниҳолларнинг ҳосил бўлишини индукциялаш ва илдиз отишини стимуллаш учун дарахтлар тез-тез бутаб турилади; 4) такрорий пайвандлаш; 5) субкултураларни (*in vitro*) сериялаш усули орқали; 6)



куюк дарахтзорлар ҳосил қилиш орқали ён шохларнинг ўсишини тўхтатиш ва тиним ҳолатидаги куртакларнинг ривожланишини стимуллашдан иборат.

Або Эл Нил таклиф этган реювенилизация технологиясининг биринчи босқичида тиним ҳолатидаги дарахтларни қайта-қайта цитокинин билан ишлов беришни таклиф этган. Лекин бу ишда кинетин, 2  $\mu$ г дан фойдаланиш мумкин. Цитокининнинг миқдори ишлов берилаётган дарахтнинг таъсирланиш даражасига кўра тажрибалар натижаларини ҳисобга олган ҳолда амалга ошириш лозим.

Цитокинга бошқа ўсиш регуляторларидан кўшиб ҳам фойдаланиш мумкин. Масалан БАП билан N-диметиламиноқаҳрабо кислотани кам миқдори биргаликда қўлланилганда баъзи ўсимлик турларининг таъсирланиши ортганлиги аниқланган. *In vivo* ўсувчи барча дарахтлар ва алоҳида шохларига ишлов бериш мумкин. Ўсимликларнинг кесилган шохлари цитокинин эритмасига солиб қўйилади ёки дарахтнинг ўтказувчи тизимлари орқали, масалан, шохнинг кесилган томонидан инъекция қилиш йўли билан ишлов бериш мумкин. Бундай ишлов натижасида куртак ва ниҳолларнинг ҳосил бўлиши тезлашади ва улар ёш асоснинг морфологияси каби морфологияга эга бўлади. Ниҳоллар ёки куртакларга эга калта поя қирқмалари, куртаклари ва ниҳолларини ўсишини индукциялаш учун *in vitro* озиқа муҳитга жойлаштирилади. Сўнг шаклланган ниҳоллар кўпайтириш учун, ёки илдиз чиқариш учун мослаштирилган озиқа муҳитларга ўтказилади. Бунда оралик босқич янги ҳосил бўлган куртакларнинг очилиши ва ундан ниҳолларнинг ривожланишига имкон берувчи муҳит ҳисобланади.

Физиологик омилларга эксплантни ажратиш даври ҳам киради. Ўсимликларни вегетация даврида ажратилган тўқима ва органлар, мажбурий ва чуқур тиним даврида ажратилганларига нисбатан, озиқа муҳитнинг таркибига таъсирчанлиги ва адвентив куртаклар пайдо қилиш, ниҳолларининг шаклланиш ва илдиз отиш қобиляти юқори бўлади.

Эксплантлар ўлчами ҳам муваффақиятли микрокўпайтиришни белгиловчи омиллардан биридир. Эксплант канчалик кичик бўлса, регенерацияланиш хусусияти шунчалик кам бўлади ёки аксинча, паренхима, ўтказувчи тўқималар ва камбийдан ташкил топган йирик ўлчамдаги эксплантлар озиқа муҳит таркибидаги фитогормонлар нисбатидан катъий назар, куртаклар ҳосил қилади. Лекин бошқа томони ҳам борки, катта ўлчамдаги эксплант хужайраларида вирус ва бошқа патогенлар пайдо бўлиш эҳтимоли юқори бўлиб, бу *in vitro* ўсимликлар тўқимасини соғломлаштирилишига тўсиқ бўлади.

Эксплантларни оптимал ўлчами бирламчи эксплант манбаи бўлиб хизмат қилувчи донор ўсимликнинг турига ҳос хусусиятларига ва органлари хусусиятларига боғлиқ. Малина учун бирламчи эксплант ўлчами 2 мм деб қабул қилинган, бунда ўсимликнинг апикал учларининг 60%и Морел муҳитида регенерацияланган. Хмел учун бу кўрсаткич 0,1



дан 0,2 мм, пиёз ва сарисок пиёз учун меристемаларнинг оптимал ўлчами 0,5-0,8 мм ни ташкил қилади.

Қатор ўсимликларда ажратилган тўқималари ва меристема тўқималарининг морфогенетик қобилияти нихолларда куртакларни жойлашишига боғлиқ.

**Гормонал омиллар.** Клонли микроўпайтиришни муваффақиятли амалга ошишида озика мухитининг гормон мувозанати ҳам муҳим омиллардан бири ҳисобланади. Гормонларнинг нисбати (citoкинин ауксин) юқори бўлганда ички меристемалар ёки адвентив куртаклар ривожланади, паст бўлганда илдиз ҳосил бўлиши индуцирланади, ўртача бўлганда эса каллус тўқималари ҳосил бўлиши ва пролиферацияси кузатилади.

Клонли микроўпайтиришда ауксин компонентлари сифатида ИСК, баъзи ҳолларда НСК, citoкинин сифатида эса кинетин ва БАП қўлланилади.

Ўсимликларни микроўпайтиришда фойдаланиладиган citoкининларни унинг фаоллиги бўйича қуйидаги тартибда жойлаштириш мумкин: кинетин < 6 бензил аминопурин (БАП) < 2-изопентиладенин (2 ip) < зеатин.

Citoкинин ва ауксинлардан ташқари озика мухитга баъзида гебберал кислотаси ҳам қўшилади, у шаклланган куртакларни ўсишини ва чўзилишини (элонгацияси) стимуллади ва ер устки қисми яхши ривожланган ўсимлик олиш имконини беради.

Умуман олганда, тўқималар културасида турли морфогенетик таъсирланишини кам микдордаги экзоген фитогормонлари ёрдамида индукциялаш ва стимуллаш мумкин ва гормонлар билан тўйинган озика мухитларда ўсимлик тўқималарининг умумий фаоллигини батомом йўқотиши ёки тўқималарни нобуд қилиш мумкин. Ўсимликларни ультраланаётган орган ва тўқималарини фитогормонларга нисбатан таъсирланиш хусусиятини ўсимликларни ўстириш мақсадида ўсиш регуляторларидан фойдаланганда ҳисобга олиш керак.

Клонли микроўпайтиришга гормонлар билан бир қаторда минерал тузлар, витаминлар ва углеводлар ҳам таъсир кўрсатади.

Ўсимликларни *in vitro* микроўпайтириш учун Мурасига ва Скуга, Линсмаер ва Скуга, Гресхоф ва Доу, Нич, Хеллер, Шенк ва Хильдебрандт ва бошқа бир-биридан аммонийли ва нитратли азот нисбати билан фарқ қилувчи озика мухитлардан фойдаланилади. Кўпинча тадқиқотчилар юқори микдорда аорганик моддалар тутувчи Мурасига ва Скуга озика мухитларидан фойдаланишни афзал билади. Азот билан бойитилган озика мухитлардан фойдаланилганда, нафакат каллус тўқимаси ҳосил бўлишига, балки органогенез ва айникса соматик эмбриогенез жараёнларини стимулланишига ҳам эришиш мумкин. Масалан,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  Brassica ни ҳар хил турлари муртакларини морфогенетик потенциалига таъсир этади. Муртакларни яшовчанлик фоиизи ва нихоллар ҳосил бўлиш частотаси  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  нинг мухитдаги микдори камайтирилганда ошади,



нихолларнинг ва муртаклар шаклланишини максимал даражасига  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  иштирок этмайдиган озика мухитида эришиш мумкин.  $\text{KNO}_3$  ва  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  нинг миқдори 6,7 мМ гача камайтирилганда крижовникнинг баъзи навларини морфогенезини яхшиланади. Помидор учун минерал азотнинг миқдори оширилган озика мухитда каллус ҳосил бўлиш жараёни тўхташи ва эксплантларни нобуд бўлиши тажрибаларда аниқланган. Глоксиния учун вегетатив ва репродуктив тузилмаларнинг ҳосил бўлиши озика мухит таркибидаги компонентларга боғлиқ эканлиги аниқланган.  $\text{KNO}_3$  (20 мМ) ва сахарозанинг (100 мМ) юқори миқдорида кўпинча вегетатив куртакларни ривожланиши, гул куртакларнинг ривожланиши эса фақат 28 % эксплантларда кузатилган. Озика мухитда  $\text{KNO}_3$  (2 мМ) ва сахарозанинг (15 мМ) кам миқдорида барча эксплантларда фақат гул куртаклар ҳосил бўлади.

Микрокўпайтириш жараёнларига гормон табиатига эга бўлмаган биологик фаол моддалар, шунингдек углеродли озиклантириш ҳам сезиларли таъсир кўрсатади. Маълумки, каллус тўқималари ҳосил бўлиши, ундан нихолларнинг регенерацияланиши ва эмбрионларнинг пайдо бўлиши учун, озика мухити таркибида витаминлар, аминокислоталар, ўсимлик экстрактлари, казеин гидролизати иштирок этиши зарур. Агар нихолларнинг ривожланиши мавжуд ички меристемалар ҳисобига ёки шаклланган куртак ва эмбрионлар ҳисобига бўлса, у ҳолда биологик фаол моддаларни зарурияти йўқ, чунки бундай нихоллар ўзининг ҳаёт фаолияти учун зарур бўлган моддаларни ўзи синтезлаш қобилиятига эга. Биологик фаол моддаларнинг юқори концентрацияси гипervитаминоз келтириб чиқаради, натижада ўсиш чекланади, баргларини қорайиши ва қуриши, ўсимлик морфологиясининг ўзгаришига олиб келади.

Клонли микрокўпайтиришнинг барча босқичларида углевод манбаи сифатида 3 % ли сахарозадан фойдаланилади. Лекин, бу миқдорни барча ўсимликларни *in vitro* ўстириш учун оптимал деб бўлмайди. Қора қарағайнинг ажратилган муртакларини ўсишида сахарозанинг юқори миқдори (23 %) адвентив куртакларни пайдо бўлишига салбий таъсир кўрсатиши аниқланган. Иккинчи пассажда бу жараён амалга ошмаганлиги ва тўртинчи пассажда барча эксплантлар нобуд бўлганлиги кузатилган. Озика мухитдаги сахароза концентрациясининг камлиги нафақат адвентив куртакларни пайдо бўлишини, балки унинг ривожланиб нихол ҳосил қилишини ҳам стимуллади. Нихоллар сахарозанинг 0,5 – 1 % ли миқдорида 2-3 ой култураланганида 1-1,5 см узунликка эга бўлади, улардан кўпайтириш ёки илдиз оттириш учун фойдаланилган.

Углерод манбаи сифатида сахароза билан бир каторда глюкоза, фруктоза, галактоза ва бошқалардан ҳам фойдаланиш мумкин. Маълумки, *in vitro* ўсимликлар тўқимасини културалашда углеводли озика сифатида фойдаланиладиган манбалардан глюкоза сахарозадан кейинги ўринни эгаллайди. Ўрганилган 38 та ўсимлик култураларидан



(ўтчил ва ёғоч пояли ўсимликлар) 85 %ли глюкозали мухитда ҳам жуда яхши ўсган. Глюкозали кейинги ўринни фруктоза эгаллайди. Миnoxнинг фикрича, култураланаётган ўсимликларнинг  $\frac{2}{3}$  қисми ўсишида фруктозадан муваффақиятли фойдаланилган. Ажратилган ўсимлик тўқималарига таъсири бўйича, галактоза глюкоза ва фруктозага нисбатан фарк қилади. Ўрганилган ўсимлик културалардан деярли ярми галактозали мухитда ёмон ўсган ёки умуман ўсмаган. Лекин ўсимликлар орган ва тўқималарининг ўсишида галактозанинг ижобий роли ҳақида ҳам маълумотлар бор. Шундай қилиб, гормонлар, биологик фаол моддалар ва минерал тузлардан фойдаланиш муоммосини тайёр рецептлар асосида, озика мухит таркибига бу бирикмаларни киритиш орқали эмас, балки, микрокўпайтиришда фойдаланилаётган у ёки бу ўсимлик турларининг аниқ морфогенетик реакциясини ҳисобга олган ҳолда ҳал этилиши лозим.

**Физик омиллар.** Озика мухитнинг қаттиқ, суюқ ҳолатда бўлиши ҳам эксплантларни ўсиши ва адвентив куртакларни пайдо қилиш жараёнларига таъсир этувчи муҳим омиллардан бири ҳисобланади. Маълумки, ниҳолларни учки қисмидан олинган эксплантлар суюқ озика мухитларда роллер типдаги аппаратларда култураланганда уларнинг ўсиши сезиларли даражада стимулланади, ниҳолларни апикал доминантлиги аниқ намоён бўлмайди, ўсиш даври ва қайта экишлар сони қисқаради, бу ўсимликларга озика моддалар билан яхши таъминланиш имконини беради. Бошқа томонидан қараганда, бу шароитда аномал, эгри –бугри ниҳолларнинг пайдо бўлиш эҳтимоли ортади. Агарли озика мухитлардан фойдаланиш орқали бу муаммоларни йўқотиш мумкин, лекин шу билан бирга бу усул эксплантларни озикланиши шароитини ёмонлаштиради ва метаболизм маҳсулотлари чиқиб кетишига тўсқинлик қилади.

Шунингдек ўсимликларни клонли микрокўпайиши ва ўсишида озика мухитининг рН ҳам таъсир этади. Маълумки, кучли кислотали ёки ишқорий мухитда баъзи элементлар масалан, фосфор, темир эримади, бундан ўсимликларни ўсиши чекланади. Лекин, юқори кислотали мухитда бу элементларни эрувчанлиги ошиши, кўп микдорининг эритма ҳолатига ўтиши эксплант учун захарли таъсир кўрсатади.

Ўсимликларни орган ва тўқималари рН 5,6-5,8 бўлган озика мухитларда култураланади. Аммо бу шароит ҳар доим ҳам оптимал бўлавермайди. Масалан, оддий қарағай муртаклари учун озика мухитининг кислоталик даражаси 4,7 дан 5,2 гача ўзгартирилганда муртакларнинг 2,3 – 3 маротаба кўп адвентив куртаклар ҳосил қилиши аниқланган, оддий қорақарағай учун эса, мухитнинг энг оптимал рН 5,2 – 5,6 оралиғида деб топилган. Бу натижалар юқорида номлари келтирилган ўсимлик турлари ўсадиган тупрокнинг кислоталик даражаси билан деярли мос келади. Шунинг учун тўқималар култураси бўйича тажрибалар ўтказишда, ўрганилаётган ўсимлик ўсадиган табиий



шароитдаги тупрокнинг кислоталик даражасини ҳам ҳисобга олиш зарур.

Одатда ажратилган ўсимлик тўқималари бошланғич ўсимликнинг интенсивлик ва фотожараёнга бўлган талабларини ҳисобга олган ҳолда, люминесцентли лампалар ёруғлиги остида ўстирилади. Мурасига ўсимликларни клонли микрокўпайтиришнинг биринчи ва иккинчи босқичларида тўқималарни 1-5 минг лкда 14-16 соатли фотожараёнда ўстиришни тавсия қилади, ёритишнинг бу шароити кўпчилик ўсимликларнинг ниҳол ва илдизларининг пайдо бўлишига ёрдам беради.

Кўпчилик тадқиқотчиларнинг фикрича, ёритиш интенсивлиги органогенез индукциясида муҳим рол ўйнар экан. Бегоня ўсимлиги културасида ёритишни 3 дан 6 минг лк гача оширилиши ниҳол ҳосил бўлиш интенсивлигини ортишига олиб келган. Аспарагус тўқималарда эса 1 минг лк ёруғликда (16 соатлик фотожараён) максимал даражада ниҳоллар ва илдизлар ҳосил бўлганлиги аниқланган, ёритиш интенсивлигини оширилиши ёки камайтирилиши тўқималарнинг органогенез кобилиятини пасайишига ёки нобуд бўлишига олиб келган.

Ажратилган тўқималар ўсишининг интенсивлиги ва характери ёруғликнинг спектрал таркибига ҳам боғлиқ. Демак, *Heloniopsis orientalis* тўқималарида куртакларни пайдо бўлишини ок, кизил, кўк нурлар яшил ранг нурга нисбатан тезроқ индуцирлайди. кизил нур тамаки тўқималарида гул куртакларни, коронгулик эса илдиз ҳосил бўлишини стимуллайтиди. Тамаки каллусида адвентив куртаклар пайдо бўлишини ультрабинафша, кўк, бинафша нурларлар тезлаштиради. Салат ўсимлиги эксплантларида кизил нурлар ниҳоллар ҳосил бўлишини тезлаштиради. Пробиркада ўстирилган картошка ўсимликларида кўрсатилишича, озика муҳит таркибида ИСК ва ИСКни иштирок этиши кўк нурга нисбатан қизил нурда тугунак ҳосил бўлишини стимуллайтиди, БАП ёки кинетин тугунак ҳосил бўлишини қизил нурга нисбатан кўк нурда кўпроқ стимуллайтиди (Т.Н.Константинова ва бошқалар, 1988). Қайин ниҳолларининг илдиз отишига, мавжуд меристемаларни фаоллаштиришга кизил нур яхши таъсир кўрсатади, бунда деярли 100 % микрокаламчалар илдиз ҳосил қилади. Ок нур таъсирида бу жараён секинроқ кечади, кўк нурда фақат каламчаларнинг ярми, короғида эса ундан ҳам камроғи илдиз ҳосил қилади. Қизил нур остида озика муҳит таркибида ИСК иштирокида илдиз ҳосил бўлиш жараёни тезлашади ва ниҳолларнинг ўсиш тезлиги ортади, кўк нур ўсимлик тўқималарида цитокинин микдорининг ортишига таъсир қилиб, ниҳолларнинг ҳосил бўлишини стимуллайтиди.

Ҳарорат метаболизм жараёнларини фаоллаштириш орқали ўсимликнинг ажратилган тўқималарини ўсиши ва регенерацияланишига, муҳим таъсир кўрсатади. Кўпчилик ўсимлик тўқималари учун оптимал ҳарорат 23 – 25°C ни ташкил этади.

Лекин ўсимликларнинг ҳароратга бўлган эҳтиёжи турлича бўлиши мумкин. *Lilium auratum* ўсимлиги пиёзлари ҳосил бўлишига 20°C



харорат яхши таъсир кўратади. Гладиолуснинг эксплант тўкималари музлатишганда, унинг регенерацияланиш қобилияти ошади. Бегоня ўсимлиги қаламчалари културасида ниҳолларнинг ҳосил бўлишини паст хароратда (15-18°C) икки ҳафта давомида индукциялаш лозим.

Харорат режими биринчи навбатда, ўсимлик турига боғлиқ. Масалан, тропик ўсимликлар учун ўстиришнинг оптимал харорати 27°C атрофида, бошқа кўпчилик ўсимликлар учун эса -25°C дир. Клонли микрокўпайтиришда пробирка ўсимликлари климатик камераларда 16 соатли фотодпериодда ва хавонинг намлиги 70 % бўлган шароитда ўстирилади.

Шундай қилиб, ўсимликларни кўпайтириш коэффициентини оширишда, ҳар бир тур учун, унинг табиий ўсиш шароитини ҳисобга олган ҳолда културалашнинг индивидуал шароитини яратиш зарур. Демак, клонли микрокўпайтириш усули ўсимликларни вегетатив кўпайтиришнинг янги истиқболли усули бўлиб, генетик бир хил соғломлаштирилган экиш материаллари олиш, кўпайтиришнинг юқори коэффициентига эришиш, селекция жараёнларини қисқартириш, бутун йил давомида иш олиб бориш, ўсимликларни ўстириш учун зарур бўлган майдонларни қисқартириш имконини беради. Дунёнинг кўпгина мамлакатларида клонли микрокўпайтириш биоиндустрияси оқими саноат асосига қўйилган ва ўнлаб корхоналар фаолият юритмоқда. Масалан, Францияда гулли ўсимликлар маҳсулотларининг 94% ини ажратилган тўкималар култураси усули ёрдамида, АҚШда 100 га яқин тижорат корхоналари манзарали, мевали ва ўрмон ўсимликлари, сабзавотларнинг экиш материалларини клонли микрокўпайтириш усули ёрдамида олинади. Дунё бозорида соғломлаштирилган экиш материаллари етиштириш бўйича Голландия, олма, олхўри ва шафтоли кўчатларини (ҳар йили 250-500 мингтагагача) етиштириш бўйича Италия етакчиликларида.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с



**Мавзу—9. Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратилган хужайра ва тўкималар култураси in vitro кўпайтирилган ўсимликлар сифати**

**Режа:**

1. Ўсимликлар селекциясида in vitro усулларининг ёрдамчи усул сифатида қўлланилиши
2. Постгам чатишмасликни енгиш
3. In vitro гаплоидлар олиш ва уларни селекцияда қўллаш

**Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратилган хужайра ва тўкималар култураси.** Хужайралар технологияси йўналишларидан бири — бу улардан селекцияда фойдаланиш орқали, ўсимликларни янги шакллари ва навларини яратишдаги анъанавий селекцион жараёнларни тезлаштириш. Ажратилган хужайра ва тўкималарни in vitro културалаш усулларини шартли равишда икки гуруҳга бўлиш мумкин.

Биринчи гуруҳ — бу ёрдамчи технологиялар бўлиб, селекциянинг ўрнини боса олмайди, лекин унга хизмат қилади. Бунга: in vitro уруғлантириш (прогам чатишмасликни енгиш), уруғ куртакларни ва етилмаган дурагай куртакларни културалаш (постгам чатишмасликни енгиш), чангдон ва микроспораларни ўстириб гаплоидлар олиш, алоҳида ажратилган хужайра, тўкима ва органларни криосаклаш, узок турлар дурагайлари клонли микрокўпайтириш усулларини киритиш мумкин.

Иккинчи гуруҳ усуллари мустақил равишда, селекциянинг анъанавий усулларига боғлиқ бўлмаган ҳолда, каллус тўкималарини қўллаш орқали хужайралар селекциясини амалга ошириш, соматик дурагайлаш (алоҳида ажратилган протопластларни бир-бирига қўшиш ва жинсиз дурагайлар олиш), ген муҳандисли усулларидан фойдаланиб, ўсимликларни янги шакллари ва навларини олишга қаратилгандир.

**Ўсимликлар селекциясида in vitro усулларининг ёрдамчи усул сифатида қўлланилиши.** Узок формаларни чатиштиришда ажратилган тўкималар културасини: in vitro уруғлантириш, эмбриокултура (алоҳида ажратилган муртакларни сунъий озиқа муҳитларда ўстириш), кимматли дурагайларни in vitro гаплоидларини олиш, клонли микрокўпайтириш ва криосаклаш каби усулларидан фойдаланилади.

Агар табиий шароитда танланган жуфтликлар орасида уруғланиш имконияти бўлмаса in vitro уруғлантириш амалга оширилади. Бу бир неча сабабларга боғлиқ бўлиши мумкин: 1) физиологик (чанг етилиш вақтининг мос келмаслиги ва бошқалар); 2) морфологик (чангдон найчасининг қисқалиги ёки ривожланишнинг турли даврларида унинг ўсишини тўхтатиши ва бошқалар). Буни икки хил йўл билан амалга ошириш мумкин: а) тугунча устига етилган чанг доначалари қўйилиб, сунъий агарли озиқа муҳитларда ўстирилади; б) тугунча ёрилади ва уруғ куртак билан планцента бўлаги озиқа муҳитига ўтказилади, унинг атрофида ёки бевосита муртак тўкимасида етилган чанг ўстирилади. Уруғ куртаклар ўлчамига қараб уруғланиш амалга ошганлигини аниқлаш мумкин. Уруғланган уруғмуртаклар ўлчами катталаша бошлайди.



Шаклланган муртак тиним давридан ўтмасдан, тезлик билан ўсади ва дурагай авлодни пайдо бўлишига олиб келади. *in vitro* муртакларни уруғлантириш орқали тамакининг ўзаро чатишмайдиган *N. tabacum* тури навлари билан *N. gosulata* ва *N. debneyi* ёввой турларидан турлараро дурагайлари олинган (М.Ф.Термовский ва бошқалар 1976), Шимарева (1986).

**Постгам чатишмасликни енгиш.** Генетик узоқ формалар чатиштирилганда постгам чатишмаслик юзага келади, натижада пуч, унмайдиган уруғлар ҳосил бўлади. Бунинг сабаби муртак ва эндоспермнинг ривожланиш вақтидаги тафовут бўлиши мумкин. Эндоспермнинг ривожланиши суст бўлганда муртак нормал ўсишга кодир эмас. Бундай ҳолларда етилган пуч уруғлардан муртаклар алоҳида ажратиб олинади ва сунъий озиқа муҳитларда ўстирилади.

Муртакларни сунъий озиқа муҳитларда ўстиришга *эмбриокультура* деб аталади. Етилган муртаклар физиологик фаол моддалар иштирокисиз факат минерал тузлар ва сахароза тутувчи оддий таркибдаги озиқа муҳитларида ўсади (масалан, Уайт озиқа муҳитида). Узоқ турлар ўзаро чатиштирилганда муртаклар ривожланиши бузилишини дастлабки даврдаёқ кузатиш мумкин, бунда хужайралар дифференцияланмайди, ўсиши секинлашади. Бундай ҳолларда муртак культураси ўсиши икки боскичдан: муртакнинг эмбрионал ўсиши, бу вақтда унинг дифференцияланиши давом этади ва етилаётган муртакни ўсишидан иборат бўлади. Биринчи боскич учун сахароза миқдори оширилган, турли аминокислоталар, витаминлар ва гормонлар қўшилган мураккаб таркибли озиқа муҳити керак бўлади.

Ҳозирги вақтда эмбриокультураларни селекцияда қўллаб, донли, бошоқли ва бошқа кишлок хўжалик ўсимликларининг узоқ формаларидан дурагайлар олиш муҳим аҳамият касб этмоқда, етилмаган муртакларни етилтириш йўли билан бугдой-жавдар дурагайини чиқишини ошириш, шунингдек эмбриокультуралардан бугдойни айғир кикёк ўсимлиги билан дурагайлашда постгам чатишмасликни енгиш учун фойдаланиш мумкинлиги аниқланган.

Эмбриокультура усули сабзавот экинларини ўзаро чатиштиришда тобора кенг қўлланилмоқда. Эмбриогенезни турли боскичларидаги пийёзнинг дурагай уруғларидан олинган муртакларни *in vitro* ўстириш усуллари, қисман фертил турлараро дурагайлардан муртакларни ўстириш усуллари йўлга қўйилган. Ажратилган муртаклар культураси помидор ва бошқа сабзавот экинлари селекциясида фойдаланилади.

Помидор муртакларининг *in vitro* ўсиши ва ривожланиши, гормон регуляцияси ўрганилган. Кунгабокарнинг турлараро дурагайларнинг олишда эмбриокультура усулини қўллаш имкониятлари яратилмоқда, чангланганидан сўнг турли муддатларда ажратилган муртакларни *in vitro* ўсиши ва ривожланишини назорат қилувчи омиллар ўрганилмоқда.

Алоҳида ажратилган муртаклар культураси узоқ дурагайлар олишда ёрдамчи усул сифатида нафақат постгам чатишмасликни енгишда,



шунингдек ҳўжалик аҳамияти қимматли дурагайларни кўпайтиришда ҳам қўлланилади. Бу ҳолда микрокўпайтириш каллусогенез, морфогенез индукцияси ва каллус тўкимасидан регенерант ўсимлик олиш йўли билан боради. Етилмаган муртакларни клонлаш техникаси қимматли генотипга эга бўлган ўсимликларни ҳаёт жараёнининг бошланғич даврларида кўпайтириш имконини беради. Муртак культурасини қўллашнинг яна бир имконияти улардан ҳужайралар селекциясида фойдаланишдир.

**Узоқ дурагайларни клонли микрокўпайтириш.** Эмбриокультура тўлиқ ривожланмаган муртаклардан дурагай ўсимлик олиш имконини беради. Аммо дурагайлардан ўсимлик олиш камдан-кам ҳол бўлиб, кўпинча дурагайлар стерил бўлади, масалан баъзан гречиха селекциясида, бу ўсимлиكنинг чоррахали чангланиши сабабли, нодир генотипли авлодларни яратиш қийин. Шунинг учун тадқиқотчи олимлар олдида, олинган ўсимликларни саклаш ва кўпайтириш вазифаси туради. Бунда клонли микрокўпайтириш усули ёрдам беради. Дурагайлар яширин куртакларининг ривожланишини фаоллаштириш орқали (стерил ниҳолларни қаламчалаш), адвентив куртаклардан ёки каллус тўкималаридан ўсимликларни регенерациялаш орқали кўпайтирилади.

**In vitro гаплоидлар олиш ва уларни селекцияда қўллаш.** Гаплоид ўсимликларнинг селекциядаги ўрни бекиёсдир. Уларни қўллаш орқали керакли комбинацияни тезроқ топиш нав яратиш муддатини қискартиради. Гаплоидлардан барқарор гомозигот тизимлар олишда фойдаланилади. Мутагенез учун ҳам гаплоидлардан фойдаланиш қулай, чунки гаплоидлар даражасида рецессив мутацияларни танлаш осон кечади.

Диплоид ўсимликларда гомологик хромосомалар аллел генларининг иккаласи ҳам камдан-кам ҳолларда мутацияга учрайди. Асос одатда гетерозигот бўлиб (иккала гени билан фарқ қилади), бунда фақат доминант геннинг таъсири юзага чиқади. Чунки мутация кўпинча рецессив бўлганлиги сабабли, уларни аниқлаш қийин. Гомологик хромосомаларнинг фақат биттасини тутувчи гаплоид ўсимликларда эса мутация тез аниқланади. Гаплоид даражасидаги селекция нафақат доминант, балки рецессив белгиларни ҳам тўғридан – тўғри танлаш имконини беради.

Гаплоид асослар стерилдир, лекин уларнинг хромосомалар тўпламини қолчили ёрдамида икки хисса кўпайтириш ва диплоид гомозигот ўсимликлар олиш мумкин. Сунъий йўл билан in vitro усулларидан фойдаланиб, кўп миқдорда гаплоид ўсимликлар олишни амалга ошириш мумкин. Ажратилган тўкималар культураси усулини қўллаш орқали гаплоидлар олишнинг учта усули мавжуд:

- **андрогенез** – алоҳида ажратилган чангдон ва микроспорани сунъий озика муҳитларда ўстириб гаплоид ўсимликлар олиш.

- **гиногенез** – уруғ куртакларни сунъий озика муҳитларда ўстириб, гаплоид ўсимликлар олиш.



- партеногенез— узок формадаги дурагайлар чатиштирилганда оталик хромосомалари йўқолиб кетган дурагай муртақдан гаплоид ўсимликлар олиш.

Чангдонларни культуралаш технологияси асосида, бугдой, маккажўхори, арпа, картошкани гаплоид ўсимликлари олинган. Чангдонлар культурасида гаплоид ўсимликлар пайдо қилишнинг икки йўли мавжуд: Биринчи — йўли чанг дончаларидан эмбриогенез йўли билан ўсимлик ҳосил қилиш. Бунда чангдонлар ичида алоҳида чанг дончаларидан эмбрионлар пайдо бўлади. Улар ўсиб гаплоид ўсимликлар ҳосил қилади. Иккинчи йўли — чангдон хужайраларидан каллус тўқимаси олиш ва кейинчалик каллус хужайраларида морфогенез натижасида ўсимлик регенерациялаш. Лекин пайдо бўлган ўсимлик ҳар доим ҳам гаплоид бўлавермайди ва улар кўпинча плоидлиги билан фарқ қилади. Ҳозиргача уларнинг полиплоидланган гаплоид хужайралардан ёки хужайралар қўшилишидан ҳосил бўлиши охиригача аниқланмаган.

In vitro олинган гаплоидлардан нафақат амалий селекцияда, шунингдек ген муҳандислиги ишларида ва хужайралар селекциясида ҳам фойдаланиш мумкин.

Генетик трансформациялаш бўйича тажрибалар учун, баъзи ҳолларда протопластларга нисбатан чанг дончаларидан фойдаланиш қулайдир.

**Ўсимликларни криосаклаш.** Ўсимликларнинг соматик хужайраларини суяқ азотда (196°С ҳароратда) сақлаш биотехнологияда янги йўналиш бўлиб, XX асрнинг 70 йилларидан бошлаб кенг ривожлана бошлади. Бу технологиянинг мақсади in vitro культурасида генофондни сақлаш, селекционерларни фойдали хусусиятларга эга: генотиплар, дурагайлаш учун зарур бўлган чанглар; ноёб нусхадаги уруғлар, шу жумладан кургоқчиликка чидамсизлари билан ҳам; ҳар хил турларга мансуб бўлган ўсимликларнинг трансформацияланган, мутант, дурагай, in vitro морфогенезга қодир хужайралари; зиготик ва соматик муртақлар ва бошқалар билан ҳар қандай вақтда таъминлашдан иборатдир. Ҳозирги вақтда алоҳида культураланаётган хужайралар, каллус культуралари, ажратилган протопластлар, поя учлари меристемаларини криосаклаш усуллари йўлга қўйилган.

Криосаклашни амалга ошириш учун ўсимлик хужайраси спецификасини (ўзига хос томонларини) ҳисобга олиш зарур. Бундай мақсадлар учун хужайраси майда, майда воқуолали ва таркибида ўзининг микдори кам хужайралар танлаб олинади. Ўсимлик хужайраларини музлатиш сўнгра эритиш усуллари ҳар бир ҳолат учун охида ишлаб чиқилади. Криосаклашда бир қатор қийинчиликлар юзага чиқиши мумкин, улардан бири, музлатилаётган хужайра ва тўқималарни мотик стресслардан ва хужайралар ичида муз кристаллари ҳосил бўлиши натижасида структурасининг механик парчаланишидан ҳимоя қилиш билан боғлиқ. Шу билан бир вақтда хужайралар эритилгандан ва рекультивация қилингандан сўнг яшовчанлигини таъминловчи шароитни тўғри танлай билиш лозим.



Криосаклашда хужайраларни музлатишдан олдин ишлов бериш, криопротекторларни қўллаш, музлатишни маълум режимичи  $0 - 40^{\circ}\text{C}$  (камдан-кам ҳолларда  $- 70$  гача) оралиғида сақлаш, шунингдек объектлар эритилганда махсус эҳтиёткорликни қўриш каби умумий қоидалар белгиланган.

Криоконсервация жараёни хужайралар культурасини музлатишга тайёрлашдан бошланади. Бунинг учун хужайралар культураси турли осмотик фаол моддалар: 2-6% концентрациядаги маннит ёки сорбит, аминокислоталар, улардан ўсимликлар хужайрасидаги сувни ўзига тортиб олиш хусусияти билан маълум бўлган пролин, шунингдек  $\gamma$ -аминомой кислота тутувчи озика муҳитларда культураланади.

Криопротекторлар яъни, хужайраларни механик ва осмотик стресслар зарарлашидан сақловчи моддаларни танлаш, эмпирик равишда заҳарлилик ва оптимал самараси тамойили асосида олиб борилади. Барча маълум криопротекторлар орасида хужайраларга осон қирувчилари диметилсульфоксид (ДМСО, 5-10%) глицерин (10-20%), шунингдек хужайраларга қира олмайдиган юкори молекуляр моддалар поливинилпиролитон (ПВП), декстран, полиэтиленгликоль (ПЭГ) (6000 мол. оғирликка эга бўлгани) эканлиги аниқланган.

Криосаклаш учун музлатиш режимини тўғри танланиши ( $0^{\circ}\text{C}$  дан  $- 40^{\circ}\text{C}$ ) муҳим аҳамиятга эга. Ҳамма объектлар учун музлатишнинг давомийлиги бир минутда  $0-1^{\circ}\text{C}$  қилиб белгиланган ва барча ишлар музлатиш дастури асосида махсус қурилмаларда олиб борилади.

Шундай қилиб, секин-аста музлатиш ва криопротекторларни қўллаш хужайраларни эркин сувдан ҳоли қилишга ёрдам беради ва  $40^{\circ}\text{C}$  баъзида  $60^{\circ}\text{C}$  ҳароратда хужайралар батамом сувсизланади. Шундан сўнг ўсимлик материали солинган ампула музлатиш учун суюқ азотга солинади.

Материалларни суюқ азотда сақлаш вақти чегараланмаган. Масалан, Россия фанлар академияси ўсимликлар физиологияси институтида сабзи тўқималари 20 йил, картошка меристемасини 10 йилдан буён суюқ азотда сақланмоқда.

Криосаклашнинг сўнгги босқичи, материалларни эритиш ва хужайралар тирикчилигини текширишдан иборат. Агар музлатиш аста-секин амалга оширилган бўлса, эритиш иложи борица тезроқ бўлиши лозим. Бунинг учун ампулалар  $40-60^{\circ}\text{C}$  ҳароратдаги сув ҳаммомида музнинг охири кристаллари эригунига қадар қолдирилади.

Криосакланган хужайралар суюқ азотда сақланганда ўзининг бўлинишга, ўсимлик регенерациялашга бўлган қобилятини йўқотмайди, иккиламчи метаболитлар синтез қилишдаги маҳсулдорлиги камаймаслиги тажрибаларда исботланган.

Шундай қилиб, ўсимлик объектларини криосаклаш билан боғлиқ бўлган технология ривожланмоқда ва мукаммаллашмоқда. Шубҳасиз, бу технология ўзининг келажагига эга, бугунги кунда криобанклар селекционерлар ишларини енгиллаштирмоқда, уларга ўсимликларни



турли навлари, ёввойи турларини, шунингдек йўқолиб бораётган турлари генлари билан ишлаш имкониятларини яратиб бермоқда.

**Хужайра даражасидаги ўсимликлар селекцияси.** Хужайралар селекциясини соматоклонлар олиш билан биргаликда қўллаш муҳим аҳамиятга эга. *In vitro* култураси кишлоқ хўжалиги учун технологиялар яратиш—соматоклонал вариациялар ёки индуцирланган мутациялар асосида каттик селектив шароитда фойдали хусусиятларга эга хужайраларни танлаш имконини беради.

Хужайралар селекциясини амалга ошириш учун куйидаги усуллардан фойдаланилади:

- тўғри (позитив) селекция, бунда маълум типдаги мутант хужайраларгина яшаб кетади;

- нотўғри (негатив) селекция, бўлинаётган чидамсиз хужайраларни нобуд бўлишига асосланган, лекин улардаги мутацион ўзгарувчанликни қўшимча аниқлашни талаб этади;

- умумий селекция, бунда барча хужайра клонлари индивидуал равишда синовдан ўтказилади;

- визуал селекция ва носелектив танлаш, тизим варианты барча хужайралар популяцияси орасидан визуал равишда ёки биокимёвий усуллардан (хроматография, радиоиммуни анализ, микроспектрофотометрия ва бошқ) фойдаланган ҳолда ажратилганда ишлатилади.

Хужайралар селекциясининг юқорида баён этилган усулларида тўғри селекция кенг тарқалган усул бўлиб, гербицидлар, антибиотиклар, токсинлар, оғир металллар, тузлар ва бошқа антиметаболитларга чидамли регенерант ўсимликларни ажратишда қўлланилади.

*In vitro* шароитида ўсимликлар хужайра селекцияси бўйича изланишлар олиб боришда объект сифатида каллус, суспензия културалари ёки ажратилган протопластлардан фойдаланилади. Объект ўсимлик турлари, қўлланиладиган технологияларнинг мавжудлиги, шунингдек, тадқиқот мақсадларига қараб танланади.

Каллус тўқимаси осон олинадиган материал бўлиб, кўпинча хужайралар селекциясида қўлланилади. Қоида бўйича, тадқиқотлар амчи ёки кўчириб ўтказилган, субкултуралаш давомида ўзининг реарацияланиш қобилиятини йўқотмайдиган каллус тўқималарида борилади. Аммо, каллус тўқимаси билан иш олиб борган отчилар, бу объект тўқималарининг ўсиш тезлигини пастлиги, шунингдек, оғир сифатида қўлланиладиган захарли моддаларнинг барча хужайраларга бир хил таъсир этмаслиги, шунингдек каллус хужайраларининг қайта културалаш жараёнида регенерацияланиш қобилиятини йўқотиши каби камчиликлари мавжудлиги таъкидлаб

тилган. Шубҳасиз, селекцияни яқка хужайралар даражасида (суспензия култураси, протопластлар) ўтказиш мақсадга мувофиқдир. Лекин кўпчилик ўсимлик турлари учун яқка хужайраларни културалашнинг самарали технологиялари ва усуллари ҳали яратилмаган. Шунинг учун, каллус тўқималари юқорида келтирилган камчиликларга эга бўлсада,



баъзи ўсимлик турлари учун селекциянинг бу усули ҳозирча ягона бўлиб қолмоқда.

Чидамли, барқарор тизимларни олиш узоқ жараёндир. Қоидага асосан, селекция ажратилган ўсимлик эксплантларидан етарли миқдорда каллус массаси олишдан бошланади, сўнг селектив омиллар миқдорини аниқлаш учун фойдаланилади, бунда бир вақтнинг ўзида каллус тўқимаси ўсиши, шу билан бирга каллус колонияларининг бир қисми нобуд бўлиши кузатилади. Селектив омилларнинг танланган миқдори оптимал деб топилади ва кейинги тажрибаларда фойдаланилади. Шунга қарамай, селектив омиллар тутувчи озиқа муҳитда олинган бирламчи хужайралар колонияси физиологик мослашишлари натижасида ёки хужайраларни маълум ҳолатдаги дифференциаланишидан генетик барқарор бўлмаслиги мумкин, у ҳолда селектив културада 4-6 марта субкултуралаш орқали олинган клонларни барқарорлиги ва бардошлилиги текширилади. Сўнг бу клонлар селектив омиллар кўшилмаган озиқа муҳитга ўтказилади ва яна 2-3 марта қайта экилади (субкултураланади), фақат селектив шароитга қайтгандан сўнг барқарор клонлар танлаб олинади, улардан регенерант – ўсимлик олишга ҳаракат қилинади. Аммо, тузларга, касаллик чакирувчи замбуруғлардан ажратилган токсинларга чидамли ўсимликларни олиш бўйича олиб борилган изланишларнинг кўрсатишича, хужайраларни ва ўсимликларни чидамлилиги ўрганилаётган селектив омилларга мос келиши ва мос келмаслиги ҳам мумкин экан (*in vitro* ўсимлик ва хужайраларнинг паст ҳароратга, гербицидга, алюминийнинг юқори концентрациясига ва бошқа омилларга чидамлилиги орасидаги алоқадорлиги аниқланган).

Янги селекция материаллар олиш мақсадида каллусни културалаш кўпгина ўсимликлар бугдой, арпа, шоли, маккажўхори, шунингдек, картошка, помидор, беда ва камдан-кам ҳолларда дарахтлар билан шундай ишлар олиб борилган. Ҳозирда бугдой, шоли, картошкани  $\text{NaCl}$  ва  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  га чидамли ўсимликларини олиш бўйича яхши натижаларга эришилган. Озиқа муҳит таркибига аминокислотанинг заҳарли аналогини киритиш орқали сабзининг метионинни 20 марта кўп, триптофанни 30 марта кўп, лизинни 5 марта кўп синтезловчи хужайралари, ундан етук ўсимликлар олинган. Картошканинг эса ҳалқасимон чириш касаллигига бардошли шакли олинган. Дарахтсимон ўсимликларда олиб борилаётган ишлар бўйича ҳозирча ижобий натижалар кам, лекин изланиш давом этмоқда. Шундай қилиб, селекция мақсадлари учун каллус културасидан фойдаланиш муҳим хусусиятларга эга бўлиб, инсоният учун зарур бўлган янги ўсимлик шакллари яратишда кенг имкониятлар очмоқда.

Юқорида санаб ўтилган объектлар (калусли суспензия култураси, ажратилган протопластлар) билан бирга селекция учун бошланғич материал сифатида соматик ёки андроген эмбрионлар култураси, барг сегментлари ёки ўсимликни турли меристематик ва поя қисмлари каби органоген эксплантлар, шунингдек ажратилган муртаклар културасидан



фойдаланиш мумкин. Масалан, арпанинг уруғидан муртакни *in vitro* културалаш ға селекциялаш йўли билан аминокислоталар аналогларига чидамли ва оксил таркиби бойитилган ўсимлиги олинди. Картошка учун ниҳоллар ва қаламчаларни мутагенлар билан ишлов бериш орқали хлорофилл танқислиги ва антибиотикларга чидамли химер мутантлар олишни самарали усуллари ишлаб чиқилди.

Шундай қилиб, селекциянинг анаъанавий усулларига нисбатан, ҳужайра даражасидаги селекцияни амалга ошириш орқали ўсимликларни янги шакллари 2-4 марта тезроқ яратиш мумкин.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с

#### **Мавзу–10. Ўсимлик ҳужайралари селекцияси. Ҳужайралар муҳандислиги усуллари ёрдамида абиотик ва биотик стресс омилларга чидамли регенерант ўсимликлар олиш**

##### **Режа:**

1. Ўсимлик ҳужайралари селекцияси
2. Ҳужайралар муҳандислиги усуллари ёрдамида абиотик ва биотик стресс омилларга чидамли регенерант ўсимликлар олиш

**Ўсимлик ҳужайралари селекцияси.** Ўсимликлар ҳужайра, тўқима ва органларини *in vitro* културалаш усули ҳужайралар биологияси, ўсимликлар физиологияси ва генетикаси муаммоларини ҳал қилишга хизмат қилиб келмоқда, шу билан бирга, ҳозирги кунда янги биотехнологияларни яратилишида кенг қўлланилмоқда. Ўсимликларнинг ҳужайра, тўқима ва органларини културалаш бўйича биринчи натижалар олингандан бошлаб тадқиқотчиларни сунъий озика қитларида ўсаятган ажратилган ҳужайраларда қандай ўзгаришлар содир бўлиши ва унинг сабаблари қизиқтириб келган. Каллус ҳужайраларидан регенерант ўсимликлар олиш техникаси ишлаб чиқарилгандан сўнг, бошланғич ўсимликдан фенотипик ва генотипик ўзгаришлари билан фарқ қилувчи ўсимликларни янги шакллари яратиш имконияти пайдо бўлди. Ҳужайра тизимлари ва регенерант-ўсимликлар орасидаги бундай хилма-хиллик «сомаклон» деб аталади.

Сомаклонал ўзгаришларни генетик табиати ва пайдо бўлиш механизми ҳозиргача кам ўрганилган. Аммо сомаклон вариантларни пайдо бўлиши, бошланғич эксплантлар соматик ҳужайраларининг генетик гетерогенлиги, културалашнинг *in vitro* шароити томонидан



индуцирланувчи генетик ва эпигенетик ўзгарувчанлик, озика мухит таркиби ва тузлар, регулятор моддаларнинг микдорига ва бошланғич эксплантнинг генотипига боғлиқ

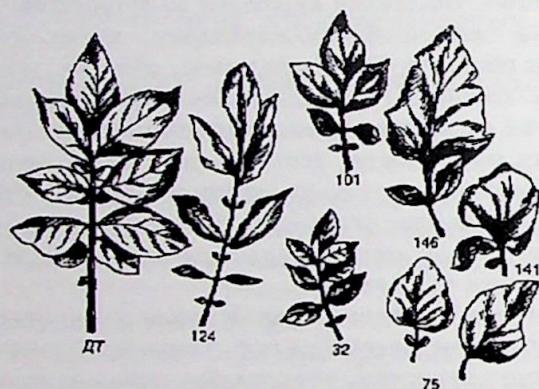
Нормал ўсимликларда дифференцияланган хужайралар турли даражадаги пloidликка эга бўлади, лекин баъзи турлар учун фақат диплоид хужайралар бўлиши характерлидир. Аммо онтогенез жараёнида турли пloidликка эга бўлган хужайралар пайдо бўлиши мумкин. Масалан, меристема тўқималарида хромосомалар сонини турлардаги доимийлиги омили билан бир каторда, деярли 80% ёпиқ уруғли ўсимликларда дифференцияланиш жараёнида соматик хужайраларда хромосомаларни эндоредупликацияси амалга ошиши ва турли даражадаги пloidликка эга тўқималар шаклланиши тажрибаларда исботланган. Вегетатив кўпаяувчи ва апомиктик ўсимликлар учун юқори частотада анеуплоид хужайраларни ҳосил бўлиши характерлидир. Ўстириш шароити ўзгартирилганда, айникса, тупроқ шўрланиши, юқори ёки паст ҳарорат, гербицидлар ёки пестицидлар, минерал ўғитларнинг оширилган меъёри қўлланилганда хромосомаларни қайта ташкилланиши кучайиши натижасида, ўсимликларда химерликни ва миксопloidликни пайдо қилишни кузатиш мумкин. Бу ва бошқа омиллар аномал митозларни пайдо бўлишига, бошланғич тўқималарда хромосомалардан сони билан фарқ қилувчи хужайраларни шаклланиши каби физиологик бузилишларга олиб келади.

Цитологик тадқиқотлар *in vitro* культуралаш шароити туфайли индуцирланувчи вариабеллик генетик ўзгаришлар билан боғлиқ эканлигини кўрсатди. Фенотипик вариантларни пайдо бўлишининг асосий манбаи бўлиб турли кариологик ўзгаришлар ва қайта ташкилланишлар хизмат қилади. Аммо улардан айнан қайси бири фенотипик таъсирга эга эканлиги ва барқарор ген мутацияси сифатида авлоддан-авлодга берилишини аниқлаш анча қийин кечади. Хромосомалардаги майда бўлиниш, дупликация, транслокация, инверсия каби ҳар бир ўзгариш регенерант ўсимликларда ва уларнинг кейинги авлодларида фенотипик ўзгаришларни юзага келтириши мумкин. Хромосомалардаги ўзгаришлар кўпинча мейозда кузатилади. Регенерант ўсимликлар хужайраларини мейози таҳлил қилинганда, хромосомалардаги транслокация, инверсия, субхроматид алмашиниш, хромосомаларни қисман йўқолиши каби қайта тикланиши жадал равишда кетаётгани аниқланди. Бу фенотипик ўзгаришларга кўпинча генетик механизмлар сабаб бўлишидан далолат беради.

Сомаклон ўзгарувчанликни молекуляр даражада ядро ДНК сини нозик қайта қуришини баҳолаш орқали кузатиш мумкин. Сомаклон вариабелликдан ташқари геномнинг наслдан-наслга берилувчи қайта қурилиши билан боғлиқ бўлган фенотипик ўзгаришлар (эпигенетик), ҳам аниқланган бўлиб, бу ўзгаришлар янги хужайраларга ҳам берилади, лекин регенерант ўсимликларда ёки уларнинг жинсий авлодларида юзага чикмайди (8-расм).



Сомаклонларни турли туманлиги бошланғич генотипга, эксплантни табиати ва ривожланиш босқичларига боғлиқ. Масалан, турли бошқоклиларда сомаклонлар орасидаги ўзгарувчанлик даражаси анча фарқ килади: буғдойда ( $2n=6x=42$ ) ўрганилган 192 та регенерант ўсимликлардан 29% анеуплоид, гексоплоид сули ( $2n=6x=42$ ) да ҳам шундай частотадаги цитогенетик ўзгаришлар аниқланган, маккажўхори учун эса анеуплоид ўсимликлар пайдо бўлиши частотаси 2-3% дан ошмаган. Полиплоид ва анеуплоидлар ҳосил бўлишини бошқа ўсимликларда масалан, картошкада ҳам кузатиш мумкин. Янги вариантлар ҳосил бўлиш эҳтимоли картошканинг маданийлаштирилган дигиплоид тизимларига нисбатан ёввойи турларида анча паст.



8-расм. Картошканинг Смена нави сомаклонал вариантларида барг шакллариининг ўзгариши. ДТ-дастлабки тип. Рақамлар билан турли тизимлар номлари белгиланган.

Сомаклонларни турли туманлиги бошланғич генотипга, эксплантни табиати ва ривожланиш босқичларига боғлиқ. Масалан, турли бошқоклиларда сомаклонлар орасидаги ўзгарувчанлик даражаси анча фарқ килади: буғдойда ( $2n=6x=42$ ) ўрганилган 192 та регенерант ўсимликлардан 29% анеуплоид, гексоплоид сули ( $2n=6x=42$ ) да ҳам шундай частотадаги цитогенетик ўзгаришлар аниқланган, маккажўхори учун эса анеуплоид ўсимликлар пайдо бўлиши частотаси 2-3% дан ошмаган. Полиплоид ва анеуплоидлар ҳосил бўлишини бошқа ўсимликларда масалан, картошкада ҳам кузатиш мумкин. Янги вариантлар ҳосил бўлиш эҳтимоли картошканинг маданийлаштирилган дигиплоид тизимларига нисбатан ёввойи турларида анча паст.

Бошланғич эксплант типлари ҳам миқдор ва сифат белгилари билан танланувчи сомаклон вариантларнинг пайдо бўлишига таъсир кўрсатади. Масалан, картошканинг бирламчи эксплант сифатида барг шакли билан тўқималаридан фойдаланилганда, 12% ҳолатларда аномал



Ўсимликлар пайдо бўлади, гул тож барглари ёки тўпгуллар ўқидан фенотипик ўзгаришларга учраган ўсимликларнинг шаклланиши нормага нисбатан 50% ини ташкил этади.

Културалаш шаронти ва кўпинча озика муҳитдаги гормон балансининг бузилиши култураланаётган хужайраларни генетик хилма-хиллигини юзага келиши сўнг хужайра циклининг айникса митоз жараёни бузилишининг асосий сабабчисидир. Хужайралар популяцияларини цитогенетик структураси кўпинча озика муҳитлар таркибидаги фитогормонлар нисбатига кўп жиҳатдан боғлиқ бўлади. Аммо хужайралар популяциясини морфологик ва цитогенетик турли сифатлилиги озика муҳитининг алоҳида компонентларига: баъзи минерал тузлар, сахароза ёки углерод манбаи, витаминлар, ўсимлик экстрактлари, шунингдек ўстириш тартибига ҳам боғлиқ. Хужайраларни *in vitro* узоқ вақт културалаш ҳам самоклонларни генетик хилма-хиллигининг ошишига сабаб бўлади. Шу билан бирга баъзи ўсимликларда аникланишича, хужайралар културасида турли плоидликдаги хужайралар иштирок этса ҳам регенерацияланган ўсимликлар кўпинча диплоид бўлади. Бу ҳолатни, културалаш жараёнида нормал морфологияга эга бўлган ва биринчи навбатда регенерацияланган ўсимликлар танлаб олингани сабабли деб тушуниш мумкин.

Морфогенезини турли-типлари соматик эмбриогенез ёки органогенез ҳам генетик ўзгаришларда ва ўсимлик фенотипига турлича таъсир этади. Соматик эмбриогенезда хужайра ўсимлик циклини ўташ вақти органогенезига нисбатан жуда қисқа, шунинг учун олинаётган материал ва бошланғич генотипни ўхшашлик даражаси анча юқори эканлиги тажрибаларда исботланган.

Сомаклонал вариантларни бошланғич ўсимликлардан биокимёвий, микдор, сифат белгилари билан шунингдек цитогенетик характеристикаси билан фаркланувчи шакллари кишлок хўжалик амалиётида амалий фойдаланилмоқда. Масалан, Россия олимлари (В.В.Сидоров ва бошқалар 1984,1985) картошкани Зарево нави самоклонларини олишга муваффақ бўлганлар. Бу самоклонлар ҳосилдорлиги, касалликларга чидамлилиги, туганакларида протеин ва крахмал микдорининг юқорилиги билан ажралиб туради. Шунингдек наслдан – наслга бериладиган муҳим хусусиятлари туганаклардан кўпайтирилганда 3 йил давомида сакланиб қолади. Тамаки ўсимлиги каллус тўқималаридан олинган сомаклонлар тамаки мозаикаси вирусига чидамли, қанд лавлагини янги нави ҳосилдорлиги, касалликларга, айникса Р<sub>ij</sub> касаллигига чидамлилиги билан характерланади.

Ҳозирги вақтда тўқималар култураси усулидан нафақат озикавий экинлар, шунингдек техник экинлар, манзарали ўсимликлар ва доривор ўсимликлар селекциясида ҳам кенг фойдаланилмоқда.

Шундай қилиб, олинган ижобий натижалар сомаклонал вариантларнинг турли усулларида селекция ишлари амалиётида янада



кенгрок фойдаланиш ва мавжуд тизим ва навларни яхшилаш, етишмайдиган ҳусусиятларни киритишда соматик ўзгарувчанликни қўллаш зарурлигини таъкид этади.

**Хужайралар муҳандислиги усуллари ёрдамида абиотик ва биотик стресс омилларга чидамли регенерант ўсимликлар олиш.** Қурғокчилик. Тупроқдаги сув танқислиги бошқа барча омиллар билан биргаликда олингандагига нисбатан, ўсимликларга кўпроқ зарар келтиради. Қурғокчилик тупроқда ва ўсимликларда сув танқислигини келтириб чиқаради ва уларда сув стрессини чакиради «қурғокчилик» ибораси тупроқнинг сув стрессига нисбатан қўлланилса ҳам, иссиқликнинг ўсимликка таъсирини ҳам ўз ичига олади. Сув танқислиги орқали юзага келган стресс қурғокчилик бўлганда бирламчи, шунингдек, паст ҳарорат, иссиқлик ёки тузлар таъсири иккиламчи бўлади. Қурғокчиликдан юзага келган стресс натижасида ўсимликларда ферментлар фаоллиги бузилиши, биокимёвий йўллари ишдан чиқиши, захарли моддаларнинг хужайраларда йиғилиши, ионларни оқиб чиқиб кетиши, озикалар танқислиги ва бошқа сабаблар оқибатида ўсимликларнинг зарарланишига олиб келади.

In vitro қурғокчилик стресс самарасини яратиш учун, ташқи сув потенциалини камайтирувчи осмотик фаол моддалар қўшилган озика муҳитлардан, қурғокчиликка чидамлилик селекцияси учун эса селектив агент сифатида, таркибида хужайрага кира олмайдиган осмотик фаол модда тутувчи полиэтиленгликоль (ПЭГ) моддаларидан фойдаланилди. ПЭГ ёрдамида стрессга чидамлилиги оширилган тамаки тизимлари ажратилгани ҳақида биринчи хабарлар 1979 йилдан пайдо бўла бошлаган (Heyser, Nabors, 1979). Кейинроқ Р.Брессан ва бошқа ҳаммуаллифлар томонидан қурғокчиликка чидамлилик селекцияси помидор хужайра тизимларида амалга оширилган, улар каллус тўқималарини 15 % ли ПЭГ 6000 тутувчи озика муҳитларида ўстириб, сув танқислиги стрессини пайдо қилишган, тажрибалар натижасида чидамли каллус тизимлари ажратиб олинган, лекин каллус тўқималари осмотик моддалар солинмаган озика муҳитларида култураланганда чидамлилик белгилари йўқолиб борган, бу адаптациянинг физиологик табиатдан эканлигидан далолат беради. Қурғокчиликка чидамли соя генотипларини аниқлашда каллус тизимларини ПЭГ иштирокида ўстириш орқали синаш усули таклиф этилган. Сув танқислиги стрессига бардошли хужайра тизимларини олиш учун, осмотик сифатида 99-880 мМ маннитол тутувчи озика муҳитлардан ҳам фойдаланиш мумкин. Юқоридаги ҳолатлардаги каби осмотик адаптация бўлган хужайралар шўрланиш стрессига ҳам бардошли эканлиги аниқланган.

**Шўрланиш.** Қишлоқ хўжалиги экинларининг ҳосилдорлигини орадовчи омиллардан яна биттаси, бу тупроқнинг шўрланишидир. Ҳамизнинг 900 млн.га яқин майдони юқори даражада шўрланган эканлиги миқдори йилдан-йилга ортиб бормоқда. Айниқса, сунъий ладиган майдонларда тупроқдаги тузнинг миқдорини ортиши



барчани ташвишига солмоқда. Бу муаммони ҳал этиш, суғоришнинг тўғри усулларини топиш, суғориш учун тузнинг микдори камайтирилган ёки умуман тузлардан холи сувлардан фойдаланиш каби рационал агротехник усулларни ишлаб чиқишни тақозо этади. Шу билан бирга, ўсимликлар биотехнологияси усулларида фойдаланиб, кишлок хўжалиги учун муҳим бўлган ўсимликларнинг соматик хужайралари даражасида селекция қилиб, протопластларни бир-бирига қўшиб ёки рекомбинант ДНК молекулалари техникасидан фойдаланиб, генларни қўчириб ўтказиш орқали шўрланишга чидамли генотипларини яратиш мумкин.

Шўрланишнинг зарарли таъсири комплекс характерга эга бўлиб, хужайранинг осмотик баланси бузилишига, натрий ва хлор ионларининг хужайрадаги физиологик ва биокимёвий жараёнларга захарли таъсир этишига сабаб бўлади. Бундай таъсир натижасида, хужайранинг тургор ҳолати бузилади, мембраналар функцияси ва ферментлар фаоллиги пасаяди, фотосинтез тўхтайдиган, ионларнинг селектив транспорти бузилиши натижасида алоҳида ионларни танқислиги юзага келади, толерантликни ушлаб туриши учун кўп микдорда энергия сарфланади. Ўсимликларнинг ташқи муҳитда тузлар микдорини ортишига жавоб реакцияси 8 расмда берилган.



8-расм. Ўсимликнинг шўрланишга жавоб реакциясининг асосий типлари

Кўпчилик олимлар томонидан олинган тадқиқот натижаларининг кўрсатишича, *in vitro* култураланаётган хужайра ва ўсимликлар учун шўрланишга чидамлилик хужайра механизми бир хил экан ва хужайра даражасидаги селекциялаш шўрланишга чидамли ўсимлик шакллари



яратишнинг аниқ истикболини белгилайди. Кўпчилик селекцион дастурлар натрий хлор иштирок этувчи озика мухитларда култураланаётган *in vitro* хужайралар тизимини ажратишга йўналтирилган. Тамакининг гаплоид каллус хужайраларидан, уларни мунтазам равишда туз миқдори ошириб борилган озика мухитда ўстириш орқали, 1% NaCl иштирокида ўса оладиган хужайралар тизими олинган М.Набор ҳаммуаллифлар.

билан биргаликда тамаки суспензион културасига мутаген (0,15 % ли ЭМС да 60 мин) билан ишлов бериб, бир босқичли селекция йўли билан 0,5 % ли NaCl га бардошли хужайралар тизимини ажратиб олди. Олинган регенерантларни шўрланишига чидамлилиги бутун ўсимлик даражасида акс этиши аниқланган.

Кўпчилик олимлар томонидан олинган тадқиқот натижаларининг кўрсатишича, *in vitro* култураланаётган хужайра ва ўсимликлар учун шўрланишга чидамлилиқ хужайра механизми бир хил экан ва хужайра даражасидаги селекциялаш шўрланишга чидамли ўсимлик шакллари яратишнинг аниқ истикболини белгилайди. Кўпчилик селекцион дастурлар натрий хлор иштирок этувчи озика мухитларда култураланаётган *in vitro* хужайралар тизимини ажратишга йўналтирилган. Тамакининг гаплоид каллус хужайраларидан, уларни мунтазам равишда туз миқдори ошириб борилган озика мухитда ўстириш орқали, 1% NaCl иштирокида ўса оладиган хужайралар тизими олинган. М.Набор ҳаммуаллифлар билан биргаликда тамаки суспензион културасига мутаген (0,15 % ли ЭМС да 60 мин) билан ишлов бериб, бир босқичли селекция йўли билан 0,5 % ли NaCl га бардошли хужайралар тизимини ажратиб олди. Олинган регенерантларни шўрланишига чидамлилиги бутун ўсимлик даражасида акс этиши аниқланган.

Россия олимлари томонидан қаттиқ ва юмшоқ буғдойнинг шўрланишга чидамли ўсимликларини олиш бўйича олиб борган илмий тадқиқот ишларида бирламчи эксплант сифатида ажратилган етилмаган муртаклари, шунингдек гаплоидларидан фойдаланилган. Хужайралар селекцияси 0,3% NaCl ва  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  тутувчи озика мухитларида култураланаётган каллус тўқимарини 5-6 марта қайта экиш орқали қазилган. Тадқиқотлар натижасида шўрхокликка бардошли тизимлар регенерант ўсимликлар олинган. Бу регенерат ўсимликлар уруғидан биринчи авлоди секинлаштирилган флоуроесценцияли қайд усули орқали синалганда, баъзи регенерант ўсимликлар тез аппаратининг шўрга чидамлилиги бўйича бошланғич навга юқори туриши аниқланган (Никифорова Д 1993,1994). Натрийнинг турли концентрацияларига чидамли хужайралар тизимини ш бўйича бошқа мисоллар 3-жадвалда келтирилган.



Хужайралар култураси оркали олинган шўрга чидамли хужайра тизимлари ва ўсимликлар

| Селекция учун бошлангич материал (плоидлиги) | NaCl микдори | Хужайралар натижалари селекцияси |
|----------------------------------------------|--------------|----------------------------------|
| Medicago sativa (2n)                         | 0,17 M       | Каллус                           |
| Medicago sativa (2n=2x, 2n=4x)               | 0,08-0,17M   | Ўсимлик                          |
| Citrus sinensis (2n)                         | 0,08-0,17M   | Каллус                           |
| Nicotiana tabacum (2n)                       | 0,17M        | Суспензия, ўсимлик               |
| Datura innoxia (2n)                          | 0,17-0,34M   | Каллус, ўсимлик                  |
| Pennisetum americanum (2n)                   | 0,19M        | Эмбриоген суспензия              |
| Ipomea batatas (2n)                          | 0,17M        | Суспензия                        |
| Crepis capillaris (2n)                       | 0,12M        | Суспензия                        |
| Oryza sativa (2n)                            | 0,17M        | Эмбриоген каллус, ўсимлик        |

Ўсимликларни шўрхокликка чидамлилигини осмотик стрессга нисбатан селекциялаш оркали ҳам ошириш мумкин. Масалан, полиэтиленгликол ёрдамида индуцирланган сув стрессига мослашган помидор хужайраларининг NaCl ни оширилган микдорига ҳам бардошлилиги аниқланган. Шўрланишнинг юқори микдорига толерантлик хусусиятини, осмотик модда сифатида 99.870 mM манитол тутувчи озика мухитда ўстирилган сабзи хужайралар тизими ҳам намоён қилади. Бу натижалардан шундай хулосага келиш мумкинки, осмотик стрессларга мослашган хужайралар орасидан шўрланишга чидамли вариантларни ҳам танлаш мумкин экан.

**Металларга чидамли ўсимликлар тизимларини олиш.** Ўсимликка захарли таъсир кўрсатувчи металлларнинг тупрокда кўп микдорда учраши ёки ўсимлик томонидан озика модда сифатида ўзлаштирилувчи ионларнинг танқислиги ўсимликлардаги ионлар (минераллар) стресси сабаби бўлиши ҳам мумкин. Тупрокдаги оғир металл ионларининг нафакат ўсимликларга шунингдек, ҳайвонларга таъсири олимларнинг диққатини тортмоқда. Рух, кадмий, мис, симоб каби тупрокда кўп учрайдиган оғир металл ўсимликларда стресс ҳолатини пайдо қилади. Ўсимликларнинг захарли ионларга чидамлилик механизми, плазмолемма ўтказувчанлигининг камайиши, ионларнинг органик моддалар билан боғланиши натижасидаги захарсизланиши (детоксикация), вакуоалардаги компартментлиги, шунингдек уларнинг нишони бўлган ферментлар структураси ўзгаришини ўз ичига олади.

Ионлар стрессига чидамли ўсимлик хужайралари селекцияси бўйича илмий изланишлар нисбатан яқинда бошланган бўлса ҳам, лекин ижобий натижалар олинган. Бундай тажрибаларда тўғридан-тўғри селекциялаш усулидан фойдаланилади ва бунда селектив агент сифатида тузларнинг захарли микдори қўлланилади. Аммо, *in vitro* шароитида табиатдаги каби стресс селектив шароитни яратиш анча қийин. Табиий шароитда ионларнинг захарли таъсиридан ташқари яна бир канча бошқа омиллар: тупрокда бошқа захарли моддаларнинг



иштирок этиши, тупрокдаги кислотали муҳитнинг ҳам таъсири бўлади. Хужайра даражасидаги селекцияни амалга ошириш учун, табиий стресс шароитига хос бўлган барча моддалар киритилмаса ҳам, чидамлилиқ хусусияти экспрессиясини таъминлайдиган ва керакли вариантларни танлаб олишга имкон берадиган моддалар бўлиши зарур.

In vitro тўғридан-тўғри селекциялаш йўли билан, петуниянинг симоб, маккажўхорининг алюминий, сабзининг алюминий ва марганец; бангидевонанинг кадмийга чидамли хужайра тизимлари хужайралар суспензиясидан танлаб олинган. Зиғирнинг кадмий нитрат тузларига чидамли хужайралар тизими, регенерант ўсимлиги олинган ва бу тузнинг ўсимликка таъсири ўрганилган. Тажрибалардан аниқланишича, тупрокдаги кадмий ўсимликнинг поя ва илдиз қисмини ўсишига салбий таъсир этар экан.

**Кескин ҳарорат.** Ўсимликлардаги стресс омилларга маълум даражада юқори ёки паст ҳарорат сабаб бўлиши мумкин. Хужайралар селекцияси бўйича бундай стрессларга чидамлилиқ бўйича қилинган ишлар унчалик кўп эмас. Адабиётларда иссиқлик шокига чидамлилиқ бўйича хужайралар селекцияси ҳақида ҳам маълумотлар кам. Аммо хужайралар селекцияси бўйича паст ҳарорат омилларига чидамлилиқка оид маълумотлар етарли даражада.

Ўсимликларда совук стресслар катта диапазондаги 10-15° дан 0°Сгача ҳароратда юзага келади. Бундай стрессга тропик ва субтропик зонадаги ўсимликлари кўпроқ учрайди. Ўсимликларни совук ҳароратга бардошлиги мембрана липидларининг юқори нисбатда тўйинмаган ёғ кислоталар ёки стеролларнинг юқори миқдорда тутиши сабабли суёқ ҳолатда қолиши билан боғлиқ. Ўсимликларнинг музлаши (0°С дан паст ҳароратда) хужайралар аро музлар пайдо бўлиши билан боғлиқ. Салбий таъсир этадиган ҳарорат таъсиридан юзага келган бузилишни антифриз моддалар аккумуляцияси ёрдамида сувсизланиш ва музлашга нисбатан қобилятини ошириш, боғланмаган сувлар миқдорини камайтириш орқали бартараф этиш мумкин. Адабиётлардан олинган маълумотларга кўра, ўсимликларда катта миқдорда захира озиқа моддалар, айниқса, совукка бардошли дарахтларда ёғлар миқдори, камроқ чидамлиларида эса канд моддалари тўпланади.

Култураланаётган ўсимлик хужайраларидан паст ҳароратга чидамли хужайралар тизимини ажратиб олиш бўйича ўтказилган тажрибалар ҳақида биринчи маълумотлар 1976 йилларда пайдо бўлди (Dix, Street, 1976). Бу ишда тамаки ва қалампир суспензия култураси агарли муҳитга экилди ва 21 кун давомида -3 ва 4°С ҳароратда ушлаб турилди. Танлаб олинган клонлар орасида совук ҳароратга чидамли клонлар топилди.

Бу соҳада олиб борилган изланишлар натижасига асосланиб, имликлар in vitro селекцияси усулини совукка чидамлилиқни амалга оширишда қўллаш ҳақида гапиришга ҳали эрта. Лекин in vitro дукциялаш орқали генетик хилма-хилликни топишда қўллаш йўли билан чидамлироқ вариантларни танлаш мумкин.



Ўсимликларнинг касалликларга чидамлилигини амалга ошириш. Озик - овқат маҳсулсларини ишлаб чиқаришни ошириш учун ўсимликларни касалликлар ва зараркундалардан химоя қилиш иқтисодий аҳамият касб этади. Ҳозирги кунда хужайралар селекциясидан чидамлилиқни оширишда фойдаланишнинг реал истикболлари кўриб чиқилмоқда. Агар дала шароитида 1 йилда картошканинг 50 дан 100 минггача уруғини касалликларга чидамлилигини баҳолаш мумкин бўлса, *in vitro* шароитида эса 9 гр картошка баргидан олинган 20 млн. та протопластларни бир уринишда синаш мумкин. Хужайралар селекцияси учун селектив агент сифатида патотоксинлар, културал филтратлар ва тўғридан-тўғри патогенлардан фойдаланиш мумкин.

Ўсимликларни патогенларга ўта сезувчанлиги асосида ётувчи асосий химоя механизмларидан бири *de novo* яъни ўсимликлар томонидан «фитоалексинлар» деб аталувчи антимиқроб моддаларнинг синтезланиши ҳисобланади. Ўсимликларни химоя реакцияси Масалан, фитоалексинлар маҳсулоти, патогенез билан боғлиқ бўлган оксилларнинг ҳосил бўлиши, лигнификация, «элисаторлар» деб аталувчи қатор биотик ва абиотик табиатга эга моддалар томонидан индуцирланиши мумкин. Абиотик элисаторлар симоб ионлари, палиакрил ва салицил кислоталар бўлиши мумкин. Биотик элисаторларга эса замбуруғларнинг хужайра девори компопентлари, културал филтрларда иштирок ётувчи моддаларни киритиш мумкин.

Касалликларга чидамлилиқни *in vitro* селекцияси учун энг содда ёндашиш бу хужайраларни бевосита патоген иштирок этаётган озика муҳитларда културалашдир. Бу ёндашув айниқса патогенезга жавобгар захарли моддалар ҳақида кам маълумотга эга бўлинганда, ёки агар патоген токсин моддалар ажратиб чиқарилмаган ҳолларда фойдалидир. Аммо, селекциянинг бу усули тажрибалар ўтказишда баъзи кийинчиликларни туғдиради. Селекцияни тўғри схемасини тузиш учун патогеннинг яшаш цикли ҳақида билимга эга бўлиш зарур. Кўпчилик патогенлар, масалан, замбуруғларнинг яшаш даври турли босқичлардан иборат, спора етилишинг бир неча босқичи, бунга боғлиқ ҳолда яшовчанлиги, ўсиши ва эпидемиологияси ўзгаради. Шунинг учун спора етилиш даврини ҳисобга олиш зарур, инфекция билан захарлаш учун ёруғлик ва ҳарорат, маълум даражада намлик, рН, озика моддаларнинг иштирок этиши, ёки танкислиги ва споранинг ўсиши учун зарур бўлган бошқа нарсаларни ҳисобга олиш керак.

Ўсимликни патогенлар иштирок ётувчи озика муҳитларда културалаш ишлари 1960 йилнинг ўрталаридан бошланган ва патогенлар таъсирига чидамлилиқни *in vivo* ва *in vitro* ўрганишга йўналтирилган. Патогенларга чидалилик бўйича хужайралар селекцияси олиб борилган тажрибалар ҳар доим ҳам муваффақиятли чиқмаган. Аммо, шундай бўлсада, бундай тажрибалар натижасида Хитой олимлари томонидан шолени пирикулярнозга чидамли, ҳосилдор



иккита янги нави яратилган. Уларнинг селекцияси ажратилган чандонлар културасида ўтказилган, селектив омил сифатида замбуруғларнинг ўнта тизими аралашмаси қўлланилган. Ҳозирги пайтда янги навлар Хитойда 140 минг га ерни банд қилиб, ҳар гектарида ўртача 7.5 минг килограммгача ҳосил олинади.

Касалликларга чидамлик бўйича селекциянинг истикболли усулларида бири, селектив агенти сифатида патогенлар томонидан синтезланувчи патотоксинлардан фойдаланишга асосланган. Токсинларнинг ўсимликлар касалликларидаги ролини аниқлаш қийин. Маълумки, фақат озгина миқдордаги патотоксинлар касалликнинг бошланишида ва ривожланишида муҳим ролни ўйнайди. Таъсирига қараб патотоксинларни учта гуруҳга бўлиш мумкин. Биринчи гуруҳга касалликни белгиловчи эмас, ҳўжайинга нисбатан носпецифик захарли таъсир хусусиятига эга ва кўпчилик ўсимлик турлари учун захарли бўлган токсинлар қиради. Тамаки ва бактериал рябукхани кўзгатувчисига *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci* маҳсулоти таботоксин мисол бўлиб хизмат қилади. Бошқа гуруҳ патотоксинлар ҳам ўсимликларга нисбатан патоген каби шундай спецификликни намоён қилади, лекин улар ҳам ўсимлик касаллигининг ривожланишига жавобгар эмас. Бу категорияга Т-токсин (ёки HmT) *Drechslera maydis* (*Helminthosporium maydis*); маккажўхорини гелминтоспороз касаллиги кўзгатувчиси қиради. Учинчи гуруҳ патотоксинлари ҳўжайинга нисбатан специфик ва касалликларни типик белгиларини чақаради. Масалан, сулини гелминтоспороз касалини кўзгатувчиси викторин (HV-токсин) илдиз чириши ва барглари доғланишини чақиради.

Чидамлик бўйича ҳўжайра селекцияси схемаси қонунияти токсинларнинг таъсир этиш механизми билан бевосита боғлиқ. Патогенларнинг баъзи турлари ҳўжайраларни зарарлайди, сўнг токсин ажратади, бошгалари эса олдин токсин ажратади ва ҳўжайрани нобуд қилади, сўнг уларнинг парчаланган маҳсулотларидан озиқа сифатида фойдаланади. Табиийки, биринчи ҳолатда *in vitro* ва *in vivo* чидамлик орасида боғлиқлик бўлмайди, иккинчи ҳолат бўйича ҳўжайралар селекциясини амалга ошириш мақсадга мувофиқдир. Биринчи марта *in vitro* шароитида касалликларга чидамли ўсимликлар олиш П.Карлсон (1973 йил) томонидан амалга оширилган, у тамакини фенилсульфосимин (таботоксин аналог)га нисбатан, ҳўжайраларни, сўнг патогенга чидамлиги юқори бўлган ўсимликлар олган. Токсинларга чидамлик бўйича ҳўжайра селекциясига ўтказилган ўланишларнинг баъзи натижалари 4-жадвалда келтирилган.

Патогенларнинг патотоксинларини тоза ҳолда ажратилмаган ўсимлик ўрганилмаган чидамлик бўйича селекцияни ўтказиш учун филтратлардан фойдаланиш ҳам мақсадга мувофиқдир. Уларнинг зарурий дастлабки шарт уларнинг касалликдаги ролини аниқлаш, ўсимлик ва *in vitro* култураланаётган ҳўжайранинг патогенга чидамлиги ўртасидаги корреляцияни ўрганиш ҳисобланади. 1980



йилда Бенке фракцияларга ажратилмаган *Phytophthora infestans* културал суюклигини картошка селекциясида қўллаб яхши натижалар олган. Чидамли ўсимликларнинг ўсишига асос бўлувчи клонлар ажратган. Баргларига *Phytophthora* споралари билан механик тарзда инокуляция қилинган 34 та ўсимликдан учтасида назоратга нисбатан камрок зарарланиш ўчоқлари аниқланган. Ҳозирги кунга қадар Россия олимлари томонидан буғдойнинг септориоз, сабзининг – альтернариоз, картошкани ризоктониоз патогенларига чидамли шакллари олинган. Селектив омил сифатида замбуруғларнинг културал филтратларидан фойдаланилган. Олиб борилган тадқиқотлар натижасида буғдойнинг регенерант ўсимлиги олинган. Биринчи авлод уруғларининг *Septoria nodorum* патогенига чидамлилиги текширилган. Натижаларга кўра олинган уруғларнинг замбуруғнинг културал филтратига нисбатан чидамлилиги 10-15 %га ортганлиги аниқланди (Калашникова Е.А.Лети Жос, 1998).

4-жадвал

Патотоксинларга чидамли хужайра селекциясига оид мисоллар  
(В.А.Сидоров бўйича, 1990 й)

| Патоген                                           | Хўжайин ўсимлик              | Чидамли материал                                           |
|---------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <i>Leptosphaeria maculans</i>                     | <i>Brassica napus</i>        | Хужайра тизимлари, регенерант ўсимликлар, олинган авлодлар |
| <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>     | <i>Nicotiana tabacum</i>     | Хужайра тизимлари, регенерант ўсимликлар, олинган авлодлар |
| <i>Alternaria alternata</i>                       | <i>Nicotiana tabacum</i>     | Хужайра тизимлари, регенерант ўсимликлар, олинган авлодлар |
| <i>Alternaria solani</i>                          | <i>Solanum tuberosum</i>     | Хужайра тизимлари                                          |
| <i>Drechslera sativum</i>                         | <i>Triticum aestivum</i>     | Хужайралар тизимлари                                       |
| <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolica</i> | <i>Phaseolus vulgaris</i>    | Хужайра тизимлари, регенерант ўсимликлар                   |
| <i>Helminthosporium sacchari</i>                  | <i>Saccharum officinarum</i> | Хужайра тизимлари, регенерант ўсимликлар, олинган авлодлар |
| <i>Fusarium coeruleum</i>                         | <i>Solanum tuberosum</i>     | Хужайра тизимлари, регенерант ўсимликлар                   |
| <i>Helminthosporium maydis</i>                    | <i>Zea mays</i>              | Хужайра тизимлари                                          |

Шу каби ишлар сабзининг бешта генотибида ўтказилганда хужайралар селекцияси суспензион културада ўтказилиб, селектив омил сифатида *Alternaria radicina* култураси филтратидан фойдаланилди. Натижада чидамли хужайралар ажратилиб улардан регенерант ўсимликлар олинди (3.18-расм) (Калашников Е.А., Раскалиева В.А. 2000).

Мутагенлар ва уларни хужайралар селекциясида қўлланилиши. Ҳозирги кунда кимёвий моддалар, рентген, гамма ва ультрабинафша



нурларининг мутаген фаоллиги хакида кўплаб тадқиқот натижалари тўпланган. Кимёвий мутагенлардан кўпинча этилм-тансульфонат (ЭМС)дан фойдаланилади. Бу модда билан ишлов берилган тамаки ўсимлиги хужайраларидан 25та фенотипик вариант олинган. Лекин ЭМС нинг мутаген фаоллиги пастлиги хақидаги маълумотлар ҳам мавжуд. Хужайралар култураси билан ишлашда мутаген сифатида N-нитрозомочевинадан (НЭМ) ҳам фойдаланиш мумкин. Бу кимёвий бирикма барқарор бўлмай озика муҳитда тез парчаланиб кетади, шунинг учун бу модда билан хужайрага ишлов берилгандан сўнг ювишнинг хожати йўқ. НЭМ нинг самарали мутаген таъсири гаплоид тамаки суспензияларида аниқланган ва нитратредуктазага дефектли мутантлар ажратилган. Тамакининг гаплоид протопластларига НЭМ билан ишлов берилганда, хлоратга чидамли клонларнинг пайдо бўлиши 20 марта, шу билан бир вақтда худди шу турдаги ўсимликнинг диплоид протопластлари мутагенезида стрептомицинга чидамли клонлар пайдо бўлиши 30 марта ортган. Мутаген сифатида N-метил- N-нитро-N-нитрозогуанидин (НГ) ва N-нитрозометилмочевина (НММ)дан фойдаланиш мумкин.

Ионли нурланишдан мутаген сифатида фойдаланилганда ҳам мутациянинг кенг спектрини кузатиш мумкин. Хужайралар рентген нурлари билан нурлантириш орқали бангидевона ва петуниянинг пигмент дифектли тизимлари ва тамакининг паракватга чидамли тизимлари олинган. Гамма – нурлари билан нурланган ўсимлик баргидан олинган каллус тўқималари ва протопластларидан гербицидга ва валинга чидамли тизимлар ажратиб олинган. *In vitro* култураланаётган тамаки хужайраларини ультрабинафша нурлари билан нурлантириш орқали ҳам валинга чидамли тизимларни олишга муваффақ бўлинган. Нурлантиришнинг бундай усулини тамаки гаплоид протопластларида қўлланилганда турли-хил ауксотроф мутантлар пайдо бўлган.

Хужайралар колониясининг яшовчанлиги културага қайси ривожланиш босқичида мутагенлар билан ишлов берилганига қараб турлича бўлиши мумкин. Якка хужайраларга уларнинг биринчи бўлинишигача бўлган даврида мутаген билан ишлов бериш зарур, акс холда химер тизимлар пайдо бўлиши мумкин. Протопластларнинг радиосезгирлиги уларнинг културалаш босқичларига боғлиқлиги аниқланган. Тажрибаларнинг кўрсатишича, протопластларни нурлантиришни улар ажратилган захоти, ёки бир кундан сўнг ўтказиш мақсадга мувофиқдир. Чунки ионли нурланиш таъсирида озика муҳитда хужайра учун захарли моддалар пайдо бўлиши мумкин, шунинг учун протопластларни нурлантириш ўтказилган озика муҳитдан ювиб тозалаш зарур.

Кимёвий мутагенларнинг хужайраларга захарли таъсири аниқланган. Уларнинг юқори микдордаги меъёри қўлланилганда хужайраларни бутун популяциясини нобуд бўлишига олиб келади. Шунинг учун кимёвий мутагенлар билан ишлаганда уларнинг кам концентрациясидан



фойдаланилади. Шундай бўлганда баъзида протопластлар мутаген моддалардан тозлаш мақсадида ювилмайди ва мутаген солинган озиқа мухитларида култураланади. Бундан ташқари нурланишнинг юқори меъёри хужайранинг метаболитик фаоллигини ҳам саклаб қолган ҳолда репродукцион ва регенерацион қобилиятини сусайтиради.

**Соматик хужайраларни дурагайлаш.** Хужайралар селекциясининг яна бир усули – соматик хужайралардан олинган пропластларни бир-бирига қўшиш орқали жинссиз дурагайлар олишдир. Бу усул оддий жинсий йўл билан чатиштириб бўлмайдиган ўсимликларни филогенетик узоқ турларини чатиштириш, икки, уч ва ундан кўпроқ ота-она хужайраларни бир-бирига қўшилишини амалга ошириш, бу хужайраларнинг бирининг тўлиқ генлар тўплами, бир неча хромосома ёки генларини тутувчи ёки бошқасининг фақат органелла ва цитоплазмасини тутувчи ассиметрик дурагайлар олиш имконини беради. Соматик хужайраларни дурагайлаш орқали нафақат узоқ турларга мансуб ўсимликлар генларини битта ядрога йиғиш, шунингдек шерикларнинг цитоплазматик генларини гибрид хужайрага бириктириш ҳам мумкин.

*Протопластларни ажратиш, културалаш ва бир-бирига қўшиш.* Соматик дурагайлаш усулларини қўллаш учун нормал бўлинадиган, ўсимлик регенерацияланадиган протопластларни олиш технологиясини ишлаб чиқиш зарур. Ўсимлик хужайраларидан протопластлар олиш XIX асрнинг охирларида плазмоллизис қилиш ва хужайралар деворини механик парчалаш усуллари ёрдамида амалга оширилган. Аммо, 1960 йилда И.К.Коккинг биринчи марта хужайралар деворини ферментлар ёрдамида парчалаб, протопластлар олганидан сўнггина алоҳида ажратилган протопластлар усули ривожлана бошлади.

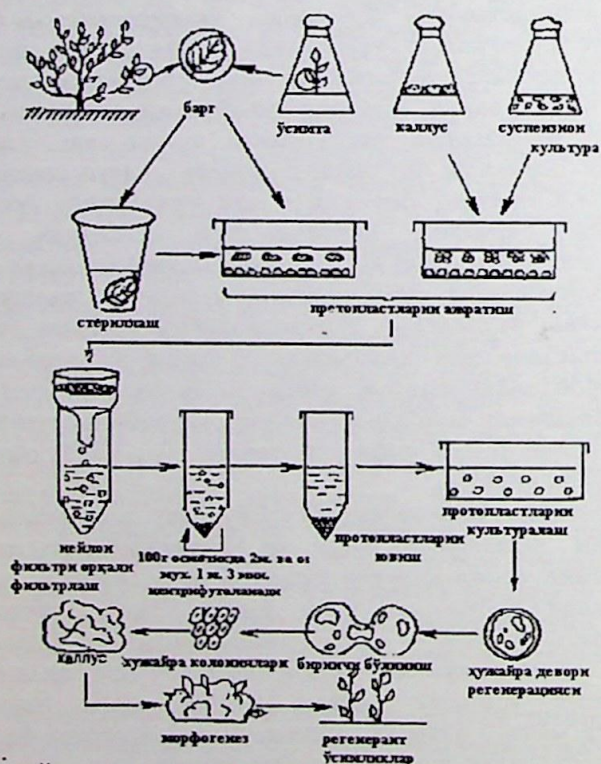
Ҳозирги вақтда протопластларни ажратиш ва сунъий озиқа мухитда културага олиш усулларини тақомиллаштириш давом этмоқда. (3.19-расм) Протопластлар ҳам ажратилган хужайра ва тўқималарни културалаш учун фойдаланиладиган озиқа мухитларида култураланади. Фақат културалашнинг бошланғич даврида таркибида юқори осмотик босимни таъминловчи манба сифатида маннит ёки  $\text{CaCl}_2$  нинг юқори миқдори билан фарқ қилади.

Ажратилган протопластлар културалаш жараёнида хужайранинг янги деворини регенерациялайди ва бўлиниш хусусиятига эга каллус тўқимасини ҳосил қилувчи хужайраларга айланади. Протопластларнинг колониялар ҳосил қилишига озиқа мухит таркиби таъсир этади. Навбатдаги вазифа – каллус тўқимасидан регенерант ўсимлик олиш бўлади. Ҳозирча кўпгина бошқоқдошлар бугдой, арпа протопластларидан регенерант ўсимлик олишга эришилмаган. Лекин итузумдошлар оиласига мансуб (тамаки, картошка, помидор) ва бошқа ўсимликларда протопластлардан регенерант ўсимликлар олиш муваффақиятли амалга оширилмоқда.



Протопластларни каллус тўқималари хужайралар суспензияси, барг хужайралари, меристемалар ва поядан ажратиш мумкин. Баргдан протопласт ажратиш учун аввал эпидермисдан тозаланади, майда бўлақларга бўлинади ва пектиназа ёки целлюлаза ферментлари билан ишлов берилади (9-расм).

Протопластларнинг қўшилиши тасодифий бўлиши мумкин, аммо, бу жуда камдан – кам ҳолларда рўй беради. Ажратилган протопластлар қўшилишини индуцирлаш 1970 йилда Коккинг лабораториясида биринчи марта амалга оширилган. Индуктор сифатида натрий нитратдан фойдаланилган. Лекин бу усул кам самара берган ва ҳозир бошқа фьюзогенлар эритмалар (протопластларни қўшилиш индукторлари) топилган. Улардан рН (9-1)нинг ва кальций ионларининг миқдори юқори бўлган (100-300 мМ) эритмалар яхши самара беради. Протопластлар молекуляр оғирлиги 1500-600 бўлган полиэтиленгликол ёрдамида олдиндан қўшишга тайёрланади. У.Циммерман ва унинг ҳамкасблари томонидан ҳайвон хужайралари протопластларини қўшишнинг физикавий усули ишлаб чиқилди, бунда индуктор сифатида электр токи импульсидан фойдаланилди.



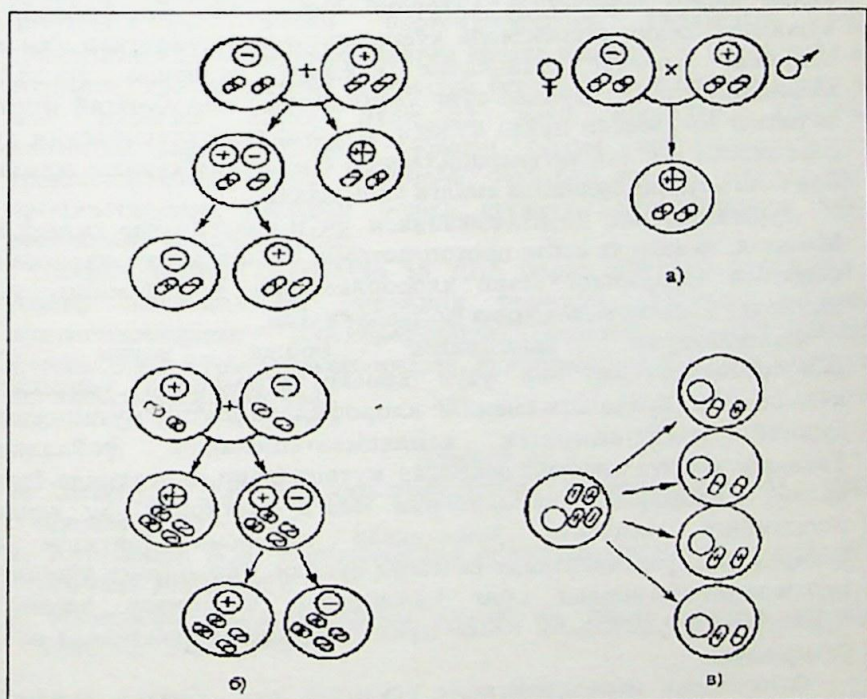
басм. Ўсимлик ҳужайраларидан протопластларни олиш ва културалаш  
схемаси



Протопластлар қўшилишидан дурагайлар (гибрид) ёки цибридлар ҳосил бўлади. Цибрид ҳужайралар иккала шерикнинг цитоплазмасини ва биттасининг ядросини тутати. Бунинг учун протопластлар қўшилганда ядролар қўшилиб кетмайди, ядроларнинг бири эриб кетади. Цибрид ҳосил бўлиши учун протопластлардан бирининг ядроси олиб ташланиши ёки нурлантириш орқали фаолиги йўқотилиши керак (10-расм).

Цибридизация цитоплазматик ЦЭС (цитоплазматик эркак пуштсизлик ёки стериллик, яъни чанг доначаларининг наслсиз бўлиши) белгиларини ташувчи генларни, баъзи гербицидлар ва патогенларга чидамлилиқ белгиларини ташувчи генларни киритиш имконини беради.

1972 йилда ажратилган протопластларини қўшиш орқали юксак ўсимликларни биринчи турлар аро жинссиз дурагай тамакининг *Nicotiana glauca* ва *N. Langsdorfii* турларида олинган.



10-расм. Парасексуал дурагайлашда ирсийланиш схемаси  
(Муромцев Г.С. ва бошқ. 1984)

А-парасексуал(чапда) ва жинсий (ўнгда) дурагайлашда отагона ядровий ва ядродан ташқари детерминанти; Б-парасексуал дурагайлашда камида иккита ядродан ташқари генофорларни ҳисобга олган ҳолда; в-соматик сегрегация натижасида ядродан ташқари генофорларнинг цитоплазматик гетерозиготларга қўшимча пайдо бўлган парасексуал авлодларнинг генетик хилма-хиллиги.



Ҳозирги вақтда парасексуал дурагайлаш усули орқали турлараро, оилалараро ва тартиблараро дурагайлар олинган. Лекин кўпчилик ҳолатларда бундай йўл билан олинган дурагай ўсимликлар уёки бу даражада нормал эмас. Бунга арабидопсис ва турнепс (хашаки шолғом)нинг соматик дурагайи монстр – ўсимлиги мисол бўлиб хизмат қилади. Юзага келган анамалияга сабаб хромосоманинг мувозанатлашмаганлигидир (Ю.Ю.Глеб 1982).

Ҳайвон ва ўсимлик ҳужайралари протопластлари қўшилишидан ҳосил бўлган ҳужайралар катта кизикишга сабаб бўлмоқда. Ҳозирда каламуш эритроцитлари ва ачитки ҳужайралари протопластлари, сабзи ва одам протопластлари, тамаки ва одам протопластлари қўшилишидан ҳосил бўлган дурагайлар ҳақида маълумотлар мавжуд.

Соматик дурагайларни олиш бўйича тажрибалар микроорганизмлар генетикасига оид тадқиқотлар каби амалга оширилади. Бошқача қилиб айтганда, ота-она ҳужайраларининг катта популяциясидан фойдаланилади. Протопластлар суспензиясига фъюзоген эритмалар билан ишлов берилганда уларнинг бир қисми бир-бирлари билан қўшилади, лекин суспензияда қўшилмаган протопластлар ҳам қолади. Уларнинг барчаси кейинчалик ҳужайра деворини тиклайди ва бўлинишга ўтади. Шундан сўнг умумий массадан дурагай нусхаларни ажратиш муоаммоси пайдо бўлади. Дурагайлар селекциясини ҳужайра даражасида ҳам ёки регенерацияланиш босқичида қўллаш мумкин ва у бир неча усуллар ёрдамида амалга оширилади.

Дурагайларнинг идентификацияси учун пластидалар хизмат қилади. Масалан, тамаки ва сабзи протопластлари қўшилганда, селектив маркер сифатида тамакининг яшил хлоропластлари ва сабзининг қизил – зарғалдоқ хромопластларидан фойдаланилган.

Дурагайларни танлашнинг бошқа усули, генетик ксмплементарликдир. Бу усул тамаки дурагайини эниклаш учун қўлланилган, бунда ота-онанинг хлорофиллдефектли мутацияларининг дурагай маҳсулотлардаги комплементациясидан фойдаланилган. Тамакида иккита ядровий рецессив мутациялари биргаликда ёруғликка боғлиқ хлорофилл тансиклигини юзага келтиради. Бу генларнинг исталганига гомозигот ўсимликлар интенсив ёритиши остида ўстирилганда рангсизланади ва нобуд бўлади. Бир-бирига қўшилгани ва регенерацияланганидан сўнг ҳужайралар колонияси орган ҳосил бўлишини индуцирловчи озика муҳитга кўчириб ўтказилади ва ёруғда ўстирилади.

Физиологик комплементация усулидан ҳам соматик дурагайларни ашда фойдаланиш мумкин. Бу усул дурагай ҳужайраларнинг ота-ҳужайралари ўсишга қодир бўлмаган шароитда ўсиш қобилиятига эришади. Ота-она ҳужайраларнинг бундай шароитда ўса олмаслиги қодир мутация билан боғлиқ эмас, балки физиологик шароитга эришган ҳужайранинг нормал физиологик реакциясидир. Масалан, N. Langsdorffii ва N. Langsdorffii ларнинг жинсий дурагайи шиш ҳосил қилишга



мойил бўлади, дурагай хужайралари эса *in vitro* шароитида гормонсиз озика муҳитларда ўсиш ва кўпайишига кодир бўлади. Тамакининг иккала тури барг мезофил хужайраларининг протопластлари индуцирланган кўшилишидан сўнг бир мунча вақт ўтгач гормонсиз озика муҳитига кўчириб ўтказилди ва шу шароитида ўсишга кодир колониялари танлаб олинди.

Соматик дурагайлашнинг яна бошқа усуллари ҳам мавжуд бўлиб, улар физиологогенетик комплементация, физикавий усуллари қўллаш усули (протопластларни центрифугалаш оркали уларнинг зичлигига қараб ажратишга асосланган), механик ажратиш кабилардир.

Ажратилган протопластларни ўсимликлар селекциясида қўллаш имконияти уларнинг индуцирланган кўшилиши ва соматик дурагайлар олиш билан чекланмайди. Протопластлар атроф муҳитдан макромолекулалар ва органеллаларни ютиш хусусиятига эга, шунингдек, уларга бошқа хужайраларнинг ДНК ва органеллаларини кўчириб ўтказмай, ёт генетик ахборотни киритиш мумкин. Ҳозирда петуния ва тамаки протопластларига ажратилган ядрони трансплантацияси муваффақиятли амалга оширилган. Шунингдек, протопластлар томонидан бегона ядрони ютилиши ҳар доим ҳам дурагай ҳосил бўлишига олиб келмайди. Ажратилган протопластларга ядродан ташқари бегона хлоропластларни ҳам трансплантация қилиш (кўчириб ўтказиш) амалга оширилган. Бу протопластлардан Карлсон бошқа организм хлоропластини тутувчи регенерант ўсимлик олган.

Бироқ бегона органелла ва ДНК ларни кўчириб ўтказишга оид ишлар эндигина ўз ривожини топмоқда. Умуман, ажратилган протопластлардан хужайраларнинг генетик реконструкциясида фойдаланиш кўриб турганимиздек, хужайралар селекцияси олдида янги истикболларни очмоқда.

#### Адабиётлар

1. Шевелуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» 1998. - 415 с.
2. Артомонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Наука» 1989. -157 с.
3. Қ.Давронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. – Тошкент: 2008. -504 с



## МУНДАРИЖА

| №  | Маъруза мавзулари                                                                                                                               | Бет |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1  | Соғломлаштирилган картошка олишнинг биотехнологик усуллари ва уни баҳолаш фанининг аҳамияти ва вазифалари                                       | 3   |
| 2  | Соғломлаштирилган картошка олишда <i>in vitro</i> кўпайтириш усули                                                                              | 12  |
| 3  | Хўжалик аҳамияти кимматли бўлган картошка шакллари олиш                                                                                         | 16  |
| 4  | Экинларни клонли микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари                                                                                         | 17  |
| 5  | Соғломлаштирилган, вирусдан ҳоли экиш материаллари олиш                                                                                         | 26  |
| 6  | Клонли микрокўпайтиришни турли босқичдаги ўсимликлар тўқималарини культуралаш техникаси                                                         | 29  |
| 7  | Ўсимликлар клонли микрокўпайтириш шароитини оптималлаштириш                                                                                     | 33  |
| 8  | Ўсимликларни клонли микрокўпайтиришга турли омилларнинг таъсири                                                                                 | 35  |
| 9  | Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратилган хужайра ва тўқималар культураси <i>in vitro</i> кўпайтирилган ўсимликлар сифати                      | 43  |
| 10 | Ўсимлик хужайралари селекцияси. Хужайралар муҳандислиги усуллари ёрдамида абиотик ва биотик стресс омилларга чидамли регенерант ўсимликлар олиш | 51  |