

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ҚИШЛОҚ ВА СУВ ХЎЖАЛИГИ  
ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ДАВЛАТ АГРАР УНИВЕРСИТЕТИ

# ЎСИМЛИКШУНОСЛИК ВА МЕВА- САБЗАВОТЧИЛИКДА БИОТЕХНОЛОГИЯ

*(магистратура талабалари учун мазкурта матини)*

Тошкент – 2016

«Ўсимликшунослик ва мева-сабзавотчиликда биотехнология» фанидан маъруза матни намунавий дастур асосида ёзилган бўлиб, ушбу фанга тегишли асосий тушунча ва маълумотлар қискача баён этилган.

Сизга тавсия этилаётган маъруза матнлари 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.Хахимов     | 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                        |

#### Ҳақризчилар:

|                |                                                                                                                                       |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Р.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-услубий комиссияси №3 сонли баённома 28.10.2016 йил, ТошДАУ ўқув-услубий кенгашининг №5 баённома 28.11.2016 йил қарорида кўриб чиқилган ва чоп этишга тавсия этилган.

## Маъруза мавзулари

| №  | Мавзунинг номи                                                                                           | Соат |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 1  | Ўсимликшунослик ва мева-сабзавотчиликда биотехнология фанининг аҳамияти ва асосий вазифалари             | 2    |
| 2  | Юксак ўсимликлар ген муҳандислиги                                                                        | 6    |
| 3  | Ўсимликлар ҳужайрасига генларни киритиш усуллари                                                         | 6    |
| 4  | Ўсимликшуносликда ҳужайра ва тўқималар культураси                                                        | 6    |
| 5  | Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари                                               | 8    |
| 6  | Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратиладиган ҳужайра ва тўқималар культураси                            | 8    |
| 7  | Ўсимликларни ҳужайраси селекцияси                                                                        | 6    |
| 8  | Ўсимликшуносликда фитогормонлар ва ўсимликларни ўсиши ҳамда ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар | 6    |
| 9  | Ҳужайрада ҳосил бўлган моддаларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва модификациялаш усуллари                     | 6    |
| 10 | Ўсимликларни химоя қилишда биотехнология                                                                 | 6    |
|    | Жами                                                                                                     | 60   |

### Мавзу–1. Ўсимликшунослик ва мева-сабзавотчиликда биотехнология фанининг аҳамияти ва асосий 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 ўтамин.

- а) Анбаш, А.Хемфери, Н.Миллисларнинг (1975) фикрига кўра “Биотехнология” - янги биокимёвий ишлаб чиқаришлар маҳсулидир (витаминлар, антибиотиклар).
- б) “Биотехнология” моддаларни биосинтез усули орқали озиқа олиш фанининг бўлими бўлиб, у «бионнженерия» 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 кишлоқ ҳўжалик 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, ачитқилар ёрдамида -нон тайёрлаш ва бошқа бир қанча 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 ҳужайраси ҳар 20-60 минутда, ачитки замбуруғлари 1,5-2,0 соатда иккига бўлиниб кўпайсалар, сут эмизувчилар ҳужайраларининг иккига бўлиниши учун 24 соат керак бўлади. Бир кеча-кундузда оғирлиги 500 килограммли бўлган қорамол 500 грамм оксил моддаси тўпласа, 500 килограмм ачитки замбуруғи 500000 килограмм ёки ундан 1000 мартаба кўпроқ 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 қиладди.

Бугунга келиб, замонавий биотехнологик усуллар ва ген муҳандислиги ёрдамида фармацевтика учун интерферонлар, инсулин, соматотропин, гепатитга қарши вакцина, ферментлар, клиник тадқиқотлар учун диагностика ашёлар (гиёҳвандлик, гепатит ва бошқа бир қатор юқумли касалликларни

аниклаш учун тест тизимлар, биокимёвий текширишлар учун турли хилдаги реактивлар, эгилувчан биологик пластмассалар, антибиотиклар, ва бошқа кўплаб биоаралашмалар маҳсулотлар) ишлаб чиқарилади.

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

Биотехнологиянинг асосий йўналишларини, шартли равишда, қуйидагича тавсифлаш мумкин:

- Ø озиқа маҳсулотлари биотехнологияси;
- Ø қишлоқ хўжалигида ишлатиладиган препаратлар биотехнологияси;
- Ø саноат маҳсулотлари биотехнологияси;
- Ø доривор моддалар, диагностика ва реактивлар биотехнологияси;
- Ø биогидрометаллургияда ишлатиладиган биотехнология;
- Ø 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 кўплаб хилма-хил ҳаётий зарур моддалар синтез қилади. Бинобарин, микроорганизмлар биз яшаб турган дунёнинг энг қудратли ишлаб чиқарувчи кучидир.

Улар ҳар хил физик-кимёвий муҳитга чидамли, тез мосланувчан, турли озиқа 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 миқдори 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 геноминининг 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 турган оксил танқислиги

муаммосига қаратмоқчимиз. Статистик маълумотларга кўра: дунёда оксил танқислиги йилига деярли 12–15 млн. тоннани ташкил этади. Бу билан боғлиқ бўлган қуйидаги маълумотлар сизларни бефарқ қолдирмайди деб ўйлаймиз:

Дунё бўйича 850 млн. дан ортиқ киши оқисилга 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.

Ҳўш, 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 оралиқ маҳсулотлари 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, олдиди 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 ҳужайранинг ҳаётий фаолияти учун энергия манбаи бўлиб хизмат қиладиган, оксил ва витаминларни синтезлайдиган, рақиб ва душманлардан химоя қиладиган водородни топиб оладилар. Шунинг учун ҳам биосинтезнинг ниҳоятда юқори босқичда ўтиши ва ўта маҳсулдорлиги ажабланарли ҳол эмас.

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

Гидролиз маҳсулотларидан фарқли равишда бу маҳсулотни оксил – витаминли концентрат (ОВК) деб юритила бошланди. Узок 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 қўшиш керак бўлади.

Хўш, буларнинг ўрнини қандай кондиритиш 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.

Хайвонларнинг махсулдорлигини унга бериладиган озиқанинг тўйимлилиги, шунингдек ундаги оксилнинг танкис аминокислоталарга бойлиги таъминлайди. Бироқ, асосий фураж экинлари – маккажўхори ва буғдой – бу талабларга жавоб бермайди. Фикримизнинг исботи сифатида кишлоқ хўжалик фанлари доктори Г.В.Редчиковнинг қуйидаги илмий маълумотини келтирамиз: “Буғдой, арпа, маккажўхори донида оксил миқдори 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 миқдорини ҳам хайвонлар тўлалигича ўзлаштира олмайдилар, яъни чўчка арпа дони таркибидаги лизиннинг 26, маккажўхоридаги лизиннинг 72, буғдойдагининг 50 фоизини ўзлаштириши мумкин, ҳолос (Дон оксилни яхшилаш ва уларни баҳолаш: М. Колос, 1978. 168 б).

Маълумки, хайвонлар озиқадаги фақат танкис аминокислоталар улушига тенг келадиган оксил қисмидан самарали фойдаланиш қобилиятига эга. Бундан келиб чиқадиган бўлсак, 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 танкис аминокислоталар – сифатида треонин ва триптофан етишмасе 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 кунжараси) 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 кунжараси ишлатилиб, 1995–2000 йилларда чорвачиликнинг оксилга бўлган талабини бор йўғи 28–30% миқдорида кондирати, дейилганди.

Бу етишмовчиликни бартараф этиш учун биотехнология саноати махсулотлари энг аввал чорвачиликнинг комплекс омукта емини бойитишга мўлжалланган турли махсулотларидан фойдаланади. Улар орасида озиқа ачитқиси алоҳида ўрин тутати.

Озика ачитқиси-тўйимлилик хусусияти бўйича барча юксак ўсимликлардан устун туради. Хайвон оксил рационининг 25% ни ачитқи замбуруғи оксили ташкил этади. Бу оксил самарадорлиги бўйича сут оксили – казеиндан кам фарқ қилади. Ачитқи оксилнинг 80% дан кўпроғи ўзлаштирилади. Ачитқи оксилнинг хазм бўлиш коэффициентлари қорамоллар, қўйлар ва жўжаларда 83– 91% ораллиқда ўзгариб туради. Уларнинг устун томони шундаки, айнан ачитқи таркибида донли озикада етарли бўлмаган танқис аминокислоталар кўп бўлади.

Мисол тариқасида қуйидагиларни эътиборингизга ҳавола этамин. Бир тонна ачитқиди 41–42 кг танқис аминокислота (лизин) бўлса, 1 т. арпа ва сўлида бу миқдор 10 маротаба камдир: бошқа танқис аминокислоталар (треонин, метионин, триптофан) ачитқиди арпа ва сўлидагидан 3 – 5 марта кўп. Глутамин кислота эса 1 тонна ачитқиди 65 – 110 кг атрофида бўлиб, дондагидан анча кўп бўлади.

Бу кўрсаткичлар ачитқининг унча кўп бўлмаган миқдори (ҳажмига нисбатан 5 – 6%) ўсимлик оксилнинг сифатини ва хазм бўлишини кескин ортишига ҳамда улар сарфини анча камайтиришга имкон яратади.

Микроб биотехнологияси саноати таклиф этаётган озика ачитқилари В гуруҳи витаминларининг ҳам манбаи бўлиб ҳисобланади.

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

Озика ачитқиси таркибида арпа, сўли, нўхат ва сояга нисбатан – рибофлавин ( $B_2$ ) миқдори 20–75 марта, пантатен кислотаси ( $B_3$  витамини) 5–10 марта, холин ( $B_4$ ) эса 2–6 марта кўп бўлади. Бу витаминлар хайвон организмиди аминокислоталар алмашинувида, ўсимлик озикасидаги протеиндан фойдаланишда ва оксил биосинтезида ҳал қилувчи роль ўйнайди.

Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, озика ачитқисиди  $B_{12}$  (цианокобаламин) витамини бўлмайди. У ўсимликларда ҳам синтез бўлмайди. Уни фақат одам ва хайвонлар ичағида 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, қўзичоқ ва янги туғилган бузоқларнинг ўсишидан қолишга, касалланишга ва ўлимга олиб келади, ҳамда чорва моллари маҳсулдорлигини камайтириб, ўсимлик озикаси оксилнинг хазм бўлишини кийинлаштиради.

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

Микробиологик биотехнология саноатида эса В12 витаминини ацетон-бутыл ишлаб чиқаришдаги чикиндиларни 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 қўзичоқлар ўсиши тезлашади. Уларнинг ўрта суткали вазни 10–12% га ортади, озиқа сарфи тежалади. Бироқ бу ҳали ҳаммаси эмас. Яхши озиқа массасини сут ачитувчи бактериялар ҳосил қиладиган сут кислотаси билан қишга силос тайёрлаш, консервдалаш мумкин. Силос тайёрланганда озиқа моддалари, жумладан, витаминлар одатдаги пичан тайёрлашдагига нисбатан анча кам нобуд бўлади.

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

Биз шу пайтгача микроорганизмларни фойдали томонлари чорвачилик озиқа рационини бойитиш йўллари ҳақида ҳикоя 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 кимга сир эмас. Шунингдек, чорвачиликда ҳам буни қўриш мумкин. Мисол тариқасида қуйидаги маълумотларни эътиборингизга ҳавола этмоқчимиз: Ҳар бир тонна хайвон оксили синтези учун қамда 4,8 – 4,9 тонна енгил ҳазм бўладиган озиқа оксили сарф қилишга тўғри келади. Агар биз исътемола қиладиган хайвон маҳсулотларини алоҳида олиб қўрадиган бўлсак, қуйидаги манзара намоён бўлади: 1 т сут оксинини 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 озиқа оксили сарфланиши аниқланган.

Хайвонларни бундай қатта – сарф харажатлар билан узок вақт парвариш қилиш чорва маҳсулотларидаги оксил таннархининг қимматлашиб кетишига олиб келади.

“Хўш, нима қилиш керак?” - деган савол туғилиши табиийдир. Биотехнология, микробиология ва қимё фанлари ижодий ҳамкорликда озиқа моддалари, биринчи навбатда уларнинг энг муҳим ва қимматли қисми – оксил олишнинг замонавий технологияларини ишлаб чиқди. Яъни, ачитки замбуруғлар озиқа 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 озиқа маҳсулоти, ризк-рўзимиз бўлган ноннинг озиқа қийматини оширишда фойдаланиш мумкин.

Олимларнинг аниқлашича нонда оксил миқдори унчалик кўп эмас: жавдар унidan тайёрланган ноннинг 100 граммида ҳаммаси бўлиб 6,5 граммгача, бугдой унidan 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 келишини 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 унга биргина танқис аминокислота – лизин қўшилгандагина натижалар ана шундай. Агар ун таркибига етишмаётган барча танқис аминокислоталар қўшилса, нима бўлади?

Демак, бугдой унга танқис аминокислоталарга бой бўлган аминокислоталарни, замбуруғларни (хамиртуруш) солиш орқали биз аминокислоталар таркиби ва биологик қиймати 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 қийматли озиқа ишлаб чиқаришни эмас, балки турли хилдаги физиологик фаол моддалар ишлаб чиқариш имконини ҳам беради.

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

Микробиолог олимларнинг тажриба – саноат синовлари ва ҳисобларининг кўрсатишича, 1 т. қуруқ ёғочдан 450 – 500 килограммга етказиб шакар ёки бир кубометр зичланган ёғоч қилиги, 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 целюлоза сакловчи қолдиқларига қимёвий 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 давлагли шакари ўрнини босиши мумкин.

Глюкозаизомеразанинг кашф этилиши ва унинг кенг қўлланилиши шакарли моддалар ишлаб чиқариш йўлида катта бурилиш ясади. Имобилизация 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 озика маҳсулотлари ишлаб чиқарилмоқда. 2000 йилнинг ўзиде 3 млн. тонна глюкоза фуктоза 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.Стези 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 алоҳида таъкидлаб ўтиш лозимки, янги трансген микроб-организм, одам организми тана ҳароратидан юқори ҳароратда ўсиб кўпаяди. Шунинг учун ҳам у инсон учун умуман ҳавфли эмас.

Айни пайтда биотехнологик ишлаб чиқариш амалиётида қуйидаги ширин таъм берувчи маҳсулотлар ишлаб чиқарилмоқда. Аспартам-200,0, Стевизид-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 кўпайтириш жуда катта самара бериши табиий ҳолдир. Айни вақтда мамлакатимизда шакар маҳсулотига бўлган талабни қондиришда бу усул жуда асқотали деб ҳисоблаймиз.

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

Ёшлик даврини узайтириш, кексаликгача бўлган муддатни имконият даражасида чўзиш, меҳнат ва ижтимоий қобилиятни узок йиллар саклаб қолиш муаммолари кўп маънода 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. Юксак ўсимликлар ген мухандислиги

### Режа:

1. Ўсимликларни сифат кўрсаткичини яхшилаш усуллари
2. Ген мухандислиги усуллари кўлаш

Ўсимликларни сифат кўрсаткичини яхшилаш вазифаларидан асосийси-ўсимликларда синтезланадиган, уларнинг озикавийлиги ва техник қийматни белгилайдиган маҳсулотлар, яъни, оксиллар, ёғлар, полисахаридлар ва бошқа моддаларнинг сифатини яхшилашга қаратилгандир.

Бошқоқли ўсимликларда эндоспермнинг захира оксиллари алоҳида ўрин тутди. Захира оксиллар, асосан структураси, нуклеотид таркиби билан бир-бирига ўхшаш, мультигенлар оиласига бирлаштирилган бир неча генлар томонидан кодирланади. Одатда, бу генларнинг экспрессияси катъий тўқима спецификлигига эга ва уруғ ривожланишининг маълум бир босқичида амалга ошади. Кўпинча ўсимликларнинг захира оксиллари таркиби инсон ва ҳайвонлар озикаси учун мувозанатланмаган аминокислоталар таркибига эга бўлади. Чунки, дуккаклиларнинг захира оксиги – легуминлар метионин аминокислотаси, бошқоқлилар оксиги – проламинлар – лизин, триптофан ва треонин аминокислоталарининг миқдори камлиги билан характерланади. Бу аминокислоталарнинг танқислиги уруғнинг озикавий қийматни пасайтиради.

Оксилларнинг аминокислоталар таркибини анъанавий усуллар билан яхшилаш анча мураккабдир, чунки қишлоқ хўжалиги учун зарур хусусиятларни белгиловчи генлар кўпинча зарарли хусусиятларни чакирувчи генлар билан бириккан ҳолда ирсийланади. Ўсимликлар селекциясида маккажўхори ва арпа дони таркибида лизин миқдори анча юқори бўлган opak-2, хайпроли типдаги мутантларининг қўлланилиши, дон сифатини яхши натижа бермади, чунки мутант формаларда лизин миқдорининг ошиши асосий захира оксиллар зеин ва гордеинлар синтезини ўғирлайди, натижада, ўсимликларнинг ҳосилдорлиги пасайиб кетади.

Шунинг учун ген-мухандислик усуллари кўлланилиши геномига факат фойдали генлар киритилган янги навларни яратишда муҳим аҳамият касб этади. Масалан, проламин генларига қўшимча лизин кодонларининг киритилиши лизинга бой оксилларнинг синтез бўлишига ва оксилнинг озиклик қийматнинг ошишига олиб келади.

Ўсимликлар сифатини ген-мухандислик технологиялари ёрдамида яхшилаш ва улардан сифатли маҳсулотлар олиш бир неча босқичларни ўз ичига олади:

- 1) захира оксиллар генларини клонлаш;
- 2) оксилларнинг тўқимага ҳослиги ва вақтинча экспрессияси механизмни ўрганиш ва бундай махсус экспрессияни бошқарувчи ва белгиловчи ДНК изчиллигини аниклаш;
- 3) аминокислоталар таркибини яхшилаш мақсадида захира оксиллар генлари нуклеотид кетма-кетлигини мақсадли ўзгартириш;
- 4) ўзгартирилган ген тутувчи векторлар яратиш;
- 5) такомиллашган генларни ўсимликларга киритиш;
- 6) генлар экспрессиясини ва маҳсулот сифатини синодан ўтказиш;

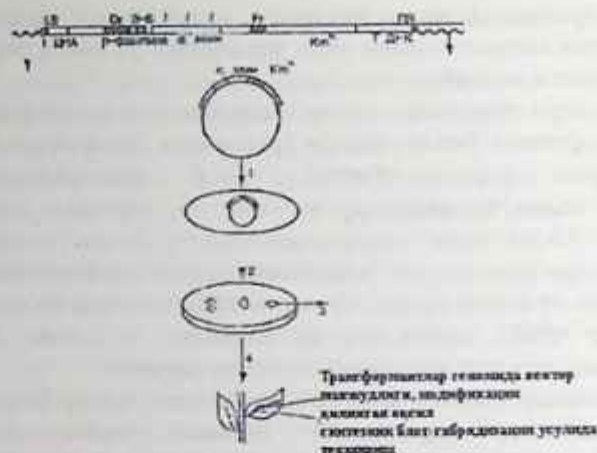
Геннинг нуклеотид кетма-кетлиги унинг оксил синтези бошқарувида иштирок этувчи элементларини аниқ ўрганишни ўз ичига оловчи тайёргарлик босқичсиз амалга ошмайди.

Дунё олимлари томонидан донли, бошокли ва бошқа бир қатор ўсимликлар заҳира оксилларининг ўнлаб генлари ўрганилган. Ҳозирги кунда тадқиқотчилар томонидан арпа горденини, бугдой  $\alpha$  ва  $\beta$  - глиадинлари ва глютенини, маккажўхори зеини, дуккаклилар легуминлари, картошка пататини ва бошқа оксилларнинг 10 га яқин генлари клонланган. Баъзи генларнинг нуклеотид кетма-кетликлари аниқланган. Заҳира оксилларни ажратишнинг умумий режаси қуйидагиларни ўз ичига олади: 1) мос м РНК ни олиш ва қисман тозалаш; 2) комплементар кДНК синтезлаш ва клонлаш; 3) генлар банкидан заҳира оксиллар генини нуклеотид кетма-кетлигини ажратиш.

Заҳира оксиллар синтези аниқ бошқарувга эга: генлар фақат битта тўқимада (фақат бошоклилар проламинни доннинг эндоспермида) ва уруғ ривожланишининг қисқа даврида экспрессияланади. Заҳира оксиллар генларини ўрганиш, улар тузилишининг умумийлигини ва ўз ўрнида уларнинг бир хил функцияларни бажаришини кўрсатади.

Кўпчилик заҳира оксиллар генларида интронлар бўлмайди. Бундан ташқари, уларда транскрипция бошланиш нуктасидан 300 н.ж. оралиғида эндосперм-бокс деб номланган 25 нуклеотид жуфтликдан иборат махсус кетма-кетлик асосида жойлашган. Эндосперм-бокс функциясини аниқлаш, айнан мазкур 25-нуклеотид жуфтликнинг мавжуд бўлиши дон эндоспермига заҳира оксиллари генларининг тўқимага ҳос экспрессиясини амалга ошириш боғлиқ бўлишини кўрсатади. Шунингдек, олдида эндосперм-бокс изчиллиги жойлашган ҳар бир геннинг махсулоти, фақат донда ёки уруғда синтезланади ва уни такомиллашган проламин оксиллар генлари кетма-кетлигини тутувчи вектор таркибига киритишдан мақсад уларнинг дон ёки уруғ таркибида сақланиб қолишини таъминлашдан иборат.

Аминокислоталар таркиби яхшиланган оксилли трансген ўсимликлар олишнинг кейинги босқичини такомиллаштирилган  $\alpha$  -зеини мисолида кўриш мумкин. Маккажўхорининг  $\alpha$  -зеин оксили лизиннинг миқдори камлиги билан характерланади. Бу эса оксилнинг озиклик қийматни пасайтиради.  $\alpha$  -зеин гени кетма-кетлигига йўналтирилган – олигонуклеотид мутагенези усули орқали лизиннинг қўшимча кодонлари киритилади. Олинган  $\alpha$  -зеиннинг модификация қилинган гени лизин тутувчи оксил экспрессиясини амалга оширади. Бундай тадқиқот биринчи марта  $\alpha$  -зеин кетма-кетлигига янги кодонлар киритилиши бўйича амалга оширилган (1 –расм). Ҳозирда бундай янги триплетларни киритилиб, оксилларнинг аминокислоталар таркибини ўзгартириш (яхшилаш) одатий ҳол бўлиб қолмоқда.



1 - расм. Лизинли кодонлар билан бойитилган  $\alpha$ -зеини гени кўчириб ўтказилган трансген тамаки ўсимлигини олиш схемаси.

1-агробактериялар трансформацияси, 2-ўсимлик хужайралари трансформацияси, 3-канамисин антибиотиғи қўшилган оғизка муҳитида танлаш; 4-регенерация.

Такимиллаштирилган  $\alpha$ -зеин гени трансформация учун қўлланиладиган векторнинг Т-ДНК қисмига клонланган. Шунингдек, вектор конструкция таркибида эндосперм-бокс ҳам бўлиб, у  $\alpha$ -зеиннинг уруғда тўқимага ҳос экспрессиясини юзага келтиради. Ўтказилган тадқиқотларда такомиллаштирилган  $\alpha$ -зеини гени билан трансформацияланиб, лизин билан бойитилган маккажўхори ўсимликлари олинган. Модификация қилинган оксил трансген маккажўхори ўсимлиги уруғларида фаол синтезланади. Натижада доннинг сифати яхшилланган маккажўхори тизимларини олишга муваффақ бўлинди. Кейинчалик бу трансген тизимлар анъанавий селекция усуллари ёрдамида янги нав ва дургайлар олишда қўлланилиши мумкин.

Трансген бугдой ўсимликлари ҳам шу каби усуллар ёрдамида олинган. Ўсимлик геномига глютенин оксили юқори молекуляр суббирлигининг нуклеотид изчиллиги ўзгартирилиб модификация қилинган гени киритилганда, модификацияланган оксиллар синтезини фаоллаштиради ва тегишли захира оксиллар таркиби ва даражасига таъсир этиб, бу бугдойнинг дон сифатини яхшилашга олиб келади.

Оксиллар таркибини яхшилашнинг яна бир усули бу бир паллали ва икки паллалиларнинг захира оксиллари генлари изчиллиги асосида химер генларни конструкциялашдир. Бунда дастлабки материал сифатида арпа гордеини В1 ва дуккакдилар легумини В4 генларидан фойдаланилди. Бундай химер генга эга конструкция (қурилма) билан тамаки ўсимлиги трансформация қилиниб, трансген ўсимликлар тизими олинган.

Шундай қилиб, ген муҳандислиги усуллари ёрдамида донли экинларнинг эндосперм оксиллари таркибини ўзгартиришни амалга ошириш мумкин экан.

Шунингдек захира оксиллари ўзгартирилган ўсимликларни олиш билан бирга трансген ўсимликлардан “озикабоп” вакциналар ишлаб чиқарувчилар сифатида ҳам фойдаланиш мумкин. Масалан А-Г иммуноглобулини, энтеротоксин, вабонинг В-токсини, В-гепатитнинг юза оксили антигенини синтезловчи тамаки, картошка ўсимликлари олинган. Трансген ўсимликлардан олинган оксиллар, ҳайвон ҳужайраларидан олинган оксиллар каби антигенлик ва физиологик хусусиятларга эга бўлади. Ҳозирги вақтда трансген ўсимликлар ёрдамида одамда учрайдиган В гепатитига қарши вакциналаш (эмлаш) синовдан ўтказилмоқда. Бундан келиб чиқиб, трансген ўсимликлардан фойдаланиб, келажакда арзон ва биологик фаол вакциналар олиш мумкин, деган хулосага келиш мумкин.

Захира оксиллари модификацияланган дуккакли-дон экинларининг трансген шакллари яратиш билан бирга бир қатор мойли экинлар, биринчи навбатда рапснинг мой кислоталари таркибини яхшилаш борасида ҳам илмий-тадқиқот ишлари олиб борилмоқда. Рапс уруғлари таркибида мой миқдорини юқори бўлиши билан характерланади, аммо унинг таркибидаги специфик узун занжирли эрук кислотаси ва шунингдек, глюкозинолатнинг миқдори кўплиги рапс мойининг таъм хусусияти ва озиқлиги салбий таъсир этади. Ген муҳандислиги ёрдамида ва селекциялаш усуллари орқали рапснинг мой кислоталари молекуласи узунлигини назорат қилиб, эрук кислотаси улушини камайтирувчи ва рапс мойининг сифатини яхшиловчи ген киритилган навлари яратилган. Шу каби тўйинмаган боғларнинг миқдори юқори бўлган модификацияланган мой кислоталар олиш бўйича ишлар олиб борилмоқда, бу янги, қимматли мой кислоталар кислоталар синтезловчи ўсимликлар олиш имконини беради. Бундан ташқари, ўсимликлар таркибида мой кислоталар таркибининг ўзгариши, уларнинг бир қатор хашаротларга, паст ҳарорат таъсирига чидамлилигини ошириши аниқланган.

2001 йилда мой кислоталари таркиби модификацияланган соя, рапс, маккажўхорининг трансген ўсимликлари навлари дала синовларидан ўтказилди.

Селекциянинг истикболли йўналишларидан бири - бу янги навларнинг ҳосилдорлигини оширишдир. Қуйидаги йўналишларда фотосинтез фаоллигини ошириш ва алоҳида моддалар синтезини кўтаришда ген муҳандислиги ишлари жадал олиб борилмоқда.

Фотосинтетик фаолликни оширишда ўсимликлар фотосинтезининг  $C_3$  генига  $C_4$  генини киритиш йўналиши бўйича изланиш амалга оширилмоқда. Маккажўхори фотосинтез тизими мезофилл барглари ҳужайрасида атмосфера  $CO_2$  фиксациясида иштирок этувчи фосфоенолпируваткарбоксилазининг  $C_4$  гени клонланди ва агробактерия трансформацияси тизими (PEPS) орқали шולי ўсимлигининг  $C_3$  генига ўтказилди. Олинган трансген ўсимликларнинг таҳлили шуни кўрсатдики, шולי ҳужайрасида ферментлар фаоллиги маккажўхориникига нисбатан 2-3 барабар юқори бўлиши, фотосинтез фаоллигини тезлаштириб, ҳосилдорликни оширишга олиб келган.

Фотосинтез жараёнида иштирок этувчи генларни клонлаш ва улардан фойдаланишидан ташқари, ҳужайрада хлоропласт миқдорини назорат қилувчи

генлар ҳам ажратиб олинган. Бундай генлардан фойдаланиш фотосинтез даражасини ўзгартиришга олиб келади. Бошқача ёндошиш орқали эса ҳар бир хлоропластдаги хлорофилларнинг миқдорини оширишга эришилган. Яна *a/b* хлорофилларни специфик тарзда бириктирувчи модификацияланган оксиллар олинган. Трансген ўсимликларда бу оксиллар экспрессиясининг амалга оширилиши биомасса миқдорини сезиларли даражада кўпайтиришга олиб келади.

Олиб борилаётган ишларнинг бошқа йўналиши трансген ўсимликларда метаболизмнинг ўзгартириш билан боғлиқдир. Маккажўхори углевод метаболизми регуляциясидаги асосий ферменти сахарозофосфатсинтетаза (SPS-ген) генини бошқа ўсимликлар геномига киритилганда, ўсимликларнинг углевод алмашинувиغا таъсир этади ва ҳосилдорлигини оширади. Ҳозирги вақтда помидор, картошка, рапс, гўзанинг шундай трансген навлари олинган.

1999–2000 йилларда трансген ўсимликлардан фойдаланиш рухсат этилган АҚШ, Канада ва яна бир қанча шу каби мамлакатларда ҳосилдорликни оширувчи ва ҳосил бўлган маҳсулотнинг сифатини яхшиловчи турли хил генлар трансформация қилинган маккажўхорининг еттига, бугдойнинг битта трансген навлари дала синовларидан ўтказилиб, қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришда фойдаланилмоқда.

Ўсимликлар ҳосилдорлиги ва сифатини оширувчи генларни трансформация қилиш билан бирга 1998–2001 йилларда тијоратбоп трансген гулларнинг дастлабки тўртта нави олинган бўлиб, уларга АСС-синтетаза гени киритилиши натижасида гуллаш жараёни тезлаштирилган чиннигул нави ва антоциан биосинтези ўзгартирилган гени учта (иккита чиннигул ва битта хризантема) гуллари гулкўрғонидаги тожибарглариининг ноанъанавий рангларини олишга муваффақ бўлишган.

#### 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. Ўсимликлар ҳужайрасига генларни киритиш усуллари

##### Режа:

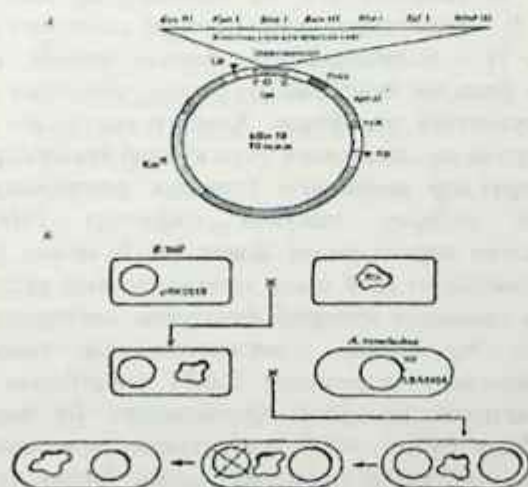
##### Бинар векторлар

##### ДНК сақловчи вируслар асосидаги ўсимлик векторлари

1. Кўчиб юривчи генетик элементлар (транспозонлар) асосидаги векторлар
4. Ўсимлик ҳужайралари трансформацияси усуллари
5. Ўсимликларга генларни тўғридан - тўғри кўчириб ўтказиш

Бинар векторлар. Бегона ДНК ни кўчириб ўтказишнинг бошқа хил бирмунча содда, кенг қўлланиладиган услубларидан бири бинар векторлардан фойдаланиш ҳисобланади. Илгари қайд этилгандек, агробактериялар билан

Ўсимлик хужайрасини зарарлантириш ва жавобгар *vir* -худуди трансформацияни амалга ошириш учун ДНК ни кўчириб ўтказиш ва Т-ДНК районини чегараловчи тўғри такрорий кетма-кетликлар зарурдир. Бундан ташқари *vir* худуди ва ДНК нинг чегараловчи такрорий кетма-кетликлари битта плазмида таркибда жойлашган бўлиши муҳимдир. Бинар векторлар тизими шунга асосланганки, ўсимликлар трансформацияси учун фойдаланиладиган агробактерия хужайрасида бир вақтнинг ўзида иккита плазмида жойлашган бўлади. Улардан бири Т-ДНК нинг чегараланган қисмлар кетма-кетликларига эга бўлса, иккинчиси *vir* худудига эга бўлади. Иккала плазмида ҳам мустақил репликация бўла олади, лекин алоҳида ҳолда ўсимликлар трансформациясига сабаб бўла олмайди. Бунда Т-ДНК тутувчи плазмида ўз таркибда *E. coli* плазмидаси фрагментлари (жумладан, репликациянинг бошланғич нуктасини) тутати, бу эса *E. coli* хужайраларида клонлаш бўйича барча манипуляцияларни амалга ошириш ва барча жараёнлар (соддалаштириш) ни оsonлаштириш имконини беради. Коинтегратив векторга аналогик ҳолда керакли (мақсадли) ген ва селектив маркер гени Т-ДНК худудига уланади, шундан сўнг бундай рекомбинант плазмида *vir*-худудига эга бошқа плазмида сакловчи агробактериялар хужайрасига киритилади. Коинтегратив векторлардан фарқли ўларок, иккала плазмидалар ўртасида гомологик рекомбинация рўй бермайди ва улар ягона вектор молекуласига айланмайди. Битта плазмиданинг *vir*-генлари билан экспрессияланувчи оксилларни қирқиб, бошқа плазмиданинг бегона генлар билан бирга Т-ДНК худудини ўсимлик геномига жойлаштирилади. Ҳозирги вақтда бундай бинар векторлар ўсимлик хужайралари трансформацияси учун энг кўп қўлланилади (2-3- расмлар).

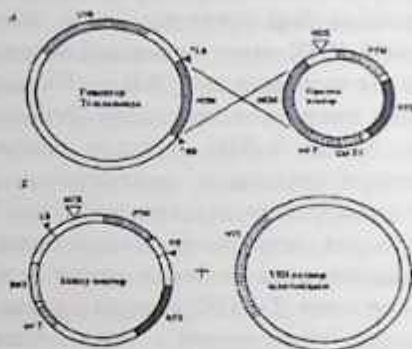


2- расм. pBin19 бинар векторининг тузилиши ва қўлланилиши.

А. pBin19 бинар векторининг харитаси. LB, RB-чап ва ўнг чегаралар, lac- lac - опероннинг  $\alpha$ -комплементар худуди, P pos-нопалинсинтетаза гени промотори, hptII - Tn5нинг неомицинтрансфераза кетма-кетлигини кодловчи қисми, по A -нопалинсинтетаза

геннинг полиденитланиш нуктаси, нукталар билан pRK252 плазмидасининг RK кенг спектрли RK 2 плазмидаси репликацияси бошлангичини сакловчи кетма-кетликлари кўрсатилган.

Б. pBin19 плазмидасининг ёрдамчи плазмиди pRK2013 билан бирга *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404га кўчириб ўтказилиши ва агробактерияларда хелпер плазмиданинг йўқотилиши.



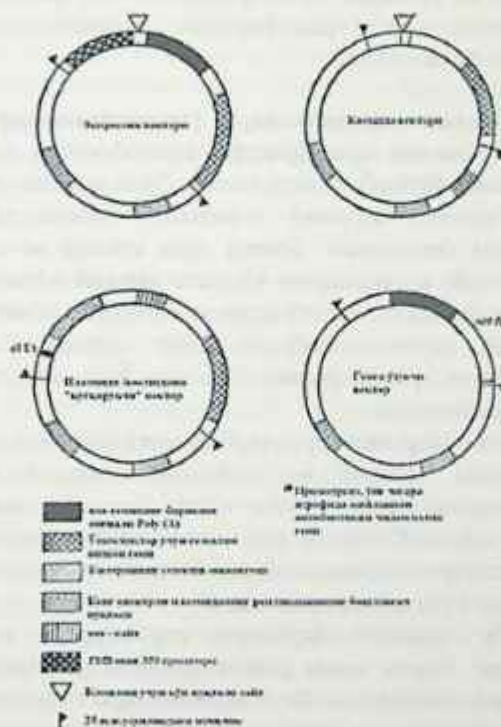
3-расм. - Коинтеграция (А) ва бинар (Б) вектор тизимларини бириктирилишининг схематик диаграммаси.

**Ri – плазмидаси асосида ўсимликлар трансформацияси.** *A. tumefaciens*нинг Ti- плазмидаларидан ташқари *A. rhizogenes* агробактериясидан ажратиб олинган Ri плазмидалари (инглиз тилидан Root inducing – ортикча илдиз ҳосил бўлишини индустриловчилар) ҳам ўсимлик хужайрасига трансформация бўлиш хусусиятига эга. Ri плазмидалар ҳам илдиз ҳосил бўлишини кучайтириб, Ti – плазмидалар каби опинлар синтезига сабаб бўлади. Бироқ Ri плазмидалар Ti – плазмидалардан фарқли ўлароқ, онкоген эмас, трансформациядан сўнг ўсимлик хужайралари соғлом, серхосил ўсимликларни регенерация қилиш хусусиятига эга бўлади. Ҳозирги вақтда Ri- плазмидалари асосида ҳам ўсимликлар ген муҳандислиги учун кўплаб векторлар олинган.

**ДНК сакловчи вируслар асосидаги ўсимлик векторлари.** Кўпчилик фитовируслар генетик ахборот ташувчи сифатида РНК тутадилар. Ўсимликларни зарарловчи вирусларнинг фақат 1-2 % игина ДНК сакловчи бўлади. Айнан улар рекомбинант ДНК олиш технологиясида қўллаш учун жуда қулай ва ўсимликларга генларни кўчириб ўтказувчи векторлар учун асосий юситалар ҳисобланади. Бу борада қарамгулдошлар оиласига мансуб симликларни зарарлайдиган гулкарамнинг CaMV (cauliflower mosaic virus) озанка вируси энг истикболли бўлиб ҳисобланади. Бу вирус қисмлари диаметри 50 нм атрофида бўлиб, 8000 ж.н. узунликдаги ҳалқасимон ДНК тутади. CaMV геноминининг катта бўлмаган ҳажми билан худди бактерия плазмидаси сингари вирус ДНК си билан *in vitro* шароитида ишлаш имкони мавжуд ва уни ўсимлик баргига ишқалаш орқали киритиш мумкин. Оз миқдордаги хужайраларни зарарлантириш яхлит ўсимликни зарарланишига олиб келади, чунки вирус хужайрадан – хужайрага ўтиб тез тарқалади. Битта ўсимликни зарарлаш учун 1- 5 мкг ДНК қўлланилганда, агробактериялар билан

зарарлантиришга нисбатан бир мунча юқори, деярли 100 % га етадиган самарадорликка эришилади.

Инфекциядан сўнг CaMV ДНК сининг хўжайин ўсимлик геномига тўғридан - тўғри интеграция бўлиш йўли ҳали аниқланмаган. Инокуляциядан сўнг вирус ДНК сини тўғридан - тўғри геномга жойлашишини амалга ошириш учун махсус усул агроинфекция ишлаб чиқилган. Бунинг учун Т-ДНКга CaMV геноми жойлаштирилади ва ушбу геном унинг таркибида турли ўсимликларнинг ядро геномига интеграция бўлади, бунда CaMV таркибидаги унинг вирулентлигини таъминлайдиган кетма-кетликлар қирқиб олиб ташланади.



4-расм. Т1-плазмидаси асосидаги ўсимликлар трансформацияси учун қўлланиладиган махсус векторларнинг схемали диаграммаси. (ГМВ-гул қарам мозаикаси вируси).

Вируслар асосидаги вектор тизимларнинг афзалликларига қуйидагилар: геномининг кичик ўлчами (бу вирус ДНКси билан осон ишлашни таъминлайди), зарарланган ўсимлик ҳужайраларида вирус ДНК си нусхаларининг кўплиги (бир ҳужайрага 50000 гача); бегона генлар экспрессияси самарадорлигини таъминлайдиган кучли промоторларнинг мавжудлигини киритиш мумкин.

Ушбу векторнинг камчилиги сифатида унинг кичик ҳажмдалиги (800-1000 ж.н.) ва фақат чегараланган ўсимликлар – қарамгулдошларнигина зарарлай олишини кўрсатиб ўтиш жоиз.

Хулоса қилиб шунни айтиш мумкинки, ўсимликлар трансформациясида вируслар асосидаги векторлар кам қўлланилса-да, вирус промоторлари, айниқса, CAMV 35S РНК промотори бегона генларни бошқа вектор тизимларига экспрессия қилишда кенг фойдаланилади (4 - расм). Гулқарам мозаикаси вирусининг 35S РНК промотори кучли промотор ҳисобланади, бундан ташқари у нафақат қарамгулдошлар оиласи вакилларида, балки кўплаб оила вакиллари ҳисобланган ўсимлик ҳужайраларида ҳам фаолдир. У тўқима спецификлигига эга эмас ва трансформант ўсимликларнинг барча ҳужайраларига экспрессия бўла олади.

**Кўчиб юривчи генетик элементлар (транспозонлар) асосидаги векторлар.** 90-йилларда ўсимлик ҳужайралари трансформацияси учун ўзига ҳос тузилишига эга ва геном бўйлаб транспозиция бўла оладиган ДНК кетма-кетликлардан иборат кўчиб юривчи генетик элементлар асосидаги векторлардан фойдаланила бошланди. Бошқа хил вектор конструкцияларга нисбатан қиёслаганда бундай векторларни қўллаш қандай афзалликларга эга? Мазкур усулнинг моҳияти шундаки, кўчиб юривчи генетик элементлар ўсимлик хромосомасига бирламчи интеграциясидан сўнг қирқиш ва кетма-кет жойланиш йўли билан геном бўйлаб ўрнашиб олади. Ўсимликлар учун Ac/Ds векторлар тизими кенг қўлланилади.

Ac (Activator) – 1940 йилларнинг ўрталарида маккажўхори геноми махсус участкаларида хромосомада узилиш ва геномнинг махсус участкаларида ксиниллик ҳолатини чакириш хусусиятига кўра, биринчи марта генетик усуллар ёрдамида Барбара Мак Клинтон томонидан идентификация қилинган. Ac- элемент геном бўйлаб фаол транспозиция бўлиш хусусиятига эга кўчиб юривчи генетик элементлар гуруҳига киритилади.

Транспозонларнинг бу оиласига бирламчи структураси жиҳатидан Ac-элементига қардош бўлган, бироқ ички районларидаги делециялари туфайли геномга мустақил жойлаша олмайдиган Ds – элементлари гетероген гуруҳи ҳам киритилади, бунда транспозициялар эҳтимолли фақат Ac – элемент махсус оксиди транспозоаза иштирокида амалга ошади.

Аниқланишича, Ac-элементи маккажўхори ўсимлигидан ташқари бошқа хил ўсимликлар: арабидопсис, сабзи, картошка, помидор, шоли ва ҳ.к. геномларида ҳам фаол бўлиши мумкин экан. Арабидопсис ўсимлиги геномида Ac-элементи транспозицияси қонуниятларини тадқиқ қилиш бўйича тажриба натижаларининг кўрсатишича, Ac- кўчиб юривчи элемент асосидаги конструкциялардан *нишонланган транспозициялар тизимини* олишда фойдаланиш мумкин, шунингдек, *қопқон (enhances trap lines) номли генлар линияларини* яратиш янги генлар, жумладан тўқимага ҳос экспрессия, яъни, маълум бир тўқималарда транскрипция ва трансляцияга учрайдиган генлар гуруҳини идентификация қилиш имконини беради. Шундай қилиб, муайян тўқималарга ҳос бўлган, масалан, илдиз, муртақ халтаси ва ҳ.к. тўқималарига

ҳос генлар ва оксилларни идентификация қилиш (ва келгусида амалиётда қўллаш) мумкин. Бундай векторларда репортер генларни қўллаш транспозонли конструкциялардаги интеграциянинг янги сайтларни белгилаш ва инсерция жойларини аниқлаш имконини беради. Улар функционал генларнинг кетма-кетлиги атрофи ёки бевосита ўзига ўтиб олиб, унинг кейинги клонланиши ва секвенс қилинишига шароит яратади, шунинг учун бундай типдаги плазмида-векторларни - ген тутғич (копкон) деб аталади.

**Ўсимлик ҳужайралари трансформацияси усуллари.** Икки паллали трансген ўсимликлар олишда энг кенг тарқалган усуллардан бири агробактериялар билан кокультивация қилиш усули ҳисобланади (5 - расм). Ўсимлик эксплантларини Т-ДНК худудига бегона ген жойлаштирилган вектор конструкцияга эга агробактериялар билан трансформация қилишга асосланган. Унинг кенг тарқалганлигининг сабаби, трансформацияни амалга оширишнинг бирмунча соддалиги трансген ўсимликларни ажратиб олишда юқори (ўсимлик турига қараб, 10-60 %) самарадорлиги билан изоҳланади.

Дастлабки материал учун вектор (бинар, коинтегратив ёки муайян трансформация тури учун яроқли бошқа бирор) конструкцияга эга бўлган агробактерия штамми бўлиши лозим. Вектор ўсимлик геномига киритилиши лозим бўлган ген кетма-кетлигига эга бўлиши керак. Геннинг келиб чиқиши (прокариот ёки эукариот) трансформация учун аҳамиятсиздир, лекин у ўсимлик ҳужайрасига экспрессия бўла оладиган промотор назорати остида бўлиши лозим. Функционал гендан ташқари, вектор, албатта, трансформациянинг селектив нишон белгисини сақлаши шарт. Бундай нишон белги сифатида антибиотиклар: канамицин (*npt*-гени), гигромицин (*npt*-гени) ва ёки гербицидлар хлорсульфурон (*ALS*-гени), фосфинотрицин (*bar*- гени) (*BASTA*) га чидамлилик белгисини юзага чиқарадиган генлар ишлатилади. Бундан ташқари, реципиент – ўсимлик навларини танлаб олиш лозим. Трансформация учун эксплант сифатида стерил ўсимлик барг пластинкалари олинади. Бироқ бунинг учун ёш илдишлар (арабидопсисда), гипокотил (помидорда), уруғпалла (помидор, баклажонда), бўғим ораллиги (картошкада) ҳам ишлатилиши мумкин.

Эксплантларни вектор конструкцияли агробактериялар сакловчи суюқ муҳитида инокуляция қилинади. Инокуляция қилиш муддати ҳар бир тур ўсимлик учун алоҳида танлаб олинади. Бунда эксплантнинг жароҳатланган юзасида ҳужайраларнинг зарарланиши бошланиб, кокультивациядан сўнг 24 – 48 соат ўтгач, Т-ДНК бўлагини бегона (танлаб олинган) ген билан бирга ўсимлик геномига жойлашиши содир бўлади. Шундан сўнг, эксплантларни антибиотиклар (карбенициллин ёки цефотаксим) сакловчи озик муҳитига ўтказилади, бу агробактерия ҳужайраларнинг танлаб нобуд бўлишига сабаб бўлади. Бундан ташқари, озик муҳитига керакли (тўғридан-тўғри регенерация ёки каллус ҳосил бўлиши учун) фитогормонлар ва трансформант ҳужайраларни селектив танлаб олиш учун антибиотиклар, гербицид қўшилади. Антибиотик ёки гербицидга чидамлилик генларининг экспрессиясини амалга оширувчи трансген ўсимликлар селектив агент қўшилган муҳитда ўса олса, трансген бўлмаган ўсимликлар бундай муҳитда нобуд бўлади. 2-5 ҳафтадан сўнг

трансформант эксплантлардан поялар ўсиб чиқа бошлайди, уларни ажратиб олинади ёки кейинги қўшимча молекуляр таҳлиллар учун тупроққа қўчириб ўтказилади (5. а – расм).

Протопластлар шу йўсинда трансформация қилинади, лекин бу усулдаги трансформация протопластларнинг ўзида регенерация қилиш қобилияти сустлиги учун кам самара беради.

Агробактериялар билан кокультавания қилиш усули орқали ҳозирги кунга қадар деярли барча икки паллали қишлоқ ҳўжалик экинларидан трансген ўсимликлар олинган. Бу усул баъзи бир паллалилар (бугдой, маккажўхори, шоли) да ҳам ўз ифодасини топган.

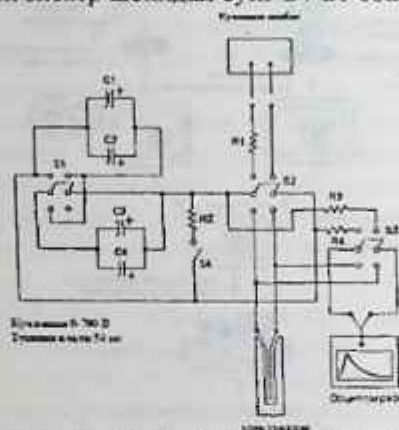
**Ўсимликларга генларни тўғридан - тўғри қўчириб ўтказиш.** Ўсимлик хужайраларига генларни тўғридан-тўғри қўчириб ўтказишда ўсимлик протопластларининг трансформацияси кенг қўлланилади. Ўсимлик хужайра деворига ферментлар (целлюлаза, пектиназа) билан ишлов берилганда хужайра девори емирилиб, фақат протопласт қолади. ДНК иштирокида протопластларни тўғридан - тўғри трансформациялаш усули ишлаб чиқилган. Трансформациянинг бирмунча юқори самарадорлигига ( $10^{-2}$ ) электропорация ва полиэтиленгликол қўшиш усули орқали эришиш мумкин. Агробактериялар билан трансформация қилишга нисбатан, тўғридан - тўғри қўчириб ўтказиш усулининг частотаси кам бўлса-да, бирмунча афзалликларга эга. Вектор махсус биологик сигналлар ва трансформация функциялари (Т-ДНК худуди билан чегараланган ва *vir*-худуди) га эга бўлмаслиги ҳам мумкин. Трансформация учун деярли ҳар қандай бегона ген тутувчи ДНК вектори қўлланилиши мумкин. Бунда гибрид ген (фақат тегишли регулятор худудлар мавжуд бўлганда) хужайра рекомбинацияси механизмларидан фойдаланиб, айниқса, протопласт ядросига тўғридан - тўғри инъекция қилишда ўсимлик ядро ДНКсига интеграция бўлади ва экспрессияланади.

Ҳозирги вақтда 140 дан ортиқ ўсимлик турлари вектор ДНКсини протопласт хужайраларига турли усуллар билан қўчириб ўтказиш орқали трансформация қилинган.

**ДНК микроинъекцияси.** Бир қатор тажрибаларнинг қўрсатишича, ўсимлик хужайралари трансформацияси учун ҳайвон хужайраларидаги микроинъекциялар сингари ДНК микроинъекциялари усулини қўллаш мумкин. Ҳақиқатда инъекция учун протопластлар олишда уларни полилизинли шишаларга иштириш усуллари ишлаб чиқилганлиги қатор техник қийинчиликларни артараф этиш имкониятини берди (6-расм).



хисобланади. Усулнинг моҳияти куйидагича: ДНК- векторини сақловчи юкори концентрацияли эритмадаги ўсимлик протопластларига юкори вольтли импульс (кучланиш 200-350 В, импульс давомийлиги 54 мс) билан таъсир этилади (7-расм). Натижада ДНК молекулалари ҳужайра мембранасидаги поралар (тешикчалар) орқали ютилади. Эритма аралаштирилгандан сўнг протопластларни регенерация бўлиши учун етарли муҳитга экилади. Кўчириб ўтказишнинг самараси электр шокидан сўнг 24-28 соат ўтгач аникланади.



7 - расм. Электропорацияни амалга ошириш учун паст кучланишли қурилманинг тузилиши

*Липосомаларга жойлаштириш.* Ўсимлик протопластларига ўтказиладиган экзоген генетик материални нуклеин кислоталарни парчалайдиган нуклеазалар таъсиридан химоя қилишда қўлланиладиган усуллардан бири липосомаларга жойлаштириш усули.

Липосомалар қобиғи фосфолипидлардан ташкил топган сферик шакллар ҳисобланади. Уларни фосфолипидларни сувли эмулсияларига ультратовушлар билан ишлов бериш ёки каттик чайқатиш натижасида олиш мумкин. Липосомалар ёрдамида ўсимлик протопластларига тамаки мозаикаси вируси РНК си, *A. tumefaciens* бактерияси Т1 – плазмидаси ДНК си, шунингдек, бутун метафаза даври хромосомалари киритилган. Липосомалар ёрдамида кўчириб ўтказиш тизимларнинг афзалликлари сифатида уларнинг ҳужайраларга нисбатан захарлилигининг камлиги, липосомаларни парчалаш хусусиятига эга ҳужайралари бўлган кўплаб ўсимликларда ишлатиш мумкинлигини кўрсатиш мумкин. Ҳозирги вақтга келиб, мазкур усул техник жиҳатдан қийинлиги ва трансформациялаш фаоллигининг нисбатан кам (0,5-1 %) лиги учун тобора кам фойдаланилмоқда.

*Биобаллистик трансформациялар усули.* Биобаллистика усули бугунги кунга келиб, бир паллалилар учун энг самарали усуллардан ҳисобланади, шунингдек уни икки паллали ўсимликларда ҳам муваффиқият билан қўллаш мумкин. Трансформация учун дастлабки материал сифатида культуралар суспензияси, каллус тўқимаси ёки бир паллалиларнинг етилмаган муртак ўсимталари олинади.

Мазкур усулнинг моҳияти шундан иборатки, диаметри 0,6-1,2 мкм бўлган вольфрам, олтин ёки платина бўлакчалари трансформация учун зарур ген конструкциялари сакловчи ДНК устидан пуркалади. ДНК тутувчи вольфрам, платина ёки олтин бўлакчалари целлофан қобик билан ўралиб, биобаллистик замбарак ичига жойлаштирилади. Каллус ёки хужайра суспензияси агарли озиқа муҳити солинган Петри лycopчасига ўтказилади ва биобаллистик замбарак рўпарасига 10-15 см масофада жойлаштирилади. Замбаракдаги босим вакуум насос билан 1,0 атм гача туширилади. Босим туширилаётган вақтда замбаракдан вольфрам ёки олтин бўлакчалари отилиб чиқиб, хужайра деворини ёриб ўтади ва цитоплазмага, хужайра ядросига ўтади.

Одатда бевосита марказда жойлашган хужайралар вольфрам ва олтин бўлакчаларининг қўллаб келиб урилиши ва жуда кучли босими туфайли нобуд бўлади, улардан 0,6-1 см марказдан узоқда эса трансформант хужайралар жойлашади. Шундан сўнг хужайраларни давомли экиш ва регенерация қилиш учун озиқа муҳитларига қўчириб ўтказилади.

Биобаллистик замбараклар ёрдамида бир паллали маккажўхори, шоли, бугдой, арпа ўсимликлари трансформация қилиниб, турғун трансген ўсимликлар олинган. Бундан ташқари биобаллистик трансформация ДНК ни эмбриоген чангчига тўғридан-тўғри қўчириб ўтказиш, трансген дигиплоид ўсимликлар олиш учун қўлланилади ва у селекция ишларида муҳим босқич ҳисобланади. Бу усул билан тамаки ўсимлигининг трансформацияси амалга оширилиб, гаплоид ўсимликлар регенерациясидан сўнг турғун трансформантлар олинган.

**Ўсимликлар трансформациясининг далиллари.** Ўсимликлар трансформацияси векторлари таркибига функционал гендан ташқари селектив нишон генлари қиради. Бу ген одатда антибиотиклар канамицин (*nrpII* -гени) ёки гигромицин (*nrpIII* - гени) га чидамлилиқ генларини кодирлайди, шунинг учун трансген ўсимликларни дастлабки танлов ишларини тегишли антибиотиклар сакловчи озиқа муҳитларида олиб борилади. Бундай муҳитда геноми таркибида селектив нишон гени бўлган ўсимликларгина регенерация қила олади. Бироқ селектив муҳитда ўса олиш хусусиятининг ўзи ўсимликнинг трансген табиатини исботловчи ягона далил бўла олмайди.

Т-ДНК кетма-кетликлари борлигини тўлиқ исботлашда полимераза занжир реакцияси (ПЗР) таҳлили ва Т-ДНК бўлагини радиоактив зонд сифатида қўллаш орқали трансген ўсимлик хромосома ДНК сининг блот – гибридизациясига асосланган молекуляр таҳлили ўтказилади. Бундай таҳлилларни ўтказиш жуда қimmat турса-да, олинган натижалар трансформация амалга ошганлиги, Т-ДНК – конструкцияларнинг қанчаси ўсимлик геномига ўрнаша олганлиги тўғрисида ишончли маълумот олиш имконини беради. Бундан ташқари, функционал ген экспрессиясининг қўшимча таҳлилни тегишли мРНК ёки оксилни аниқлаш усуллари орқали амалга оширилади.

#### 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. Ўсимликшуносликда ҳужайра ва тўқималар культураси Режа:

1. Ҳужайра биотехнологияси
2. Ҳужайра биотехнологиясининг асосий йўналишлари

*Ҳужайра биотехнологияси* – ҳужайра, тўқима ва протопластларни ишлатишга асосланади. Ҳужайраларни манипуляция (фаолиятига қандайдир ўзгаришлар киритиш) қилиш учун, уларни ўсимликдан ажратиб олиш ўсимлик организмдан ташқарида яшаши ва кўпайиши учун шароит тугдириб бериш лозим. Ажратиб олинган ҳужайра ва тўқималарни сунъий озика муҳитида, стерил шароитда (*in vitro*) ўстириш усули ажратилган тўқималар культураси деб ном олди ва уларни биотехнологияда ишлатиш мумкинлиги сабабли катта аҳамият касб этди.

Биотехнология узоқ - узоклардан маълум бўлсада, алоҳида амалий фан сифатида ўтган асрни иккинчи ярмидан бошлаб, инсоният энг аввало ўзи учун ўта зарур бўлган яъни озиқ-овқат, энергетика, захира (ресурс), атроф – муҳит муҳофазаси ва ҳ.к. муаммоларни тубдан янги асосда ечиши зарурлигини сезганидан кейин мужассамлана бошланди.

Биотехнологик жараёнлар сунъий озика муҳитида ўстирилган микроорганизмлар, ўсимлик ва ҳайвон тўқималари, ҳужайралари ва органеллаларидан фойдаланишга асосланади. Ҳозирги вақтда дунёни кўплаб мамлакатларида биотехнологияни ривожланишига алоҳида эътибор берилмоқда. Бунга асосий сабаб, биотехнологияни бошқа технологияларга нисбатан бир катор устунликка эгаллигидир. Масалан, биотехнологик жараёнлар жуда кам энергия талаб қиладилар, деярли чиқиндисиз, экологик тоза ва ҳ.к. Шунинг билан бир каторда, биотехнология стандарт жиҳозлардан ва препаратлардан фойдаланади ва иқлим шароитига қарамасдан ҳамда кўп майдон эгалламаган ҳолда жараёнларни йил бўйи ўтказишга асосланади. Айтиб ўтилган устунликлар, ўсимликларни ва ҳайвонларни ҳужайралари, тўқималари ва органларига ҳам тегишлидир.

Ажратиб олинган ҳужайралар ва тўқималарни биотехнологиядаги рольини уч йўналишда кўриш мумкин:

**Биринчи йўналиш** - ажратиб олинган ўсимлик ҳужайрасини тиббиёт, ветеринария, косметика ва бошқа соҳалар учун зарур бўлган иккиламчи метаболитлар : алколоидлар, стероидлар, глюкозидлар, гормонлар, эфир мойлари ва бошқа биологик фаол моддалар синтез қилиш имконияти билан боғлиқ. Маълумки, иккиламчи метаболитлар қаттиқ (агарли) ёки суюқ озика муҳитида ўстирилган каллус тўқималардан олинади. Ҳужайра технологияси асосида диосгенин – диоскоре ҳужайрасидан; аймоллин – илон рацвольфн ҳужайрасидан; умумий куч берувчи моддалар – женьшен

хужайрасидан ажратиб олинади ва тиббиёт ҳамда парфюмерияда ишлатилади. Шунинг эътиборга олиш керакки, ўстириладиган хужайраларни ҳосилдорлиги, бутун ўсимликни ҳосилдорлигидан анча баланд. Бундай усул билан иккиламчи метаболитлар ажратиб олишни яна бир устуллик томони шундаки, муайян шароитда ўсимликни ўзини ўстириш имконияти бўлмаган шароитда (совуқ ёки иссиқ иқлимли минтақаларда), уларни хужайраларини бутун йил мабойинида ўстириш мумкин.

**Иккинчи йўналиш** – ажратиб олинган хужайраларни, ўсимликлар селекциясида ишлатиш ва шу орқали тез ривожланувчи, ҳар хил таъсири муҳит таъсирига чидамли (иссиққа, совуққа, шўрланнига, оғир металлларга, қўрғоқчиликка, касалликка ва ҳ.к.) ўсимликлар яратиш. Шунинг билан бирга бу йўналиш, ажратилган протопластларни қўшилиши орқали янги ўсимликлар яратиш ҳамда ноженсий (сомотик) гибридлар олишни ҳам ўз ичига олади. Ажратиб олинган протопластларга ген муҳандислиги усуллари ёрдамида бегона генларни киритилиши, кейинчалик янги, мерос қоладиган хоссаларга эга бўлган ўсимлик яратишга ҳам олиб келади. Ажратиб олинган чангдон ва уруғ куртакни сунъий озиқа муҳитида ўстириш, гаплоидлар олиш имконини берса, муртақларни ўстириш – ўсаолмайдиган (эндоспермаси ёмон ривожланган) ўсимликлардан гибрид уруғлар етиштириш имконини беради.

**Учинчи йўналиш** – ажратиб олинган тўқималарни қўнайитириш ва экув материалларини вируслар ҳамда бошқа патогенлардан соғломлаштириш мақсадидо ишлатиш. Бу усул, ўсимликларни клонал микроқўнайитириш дейилади ва битта меристемаадан йилига юз минглаб ўсимлик олиш имконини беради.

Хужайра ва тўқималар культураларини ишлатишдаги натижалар биринчи навбатда хужайраларни бўлиниши, уларни табақаланиши ва улардан ўсимлик ўсиб чиқишини белгилловчи, физиологик жараёнларни оптимизациясига боғлиқ. Энг мураккаб томон бу алоҳида хужайрадан ўсимлик регенерация қилиш. Биринчи навбатда бу бошқоқли ўсимликларга тегишли. Шунинг учун ҳам *in vitro* шароитда морфогенез, регенерация ва уларни асосида ётган жараёнларни механизмларини аниқлаш энг муҳим аҳамиятга эгадир.

Ўсимликлардан ажратиб олинган тўқималарни ўстиришга ҳаракат анча узоклардан маълум. Бу усулнинг ривожланиш тарихини бир неча босқичларга бўлиб ўрганиш мумкин:

➤ **1-босқич (1892–1902 йиллар)** – **Хаберландт, Фехтинг, Рехтигер** каби немис олимларини номлари билан боғлиқ. Улар сахароза эритмасида ҳар хил ўсимликлар тўқималарини ўстиришга уриниб кўришган, аммо ўсимликларни ўсиши кузатилмаган. Фақатгина қоқи ўтиши ва тоғ дарахтини пояларини сегментлари учун бирламчи каллус олинган ва каллусогенезга айланиши мумкин бўлган сегментни энг кичик ўлчамли аниқланган. Экспериментал муваффақиятларга етаолмасдан бу олимлар қатор гоя ва гипотезалар яратганлар. Бу гоя ва гипотезалар анча кечроқ ўз тасдиғини топган. Масалан, **Хаберландт** ҳар қандай тирик ўсимлик хужайрасини

потенциаллиги яъни ҳужайраларни маълум шароитда ўстирилганда ўзини ривожланиши потенциаллиги намоён қилиниши ва бутун ўсимлик ҳосил бўлишига боиланиши ҳақида гипотеза эълон қилган эди.

- **II-босқич (1902-1922 йиллар)** – ҳайвон тўқималарини ўстириши учун биринчи озиқа муҳити яратилганлиги билан нишонланади. Бу озиқа муҳитлари табиий бўлиб, таркибида қон плазмаси (қонни суюқ қисми) ва кўртак суюқлиги сақлаган. Ажратиб олинган ўсимлик тўқималарини ўсимлик экстрактлари сақлаган сунъий озиқа муҳитида ўстириб кўриши мувоффақиятсиз чиққан, чунки экспериментларда юксак ўсимликларни ўсиши фаоллигини намоён қилишига тўғри келмайдиган ҳужайра ва тўқималаридан фойдаланилган.
- **III-босқич (1922 – 1932 йиллар).** Бу даврда бир-бирлари билан боғлиқ бўлмаган ҳолда Америкалик олим В.Робинс ва немис олими Коппе қаттиқ озиқа муҳитида помидор ва маккажўхори илдизи учидagi меристемааларни ўстириши мумкин эканлигини намоён қилганлар. Аммо, маълум вақт ўтгач, ўсимлик тўқималари кўнғир рангага кириб, халок бўлганлар. Ўсимликларни тўқималарини ўстириши усулининг ривожланиши – 1932 йилдан бошланган.
- **IV-босқич (1932–1940 йиллар),** француз олими Р.Готре номи билан боғлиқ. У, *in vitro* шароитида ўсимлик тўқималарини вақти- вақти билан тоза озиқа муҳитига кўчириб туриши орқали узоқ вақт ўстириши мумкинлигини намоён қилган. Бу янгилик, тўқималар технологиясини ривожланишига катта ҳисса қўнди ва ўстиришига қўйиладиган ўсимликлар сони жуда ҳам кўпайди.
- **V-босқич (1940–1960 йиллар).** 1955 йилда янги синфга мансуб фитогормон – цитокининларни ихтиро қилиниши, (хусусан кинетинини) ҳужайраларни бўлинишини кучайтириши имконини яратди. Ўсишни кучайтирувчи моддаларни миқдори ва уларни нисбатига қараб, эксплант ҳужайрасининг бўлинишини кучайтириши, каллус тўқималарни ўсишини муҳофаза қилиши, морфогенезни кучайтириши мумкин эканлиги намоён этилди. Шу даврда какос ёнғоғини, каштан, маккажўхори ва бошқа ўсимликлар эндоспермаларини ҳужайрани ўсиши, морфогенез жараёнлари (каллус тўқима ва ҳужайра суспензиясида) га ижобий таъсир кўрсатилиши аниқланган.
- VI-босқич (1960 – 1975 йиллар).** Бу даврни энг муҳим воқеаси Ноттинген университети профессори Э.К.Коккинг томонидан ферментатив йўл билан помидорини илдизи ва мевасидан протопластлар олиниши ва уларни назорат қилиниб турилган шароитда ўстирилганлиги бўлган. Кейинроқ шу лабораторияда Пауэр ўзини шогирдлари билан протопластларни сунъий қўшилиши шароитларини яратилган. Бу эса, соматик гибридлар яратишида янги йўл бўлиб хизмат қилган. Ушша даврда яратилган яна бир усул – бу ўсимликларни *in vitro* шароитида меристема культуралар ишлатиб микро кўпайтиришдир. Дастлаб бу усул француз олими Ж.Морел томонидан орхидей ўсимлигини соғлом кўчатини олиши мақсадида яратилган.
- **VII-босқич – (1975 йилдан ҳозирги вақтгача).** *In vitro* техникасини жадаллик билан ривожланиши, ўстириладиган манбаларни биологиясини

ўрганиш давом этмоқда. Ажратилган протопластларни электроковутириш усуллари ишлаб чиқилмоқда, мутагенез ва хужайра селекцияси усуллари, гаплоидли ўсимликлар яратиш усуллари, хужайраларни ажратилган протопластлар ва *Ti* ва *Ri Agrobacterium tumefaciens* ва *Agrobacterium rhizogenes* асосида тайёрланган *Ti* ва *Ri* плазмид векторларни ишлаб чиқариш усулида ўстириш усуллари мукаммаллаштирилмоқда. Ген муҳандислиги усуллари ёрдамида икки паллали ўсимликларни генларини кўчириб ўтказишни самарали усуллари ишлаб чиқилди.

Шундай қилиб, охириги йилларда ажратиб олинган ўсимлик хужайралари ва тўқималари билан ишлаш техникаси такомиллаштирилди. Аммо, бу ишларда асосий манба бўлиб, бир паллали ва икки паллали ўтлик ўсимликлар хизмат қилган. Дарахтларни ўрганиш бўйича олиб борилган ишлар унчалик кўп эмас.

#### 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. Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш босқичлари ва усуллари

##### Режа:

1. Хужайра тўқималарини *in vitro* усулида кўпайтириш
2. *In vitro* усулини ўсимликларни кўпайтиришдаги аҳамияти
3. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш усуллари ва босқичлари

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 ўсимлиكنи генотиби 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, тилогоч, ёнгоқдошлар ва бошқалар);

*Иккинчидан*, кўпчилик дарахтли ўсимликларни 10-15 ёшдан кейин, қазамча ёрдамида кўпайтириш мумкин эмас;

*Учинчидан*, ҳар доим ҳам стандарт экин материали олиш мумкин эмас (юкумли касалликлар тўпланиши ва ўтиши мумкин);

*тўртинчидан, пайванд қилиш орқали катта ёшли (ёғочли) ўсимликларни кўпайтириш 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 куйидагича изоҳланиши мумкин:

- *генетик бир хил экув материалнинг олинishi;*
- *меристемаа тўқималари культуралари ишлатилиши ҳисобиға ўсимликларни вирусли ва бошқа юқумли касалликлардан ҳоли бўлиши;*
- *кўпайиш коэффициентининг юқорилиғи (ўтчил ва гулли ўсимликлар учун  $10^4-10^5$ ; инабарғли ўсимликлар учун  $-10^4$ );*
- *селекция даврининг қисқариши;*
- *ўсимлик ривожланишиини ювенил даврдан репродуктив фазаға ўтишиини тезлашиши;*
- *анъанавий йўллар билан қийин кўпаядиган ўсимликларни кўпайтириши;*
- *ишви йил давомида ташкил этиш имкониятларининг мавжудлиғи ва кўчат материаллари ўстириш учун керак бўлган майдонни тежаши;*
- *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 атилган, *In vitro* шаронтида ўсимликларни апликал меристемааларини кўпайтириш техникаси ўз хиссасини кўшган. Одатда олимлар бирламчи плант сифатида ўтчил ўсимликларни устки меристемааларидан фидаланадилар, ва озиқа мухити таркибини ўсимликни регенерация ва пайдо этиш жараёнларига таъсирини ўрганайдилар. Худди шу мақсадда чиннингул, ризантема, кунгабоқар, нўхат, маккажўҳори, 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 қуббали, юмалоқ-прокоримлар пайдо бўлишини кузатган эди.

Ҳосил бўлган (етилган) протокормларни бўлиш ва уларни кейин алоҳида мустақил равишда, янги тайёрланган озиқа 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 олимпиада 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, шўрланнишга чидамли навларини яратиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Шунинг 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 култураси бўйича биринчи илмий ишлар 1920 йилларда чоп этилган бўлиб, француз олими Готре номи билан боғлиқ. Бу мақолаларда тилоғоч дарахти камбиал тўқималарини *in vitro* шароитида каллусогенезга имкониятлари (қобилиятлари) 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 тўқималаридан 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) саклайдилар, бу моддалар эса алоҳида ажратиб олинган тўқималардаги фенолаза ферментлари таъсирида оксидланадилар. Ўз навбатида фенолларни оксидланган маҳсулотлари одатда хужайрани ўсишини ва бўлинишини ингибирлайдилар, бу эса бирламчи эксплантларни нобуд бўлишига ёки ёғочли ўсимликлар тўқимасини регенерация имкониятларини пасайишига ва ёши улғайган сари секин-аста, бутунлай йўқолишига олиб келади. Аммо, қанчалик қийин бўлишига қарамасдан олимлар изланиш манбаи сифатида тез-тез ёғочли ўсимликларни тўқима ва органларидан фойдаланиб келмоқдалар. Ҳозирги вақтга келиб, *in vitro* шароитида кўпайтирилган ёғочли ўсимликлар сони 40 онлага 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 боскичлари.**  
Клонал микрокўпайтириш жараёнини тўрт боскичга бўлиш мумкин:

- биринчи* – донор ўсимликни танлаш, эксплантларни ажратилиш ва яхши ўсадиган стерил культура олиш;
- иккинчи* – микрокўпайтиришни ўзи, мериклонларни энг кўп (максимал) миқдорини олишга эришилган даврни ва шароитни танлаш;
- учинчи* – кўпайтирилган навдани илдиз олиши ва уларни тўпроқ шароитига мослаштириш, керак бўлганда регенерант – ўсимликларни совуқ ҳароратда ( $+2^{\circ}$ ,  $+10^{\circ}$ ) сақлаш;
- тўртинчи* – ўсимликни иссиқхона шароитида ўстириш ва уларни майдонга чиқариб экин ёки сотишга тайёрлаш (8-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 жараённи куйидаги йўллар билан амалга ошириш мумкин:

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

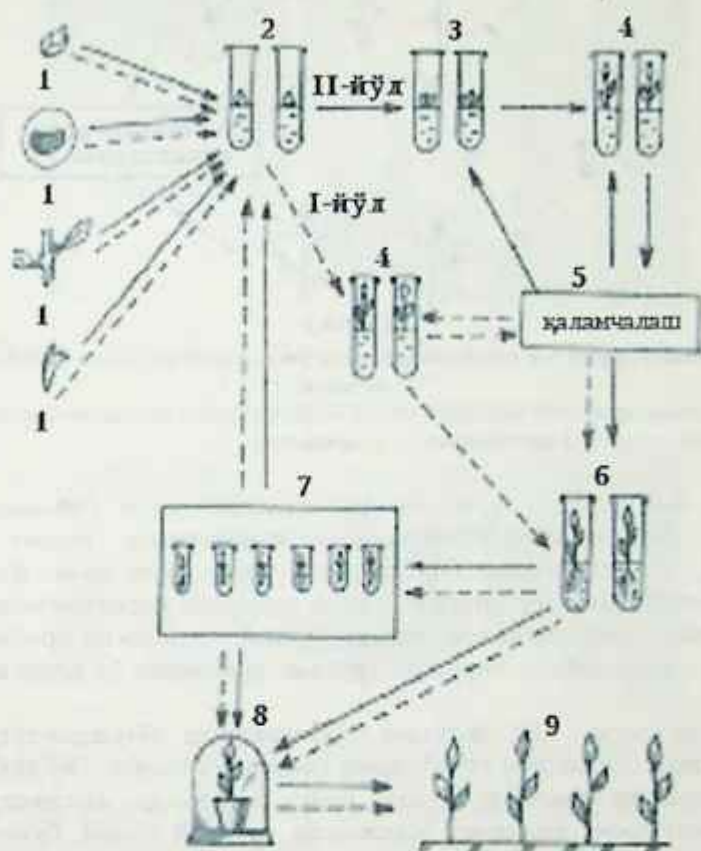
Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришда ишлатиладиган асосий усул – бу ўсимликларда бор бўлган меристемааларни ривожланишини фаоллаштириш бўлиб, у апикал устиворликни олиб ташлашга асосланган (9-расм). Бунга икки йўл билан эришиш мумкин:

- *пояни тепа меристемаасини олиб ташлаш ва кейин навдани in vitro шароитида гормон сақламаган муҳитида микроқаламчалаш;*
- *озик муҳитига цитокинин таъсирига эга бўлган моддалар қўйиш (навдани ўсишини кучайтириш).*

Одатда, цитокинин сифатида – 6-бензиламинопуриин (БАП), 6-фурфуриламинопуриин (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 кишлоқ хўжалик ўсимликларини вируссиз экув материалларини тайёрлашда кенг қўлланилади. Шу йўл билан канд лавлаг, тамаки, хмель,

топинамбур, помидори, картошка, бодринг, қалампи, ошқовок ва бошқа ўсимликларни соғломлаштирилган кўчатларини тайёрлаш йўлга қўйилган.

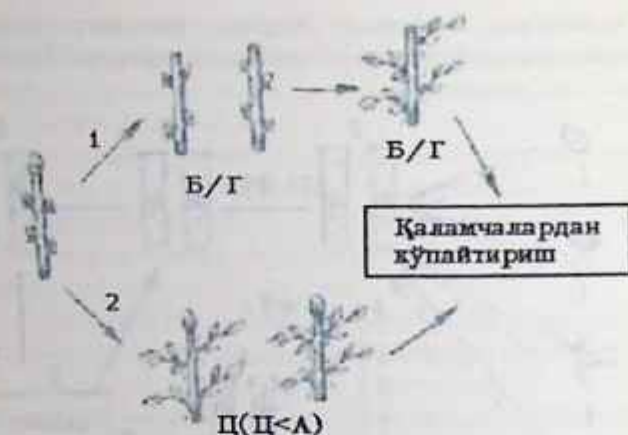


8-расм. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш

1-ўл – бор меристемааларни ривожланишини фаоллаштириш усули;

2-ўл – эксплантда адвентив куртаклар ҳосил бўлишини индукция қилиш.

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



9-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.

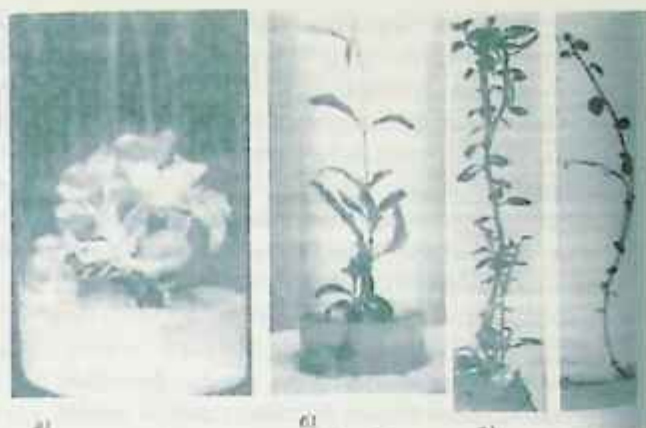
Баъзи бир кишлок хўжалик ўсимликлари учун (масалан, картошка ўсимлиги) клонал микрокўпайтириш технологияси саноат даражасига кўтарилган. Ўсимликларда бор бўлган меристемааларни фаоллаштириш усулини ишлатилиши бир йилда бир дона картошка меристемаасидан  $10^5$  дона ўсимлик етиштириш имконини беради,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

**Иккинчи усул** – Бу эксплант тўқималарида тўғридан-тўғри адвентив куртаклар пайдо бўлишини кучайтириш (индукция қилиш). Бу усул ўсимликни ажратиб олинган қисмини ҳулай озика муҳитида етишмаган қисмини (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 х.к) асоснда 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 озика 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, лолақизғалдоқ); Brassica авлодига мансуб ўсимликлар (рангли карам) шунингдек пиёз, саримсоқпиёз, помидор ва бошқа бир қатор ўсимликлар кўпайтирилган (11-расм).



10-расм. Ўсимликларни *in vitro* шароитида бор бўлган меристемааларни ўсишини фаоллаштириш усули.  
а – стахис; б – анор; в – картошка.



11-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 (12-расм.).



12-расм. Ер туттини клонал кўпайтириш  
а - микрокўпайтириш ўзи; б - адаптация бўлган ўсимлик.

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

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

Табийки, изланувчиларни адвентив куртакларни келиб чиқиши, хусусан меристемаани табақаланишида қайси бир хужайра қавати иштирок этиши кизиқтиради. Ҳозирча бу масалада бир хил фикр йўқ. Масалан, Тран Тан Ван ўзини тамаки тўқималари билан олиб борган ишларида энг фаол тўқима эпидерма эканлигини, ундан озика мухити таркибидаги гормон балансига қараб, куртак, калдус ёки илдиз чиқишлигини кўрсатиб берган.

Шунингдек, адвентив куртаклар меристемаатик хужайраларни юкори қатламидан пайдо бўлиши ҳам кўрсатиб ўтилган. Сосна дарахти мисолида адвентив куртакни уруғпалласини ва субэпидермал қаватларида пайдо бўлиши кузатиш ва бу жараён сосна учун ишлатиладиган цитокининларга боғлиқ эмаслиги кўрсатиб ўтилган (13-расм).



13-расм. Эксплантни эпидермал ва субэпидермал хужайра қаватида адвентив куртакларни ҳосил бўлиши

**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) ҳолатлагидан фарқи шундан иборатки, соматик куртаклар, куртак копчасидан ташкарида асексуал ривожланадилар ва ўзларини ташки кўринишлари бўйича бир вақтни ўзида поя ва илдизни апикал меристемааларини ривожланиши кузатиладиган икки полярли тузумани эслатадилар.

Стевардни тушунтиришча, 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* oilаларига мансуб бўлган, шунингдек, бошоқлиларни баъзи бирларини (бугдой, арпа) беда, редис, ток ва баъзи дарахтлар каби кўплаб ўсимликларни кўпайтириш учун ишлатилиб келинмоқда.

Тўқима культурасида эмбриондларни пайдо бўлиши икки босқичда амалга ошади:

- *Биринчи босқичда хужайра эксплантлари озиқа муҳити таркибига солинган акусинлар, энг аввало 2,4 – дихлорфеноксирка кислотаси (2,4 -Д) ҳисобидан эмбрионалга айланади*
- *Иккинчи босқичда ҳосил бўлган хужайраларни эмбрионларгача 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 микрокўпайтиришда фойдаланиш камроқ самара беради, чунки шу йўл билан тайёрланган эквивалент материаллари (кўчатлар) донор – ўсимликка нисбатан генетик турғун (мустаҳкам) бўлмайди. Кўпинча, каллусли хужайраларни суяк озиқа муҳитида ўстирилганда, соматик эмбриогенез келиб чиқади ва энг кийин операциялардан ҳисобланади. Бунга сабаб, ҳар доим ҳам хужайраларга ҳос бўлган тотипотентлик амалга ошавермайди.

#### 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. Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратиладиган хужайра ва тўқималар культураси

### Режа:

1. Озика муҳитини тақлашининг асосий принциплари
2. Тўқималарни ўстиришда стерилизация

Ажратиб олинган тўқималар билан ишлашни асосий шарти – стерилликта қатъий риоя қилишдир. Таркиби бўй бўлган озика муҳити микроорганизмларни ривожланиши учун ҳам жуда яхши субстрат ҳисобланади, ўсимликлардан ажратиб олинган фрагментлар (эксплантлар) озика муҳити билан аралаштирилганда микроорганизмлар таъсирига тез учрайди. Шунинг учун ҳам эксплантни ҳам, озика муҳитини ҳам стерилизация қилиш керак.

Ажратилган хужайралар ва тўқималар билан қилинадиган барча нозик ишлар (манипуляция) асептик шароитда (ламинар-боксларда) стерилланган ускуналар ёрдамида бажарилади. Ажратилган тўқималарни ўстириш даврида ҳам стерилликни сақлаш керак, айниқса ҳарорат ва намлик ўзгарганда, чунки пробиркаларни пахта-бинтдан тайёрланган тикинчалари намланади ва ундан микроорганизмлар осон ўтишади.

Эксплантни стерилизацияси, шунингдек, уруғлар ҳам 5-20 минут давомида стерилизация қилувчи эритмада ушлаб туриш, кейин эса стерил сув билан ювиб ташлаш орқали амалга оширилади. Стерилизация даври эксплантни характерида ҳамда эритмани стерилизация қилиш хусусиятига боғлиқ. Одатда уруғ 10-20 мин, вегетатив қисмлар эса 5-10 мин. давомида стерилизация қилинади. Стерилизация қилувчи эритмаларга мисоллар 1-жадвалда кўрсатилган.

1-жадвал

Дастлабки ўсимлик материалларини стерилизация қилиш  
(Р.Г.Бутенка, 1990 йил)

| Объект                                 | Стериллаш вақти    |                    |                                   |                                    |
|----------------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
|                                        | 0,1 % ли<br>дианид | 0,1 % ли<br>сулема | 5-7 % ли<br>(Na,Ca) гипохлоридлар | 10-12 % ли<br>водород<br>пероксиди |
| Қуруқ уруғ                             | 15-20              | 10-15              | 15-20                             | 12-15                              |
| Ивтилган уруғ                          | 6-10               | 6-8                | 10-15                             | 6-8                                |
| Илдиз, тугунаклари-<br>нинг тўқималари | 20-30              | 15-25              | 15-20                             | -                                  |
| Егочланган поялар                      | 20-40              | 20-25              | 20-25                             | -                                  |
| Ҳарглар                                | 1-3                | 1-3                | 3-6                               | 3-5                                |
| Пекслар                                | 1-10               | 1-7                | 3-15                              | 2-7                                |

Эксплант олинмокчи бўлган ўсимлик органи, дастлаб совунли сув билан ткалар ёрдамида яхшилаб ювилади ва дистилланган сув билан чайиб ишланади, кейин эса бир неча секунд давомида 70 % ли этанолга ботириб олинади. Уруғлар спиртда 1-2 мин. ушлаб турилади. Тўқималарга спирт билан

ишлов бериш, уни стерилизация қилиш хоссасидан ташқари, асосий стерилизация қилувчи эритмани таъсирини кучайтириши билан ҳам боғлиқ.

Стерилизациядан кейин ўсимлик объектлари стерилланган сув билан тозалаб ювиб ташланиши керак. Сиртки стерилизация эксплантини фақат ташки инфекциядан озод қилади. Агар эксплант тўқималари ички инфекцияга эга бўлсалар, уларга антибиотиклар билан ишлов беришга тўғри келади. Айниқса, ички инфекцияга йирик томирли тропик ва субтропик ўсимликлар бой бўлишади. Культураларни замбуруғлар ёки бактериялар билан ифлосланиши экилгандан 1-14 кун ўтганда кўзга ташланади. Еруғлик хонасидаги хавони ифлосланишдан сақлаш учун ифлосланган культурани дарҳол йўқотиш керак.

Озиқа мухитларини автоклавда  $120^{\circ}\text{C}$  да  $0.75 - 1.0$  атм. босимда 20 минут давомидида стерилизация қилинади. Агар озиқа мухити таркибига юқори хароратда парчаланадиган моддалар кирса, уларни алоҳида совуқ стерилизация қилинди. Уларни тешиқлар диаметри  $0.22-0.45$  мкм бўлган бактериал филтрлардан ўтказилади ва автоклавдан чиққан озиқа мухитини  $40^{\circ}\text{C}$  гача совутиб, кейин уларни аралаштирилади. Олдиндан фольгага (альюмин қоғон) ёки ўрайдиган қоғозга ўралган идишларни куруқ иссиқ билан қуритгич шкафларида  $160^{\circ}\text{C}$  да икки соат давомидида стерилизация қилинади.

**Озиқа мухити.** Ажратиб олинган хужайралар ва тўқималарни ўстириш учун мўлжалланган озиқа мухитлари, ўсимликларни яхши ўсиши учун керак бўлган барча макроэлементлар (азот, фосфор, калий, кальций, магний, олтингутурт ва бошқалар) ва микроэлементлар (бор, марганец, рух, мис, молибден ва бошқалар) ҳамда витаминлар, углеводлар, фитогормонлар ёки уларни синтетик аналогларини сақлаши керак. Баъзи озиқа мухитлари аминокислоталар, казеин гидролизати, ЭДТА (этилендиаминтетрасирка кислота) ёки уни натрийли тузи (бу туз темирни хужайрага киришига ёрдам беради) ва бошқа керакли моддалар сақлайди.

Каллус тўқима олиш учун, алоҳида ҳолларда озиқа мухитига какос ёнғоғини (какос сути), каштан дарахтини эндоспермаси қўшилади. Карбон сувлар озиқа учун энг керакли компонентлар ҳисобланади. Бунга сабаб, кўп ҳолларда ажратиб олинган хужайра ва тўқималарни автотроф озикланишга қурблари етмайди. Карбон сув сифатида кўпроқ 2-3 % ли сахароза ёки глюкоза эритмасидан фойдаланилади.

Фитогормонлар хужайраларни табақасизланиши (дедифференцировка) ва хужайра бўлинишини кучайтириш (индукция) учун керак. Шу сабабли ҳам каллусли тўқималар олиш учун мўлжалланган озиқа мухити таркибида албатта ауксинлар (хужайра бўлинишини кучайтирувчи) бўлиши шарт. Поя морфогенезини индукция қилганда мухит таркибидаги ауксинлар миқдорини камайтириш ёки бутунлай олиб ташлаш мумкин.

Гормон сақламайдиган озиқа мухитида шиш ва «ўрганган» тўқималар ўсади. Ҳар икки гуруҳ гормонларига ёки улардан бирортасига автономлик, бу хужайраларни ўзларини гормон синтез қилиш хусусияти билан боғлиқ.

Ауксин манбаи сифатида озиқа мухитига 2,4-дихлорфенокси сирка кислота (2,4-Д), индолил-3-сирка кислота (ИУК), L-нафтил сирка кислота (НУК)

қўшилади. Яхши ўсувчи каллус олиш учун кўпроқ 2,4-Д дан фойдаланилади, чунки ИУК, 2,4-Д га нисбатан 30 маротаба кучсиздир.

Сунъий озика мухитига қўшиш учун, цитокинин манбаи сифатида, кинетин, 6-бензиламинопурин (6-БАП) ва зеатин ишлатилади. 6-БАП ва зеатин ажратилган тўқималарни ўсишига органогенезни индукциясига кинетинга нисбатан фаолроқ таъсир кўрсатади. Баъзи бир озика мухитлар таркибига аденин ҳам қўшилади.

Ҳозирги пайтда жуда кўп сонли озика мухитларнинг таркиби аниқ бўлсада, ажратиб олинган ўсимлик тўқималарини *in vitro* шаронтида ўстириш учун Т.Мурасига ва Ф.Скуга мухитлари ишлатилади. Бу мухитни таркиби биринчи маротаба 1962 йилда эълон қилинган ва у жуда яхши балансланган озика моддалари таркибига эга ва бошқалардан аммонийли ва нитратли азотни нисбати билан фарк қилади (2-жадвал).

Қаттиқ озика мухит тайёрлаш учун агар-аграр ишлатилади. Агар-агар денгиз сув ўтларидан олинадиган полисахариддир. Вактдан унумли фойдаланиш мақсадида, макро- ва микроэлементлар эритмалари ҳамда витаминлар ва фитогормонлар қуюқроқ қилиб тайёрланади ва совуқ шаронтида сақланади ҳамда керак бўлганда суюлтирилиб ишлатилади.

**Ўстириш шаронти.** Ўсимликлардан ажратиб олинган хужайралар ва тўқималарни яхши ўстириш учун ўстиришнинг маълум шартларига риоя қилиш керак. Кўпчилик каллус тўқималари ёруғликка эҳтиёжи йўқ, чунки уларни хлоропластлари бўлмасдан, гетеротроф озиқланадилар. Баъзи – бир яшил рангдаги каллус тўқималар бундан мустасно. Баъзи бир ҳолатларда каллус тўқималар автотроф озиқланишига қобилиятли эмас, буларни доимий ёруғлик шаронтида ўстирилади, бу эса муваффақиятли морфогенез учун мажбурий шаронтидир кўпроқ каллус тўқималар қоронғиликда сақланади.

Морфогенезга аниқланган тўқималар ёруғликка ўтказилиб, кейин 1000-4000 лк ёруғликда ўстирилади. Ажратиб олинган меристемалар ва уларни микрокўпайтириш ҳам ёруғликда ўтади. Ёруғ уйчани ёруғлиги 1000-10000 лк бўлиши керак ва ёруғликни кучи ўсимликни хусусиятларига боғлиқ. тириладиган объектни фото даврини ҳам ҳисобга олиш керак.

Ўстириладиган хонада намлик 60-70% бўлиши керак. Ундан қуруқроқ ҳаво а мухитини қуритиб юборади, агар пробирка пахтали тикин билан итилган бўлса, озика моддаларини концентрацияси ўзгариб, ўстириш зоти бузилади.

Кўпчилик тўқималарни ўстириш учун мўътадил ҳарорат 25-26°C. Агар опик ўсимликларни тўқималари бўлса 29-30°C да ўстирилади. Морфогенез индукция қилинганда ҳарорат 18-20°C гача туширилади. Одатда климатик камералардан фойдаланилади.

Ўсимликларни ажратиб олинган тўқималарини ўстириш учун ишлатиладиган озиқа мухитларини таркиби

| Озиқа мухит компонентлари                           | Концентрацияси мг/л |          |                    |               |
|-----------------------------------------------------|---------------------|----------|--------------------|---------------|
|                                                     | Мурасига-суга       | Гамборга | Шенка-хильдебрандт | Грессхофф-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           |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                            | 170                 | --       | --                 | --            |
| $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$                            | 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 кислотаси                                   | 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        |

#### 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. Ўсимликларни хужайраси селекцияси

##### Режа:

1. Мева сабзавот экиллари селекцияси ва уруғчилигида хужайра селекциясининг қўлланилишининг ахамияти
2. Постгам чатишмасликни енгиш
3. Узок дурагайлари клонли микроқўпайтириш

#### 4. Ўсимликларни криосаклаш

#### 5. Хужайралар муҳандислиги усуллари ёрдамида абиотик ва биотик стресс омилларга чидамли регенерант ўсимликлар олиш

Хужайралар технологияси йўналишларидан бири – бу улардан селекцияда фойдаланиш орқали, ўсимликларни янги шакллари ва навларини яратишдаги анъанавий селекция жараёнларини тезлаштириш. Ажратилган хужайра ва тўқималарни *in vitro* культуралаш усуллари 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 культуралаш (постгам чатишмасликни енгиш), чангдон ва микроспораларни ўстириб гаплоидлар олиш, алоҳида ажратилган хужайра, тўқима ва органларни криосаклаш, узок турлар дурагайлари клонли микрокўпайтириш усуллари киритиш мумкин.

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

Ўсимликлар селекциясида *in vitro* усулларида ёрдамчи усул сифатида қўлланилиши. Узок формаларни чатиштиришда ажратилган тўқималар культурасини: *in vitro* уруғлантириш, эмбриокультура (алоҳида ажратилган муртакларни сунъий озика муҳитларда ўстириш), қимматли дурагайлари *in vitro* гаплоидларини олиш, клонли микрокўпайтириш ва криосаклаш каби усулларида фойдаланилади.

Агар табиий шароитда танланган жуфтликлар орасида уруғланиш қонияти бўлмаса *in vitro* уруғлантириш амалга оширилади. Бу бир неча абларга боғлиқ бўлиши мумкин: 1) физиологик (чанг етилиш вақтининг келмаслиги ва бошқалар); 2) морфологик (чангдон найчасининг қалиғи ёки ривожланишининг турли давларида унинг ўсишини татиши ва бошқалар). Буни икки хил йўл билан амалга ошириш мкин: а) тугунча устига етилган чанг дончалари қўйилиб, сунъий тарли озика муҳитларда ўстирилади; б) тугунча ёрилади ва уруғ куртак билан планцента бўлаги озика муҳитига ўтказилади, унинг атрофида ёки бевосита муртак тўқимасида 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 тамакиннинг ўзаро чатишмайдиган *N. tabacum* тури навлари билан *N. rosulata* 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 қодир эмас. Бундай ҳолларда етилган пуч уруғлардан муртаклар алоҳида ажратиб олинади ва сунъий озика муҳитларда ўстирилади.

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

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

Эмбриокультура усули сабзавот экинларини ўзаро чатиштиришда тобора кенг қўлланилмоқда. Эмбриогенезни турли босқичларидаги пнэзнинг 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. Кунгабоқарнинг турлараро дурагайларни олишда эмбриокультура усулини қўллаш имкониятлари яратилмоқда, чанланганидан 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 хўжалик аҳамияти қимматли дурагайларни кўпайтиришда ҳам қўлланилади. Бу ҳолда микрокўпайтириш каллусогенез, морфогенез индукцияси ва каллус тўқимасидан регенерант ўсимлик олиш йўли билан боради. Етилмаган муртакларни клонлаш техникаси қимматли генотипга

эга бўлган ўсимликларни ҳаёт жараёнининг бошланғич давларида кўпайтириш имконини беради. Муртак культурасини қўллашнинг яна бир имконияти улардан хужайралар селекциясида фойдаланишидир.

**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 ўсимлиkning чоррахали чангланиши сабабли, нодир генотипли авлодларни яратиш қийин. Шунинг учун тадқиқотчи олимлар олдида, олинган ўсимликларни сақлаш 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 қисқартиради. 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 колхицин ёрдамида икки хисса кўпайтириш ва диплоид гомозигот ўсимликлар олиш мумкин. Сунъий йўл билан in vitro усулларида 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 озик муҳитларда ўстириб гаплоид ўсимликлар олиш.

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

*партеногенез* – узоқ формадаги дурагайлар чатиштирилганда ик хромосомалари йўқолиб кетган дурагай муртакдан гаплоидликлар олиш.

чангдонларни культуралаш технологияси асосида, бугдой, ажўхори, арпа, картошкани гаплоид ўсимликларни олинган. Чангдонлар культурасида гаплоид ўсимликлар пайдо қилишнинг икки йўли мавжуд: биринчи – йўли чанг дончаларидан эмбриогенез йўли билан ўсимлик

хосил қилиш. Бунда чангдонлар ичида алоҳида чанг доначаларидан эмбрионлар пайдо бўлади. Улар ўсиб гаплоид ўсимликлар хосил 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 пloidлиги билан фарқ қилади. Ҳозиргача уларнинг полиплоидланган гаплоид хужайралардан ёки хужайралар қўшилишидан хосил бўлиши охиригача аниқланмаган.

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

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

**Ўсимликларни криосаклаш.** Ўсимликларнинг соматик хужайраларини суяк азотда ( $196^{\circ}\text{C}$  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 қурғокчиликка чидамсизлари билан ҳам, ҳар хил турларга мансуб бўлган ўсимликларнинг трансформацияланган, мутант, дурагай, in vitro морфогенезга кодир хужайралари; зиготик ва соматик муртаклар 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 сувнинг миқдори кам хужайралар танлаб олинади. Ўсимлик хужайраларини музлатиш сўнгра эритиш усуллари ҳар бир ҳолат учун алоҳида ишлаб чиқилади. Криосаклашда бир катор қийинчиликлар юзага келиши мумкин, улардан бири, музлатилаётган хужайра ва тўқималарни осмотик стресслардан ва хужайралар ичида муз кристаллари хосил бўлиши натижасида структурасининг механик парчаланишидан химоя 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 режимини  $0 - 40^{\circ}\text{C}$  (камдан-кам ҳолларда –  $70^{\circ}\text{C}$  гача) оралиғида сақлаш, шунингдек объектлар эритилганда махсус эҳтиёткорликни кўриш каби умумий қондалар 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 таъминли асосида олиб борилади. Барча маълум криопротекторлар орасида хужайраларга осон кирувчилари диметилсульфоксид (ДМСО, 5-10%) глицерин (10-20%), шунингдек хужайраларга кира олмайдиган юқори молекуляр моддалар поливинилпирролидон (ПВП), декстран, полиэтилгликоль (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  $0-1^{\circ}\text{C}$  килиб белгиланган ва барча ишлар музлатиш дастури асосида махсус қурилмаларда олиб борилади.

Шундай қилиб, секин-аста музлатиш ва криопротекторларни қўллаш хужайраларни эркин сувдан холи 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 суяқ азотга солинади.

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

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

Криосакланган хужайралар суяқ азотда сақланганда ўзининг бўлинишга, ўсимлик регенерациялашга бўлган қобилятини йўқотмайди, иккиламчи метаболитлар синтез қилишдаги махсулдорлиги 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.

**Ўсимлик хужайралари селекцияси.** Ўсимликлар хужайра, тўқима ва органларини *in vitro* культуралаш усули хужайралар биологияси, ўсимликлар физиологияси ва генетикаси муаммоларини ҳал қилишга килиб келмоқда, шу билан бирга, ҳозирги кунда янги ологияларни яратилишида кенг қўлланилмоқда. Ўсимликларнинг тўқима ва органларини культуралаш бўйича биринчи натижалар

олингандан бошлабок таджикотчиларни сунъий озика мухитларида ўсаятган ажратилган хужайраларда кандай ўзгаришлар юзага келиши ва унинг сабаблари кизиктириб келган. Каллус тўкималаридан регенерант ўсимликлар олиш техникаси ишлаб чикилгандан сўнг, бошланғич ўсимликдан фенотипик ва генотипик хусусиятлари билан фарк қилувчи ўсимликларни янги шакллари яратиш имконияти пайдо бўлди. Хужайра тизимлари ва регенерант-ўсимликлар орасидаги бундай хилма-хиллик «сомаклон» деб аталади.

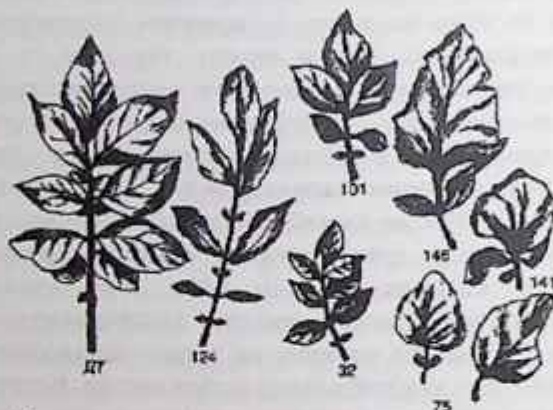
Сомаклонал ўзгаришларни генетик табиати ва пайдо бўлиш механизми хозиргача кам ўрганилган. Аммо сомаклон вариантларни пайдо бўлиши, бошланғич эксплантлар соматик хужайраларининг генетик гетерогенлиги, культуралашнинг *in vitro* шароити томонидан индуцирланувчи генетик ва эпигенетик ўзгарувчанлик, озика мухит таркиби ва тузлар, регулятор моддаларнинг миқдорига ва бошланғич эксплантнинг генотипига боғлиқ.

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

Цитологик таджикотлар *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 dalolat 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 чиқмайди. (14- расм).



14. 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 бошоқчиларда сомаклонлар орасидаги ўзгарувчанлик даражаси анча фарк қилади: бугдойда ( $2n=6x=42$ ) 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 хосил бўлишини бошқа ўсимликларда масалан, картошкада ҳам кузатиш мумкин. Янги вариантлар хосил бўлиш эҳтимоли картошканинг маданийлаштирилган дигиплоид тизимларига нисбатан ёввойи турларида анча паст.

Бошланғич эксплант типлари ҳам миқдор ва сифат белгилари билан фаркланувчи сомаклон вариантларнинг пайдо бўлишига таъсир кўрсатади. Масалан, картошканинг бирламчи эксплант сифатида барг мезофил ималаридан фойдаланилганда, 12% ҳолатларда аномал ўсимликлар пайдо бўлади, гул тож барглари ёки тўпгуллар ўқидан фенотипик ўзгаришларга учраган ўсимликларнинг шаклланиши нормага нисбатан янада яна ташкил этади.

Културалаш шароити ва кўпинча озиқа муҳитдаги гормон балансининг бузилиши култураланаётган хужайраларни генетик хилма-хиллигини юзага келиши сўнг хужайра циклининг айниқса митоз жараёни бузилишининг асосий сабабчисидир. Хужайралар популяцияларини цитогенетик структураси кўпинча озиқа муҳитлар таркибидаги фитогормонлар нисбатига кўп жиҳатдан боғлиқ бўлади. Аммо хужайралар популяциясини морфологик ва цитогенетик турли сифатлилиги озиқа 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 қишлоқ 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, айниқса *Pij1* касаллигига чидамлилиги билан характерланади.

Ҳозирги вақтда тўқималар култураси усулидан нафақат озиқавий 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 кенгроқ фойдаланиш ва мавжуд тизим ва навларни яхшилаш, етишмайдиган хусусиятларни киритишда сомаклонал ўзгарувчанликни қўллаш зарурлигини таъкид этади.

**Хужайра даражасидаги ўсимликлар селекцияси.** Хужайралар селекциясини соматклонлар олиш билан биргаликда қўллаш муҳим аҳамиятга эга. *In vitro* культураси 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 қуйидаги 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 синондан ўтказилади;

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

Хужайралар селекциясининг юқорида баён этилган усулларидан 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 культуралари 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. Қонда бўйича, тадқиқотлар бирламчи ёки кўчириб ўтказилган, субкультуралаш давомида ўзининг регенерацияланиш қобилиятини йўқотмайдиган каллус тўқималарида олиб борилади. Аммо, каллус тўқимаси билан иш олиб борган тадқиқотчилар, бу объект тўқималарининг ўсиш тезлигини пастлиги, селектив омил сифатида қўлланиладиган захарли моддаларнинг барча хужайраларга бир хил таъсир этмаслиги, шунингдек каллус тўқималарининг қайта культуралаш жараёнида регенерацияланиш қобилиятини йўқотиши каби камчиликлар мавжудлиги таъкидлаб ўтилган. Шубҳасиз, селекцияни яқка хужайралар даражасида (суспензия культураси, протопластлар) ўтказиш мақсадга мувофиқдир. Лекин кўпчилик ўсимлик турлари учун яқка хужайраларни культуралашнинг самарали технологиялари ва усуллари оли яратилмаган. Шунинг учун, каллус тўқималари юқорида келтирилган мчиликларга эга бўлсада, баъзи ўсимлик турлари учун селекциянинг бу ули Ҳозирча ягона бўлиб қолмоқда.

Чидамли, барқарор тизимларни олиш узоқ жараёндр. Қоидага асосан, селекция ажратилган ўсимлик эксплантларидан етарли миқдорда каллус массаси олишдан бошланади, сўнг селектив омиллар миқдорини аниклаш учун фойдаланилади, бунда бир вақтнинг ўзиде 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 озика муҳитда олинган бирламчи хужайралар колонияси физиологик мослашишлари натижасида ёки хужайраларни маълум ҳолатдаги дифференцияланишидан генетик барқарор бўлмаслиги мумкин, у ҳолда селектив културада 4-6 марта субкултуралаш орқали олинган клонларни барқарорлиги ва бардошлилиги текширилади. Сўнг бу клонлар селектив омиллар қўшилмаган озика 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 селекцион материаллар олиш мақсадида каллусни културалаш кўпгина ўсимликлар бугдой, арпа, шоли, маккажўҳори, 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. Озика 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 халқасимон 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 (каллусли 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 ва 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 усуллариغا нисбатан, хужайра даражасидаги селекцияни амалга ошириш орқали ўсимликларни янги шакллари 2-4 марта тезроқ яратиш мумкин.

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

In vitro курғоқчилик стресс самарасини яратиш учун, ташки сув потенциалини камайтирувчи осмотик фаол моддалар қўшилган озиқа муҳитлардан, курғоқчиликка 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 курғоқчиликка чидамлилик селекцияси помидор хужайра тизимларида амалга оширилган, улар каллус тўқималарини 15 % ли ПЭГ 6000 тутувчи озиқа муҳитларида ўстириб, сув танқислиги стресси пайдо қилинган, тажрибалар натижасида чидамли каллус тизимлари ажратиб олинган, лекин каллус тўқималари осмотик моддалар солинмаган озиқа муҳитларда культураланганда чидамлилик белгилари йўқолиб борган, бу адаптациянинг физиологик табиатдан эканлигидан далолат беради. Курғоқчиликка 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 озиқа муҳитлардан ҳам фойдаланиш мумкин. Юқоридаги ҳолатлардаги каби осмотик адаптация бўлган хужайралар шўрланиш стрессига ҳам бардошли эканлиги икланган.

**Шўрланиш.** Қишлоқ хўжалиги экинларининг ҳосилдорлигини гараловчи омиллардан яна биттаси, бу тупроқнинг шўрланишдир. Зайёрамизнинг 900 млн.гага яқин майдони юқори даражада шўрланган ва шўрланиш миқдори йилдан-йилга ортиб бормоқда. Айниқса, сунъий

суғориладиган майдонларда тупроқдаги тузнинг миқдорини ортиши барчани ташвишига солмоқда. Бу муаммони ҳал этиш, суғоришнинг тўғри усулларини топиш, суғориш учун тузнинг миқдори камайтирилган ёки умуман тузлардан холи сувлардан фойдаланиш каби рационал агротехник усуллارни ишлаб чиқишни такозо этади. Шу билан бирга, ўсимликлар биотехнологияси усулларидан фойдаланиб, кишлок хўжалиги учун муҳим бўлган ўсимликларнинг соматик хужайралари даражасида селекция қилиб, протопластларни бир-бирига қўшиб ёки рекомбинант ДНК молекулалари техникасидан фойдаланиб, генларни кўчириб 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 тўхтайтиди, ионларнинг селектив транспорти бузилиши натижасида алоҳида ионларни танқислиги юзага келади, толерантликни ушлаб туриши учун кўп миқдорда энергия сарфланади. Ўсимликларнинг ташқи муҳитда тузлар миқдорини ортишига жавоб реакцияси 15 расмда берилган.



15-расм Ўсимлиқнинг шўрланишга жавоб реакциясининг асосий типлари

Кўпчилик олимлар томонидан олинган тадқиқот натижаларининг кўрсатишича, *in vitro* культураланаётган 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 муҳитларда культураланаётган *in vitro* хужайралар тизимини ажратишга йўналтирилган. Тамакининг гаплоид каллус хужайраларидан, уларни мунтазам равишда туз миқдори ошириб борилган озика муҳитда ўстириш орқали, 1% NaCl иштирокида ўса оладиган хужайралар тизими олинган. М.Набор ҳаммуаллифлар билан биргаликда тамаки суспензион культурасига 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 бугдойнинг шўрланишига 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 муҳитларида культураланаётган каллус тўқимарини 5-6 марта қайта экиш орқали ўтказилган. Тадқиқотлар натижасида шўрхокликка бардошли тизимлар ва регенерант ўсимликлар олинган. Бу регенерат ўсимликлар уруғидан олинган биринчи авлоди секинлаштирилган флуоресценцияли қайд қилиш усули орқали синалганда, баъзи регенерант ўсимликлар фотосинтез аппаратининг шўрга чидамлилиги бўйича бошланғич навга нисбатан юқори туриши аниқланган (Никифорова Д 1993, 1994). Натрий хлориднинг турли концентрацияларига чидамли хужайралар тизимини ажратиш бўйича бошқа мисоллар 3-жадвалда келтирилган.

3-жадвал

Хужайралар культураси орқали олинган шўрга чидамли хужайра тизимлари ва ўсимликлар

| Селекция учун бошланғич материал (плондлиги) | NaCl миқдори | Хужайралар селекцияси натижалари |
|----------------------------------------------|--------------|----------------------------------|
| 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 орқали ҳам ошириш мумкин. Масалан, полиэтиленгликол ёрдамида индуцирланган сув стрессига мослашган эмидор хужайраларининг NaCl ни оширилган миқдорига ҳам рдошлилиги аниқланган. Шўрланишнинг юқори миқдорига толерантлик сусиятини, осмотик модда сифатида 99.870 mM манитол тутувчи озика

муҳитда 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 металларнинг тупроқда кўп миқдорда учраши ёки ўсимлик томонидан озика модда сифатида ўзлаштирилувчи ионларнинг танқислиги ўсимликлардаги ионлар (минераллар) стресси сабаби бўлиши ҳам мумкин. Тупроқдаги оғир металлар ионларининг нафақат ўсимликларга шунингдек, ҳайвонларга таъсири олимларнинг диққатини тортмоқда. Рух, кадмий, мис, симоб каби тупроқда кўп учрайдиган оғир металлар ўсимликларда стресс ҳолатини пайдо қилади. Ўсимликларнинг захарли ионларга чидамлилиқ механизми, плазмолемма ўтказувчанлигининг камайиши, ионларнинг органик моддалар билан боғланиши натижасидаги захарсизланиши (детоксикация), вакуолалардаги 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 миқдори қўлланилади. Аммо, *in vitro* шароитида табиатдаги каби стресс селектив шароитни яратиш анча қийин. Табиий шароитда ионларнинг захарли таъсиридан ташқари яна бир қанча бошқа омиллар: тупроқда бошқа захарли моддаларнинг иштирок этиши, тупроқдаги кислотали муҳитнинг ҳам таъсири бўлади. Хужайра даражасидаги селекцияни амалга ошириш учун, табиий стресс шаронтига ҳос 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. Зигирнинг кадмий нитрат тузларига чидамли хужайралар тизими, регенерант ўсимлиги олинган ва бу тузнинг ўсимликка таъсири ўрганилган. Тажрибалардан аниқланишича, тупроқдаги 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 килинган 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 хароратда юзага келади. Бундай стрессга тропик ва субтропик зонадаги ўсимликлари кўпроқ учрайди. Ўсимликларни совук хароратга бардошлилиги мембрана липидларининг юкори нисбатда тўйинмаган ёғ кислоталар ёки стеролларнинг юкори миқдорда тутиши сабабли суяқ ҳолатда қолиши билан боғлиқ. Ўсимликларнинг музлаши (0°С дан паст хароратда) хужайралар аро музлар пайдо бўлиши билан боғлиқ. Салбий таъсир этадиган харорат 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 чидамлилирида эса қанд моддалари тўпланади.

Култураланаётган ўсимлик хужайраларидан паст хароратга 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 хароратда ушлаб турилди. Танлаб олинган клонлар орасида совук хароратга чидамли клонлар топилди.

Бу соҳада олиб борилган изланишлар натижасига асосланиб, ўсимликлар *in vitro* селекцияси усулини совукка чидамлиликини амалга оширишда қўллаш ҳақида гапиришга ҳали эрта. Лекин *in vitro* индукциялаш орқали генетик хилма-хилликини топишда қўллаш йўли билан чидамлироқ вариантларни танлаш мумкин.

**Ўсимликларнинг касалликларга чидамлилигини амалга ошириш.** Озиқ - овқат маҳсулотларини ишлаб чиқаришни ошириш учун ўсимликларни касалликлар ва зараркунандалардан химоя қилиш иқтисодий аҳамият касб этади. Ҳозирги кунда хужайралар селекциясидан чидамлиликини оширишда фойдаланишнинг реал истиқболлари кўриб чиқилмоқда. Агар дала шаронтида 1 йилда картошканинг 50 дан 100 минггача уруғини касалликларга чидамлилигини баҳолаш мумкин бўлса, *in vitro* шаронтида 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 антимикроб моддаларнинг синтезланиши собланади. Ўсимликларни химоя реакцияси Масалан, фитоалексинлар сулоти, патогенез билан боғлиқ бўлган оксилларнинг ҳосил бўлиши, ификация, «элисаторлар» деб аталувчи қатор биотик ва абиотик тга эга моддалар томонидан индуцирланиши мумкин. Абиотик торлар симоб ионлари, палиакрил ва салицил кислоталар бўлиши ин. Биотик элисаторларга эса замбуруғларнинг хужайра девори

компонентлари, культурал филтрларда иштирок этувчи моддаларни киритиш мумкин.

Касалликларга чидамлиликини *in vitro* селекцияси учун энг содда ёндашиш бу хужайраларни бевосита патоген иштирок этаётган озиқа мухитларда культуралашдир. 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 қийинчиликларни тугдиради. 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, озиқа моддаларнинг иштирок этиши, ёки танкислиги ва споранинг ўсиши учун зарур бўлган бошқа нарсаларни ҳисобга олиш керак.

Ўсимликини патогенлар иштирок этувчи озиқа мухитларда культуралаш ишлари 1960 йилнинг ўрталаридан бошланган ва патогенлар таъсирига чидамлиликини *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 шолини пирикулярйозга чидамли, ҳосилдор иккита янги нави яратилган. Уларнинг селекцияси ажратилган чангдонлар культурасида ўтказилган, селектив омил сифатида замбуруғларнинг ўнта тизими аралашмаси қўлланилган. Ҳозирги пайтда янги навлар Хитойда 140 минг га ерни банд қилиб, ҳар гектаридан ўртача 7.5 минг килограммгача ҳосил олинади.

Касалликларга чидамлилик бўйича селекциянинг истиқболли усулларида бири, селектив агенти сифатида патогенлар томонидан синтезланувчи патотоксинлардан фойдаланишга асосланган. Токсинларнинг ўсимликлар касалликларидаги ролини аниқлаш қийин. Маълумки, фақат озгина миқдордаги патотоксинлар касаллиқнинг бошланишида ва ривожланишида муҳим ролни ўйнайди. Таъсирига қараб патотоксинларни учта гуруҳга бўлиш мумкин. Биринчи гуруҳга касаллиқни белгиловчи эмас, хўжайинга нисбатан носпецифик захарли таъсир хусусиятига эга ва кўпчилик ўсимлик турлари учун захарли бўлган токсинлар киради. Тамаки ва бактериал рябухани кўзғатувчисига *Pseudomonas syringae* pv. *Tabaci* маҳсулоти таботоксин мисол бўлиб хизмат қилади. Бошқа гуруҳ патотоксинлар ҳам ўсимликларга нисбатан патоген каби шундай спецификликини намоён қилади, лекин улар ҳам ўсимлик касаллигининг ривожланишига жавобгар эмас. Бу категорияга Т-токсин (ёки HmT) *Drechslera maydis* (*Helminthosporium maydis*); маккажўхорини гелминтоспороз касаллиги кўзғатувчиси киради. Учинчи гуруҳ патогенсинлари хужайинга нисбатан специфик ва касалликларни типик

белгиларини чакаради. Масалан, сулини гельминтоспороз касалини кўзгатувчиси викторин (HV-токсин) илдиз чириши ва барглари догланишини чакиради.

Чидамлилик бўйича хужайра селекцияси схемаси қонуният токсинларнинг таъсир этиш механизми билан бевосита боғлиқ. Патогенларнинг баъзи турлари хужайраларни зарарлайди, сўнг токсин ажратади, бошқалари эса олдин токсин ажратади ва хужайрани нобуд қилади, сўнг уларнинг парчаланган маҳсулотларидан озика сифатида фойдаланади. Табиийки, биринчи ҳолатда *in vitro* ва *in vivo* чидамлилик орасида боғлиқлик бўлмайди, иккинчи ҳолат бўйича хужайралар селекциясини амалга ошириш мақсадга мувофиқдир. Биринчи марта *in vitro* шароитида касалликларга чидамли ўсимликлар олиш П.Карлсон (1973йил) томонидан амалга оширилган, у тамақини метиокинсульфосимин (таботоксин аналоги)га нисбатан, хужайралар тизимини, сўнг патогенга чидамлилиги юқори бўлган ўсимликлар олган. Патотоксинларга чидамлилик бўйича хужайра селекциясига ўтказилган илмий изланишларнинг баъзи натижалари 4-жадвалда келтирилган.

4-жадвал

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

| Патоген                                           | Хужайра ўсимлиги             | 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                                          |

Баъзи патогенларнинг патотоксинларини тоза ҳолда ажратилмаган ёки ўрганилмаган чидамлилик бўйича селекцияни ўтказиш учун турал филтратлардан фойдаланиш ҳам мақсадга мувофиқдир. Уларни ашнинг зарурий дастлабки шарт уларнинг касалликдаги ролини ўлаш, ўсимлик ва *in vitro* культураланаётган хужайранинг патогенга амлилиги ўртасидаги корреляцияни ўрганиш ҳисобланади. 1980 йилда

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

Шу каби ишлар сабзининг бешта генотипида ўтказилганда хужайралар селекцияси суспензион культурода ўтказилиб, селектив омил сифатида *Alternaria radicina* культураси филтратидан фойдаланилди. Натижада чидамли хужайралар ажратилиб улардан регенерант ўсимликлар олинди (Калашников Е.А., Раскалнева В.А. 2000).

**Мутагенлар ва уларни хужайралар селекциясида қўлланилиши.** Ҳозирги кунда кимёвий моддалар, рентген, гамма ва ультрабинафша нурларининг мутаген фаоллиги ҳақида кўплаб тадқиқот натижалари тўпланган. Кимёвий мутагенлардан кўпинча этилметансульфонат (ЭМС)дан фойдаланилади. Бу модда билан ишлов берилган тамаки ўсимлиги хужайраларидан 25та фенотипик вариант олинган. Лекин ЭМС нинг мутаген фаоллиги пастлиги ҳақидаги маълумотлар ҳам мавжуд. Хужайралар культураси билан ишлашда мутаген сифатида N-нитрозомочевинадан (НЭМ) ҳам фойдаланиш мумкин. Бу кимёвий бирикма барқарор бўлмай озик 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 оркали 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 культураланаётган тамаки

хужайраларини ультрabiнафша 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 ҳолда 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 юкори миқдордаги 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 озика муҳитларда култураланади. Бундан ташқари нурланишнинг юкори 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 жинсиз 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 йнгиш, шунингдек шерикларнинг цитоплазматик генларини гибрид хужайрага бириктириш ҳам мумкин.

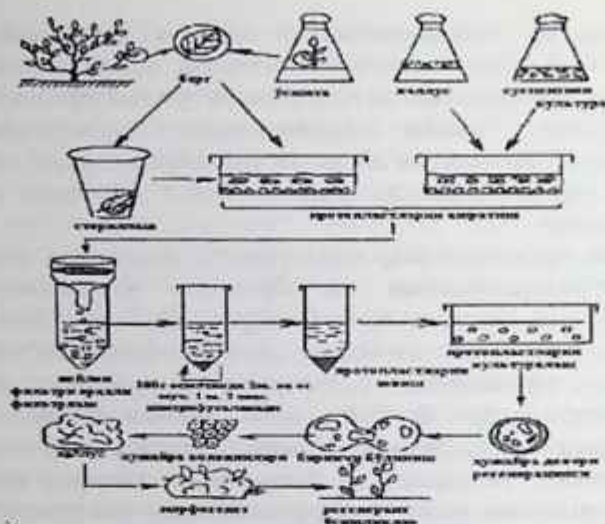
*Протопластларни ажратиш, културалаш ва бир-бирига қўйиш.* атик дурагайлаш усулларини қўллаш учун нормал бўлинадиган, тик регенерацияланадиган протопластларни олиш технологиясини и чиқиш зарур. Ўсимлик хужайраларидан протопластлар олиш XIX тг охирида плазмоллизис қилиш ва хужайралар деворини механик таш усуллари ёрдамида амалга оширилган. Аммо, 1960 йилда оккинг биринчи марта хужайралар деворини ферментлар ёрдамида алаб, протопластлар олганидан сўнггина алоҳида ажратилган топластлар усули ривожлана бошлади.

Ҳозирги вақтда протопластларни ажратиш ва сунъий озика муҳитда культуралаш усулларини такомиллаштириш давом этмоқда. (3.19-расм) Протопластлар ҳам ажратилган ҳужайра ва тўқималарни культуралаш учун фойдаланиладиган озика муҳитларида культураланади. Фақат культуралашнинг бошланғич даврида таркибида юқори осмотик босимни таъминловчи манба сифатида маннит ёки  $\text{CaCl}_2$  нинг юқори миқдори билан фарқ қилади.

Ажратилган протопластлар культуралаш жараёнида ҳужайранинг янги деворини регенерациялайди ва бўлиниш хусусиятига эга каллус тўқимасини ҳосил қилувчи ҳужайраларга айланади. Протопластларнинг колониялар ҳосил қилишига озика муҳит таркиби таъсир этади. Навбатдаги вазифа – каллус тўқимасидан регенерант ўсимлик олиш бўлади. Ҳозирча кўпгина бошоқдошлар 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 ҳужайралар суспензияси, барг ҳужайралари, меристемалар ва поядан ажратиш мумкин. Баргдан протопласт ажратиш учун аввал эпидермисдан тозаланади, майда бўлақларга бўлинади ва пектиназа ёки целлюлаза ферментлари билан ишлов берилади (16-расм).

Протопластларнинг қўшилиши тасодиқий 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 ҳужайралари протопластларини қўшишнинг физикавий усули ишлаб чиқилди, бунда индуктор сифатида электр токи импульсидан фойдаланилди.



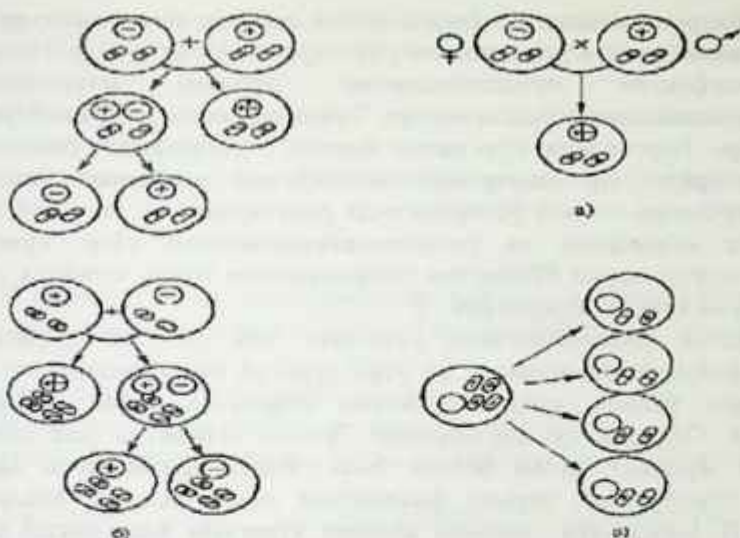
16-расм. Ўсимлик ҳужайраларидан протопластларни олиш ва культуралаш схемаси

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 (17-расм)

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

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

Ҳозирги вақтда парасексуал дурагайлаш усули орқали турлараро, палараро ва тартиблараро дурагайлар олинган. Лекин кўпчилик атларда бундай йўл билан олинган дурагай ўсимликлар у ёки бу ажада нормал эмас. Бунга арабидопсис ва турнепс (хашаки гом)нинг соматик дурагайн монстр – ўсимлиги мисол бўлиб хизмат яди. Юзага келган анамалияга сабаб хромосоманинг ўвозанатлашмаганлигидир (Ю.Ю. Глеб 1982).



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

А-парасексуал(чапда) ва жинсий (уңда) дурагайлашда отагона ядровий ва ядродан ташқари детерминанти; Б-пасексуал дурагайлашда ҳамда иккита ядродан ташқари генофорларни ҳисобга олган ҳолда; в-соматик сегрегация натижасида ядродан ташқари генофорларнинг цитоплазматик гетерозиготларга кўпимча пайдо бўлган парасексуал авлодларнинг генетик ҳилма-ҳилиги.

Ҳайвон ва ўсимлик хужайралари протопластлари қўшилишидан ҳосил бўлган хужайралар катта кизиқишга сабаб бўлмоқда. Ҳозирда каламуш эритроцитлари ва ачитки хужайралари протопластлари, сабзи ва одам протопластлари, тамаки ва одам протопластлари қўшилишидан ҳосил бўлган дурагайлар ҳақида маълумотлар мавжуд.

Соматик дурагайларни олиш бўйича тажрибалар микроорганизмлар генетикасига онд тадқиқотлар каби амалга оширилади. Бошқача қилиб айтганда, ота-она хужайраларининг катта популяциясидан фойдаланилади. Протопластлар суспензиясига фюзоген эритмалар билан ишлов берилганда уларнинг бир қисми бир-бирлари билан қўшилади, лекин суспензияда қўшилмаган протопластлар ҳам қолади. Уларнинг барчаси кейинчалик хужайра деворини тиклайди ва бўлинишга ўтади. Шундан сўнг умумий массада дурагай нусхаларни ажратиш муоаммоси пайдо бўлади. Дурагайлар селекциясини хужайра 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 - зарғалдок хромопластларидан фойдаланилган.

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

Физиологик комплементация усулидан ҳам соматик дурагайларни танлашда фойдаланиш мумкин. Бу усул дурагай хужайраларнинг ота-она хужайралари ўсишга кодир бўлмаган шароитда ўсиш қобилиятига асосланади. Ота-она хужайраларнинг бундай шароитда ўса олмаслиги қандайдир мутация билан боғлиқ эмас, балки физиологик шароитга нисбатан хужайранинг нормал физиологик реакциясидир. Масалан, *N. glauca* ва *N. Langsdorfii* 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 усулларни қўллаш усули (протопластларни центрифугалаш орқали 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 убаффақиятли амалга оширилган. Шуни қайд этиш лозимки, протопластлар томонидан бегона ядрони ютилиши ҳар доим ҳам дурагай сил бўлишига олиб келмайди. Ажратилган протопластларга ядродан шқари бегона хлоропластларни ҳам трансплантация қилиш (кўчириб ўтказиш) амалга оширилган. Бу протопластлардан Карлсон бошқа организм хлоропластини тутувчи регенерант ўсимлик олган.

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

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. Ўсимликшуносликда фитогормонлар ва ўсимликларни ўсиши ҳамда ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар**

**Режа:**

1. Ўсимликларнинг гормон тизими
2. Фитогормонлар таъсирининг молекуляр механизми
3. Фитогормонлар классификацияси, структураси ва функцияси

Ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар, ёки фиторегуляторлар ўсимликлар онтогенезини бошқаришда қудратли восита ҳисобланади. Шунинг учун улардан кишлок хўжалик ўсимликлари биотехнологиясида ва амалий ўсимликшуносликда кенг фойдаланилади.

Фиторегуляторлар - хужайраларнинг дифференцировкаси, бўлини-шини бошқаришда, янги тўқима ва органларни ҳосил бўлишида, ўсимликларни ўсиши ҳамда ривожланишини тезлаштиришда, ҳосилдорлигини оширишда, сифатини яхшилашда зарур бўлган моддалардир.

Ўсимликлар ген муҳандислиги ҳам фиторегуляторлар ҳақидаги билимларга таяниб иш кўради.

Замонавий ўсимликшуносликда фиторегуляторлар агроценозлар-нинг ҳосилдорлигини ва муҳитнинг ноқулай омилларига чидамлилигини оширишда қўлланилади, қатор технологик операцияларни бирмунча осонлаштириш имконини беради. Ҳозирги вақтда фиторегуляторларнинг ўсимликларга минимал (1га экинларга бор йўғи 1 неча миллиграмм) миқдорда таъсир этувчи янги авлодлари яратилмоқда. Бу эса алоҳида экологик аҳамият касб этади.

**Ўсимликларнинг гормон тизими. Гормонлар ҳақида тушунича.** Тирик организмлар гормон регуляцияси улар наслий дастурининг амалга оширишда ва муҳитнинг ўзгарувчан шаронтига адаптациясида ҳал қилувчи ролни ўйнайди (Дефлинг,1985).

Ўсимликларда ҳам бошқарувчи табиатли моддаларнинг мавжудлиги ҳақида биринчи бўлиб Ч. Дарвин (1880) нихолларнинг ёруғлик манбаи томон интилиши бўйича ўтказган тажрибалари асосида ёзилган «Ўсимликларнинг ҳаракат қилиш қобиляти» асарида ўз фикрини баён этган эди. У билан бир вақтда, буюк немис ботаниги ва физиологи Ю.Сакс ҳам ўсимликларда поя, барг ва илдизнинг шаклланиши ҳамда

ривожланишига жавобгар моддалар мавжудлиги хакида айтиб ўтган эди, лекин бу тахминлар ўша даврдаги олимлар томонидан эътироф этилмади.

Ўсимликларнинг регулятор моддаларини аниклаш ва ажратиш олиш бўйича изланишлар XX асрнинг бошларидан жадал ривожлана бошлади. 1909-1910 йилларда Г. Фиттинг томонидан орхидея ўсимлигининг тугунчасини ўсиб, уруғсиз мева ҳосил бўлишини юзага келтирувчи моддалар аникланди ва уларга хайвонларнинг регулятор моддалари каби *гормонлар* деб ном берилди. Ундан бир неча йил илгари этиленнинг ўсимликларни бўйига ўсишини тезлаштирувчи хусусияти аниқланган эди. Ўша даврнинг ўзида Н. Г. Холдинг ва Ф. Вентлар томонидан ўсимликларнинг тропизм назарияси яратилган ва у асосчилари номи билан аталган, 1930 йилларни охирида М.Х. Чайлахян ўсимликларни генератив органларини шаклланиши ва гуллашнинг амалга оширувчи гипотетик фиторегуляторлар хақидаги флориген назариясини илгари сурди.

Ўсимликларнинг гормонларини ўрганиш ва ажратиш олиш бўйича 1950-1960 йилларда яхши натижаларга эришилди, цитокинин ва абсцис кислоталари ажратиш олинди ва уларнинг хусусиятлари аникланди. Ҳозирги кунга қадар яна бир нечта эндоген регулятор моддалар – брассиностероидлар, фузикокцилар, жасмин ва салицил кислоталари, баъзи олигосахаридлар ажратиш олинди, шунингдек ўсимликларни ўсишни бошқарувчи гормон табиатига эга бўлмаган регуляторлари – полиаминлар, бир қатор фенол бирикмалари ва бошқа моддалари ўрганилмоқда.

Шу билан бир вақтда регулятор моддаларни аниклаш, яратиш ва уларни ўсимликшуносликда қўллаш ишлари ҳам олиб борилмоқда. Бундай моддалардан дастлаб ауксиннинг сунъий аналоги ўсимликларни вегетатив кўпайтириш ва илдиз ҳосил бўлишини индукциялаш учун фойдаланилди. 1960 йилда ўсимликларнинг бўйига ўсишини секинлаштирувчи стандарт моддалар аникланди. Бу моддалар кишлоқ хўжалигида қўлланиладиган, кенг тарқалган фиторегуляторлардир. Ҳозирги кунда қимматли хусусиятларга эга, айниқса, антистресс ва репаратив таъсирга эга бўлган фиторегуляторларни аниклашга катта эътибор берилмоқда.

*Фитогормонлар* - деб ўсимликда синтезланувчи, унинг бутун органлари бўйлаб ташилувчи ва озгина миқдори ўсимликнинг бўйига ўсиши ёки шаклланишига синтезланган жойидан ёки масофадан туриб таъсир этувчи қаларга айтилади.

Фитогормонларнинг биринчи хусусияти, уларнинг эндоген келиб чиқибди. Кўпчилик фитогормонлар органик кислоталардан, кўпинча юкислоталардан ҳосил бўлади. У ёки бу фитогормоннинг ҳезланиши ички ёки ташқи сабаблар таъсирида ўзгариши натижасида ўсимликнинг бўйига ўсиши ёки шаклланиш жараёнидаги ўзгариши билан унинг жавоб реакциясини юзага келтиради.

Фитогормонларнинг иккинчи хусусияти, уларнинг ўсимликни бутун органлари бўйлаб ҳаракатидир. Бир органда ҳосил бўлган фитогормон, бошқа органнинг ўсиш ва ривожланиш жараёнларини бошқариши мумкин. Айнан шундай тарзда, органларнинг ўзаро таъсири ва ўсимликнинг

яхлитлигига эришилади. Юқори регуляторлик қобилиятига эга баъзи моддаларни, масалан, баъзи фенолли бирикмаларни фитогормонлар деб бўлмайди, чунки улар ўсимлик органлари бўйлаб ташилмайди ва фақат синтезланган жойигагина таъсир эта олади.

Учинчи хусусияти, бу моддаларнинг кам миқдорда ҳам ўсимликни бўйига ўсишига ёки шаклланишига таъсир этишидир. Фитогормонларнинг жуда кам концентрацияси ўсимликларга таъсир этади ( $10^{-13}$ - $10^{-7}$ М). Улар ўсимликлар поясининг бўйига ўсишини тезлаштириши ёки секинлаштириши, баргларини тўкишига ҳам таъсир этиши мумкин.

Тўртинчи хусусияти, фитогормонларнинг фақат синтез бўлган жойидагина эмас, масофадан туриб ҳам таъсир этишидир.

Ҳайвон гормонлари билан ўсимлик гормонлари бир-бирларидан фарқ қилади. Ҳайвон гормонлари махсус органлар - ички секреция безлари орқали синтезланади, ўсимликларда эса бундай махсус шаклланган тўкима ва хужайралар йўқ. Ҳайвонларнинг гормонлари ўзи синтез бўлган жойига таъсир этмайди, фитогормонлар ўзи синтезланган хужайраларга ҳам таъсир қўрасата олади. Фитогормонларнинг бу хусусияти ҳайвонларни гистогормонларига ўхшашдир.

**Фитогормонлар таъсирининг молекуляр механизми.** Фитогормонларнинг амалда қўлланилиши, улар таъсирининг молекуляр механизми ҳақидаги билимларга асосланади. Ҳозирги вақтда, фитогормонлар ҳосил бўлишининг умумий асосланган схемаси, уларнинг ўтмишдошлари биосинтезини ўз ичига олувчи регуляторлик таъсирининг амалга ошиши, шу гормонга тегишли бўлган оксил рецептори билан боғланиши ва фаоллашган гормон-рецептор комплекс ҳосил қилиши, бу комплекснинг ўсимликлар геномига ёки муайян ферментлар тизимига таъсири аниқланган.

Фитогормонлар ўсимликларда органик кислоталардан синтезланади, баъзи ҳолларда бир нечта гормонлар бир хил асосдан синтезланади. Масалан, мевалон кислотаси фитогормонларнинг 4 та синфи-гибберлинлар, цитокининлар, брассиностероидлар ва ингибитор абсциз кислота учун бошланғич модда бўлиб хизмат қилади. (18-расм)

Ташқи муҳит шароитининг ўзгариши у ёки бу фитогормон синтезидаги ўзгаришига сабаб бўлади. Фитогормонларни биосинтез йўллари тармоқланишига таъсир этувчи калит ферментлар муҳит омилларининг (ёритиш, ҳарорат ва бошқалар) ўзгаришига юқори сезувчанлик намоён қилади, бу эса муайян оксиллар синтезининг тезлашишига олиб келади. Ташқи муҳитнинг бундай таъсирига мисол бўлиб, ёруғликнинг давомийлиги ортганда гибберлинлар синтезининг ошиши, шўрланишни миқдори юқори бўлганда эса ауксин синтези ошиши, аксинча бўлганда эса камайиши ва ўсишда фенол ингибиторлари даражаси ортиши хизмат қилади.



18- расм. Фитогормонлар биосинтези схемаси

Ҳосил бўлган фитогормон молекуласи ўсимлик бўйлаб ўзининг синтез бўлган жойидан нишон-хужайраларга, яъни шу фитогормонларга нисбатан юқори сезувчанлик намоён қилган хужайраларга ташилади. Фитогормонларни ташилиши ўсимликларнинг ўтқазувчи тизими ва хужайралараро масофаси орқали амалга оширилади.

Фитогормон молекулалари нишон -хужайрага икки хил йўл билан;

1. Ёнма-ён хужайраларни бириктирувчи протопласт каналлари-плазмодесмалари бўйича градиент концентрациясига мос равишда аралашиниш орқали;

2. Хужайранинг чегара мембранаси плазмалеммаси орқали ташилиш йўли билан кира олади.

Гормонлар ўз таъсирини хужайрадаги стратегик муҳим бўлган оксил молекулаларининг конформациясини ўзгартириш йўли билан амалга ошириши аниқланган. Бундай оксиллар фитогормонларнинг рацептори, муайян фермент тизими ва рацепторлар орасидаги сигналларни қайта ҳосил қилувчи, шунингдек, ферментларнинг фаолаштирувчилари ёки ингибиторлари, транспорт тизими мембранасининг компоненти сифатида фаолият юритиши мумкин. Барча таъсирчан хужайраларда гормонлар таъсирини мазкур хужайрага ҳос бўлган кўпгина оксил шакллариининг мослашиб ўзгарган занжири сифатида кўриш мумкин.

Оксилнинг бирламчи структураси (аминокислоталарнинг муайян зтма кетлиги) оксил молекуласининг иккиламчи ва учламчи груктураларини ҳосил қилиш учун зарур бўлган ахборотга эга бўлади.

Хужайраларда фитогормон молекулалари ўзига ҳос оксил-рацепторлар билан ўзаро ҳамкорлик қилади ва улар билан бирлашиб, гормон-рацептор комплексини ҳосил қилади (ГРК), натижада рацептор оксил молекуласининг фитогормон билан ўзаро ҳамкорлиги унинг фаоллашиши ҳисобига амалга ошади.

Фитогормонларнинг рецепторлари ҳозирги кунга қадар тўлиқ ўрганилмаган. Адабиётларда берилган маълумотларга қараганда уларнинг кўпчилиги глобуляр оксиллардир. Бир хужайрада битта фитогормоннинг бир неча хил рецептори мавжуд бўлиши, ўсимликнинг шу фитогормонга нисбатан турли хил реакцияларига сабаб бўлади.

Гормон-рецептор комплекси ҳосил бўлган вақтда фитогормон фаоллиги намоён бўлишининг 2 хил йўли пайдо бўлади.

Биринчи йўли - янги ферментлар ҳосил бўлиши ёки олдиндан мавжуд бўлган ферментлар миқдорининг ўзгариши билан боғлиқ. Бу фитогормонларни генетик жараёнларга таъсир этишига сабаб бўлади. Шунинг учун, генларни қайта қурилиши бошланади ва янги оксиллар синтез бўлади, фитогормонлар концентрацияси ўзгарган вақтдан фитогормоннинг таъсир самараси пайдо бўлгунига қадар ўтган вақт бир неча ўн минутлардан бир неча соатгача бўлиши мумкин.

Иккинчи йўли - хужайрада фитогормонлар концентрацияси ўзгармасдан олдин мавжуд бўлган оксиллар, ферментлар фаоллигининг ўзгариши, улар конформациясининг ўзгариши ҳисобига амалга ошади. Иккинчи йўли янги оксилларнинг синтези билан боғлиқ бўлмагани учун фитогормон самарасининг юзага чиқиш вақти анча тез бўлиб, бор йўғи бир неча минутни ташкил қилади.

*Генлар экспрессиясини бошқариш.* Генлар экспрессиясини фитогормонлар орқали бошқариш, ўсимлик хужайраси ҳаётидаги дифференцировка ва дедифференцировка, ўсиш ва янги метаболитик шароитга мослашиши каби муҳим жараёнларни бошқариши билан боғлиқ. Фитогормонларнинг геном ишини бошқаришига кетган вақти бир неча соатни ташкил қилади. Шу билан бир вақтда ўсимлик бир неча ўн минутлар ичида баъзи гормонлар даражасига жавоб беришга қодир. Бу каби «тез» жавоблар фитогормонларнинг ўсимлик хужайрасида мавжуд бўлган ферментлар фаоллигини бошқариш хусусияти билан боғлиқ.

*Ферментлар фаоллигини бошқариш. Фитогормонларнинг иккиламчи воситачилари.* Фитогормонларга жавоб реакцияси унинг концентрацияси кескин ошган вақтдан бошлаб бир неча минут давомида пайдо бўлади. Бундай таъсирлар ферментлар фаоллигининг ўзгариши билан боғлиқ, чунки у ёки бу ферментнинг молекулалари сони деярли ўзгармайди, лекин аллостерик самара натижасида уларнинг фаоллиги ошади ёки пасаяди, бундай ролни фитогормон ёки унинг метаболити бажариши мумкин ва ферментлар билан субстратнинг ўхшашлигини ўзгартириши мумкин. Шундай қилиб, фитогормонлар таъсирига нисбатан ўсимликнинг тез жавоб реакцияси хужайрада мавжуд бўлган ферментлар фаоллигининг ўзгариши билан боғлиқ экан. Масалан, колеоптил хужайралари ауксин билан ишлов берилганда 5 минут ўтгандан сўнг, хужайраларнинг чўзилиши бошланишида ўсимликларнинг фитогормонлар таъсирига жавобини кўриш мумкин. Бундан шундай изоҳлаш мумкинки, ауксин ўзининг плазмолеммада жойлашган рецептори билан ўзаро ҳамкорликка киришганда, плазмолеммадаги протонларни

хужайрадан хужайра девори соҳасига ташилишини амалга оширувчи ферментнинг транспорт тизими протон помпаси ишини фаоллаштиради. Хужайра девори таркибига кирувчи гемицеллюлоза ва пектин моддаларининг кислоталик даражасининг ошиши натижасида, вакуола яратган тургор босим ҳисобига, унинг компонентлари орасидаги боғлар заифлашади ва хужайра чўзилади.

Кейинги вақтларда фитогормонларнинг иккиламчи воситачиларини (мессенжерлари) ўрганиш ишлари ҳам жадал давом этмоқда.

Иккиламчи воситачилар таъсирининг умумий кўриниши шундан иборатки, унча кўп бўлмаган гормон молекулаларининг сони, хужайрада иккиламчи воситачининг кўп сонли молекулалари маҳсулотларини ишлаб чиқаришни юзага келтиради, бу эса ўз навбатида оксил молекулалари фаоллигига ижобий ёки салбий таъсир кўрсатади. Шундай тарзда гормоннинг рецептор билан боғланиши натижасида пайдо бўладиган сигналнинг ошиши амалга оширилади. **Фитогормонлар**

**классификацияси, структураси ва функцияси.** Ҳозирги вақтда фитогормонларнинг 7та гуруҳи аниқланган бўлиб, булар ауксин, цитокинин, гибберлин, этилен, абсцис кислота, брассиностероид ва физиококцинлардир. Бу моддалар ўсимликларда жуда кам миқдорда учрайди, шунинг учун, янги фитогормоннинг очилиши камдан кам ҳолдир. Шунга қарамасдан, ўсимлик регулятор тизимларини ўрганишдаги изланишлар, уларни аниқлаш усулларининг такомиллашиши билан боғлиқ тараққиёти эътибордан холи эмас.

**Ауксинлар.** 1920 йилда ўсимликларнинг тропизм омили сифатида топилган. 1930 йилда Ф.Кегль томонидан тоза ҳолда ажратилиб, унинг кимёвий таркиби – индолил 3-сирка кислота (ИСК) эканлиги аниқланган.

*Ауксинларнинг асосий синтезланадиган жойи поянинг апикал меристемаси ва ёш барглари бўлиб, у ердан бошқа органларга ташилади.*

Хужайралар томонидан ауксиннинг ютилиш механизми икки фазадан иборат:

1. Тез қайтарилувчи реакция, диффузия механизмига яқин механизм ҳисобланади. Хужайра ва уни ўраб турган муҳит орасида ауксин миқдори таъриф мувозанат пайдо бўлганда содир бўлади. Бу мувозанатга эришишда хужайрадаги ва эритмадаги ИСК миқдорининг фарқи, деярли эритма ва цитоплазманинг рН ига ҳам боғлиқдир. ИСКнинг таъриф ага тушишида специфик ўтказувчилар ҳам қатнашиши мумкин, рН ига яқин бўлганда уларнинг роли янада юқори бўлади. Бу фазанинг ўзгариши 25 – 30 мин.

**Метаболитик тўпланиш.** Бу вақтда ауксин кўпинча хужайраларнинг таъриф компонентлари билан глюкоза эфири ёки индолил 3-ацетиласпарагин кислота ҳосил қилиб боғланади. Бириккан ауксин хужайралар бошқарилишида қатнашмайди ва гормоннинг захира шаклини намоён қилади.

Ауксиннинг физиологик самараси, хужайра даражасидаги таъсири билан боғлиқ бўлиб, хужайранинг чўзилиши, бўлиниши ва дифференцияланишини амалга оширади.

Юкорида таъкидланганидек, ауксин таъсирида хужайраларнинг чўзилиш механизми хужайра девори рНнинг кислоталигининг ошиши, вакуоланинг тургор босими ҳисобига чўзилиши, протон помпаларининг фаоллашиши билан боғлиқ.

Ауксин фаоллаштирувчи протон помпалари таъсирида хужайраларнинг чўзилиши ва хужайра деворларининг юмшатилиши, хужайра дедифференцировка ва унинг кейинги бўлиниш жараёнларида, хужайра деворини шишишида иштирок этувчи ферментлар целлюлаза ва пектиназа билан бир қаторда муҳим рол ўйнаши мумкин.

Ауксин томонидан хужайралар бўлинишининг индукцияланиши ҳам нафас олиш жараёнини стимулланиши учун, РНК ва оксил синтезланишини ўз ичига олувчи ДНК репликацияси учун зарур бўлган шароитни яратилиши билан боғлиқ.

Ауксин нафақат дедифференцировкани юзага келтиради, у меристема хужайраларининг ёки ўтказувчи тўқималардаги дедифференцияланган хужайраларнинг дифференцияланишини стимуллаш хусусиятига ҳам эга.

Ауксин таъсирида каллус тўқималарида ўтказувчи флоэма ва ксилема элементларининг шаклланиши ҳам кузатишга бўлиб, бу биотехнология ва ўсимликшунослик учун катта аҳамиятга эгадир.

Ауксиннинг озика моддаларни хужайраларга тортиш хусусияти, ўсимликлар учун муҳим хусусият бўлган апикал доминантликни амалга ошириши билан белгиланади. Бу фитогормонни ишлаб чиқарувчи апекс озика моддалар ва бошқа гормонлар (гибберлинлар, цитокининлар) оқиб келувчи марказга айланади. Бунинг натижасида озика моддалар ва фитогормонлар яширин куртакларга етиб бормайди, шунинг учун улар учки куртакларга нисбатан секинроқ ўсади ёки умуман ўсмайди. Ауксинларни ўзига тортиш (аттрагирлаш) механизми Ҳозирча тўлиқ ўрганилмаган, лекин уларнинг протон помпаларни фаоллашиши билан боғлиқ эканлигига асослар етарли.

**Цитокининлар** – 1955 йида хужайралар бўлинишини стимулловчи омил сифатида топилган. Биринчи табиий цитокинин зеатин деб аталган, бу моддалар маккажўхорининг пишиб етилмаган донларидан ажратиб олинган. Ҳозирги кунда 12 та цитокинин аниқланган бўлиб, уларнинг кимёвий тузилиши зеатиннинг тузилишига яқин. Дифенилмочевина ва уларнинг қатор маҳсулотларининг ҳам юкори цитокининлик фаоллиги аниқланган.

Цитокининлар асосан илдиз апикал меристемасида синтезланиб, ундан ксилема бўйлаб ўтказувчи найлар орқали, ўсимлиكنинг барча органларига транспорт қилинади. Шунинг учун цитокининларнинг ҳаракат тезлиги ауксинларникига нисбатан юкори. Ташилиш йўналиши-ўсимлиكنинг юкори қисмига қаратилган бўлиб, айниқса фаол меристемалар ва уруғларда цитокининнинг миқдори кўп бўлади.

Ўсимликларда цитокининларнинг турғунлиги унчалик юқори эмас, зеатиннинг ярим парчаланиш вақти ўсимликнинг турига қараб 6-20 соатни ташкил этади. Ёш тўқималарда унинг парчаланиш тезлиги қари тўқималарга нисбатан кам, илдизда эса бу жараён янада секинроқ кетади. Цитокининларнинг деструкцияси сахароза (рибоза, глюкоза) ва аланин аминокислотаси билан конъюгациясидан сўнг бошланади. Бунда цитокининларнинг О-глюкозидларини ҳосил бўлиш йўлини гормоннинг захираганини сифатида, бошқаларини эса-қайтарилмас деструкция сифатида кўриш мумкин. Яқинда цитокининни олдиндан гликозидламасдан оксидловчи цитокининоксидаза ферменти аниқланди. Бунда оксидланиш алифатик қисмининг аденинга бирлашган жойида содир бўлади.

Цитокининнинг асосий физиологик таъсири-хужайралар бўлинишини фаоллаштиришдан иборатдир. Цитокинин митозга зарур шароит яратиш учун РНК – полимераза фаолиятини, РНК ҳосил бўлиши ва оксил синтези жараёнларини фаоллаштиради. Бу таъсирлар цитокининнинг озиқа моддаларни ўзига тортиш хусусияти билан ҳам боғлиқ бўлиши мумкин. Фитогормоннинг бу хусусияти, бошқа яна бир қанча таъсирлар билан ҳам боғлиқ бўлиб, буларга барг ва уруғкуртак хужайралари ўсишининг стимулланиши, апикал доминантликдан холи қилиниши, барглари қаришини тўхтатилиши ва ўсимликлардаги моддаларнинг қайта ҳаракатланишини бошқарилиши шулар жумласидандир.

Цитокинин онтогенезни бошқаришда муҳим рол ўйнайди. Бу тоифа гормонларнинг юқори миқдори илдиз ҳосил бўлишини тўхтатади ва пояда куртакларнинг пайдо бўлишини тезлаштиради. Шунингдек улар фотопериоднинг ноқулай шароитларида баъзи турдаги ўсимликларнинг баъзи турларининг гуллашини индуцирлайди. Цитокинин таъсирида уруғ ва тугунақлар тиним давридан чиқади. Бу гидролитик ферментлар фаоллашиши билан ҳам боғлиқ бўлиши мумкин. Цитокининлар барглари қаришини тўхтатибгина қолмай, шунингдек улар ривожланишини бошланғич даврида хлоропластларининг шаклланиши, хлоропласт РНКси ва оксилларнинг синтезини стимулланиши ҳисобига, ўсиши ва бўлинишини бошқаради.

Бу фитогормон баргларидаги оғизчаларни очиш орқали сув бугланиши уяциясида ҳам иштирок этиш орқали хлоропластлар шаклланишини мулланиши ва барглари қаришини тўхтатилиши натижасида осинтез жараёнини фаоллаштиради.

Цитокининларнинг жуда муҳим хусусиятларидан яна бири, улар имлик хужайраларининг паст ёки юқори ҳарорат, сув танқислиги, ўрланиш, рентген нурлари, пестицидларнинг фитотоксинлик таъсирлари қабил ташки ноқулай таъсирларга чидамлилигини оширади. Ҳимоя таъсирининг механизми ҳали яхши ўрганилмаган. Лекин ўсимликлар ҳаётидаги ноқулай шароитларда-цитокининлар миқдорининг ошиши натижасида хужайрани химояловчи стресс оксиллар синтезининг стимулланиши аниқланган.

**Гибберлилар** 1926 йилда аниқланган бўлиб 1938 йилда Японияда патоген замбуруғ *Gibberella fujisugoi* нинг продуценти сифатида ажратиб олинган. 1955 йилда унинг кимёвий структураси ва қатор ўсимликлар хужайраларида иштирок этиши аниқланган. Гибберлиларни ўрганиш ишлари Ҳозирги кунда ҳам жадал давом этмокда. Ҳозирда бу моддаларнинг 100 га яқин вакиллари маълум бўлиб, улардан 45 таси ўсимликлардан ажратилган.

Гибберлилар биосинтезига тўскинлик қилувчи қатор бирикмалар ҳам аниқланган. Бу моддаларнинг деярли ҳаммаси ретардант таъсирга эга, яъни ўсишни тўхтатувчи моддалардир. Гибберлиларнинг биосинтезини муайян ферментлар фаолиятига таъсир этиш орқали тўхтатиш мумкин.

Гибберлилар транспорти қарама-қарши томонга йўналган эмас. Улар акропетал ва базипетал равишда қсилема ва флөзма найлари бўйлаб сувли эритмалар оқимга қўшилиб кетади. Шунинг учун бу фитогормоннинг ташилиши ва тарқалиш тезлиги нисбатан юқори.

Гибберлиларнинг физиологик таъсири, ўсимлик хужайраларининг чўзилувчанлиги ва меристема тўқималарининг митотек фаоллигини ошиши ҳисобига, ўсиш жараёнларини стимулланишида намоён бўлади. Гибберлилар таъсирида хужайралар чўзилишининг стимулланиши, ауксинлардаги каби протон помпаларининг фаоллашиши ҳисобига эмас, балки, хужайра қобиғи материаллари синтезининг ошиши билан боғлиқ.

Гибберлиларнинг кўпчилиги кислоталар бўлгани учун, уларни ўзига мос индекс билан Гибберал кислота (Г) деб белгилаш қабул қилинган. Масалан: Г<sub>К<sub>24</sub></sub>, Г<sub>К<sub>53</sub></sub> ва ҳаказо.

Турли оилаларга мансуб ўсимликларнинг ўсиш реакциясида у ёки бу гибберлинга нисбатан муайян спецификлигини кузатиш мумкин. Масалан, ковокдошлар ва бутгулдошлар оиласига кирувчи ўсимликларнинг ўсишига Г<sub>К<sub>3</sub></sub> таъсир этмайди, лекин унинг бошқа баъзи оилаларга мансуб ўсимликлар ўсишига таъсири кузатилган, Г<sub>К<sub>4</sub></sub> таъсирида эса уларнинг бўйига ўсишидаги сезиларли таъсирини кузатиш мумкин. Гибберлилар даражасини ошишига ўсимлик турларининг спецификлигидан ташқари, турли органларнинг турлича специфик реакциясини ҳам кузатиш мумкин. Гибберлин поянинг ўсишини тезлаштириб, барглار ўсишига деярли таъсир этмайди ва илдиз ўсишини тўхтатади. Гибберлиларнинг илдизга салбий таъсири озиқа моддаларни қайта тақсимланиши натижасида ўсимликнинг ер устки қисмининг ўсиши тезлашиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Гибберлиларнинг танқислиги ўсимликнинг пақаналигига кўра аниқланади. Ўсимликларнинг пақана бўлишининг сабаби, ушбу фитогормонларнинг фермент биосинтези тизими ишининг бузилиши билан боғлиқдир.

Гибберлилар ўсимликларнинг генератив органларининг шаклланиши ва гуллашга ўтиш жараёнларида катта рол ўйнайди. Кўп йиллик ўсимликларда меристемалар ривожланишини генератив йўли детерминацияси даврида гибберлилар даражасининг ошиши генератив органларнинг ҳосил бўлишига салбий таъсир этади. Шу билан бир вақтда

гибберлинлар даражасининг камайиши ҳам меристемада гул элементларининг шаклланишини сўнгги боскичида генератив ривожланишга салбий таъсир кўрсатади.

Баъзи тўп баргли ўсимликларга гибберлин билан ишлов берилганда, ҳатто куннинг ноқулай шароитида ҳам, унинг гуллаши тезлашади. Унинг бу хусусияти академик М. Х. Чайлахянга (1988й.) гибберлинни гипотетик гормон флоригенининг зарурий қисми деб айтишига асос бўлди. Тахмин қилинишича, флориген таркибига гибберлиндан ташқари, ҳали ажратилмаган фитогормон- антезинлар ҳам кирар экан.

Гибберлинларни ташқаридан киритилиши кўпинча уруғлар ривожланишини тўхтатади ва партенокарпик мевалар шаклланишини таъминлайди.

Гибберлинлар ёрдамида ўсимликларнинг жинсини ўзгартириш бўйича 1970 йилда бодринг ва каноп ўсимликларида тажрибалар ўтказилган. Бодрингда чангчи ҳам уруғчи гулларини битта ўсимликда жойлашади, каноп эса икки уйли ўсимликларга киради. Гибберлин билан ишлов берилганда, каноп ўсимлигида чангчи ўсимликларнинг, бодринг ўсимлигида эса эркак гулларнинг пайдо бўлиши ортган.

Гибберлинлар уруғ ва туғунакларни тиним ҳолатидан чиқариш хусусиятига ҳам эгадир. Улар заҳира крахмалларни парчалаб муртакларнинг озиқаланиши учун қулай шаклга келтириб берувчи ферментлар, асосан  $\alpha$ -амилаза ферментининг синтезини индуцирлайди. Бу жараён галла экинлари (бугдой, жавдар, арпа) да яхши ўрганилган. Уларнинг донлари муртак, эндосперм ва уруғ қобигидан иборат. Заҳира моддалар эндоспермда крахмал ҳолатида тўпланган. Дон пишиш вақти яқинлашганда крахмал каватида тирик ҳужайралар қолмайди, факатгина эндоспермнинг устки қисмида заҳира оксилларга бой ҳужайралар юпка алейрон каватида қолади. Бошқоқ зародиши эндосперм билан қалқонча орқали алоқа қилади (қалқонча озиқа моддаларни эндоспермдан олиб, муртакка бериб туриш учун хизмат қилади). Қалқонча ўсганда гибберлин ажратади. Бу муртакнинг— уйғонганидан ва унга озиқа моддалар зарурлигидан далолат беради. Гибберлинлар эндоспермнинг крахмал дончалари зонасидан эндосперма каватига диффузицияланади. Тирик ҳужайраларда алейрон каватидан крахмалларни парчаловчи фермент амилазанинг синтези учун ахборот РНКси синтези бошланади.

Гибберлинларнинг озиқа моддаларни ўзига тортish хусусиятига яна бир мисол, унинг уруғсиз меваларни ривожланишини стимуллашидир. Уларнинг бу хусусияти айниқса, уруғсиз узум навларини етиштиришда жуда муҳимдир.

Гибберлин қўлланилганда мевалар йириклашади ва ҳосилдорлик ошади. Гибберлинлар нафақат бошқоқли ўсимликларни, шунингдек, бошқа ўсимликларнинг ҳам ўсишини стимуллашди. Кунгабоқар ва қовоқ ўсимликларида бу гормонлар заҳира ёғларни парчалайди ва уларни янада оксидлайди, дуккакдиларда заҳира оксиллар грануларини ва қалар моддаларнинг ташилишини амалга оширади. Шунинг учун ҳам

уруғ, тугунак ва пнеэларга экишдан олдин гибберлин билан ишлов берилса, уруғларнинг унувчанлик даражаси ортади ва ўсиши жадаллашади.

**Этилен моддаси.** 1901 йилда Санкт-Петербург университети лабораториясида тажриба учун нўхат ўсимлиги ўстирилганда, уруғдан кингир-кийшиқ, учки қисми пастга қараб кармоқ шаклида эгилган калта ўсимталар ўсган. Иссикхоналарда ва очик ерларда ўсаётган ўсимликлар эса ўсувчан, тўппа-тўғри бўлиб ўсган. Нелюбов бу физиологик таъсирни чакирувчи омил лабораторияда эканлигини тахмин қилган. Ўша вақтларда хоналар газ ёрдамида ёритилар эди. Хавоси тозаланган шароитда иссиқхонадаги ўсимликлар нормал равишда ривожлана бошлаган. Айнан қайси моддалар таъсир этишини ўрганиш мақсадида Нелюбов ёруғлик газининг турли компонентларини навбатма-навбат бериб, этиленнинг таъсирида:

1) ўсимталар бўйига ва энига ўсишида секинлашиши;

2) қайта тўғриланмайдиган поя учининг пастга эгилиши;

3) ўсимталар ўсиш йўналишидаги ўзгариш каби физиологик реакцияларини аниқлади ва буни ўсимталарнинг этиленга уч қарра жавоби деб атади.

Шунингдек, этиленнинг ўсимлик баргларини тўкилишидаги, меваларнинг пишиб етилишидаги таъсирлари ҳам аниқланган. Этилен моддалари ўсимликларда ҳам синтезланади. Бу моддалар ягона газсимон фитогормон бўлиб, оддий тузилишга эга. Этиленни дезактивацияси унинг атроф муҳитга ажралишидан ташқари этилен оксиди ҳосил бўлиш йўли билан ҳам боради. Этиленнинг максимал фаоллиги унинг максимал оксидланиш вақтига тўғри келади, оксидланишни сунъий тўхтатилиши фитогормоннинг таъсирини йўқотади. Буларнинг ҳаммаси этиленнинг оксидланиш унинг фитогормонал фаоллигини амалга ошириши билан боғлиқ эканлиги ҳақида тахмин қилиш имконини беради.

Ўсимликнинг деярли барча тирик хужайралари этиленни биосинтез қилишга қодир. Бу фитогормоннинг ҳосил бўлиш характери онтогенезда кескин ўзгаради. Ювенил даврдаги ўсимликларда этилен асосан меристема тўқималарида синтезланади. Кейинчалик пишиб етилаётган меваларда унинг миқдори ортади. Шунингдек, этиленнинг биосинтези ўсимлик шикастланганда ёки стресс таъсирларда кескин ошади.

Ўсимликликларда этилен биосинтезига метионин аминокислотаси асос бўлиб хизмат қилади.

Этилен ўсимлик хужайраларининг изодеаметрик чўзилишини (йўғонлашиши)ошириш хусусиятига эга.

Этиленнинг қатор таъсирлари унинг антиауксинлик таъсирлари билан ҳам белгиланади. Ауксиндан фарқли, этилен ажратувчи қават ҳосил қилади, яъни барглари, гулларни, меваларни тўкилишига олиб келади. Бу унинг хужайра деворларини парчаловчи ферментлар эндополигалактуроаза ва целлюлазанинг синтезини индуцирлаши билан боғлиқ. Этилен таъсирида ауксин томонидан индуцирланган хужайралар

чўзилишдан тўхтайди, митотик фаоллиги пасаяди. Шунингдек, этилен ауксиннинг транспортини ҳам тўхтатади.

Этилен меваларни тўкибгина қолмай, шунингдек уларнинг пишишини тезлаштиради. Бу фитогормон каучук берувчи ўсимликларда латекс (табiiй каучук) ни чиқишининг ошишига таъсир кўрсатади.

Ўсимликлар ўсишига этилен турлича таъсир кўрсатади. Кўпчилик ўсимликларда хужайраларнинг бўлиниши ва чўзилиши жараёнларини секинлаштириш орқали вегетатив ўсишни тўхтатади. Аммо баъзи ҳолларда, масалан, шолн ннҳолларида этилен микдорининг ошиши, унинг ўсишини жадаллаштиради.

Этиленнинг химоя таъсири ҳам катта қизиқиш уйғотади. Юкорида айтилганидек, этиленнинг микдори стресс таъсирлар ва механик шикастларда кескин ошади. Бу ўсимликнинг потенциал хавфга нисбатан биринчи жавоби бўлиши мумкин. Стресс этилени фитоалексинлар (химояловчи моддалар) патоген замбуруғлар хужайра қобиғини ва баъзи фенол бирикмаларни парчаловчи хитиназа ферменти синтезини индуцирлайди. Фитоалексинларни кимёвий табиати ўсимликнинг систематик ҳолатига боғлиқ. Масалан картошка сесквитерпеноидли фитоалексинлар ҳосил қилади, дуккаклиларда фитоалексинлар фенолли бирикмалар асосида синтезланади.

Ўсимликнинг шикастланган жойидан фитоалексинлар ва хитиназадан ташқари протеазаларнинг ингибиторлари ҳам ташилиб, у ўсимликнинг шикастланган жойидаги хужайра оксилларини парчаланишдан химоя қилади. Бундан ташқари, этилен микдорининг ортиши ўсимликлар химоясида иштирок этувчи бошқа гормон-абсциз кислотанинг синтезланишини ҳам стимуллайдн.

**Абсциз кислота (АБК).** 1965 йилда АКШ олимлари Лью ва Кареслар томонидан гўзани яшил кўсагидан ажратиб олинган. Ўсимликларда АБК мевалон кислотасидан синтезланади. АБК ксантофил виолаксантиннинг ёруғлик таъсирида ажратилган маҳсулотидан ёки липоксигеназа ферментидан ҳам ҳосил бўлиши мумкин. Стресс таъсирларда бу фитогормон синтезининг кескин ошиши аниқланган. АБК ўсимликларнинг деярли барча органларида синтезланади. Унинг ҳосил бўлиш интенсивлиги ўсимликнинг қариши, ноқулай таъсирлар, айниқса намлик етишмаслиги натижасида кескин ошади. У қари барглр, пишган мевалар, тиним ҳолатидаги уруғ ва куртаклрда кўп микдорда бўлади. Ўсимлик уруғининг таги пишиб етила бориши билан АБКни синтезлаш хусусиятига эга бў, ўзининг тиним ва чидамлилиқ жараёнларини бошқаради. АБКнинг эзи кундузига нисбатан кечаси 50-60 марта юкори бўлади. АБКнинг орига хароратнинг пасайиши, ёруғлик таркибида кўк ва лабинафша квантларининг кам бўлиши стимулловчи таъсир кўрсатади.

АБК акропеталь ва базипеталь равишда флоэма ва ксилема бўйлаб импорт қилинади. Ҳаракат тезлиги жуда юкори АБК учун озика моддаларни тортувчи марказ бўлиб, фаол бўлинаётган меристема хизмат қилади. АБК метаболизми қанд моддалари билан конъюгат ҳосил қилиш

орқали амалга ошиши, улар қайтариладиган ва қайтарилмайдиган бўлиши мумкин, шунингдек фазеев кислотаси орқали оксидланиши ҳам мумкин.

АБКнинг физиологик самараси хилма-хилдир. Улар таъсирида муҳим физиологик жараёнлар ингибирланиши ҳам ёки аксинча стимулланиши ҳам мумкин. Абсциз кислота кучли ингибитор таъсирга эга фитогормондир. Улар нуклеин кислоталар, оксиллар ва хлорофиллар парчаланишини тезлаштиради, протон помпанинг фаоллигини пасайтиради. АБК таъсирида оғизчалар ёпилади ва фотосинтетик фосфорланиш тўхтайд.

АБК томонидан уруғ, куртак ва тугунакларнинг тиним даври бошқарилади, атиргулнинг партенокарпик мевалари ривожланиши ва картошка тугунакларини ҳосил бўлиши, бодринг гипоктилини чўзилиши, ловия қаламчаларида илдиз ҳосил бўлиши стимулланади. Бу фитогормон галла экинлари хужайраларидаги захира оксиллар таркибининг ўзгаришига ҳам таъсир этади.

Ўсимликларнинг стрессларга чидамлилигини оширишда абсциз кислотанинг роли жуда муҳим. У ҳам цитокинин каби стресс оксиллар, шунингдек, оксилларнинг ўзига ҳос гуруҳи, синикация оксилларининг синтезини индуцирлайди. Бу моддалар уруғ таркибидаги намликини тутиб туришга жавобгар бўлиб, бу унинг тиним даврига ўтишида жуда муҳимдир. Бу гормонни ўзи синтезлаш қобилиятига эга бўлмаган ўсимликлар тезда нобуд бўлади.

**Брассиностероидлар.** Бу фитогормонлар 1979 йилда Гроув ва бошқ олимлар (Grovt et al.) томонидан рапс (*Brassica napus*) ўсимлиги чангининг ёгдаги экстракти нихолларининг бўйига ўсишини стимуллаши аниқланган, 10 кг рапс чангидан 4 миллиграмм регулятор таъсирга эга моддалар ажратиб олинган. Бу моддаларнинг стероид бирикмалар эканлиги аниқланган. Рапснинг лотинча номидан келиб чиқиб брассинолид деб, бошқа шунга ўхшаш физиологик фаол моддалар брассиностероидлар деб аталган. Кейинчалик маълум брассиностероидлар сони ортиб борди. Ҳақиқий каштандан (*Castanea sativa*) – кастастерон, атиргулдаи (*Typha*) – тифастерол, чойдан (*Thea*) – теастерон, катарангусдан (*Catharanthus*) – катастерон ва бошқалар ажратиб олинган. Ҳозирги кунга қадар 60га яқин брассиностероидлик фаолликка эга бирикмалар аниқланган.

Брассиностероидлар биосинтези мевалонат йўли билан боради ва бошқа терпенли бирикмалар учун умумий бўлган босқичлар: изопентент илпирофосфат, геранилпирофосфат, фарнезилпирофосфат ва сквалендан иборат бўлади.

Маълумки, ўсимликларнинг гул тўқималари, барглари ва ёш пояларида бу фитогормонлар кам миқдорда бўлади. Брассиностероидларнинг максимал концентрацияси гул чангида бўлади.

Брассиностероидларни физиологик таъсири бошқа фитогормонлар таъсирига яқин. Улар ауксин каби хужайралар чўзилишини, гибберлин каби бодринг уруғпалласи ўсишини стимуллайди. Шунингдек брассиностероидлар этиленга ҳос хусусиятларга ҳам эга. Бу фитогормонларнинг специфик таъсири уруғ куртакнинг ўсишини

бошқаришдир. Брассиностероидларнинг озгина миқдори чанг билан биргаликда уруғ куртакка тушиб, унинг ривожланиши ва уруғ ҳосил бўлишини стимуллайдн. У ўсимликларни стресслар ва замбуруғли касалликлардан ҳам ҳимоя қилади. Бундай таъсирнинг сабаби, ўсимликнинг фитоиммунитет тизими стресс оксиллари, шунингдек фитоалексинлари ва бошқа компонентлари синтезининг ошиши билан боғлиқ. Кўп миқдордаги брассиностероидлар ўсимликларнинг бўйига ўсишини тўхтатиб, атроф муҳитнинг ноқулай таъсирлари (паст ёки юқори ҳарорат, қурғокчилик, инфекциялар) га чидамлилигини оширади. Ҳозирги вақтда кўпгина мамлакатларда брассиностероидлардан кишлоқ хўжалик экинларини ҳосилдорлиги, чидамлилигини ошириш мақсадида фойдаланиш учун изланишлар ишлари олиб борилмоқда.

**Фузикоқцинлар.** Фузикоқцинлар стероид моддалардир. Илгаридан замбуруғлар ҳаёт фаолиятининг маҳсулоти сифатида маълум бўлган, бу фитогормон ўсимликларда ҳам синтезланади ва унинг ўсиш жараёнини бошқаради. (Г.С. Муромцев, 1996). Фузикоқциннинг муҳим физиологик таъсири унинг хужайраларнинг чўзилишини стимуллаши, қоронғуда оғизчаларни очиши, сув буғланишини кучайтириши, уруғларни тиним ҳолатидан чиқариши ва ўсишни жадаллаштириши билан боғлиқдир.

**Ўсимликларда фитогормонларнинг ўзаро ҳамкорлиги.** Ўсимлик гормонлари бир-бирларининг синтези, парчаланиши ва ташилишига фаол таъсир кўрсатади. Фитогормонлар тизимининг бирор компоненти миқдорининг ўзгариши, бутун тизимнинг ўзгаришига олиб келади (19-расм).



19- расм. Гормонларнинг ўзаро таъсири натижасида у ёки бу фитогормонлар миқдорининг ошиши (текис чизиқлар билан) ёки пасайиш (пунктир чизиқлар билан).

**Ўсимликларни гормон статуси.** Ўсимликларни онтогенез давридаги фитогормонал тизимининг ҳолати, ҳосил бўлиш жараёнида фитогормонлар миқдори ва улар орасидаги нисбат, уларнинг ташқи таъсирга жавобан ҳосил бўлиши, ҳаракатланиши, фойдаланилиши ва инактивацияланиши-ўсимликларнинг гормон статусидир.

Ўсимликларларнинг гормон статуслари фитогормонларни миқдорий аниқлашнинг мураккаблиги сабабли кам ўрганилган.

**Ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар.** Фитогормонларни бошқариш механизмлари ҳақидаги билимларга эга бўлиш, ўсимликларнинг ҳосилдорлигини, чидамлилигини оширишга эришишда, уларнинг ўсиши ва ривожланишини бошқаришда катта имкониятлар беради.

Ўсимликларнинг фитогормон тизимига йўналтирилган таъсирлар ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи регуляторлари (фиторегулятор) ёрдамида амалга оширилади.

*Фиторегулятор* - ўсимликларнинг бўйига ёки энига ўсишига таъсир этувчи, қўлланилаётган миқдorigа кўра, озика манбаи ва фитотоксин бўлмаган табiiй ёки сунъий моддалардир. Демак, ўсимликларни ўсишига таъсир этувчи ҳар қандай модда ҳам, агар у ўсимликлар ўсишини ўғит каби стимулламаса ва гербицид каби ўсимликларнинг nobуд бўлишига сабаб бўлмаса, у холда фиторегулятордир. Ҳозирги кунда регулятор фаолликка эга 5 мингга яқин бирикмалар аниқланган бўлиб, амалиётда уларнинг фақат 1% гина қўлланилади.

Кўпчилик фиторегуляторларнинг физиологик фаоллиги, уларнинг фитогормон тизимини қайсидир компонентига таъсир этиш хусусияти билан bogлиқ. Бунга хужайрага ташқаридан унинг аналогини киритиш орқали фитогормонлар миқдорини ошириш; фитогормоннинг биосинтезига таъсир этиш (стимуллаш ёки тўхтатиш); фитогормон транспортини тўхтатиш; фитогормоннинг инактивация тизимига таъсир этиш (стимуллаш ёки тўхтатиш); фитогормоннинг рецепторига уланиши учун рақобат ҳосил қилиш; фитогормон-рецептор комплексининг инактивацияси ҳисобига эришилади.

**Сунъий регуляторларнинг ўсимликларнинг гормон тизимига таъсири.** *Ауксиннинг аналоглари ва антогонистлари.* Ауксинга таъсир этувчи регулятор бирикмалар орасида, бу фитогормоннинг сунъий аналогларидан индолил-3-сирка кислота (ИСК), индолил-3-мой кислота (ИМК), 1-нафтилсирка кислота (НСК) ҳамда уларнинг тузлари ва амидлари илдиз ҳосил қилишни стимуллашда кенг қўлланади. Бу бирикмалардан ўсимликларни қаламчалаш усули орқали вегетатив кўпайтиришда, биотехнологик жараёнларда ва анъанавий ўсимликшуносликда кенг фойдаланилади. Улар билан ишлов бериш-препаратни озика муҳити таркибига 1-100 мг/л концентрацияда киритиш, қаламчанинг базал қисмини шу препаратнинг 200 мг/л концентрациядаги спиртли эритмасига солиш ёки қаламчалар препаратнинг 25-50 мг/л концентрациядаги сувли эритмасида 12-14 соат ушлаб туриш усуллари орқали амалга оширилади.

Бу бирикмаларнинг захарлилик таъсири кам бўлиб, уларни одамлар томонидан истеъмол қилинадиган экинларга қўллаш мутлақо хавфсиздир.

Ауксин аналоглари орасида 2,4-дихлорфеноксисирка кислота (2,4-Д); 4-хлорфеноксисирка кислота (4-Х); 2,4,5-учхлорфеноксисирка кислота (2,4,5-Т); 2(2,4,5-учхлорфенокси) пропион кислота (2,4,5-УП) муҳим ўринни эгаллайди. Бу бирикмалар ауксин таъсир этадиган ҳудудда юкори ауксин фаоллигига эга бўлиб, протон помпасини фаоллашиши ва тропизм, хужайраларнинг чўзилиши ва дедифференциалланиши жараёнларини амалга оширади. Бу моддалар паст концентрацияларда каллус тўқималарини олиш учун (0,5-2,0 мг/л), юкори концентрацияларда эса, гербицид сифатида қўлланилади. Бу гуруҳ ауксин аналогларининг захарлилик таъсири бошқа гуруҳ вакиллариникига нисбатан кам, аммо улар кучли мутаген таъсирга эга бўлганлиги учун экологик хавф тугдиради.

Антиауксин таъсирга эга қатор фиторегуляторлар ҳам мавжуд. Уларнинг таъсири бу гормонлар транспортини тўхтатиши билан боғлиқ: морфактинлар, нафтилфаламин кислота ва унинг тузлари, шунингдек 2,3,5-учйодбензой кислота (УИБК)дир. УИБКнинг таъсири ауксин томонидан яратилган апикал доминантликнинг бузилишида намоён бўлади. Бунинг натижасида баъзи ўсимликлар куртакларининг уйғониши ортади, масалан: соя ўсимлигида ҳосилдор новдалар сонини ошириш ҳисобига ҳосилдорлиги юкори бўлади.

*Цитокинин аналоглари ва антагонистлари.* Кейинги вақтларда цитокинин препаратларининг антистресс таъсирлари аниқланганидан сўнг, уларга бўлган қизиқиш тобора ортиб бормоқда. Зеатин қатори (кинетин, 6-бензиламинопурип) цитокининларини сунъий аналоглари шундай хусусиятга эга. Цитокининлар қатори аналог, дифенилмочевина-дропп (тидазурон)нинг антистресслик хусусияти кам.

Цитокининлар ўсимликлар биотехнологиясида каллус тўқималари олишда, хужайралар бўлинишини фаоллаштиришда, каллусда пайдо бўлган ниҳолларнинг дифференциалланишини индукциялашда, шунингдек апикал доминантликни бартараф этишда ва ўсимликларни клонли микрокўпайтиришда, уларнинг кўпайиш коэффицентини оширишда қўлланилади. Бундай мақсадлар учун айниқса 6-БАП ва кинетинлардан фойдаланилади.

Цитокинин аналоглари озиқ моддаларни ўзига тортиш хусусияти бўлиб, мевали дарахт кўчатларининг апикал доминантлигини бартараф қўчатзорлардаги дарахтларнинг шоҳлари ва барглариининг тез ва кўп ҳосил бўлиши, шунингдек уруғсиз узум навларининг меваларини ошлаштириш ва массасини оширишда қўлланилади. Бунинг учун цитокинин аналоглари сунъий гибберлинлар билан биргаликда қўлланилганда яхши натижа бериши мумкин.

Дропп препарати гўза дефолианти сифатида муҳим аҳамият касб этади. Унинг таъсирида эндоген этиленнинг синтези стимулланиши натижасида барглар тўкилади.

Цитокинин аналоглари чекланган миқдорда сабзавотларни саклашда, жинсни бошқаришда, шунингдек уруғларни тиним давридан чиқаришда ва ўстиришда қўлланилади.

Цитокининларнинг антагонистлари аниқланган, лекин улар амалиётда қўлланилмайди ва ҳозирча фақат илмий аҳамиятга эга.

*Гибберлинларнинг аналоглари ва антагонистлари.* Гибберлинлар аналоглари патоген замбуруғ *Gibberella fujicuroi* дан микробиологик синтез йўли билан олинади. Улар ўсимлик томонидан синтезланадиган гибберлинларнинг аниқ нусхаларидир. Улардан айниқса, ГК<sub>3</sub>, ГК<sub>4</sub>, ГК<sub>7</sub> кенг қўлланилади. Бу моддалардан асосан уруғсиз узум навлари мевасининг ўсиши ва пишишини стимуллашда фойдаланилади. Бундан ташқари, гибберлинлар уруғлар ва тугунакларни тиним ҳолатидан чиқариш ва уларнинг униб чиқишини тезлаштиришда ҳам қўлланилади.

Ўсимликлар биотехнологиясида гибберлинлардан вируссиз экиш материаллари олиш учун апикал меристема ҳужайраларининг чўзилиши ва бўлинишини стимуллашда фойдаланилади.

Гибберлинларнинг антагонистлари аналогларига нисбатан кишлоқ хўжалигида кенгроқ қўлланилади. Унинг деярли барча антагонистлари ретардант таъсирга эга.

*Брассиностероидлар аналоглари ва антагонистлари.* Ўсимлик ҳужайраларидан брассиностероидлар ажратилиши билан бир вақтда, унинг аналогларини ҳам синтезлаш ишлари амалга оширила бошланди. Ҳозирги кунга қадар синтезланган брассиностероид аналоглари уларнинг табиий фитогормонларидан ён занжир структураси билан фарқ қилади. Брассиностероид аналогларининг кўпроқ тарқалган турларига 22S, 23S-изомерлари, гомобрассинолид, норбрассинолид бирикмалари киради (В.А.Хрипач ва бошқ. 1993).

Брассиностероидлар ва уларнинг аналогларининг экдистероидлар билан антиэкдизонлар ролига кириб, экдизонли рецепторларга боғланиш кўра ўзаро муваффақиятли рақобатлаша олиши ҳақида ҳам маълумотлар мавжуд. Брассиностероидларга экдизонлар билан бир қаторда гомоксистероидлар синфининг бошқа баъзи вакиллари (хнограстеринлар, азерахол) ҳам структураси бўйича яқиндир.

Брассиностероидлар ва ауксинлар ўсимликлар илдиз тизимига таъсирга кўра фарқ қилади. Ауксинлар ён илдизларнинг ҳосил бўлишини стимуллайди, брассиностероидлар эса уларнинг ўсишига ингибиторлик таъсир кўрсатади. Брассиностероидларнинг юқори меъёри ўсимликлар ўсишини тўхтатиб, унинг ташқи ноқулай омиллар (совук уриш, қурғокчилик, иссиқ ҳарорат ва инфекциялар) га чидамлилигини оширади.

*Фузикокцилларнинг аналоглари ва антагонистлари.* Фузикокцилларнинг гибберлинлар билан аналогияси кучли бўлиб, уларнинг иккаласи ҳам ҳар томонлама юқори регулятор фаолликка эга, фитопатоген замбуруғлар томонидан синтезланади ва кимёвий бирикмаларнинг битта гуруҳи - дидитерпенларга киради.

Терпеноидларга brassinosterоидлар ва абсциз кислота ҳам мансуб бўлиб, бу фитогормонлар фитопатоген замбуруғлар томонидан синтезланади. Шу маълумотлар асосида Г.С.Муромцев (1987) фузикокциннинг гормон табиатли модда эканлиги ҳақидаги ўзининг тахминларини келтирган ва уларни ўсимлик хужайраларида ҳам аниклаган.

А.Баллио ва бошқа ҳаммуаллифлар томонидан (Ballio et al, 1979) плазматик мембранада молекуляр оғирлиги 40 минг далтон бўлган фузикокциннинг рецептори – гликопротеин аникланди. Фузикокцин плазмолеммада жойлашган фаол протонлар ташилиш тизимини бошқарувчи нафас олиш занжири билан ҳам ўзаро ҳамкорлик қилади.

*Этилен аналоглари ва антагонистлари.* 2-хлорэтилфосфон кислотанинг (2-ХЭФК, этефон)  $pH > 4.0$  бўлганда этилен ажратиб парчаланиш хусусияти аниқланганидан сўнг, ўсимликшуносликда этилен аналогларидан фойдаланиш имконияти пайдо бўлади.

2-ХЭФК асосида қўплаб препаратлар : этрел, кампозан, флордимекс, гидрел, дигидрел, декстрел ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. 2-ХЭФК ва унинг асосидаги препаратлар иссиқ конли организмлар учун умуман зарарсиздир. Гидрел ва дигидрел бундан мустасно бўлиб, уларнинг синтези учун симметрик бўлмаган диметилгидразиндан фойдаланилади, унинг мазкур препаратлардаги жуда кам миқдори ҳам уларнинг захарли ва мутагенлик таъсири юзага келтиради.

Этилен продуцентлари турли таъсирлар учун ажратувчи қаватни ҳосил бўлиши (барг билан поя, поя билан мева ўртасида), ўсимликларни тиним ҳолати ва чидамлилигини стимуллаш ва индукциялаш учун ретардант сифатида қўлланилади.

Сўнгги йилларда органик кремний асосида қатор этилен продуцентлари яратилган бўлиб, улар орасида стирел катта аҳамиятга эгадир, у 2-ХЭФК га ҳос бўлган камчиликлардан холи, бундан ташқари, иссиқ конли организмлар учун унинг захарли таъсири кам.

Баъзи ҳолларда, мевали дарахтларни мевасини тўкишини камайтиришда ва баъзи бир биотехнологик тадқиқотларда ўсимликдаги эндоген этиленнинг миқдорини камайтириш зарур бўлади. Бунинг учун этилен биосинтезини тўхтатувчи  $Ag^+$  аминосирка кислота (АСК) ризобиотоксин ва аминозтоксивинилглицин (АВГ) каби моддалардан фойдаланилади. Текин бу препаратларнинг нархи қиммат бўлгани учун унчалик кенг тиланилмайди.

*Абсциз кислота аналогли ва антагонистлари.* Абсциз кислотанинг ологик фаол структуравий аналоглари нархи юқори бўлгани учун оқ хўжалигида кам қўлланилади. Лекин унинг ҳосил бўлишини ошириш орқали ўсимликдаги миқдорини ошириш мумкин. Абсциз эта ҳосил бўлишининг индуктори ва стимулятори сифатда бошқа эгормон-этилен ёки унинг продуцентлари хизмат қилади.

Абсциз кислота миқдорининг ошиши, бу фитогормон томонидан сувни эғлаб туришга жавобгар стресс оқсиллар синтезининг индукцияланиши,

шунингдек ўсимлик тиним ҳолатини стимуллаш хусусияти билан боғлиқ ҳолда маҳсулотларининг исроф бўлишини камайтиришни таъминлайди.

Абсциз кислотанинг специфик антагонистлари ҳали аниқланмаган, носпецифик антагонистлари рўйхатига эса стимуляторлик таъсир характерига эга барча гормонларни киритиш мумкин.

**Биотехнологияда ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи фитогормон ва сунъий регуляторлар.** Ўсимликлар биотехнологиясида фиторегуляторлар каллус ҳосил қилиш, хужайраларнинг дифференцияланиши, регенерант-ўсимликлар ўсиши ва ривожланиши жараёнларини бошқариш имконини берувчи асосий воситадир.

**Онтогенезни бошқариш.** Ю.Сакс 1880-йиллардаёқ ўсимликларнинг асосий органлари - илдиз, поя, баргларининг дифференцировкаси ва ривожланишини бошқарувчи моддалар мавжудлиги ҳақида ўз тахминларини айтган, ҳамда уларни мос равишда ризоколин, кауликолин ва фалиоколинлар деб атаган эди. Ўша пайтда унинг замондошлари томонидан қўллаб қувватланмаган бундай гоялар вақт ўтиши билан ўз исботини топди. Уларнинг бундан кейинги ривожланиши буюк олим М. Х. Чайлахян (1988) томонидан таклиф этилган флориген назарияси билан давом этди. Флоригенларни кидириш бўйича ишлар ҳали тугалланмаган бўлсада, ауксин таъсирида илдизнинг ўсиши ва ривожланиши, ниҳолнинг цитокинин таъсирида ўсиши ва ривожланишини бошқарилиши ҳақидаги ҳозирги кундаги маълумотлар Сакс гояларининг ҳаққонийлигини тасдиқлагани каби, бу назариянинг қонуний ҳуқуққа эга эканлигини ҳам кўрсатди.

Қишлоқ хўжалик ўсимликлари биотехнологияси ривожлана бориши билан фитогормонларнинг органозонезни бошқариши ҳақидаги маълумотларнинг аҳамияти тобора ортиб бормоқда, чунки айнан фитогормонлар *in vitro* ўсимлик тўқималар ва хужайралари културасида турли муолажаларни амалга оширишда асосий қурол бўлиб хизмат қилади.

**Илдиз ҳосил бўлиши.** Ўсимликшуносликда новда, барг еки пояларда илдиз ҳосил бўлишини сунъий равишда бошқариш ҳамма вақт ҳам кенг қўлланилган, лекин бу усул кўп сарф-харажат ва меҳнат талаб этганлиги учун кўпайтиришнинг бу усулидан барча ҳолларда ҳам фойдаланиб бўлмайди. 1930 йиллар бошларида ауксиннинг кашф этилиши, унинг адвентив илдиз ҳосил бўлишини индуцирлаш ва илдиз тизимининг ривожланишини стимуллаш хусусиятлари аниқлангандан сўнггина деярли барча турдаги ўсимликларни ёппасига қаламчалаб кўпайтириш имконияти пайдо бўлди.

Ҳозирги кунда фан-техниканинг юксак тараққиётига қарамасдан ўсимликларни кўпайтиришда - қаламчаларга экишдан олдин ауксиннинг аналоги билан ишлов бериш орқали илдиз оттириш усулининг моҳияти ўзгармасдан қолди.

Адвентив илдизлар камбий хужайраларидан ҳосил бўлади. Айниқса камбий тўқималари бўлинишининг максимал фаоллашган даврида бу

жараёнинг самараси юқори бўлади. Меристема тўқималари хужайраларидан илдизларнинг шаклланиши генетик детерминланган бўлади. Ризогенезга олиб келувчи генетик дастурларнинг транскрипциясидаги ўзгаришлар ауксин томонидан назорат қилинади. Ауксин муайян рецептор билан ўзаро алоқасидан сўнг ва мос гормон – рецептор комплекси ҳосил бўлгандан кейин, илдиз ҳосил бўлишига олиб келувчи ва метаболизмни ўзгартирувчи ферментлар генларининг оперонларидан репрессор куршовини йўқотишга олиб келувчи жавоб тизимини ишга туширади.

Ауксиннинг барча сунъий аналоглари ҳам илдиз ҳосил бўлишини индуцирлаш хусусиятига эга эмас. Лекин ауксиннинг индолил-3-мой кислота (ИМК) ва нафтилсирка (НСК) кислота каби сунъий аналоглари таъсири ҳақиқий табиий гормон ИСКнинг таъсиридан бирмунча кучлироқдир. Бунинг сабаби сунъий аналогларнинг хужайрадаги тургунлигининг юқорилиги ва уларнинг гормонларни дезактивацияловчи ферментларга кам ўхшашлигидир. Шу билан бир вақтда ауксиннинг бошқа аналогли 2,4-дихлорфеноксисирка кислота (2,4-Д) ризогенез чақириш хусусиятига деярли эга эмас, ва бу моддадан узок вақт фойдаланилганда тўқималар илдиз морфогенезга бўлган қобилиятини йўқотади.

Сунъий ауксинларнинг илдиз ҳосил қилиш фаоллиги витаминлар ва кўпинча аскорбин кислотаси билан биргаликда қўлланилганда стимулланади.

Бошланғич ўсимликларга ретардантлар билан олдиндан ишлов бериш ҳам илдиз ҳосил бўлишини сезиларли даражада стимуллайтиди. Регуляторларнинг бундай таъсири земляника, картошка, олма, олча, қорғоқ, крижовник ва бошқа ўсимликларда аниқланган. Барча ҳолатларда

бошланғич ўсимлик қаламчалар кесилишидан олдин, ёки стемалар ажратилишидан олдин, ретардантлар билан ишлов берилган ликларнинг илдиз тизими яхши шаклланган. Бундай таъсирни бир а сабаблар билан тушунтириш мумкин, улардан энг ҳақиқатга яқини, ин ва гибберлинларнинг илдиз ҳосил бўлиши жараёнига таъсири ва улар орасидаги антагонизмидир. Антигибберлинлик хусусиятига лган ретардантлар, гормонлар нисбатини ауксиннинг фойдасига иш орқали ризогенез жараёнини стимуллайтиди.

л ҳосил бўлиши. Ниҳолнинг органогенези цитокинин гуруҳи лонлари томонидан назорат қилиниши, барча турдаги ларнинг каллусли культураларида аниқланган. Цитокининларнинг муҳтида иштирок этиши каллусда куртак ҳосил бўлишини ирлайди. Каллусда вегетатив куртаклар шаклланишини стимуллашга лтирилганда озика муҳтидаги ауксин ва цитокининларнинг абсолют даражасига ва бу фитогормонларнинг нисбатига эътибор қаратиш лозим.

Ф.Скуга ва К.О.Миллер томонидан тамакининг дифференция-ланмаган каллус тўқималари онтогенезини бошқаришда цитокининлар қатнашини аниқланган. Тажрибаларда ИСК ва кинетин ёрдамида каллусда илдиз ва ниҳоллар ҳосил бўлиши чақирилган.

Нихол органогенезидаги доимий ҳоллардан бири кишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришда муҳим аҳамиятга эга тугунакларнинг ҳосил бўлишидир. Бу жараён ауксинлар томонидан тўхтатилади, каллус культурасида органогенез билан параллел ўтказишга йўл қўяди ауксинларнинг оширилган меъёри таъсирида илдиз ҳосил бўлади ва тугунакларнинг шаклланиши тўхтайди.

М. Х. Чайлахян ва бошқа тадқиқотчи олимларнинг фикрига кўра илдиз ҳосил қилишни фитогормонлар орқали бошқариш гибберлинлар ва абсцис кислота ёрдамида (АБК) куйидаги тартибда амалга оширилади: олдин гибберлинлар таъсирида ниҳолларни ҳосил бўлиши ва ўсиши стимулланади, навбатдаги босқичда АБК таъсирида ниҳоллар ўсиши тўхтатилиши натижасида улар йўғонлашади ва ниҳолларда тугунаклар шаклланади. Картошка ўсимлигига АБК билан ишлов берилганда тугунаклар массасини ошириш хисобига ҳосилдорлиги анча юқори бўлади.

*Каллус ҳосил бўлишини гормонлар орқали бошқариш.* Ўсимликлар биотехнологияси ишларининг асосий босқичларидан бири, ниҳол, барг ва илдизнинг дифференцияланган тўқималаридан каллус тўқимасини олиш билан боғлиқ. Каллус тўқималари олишнинг асосини ўсимлик эксплант хужайраларининг дедифференцияланиши, уларни меристематик, бўлинаётган ҳолатига қайтариш ташкил этади. Бунинг учун 1) хужайраларнинг бўлиниш жараёнига тўсқинлик қилаётган хужайранинг структура элементлари модификацияси (иккиламчи қалин хужайра қобигининг юпқаланиши); 2) митоз жараёнига жавобгар генларнинг экспрессияси амалга ошириш зарур.

Ўсимликларнинг шикастланган жойи каллус тўқимаси билан тез қопланиб, сўнг дифференцияланади. Кўп ҳолларда каллус меристема тўқималаридан, асосан камбийдан ҳосил бўлади. Бундай ҳолларда хужайра структураларининг модификациясига эҳтиёж пайдо бўлмайди.

Кўпинча *in vitro* шароитида каллус ҳосил қилиш учун эксплант дифференциалланиши жараёнини стимулловчиси сифатида таркибида юқори миқдорда ауксиннинг суъый аналоги 2,4-Д тугувчи озика муҳитига экилади. Бундай стимуллашнинг механизмни ауксиннинг: "нордон ўсиш" самараси хисобига хужайра қобикларининг юпқаланиши билан боғлиқ бўлган протон помпаларининг фаоллашиши, хужайра қобигининг қисман гидролизланишини юзага келтирувчи қатор ферментлар синтезининг индукцияси, шунингдек, ДНК репликациясини индукциялаш каби регуляторлик таъсирлари билан тушунтириш мумкин. Бундан ташқари, шуни ҳам таъкидлаб ўтиш лозимки, айнан 2,4-Д цитокининнинг таъсири каби билан нуклеин кислоталар синтезини кучайтириш орқали хужайралар бўлинишини стимуллайдди.

Каллус тўқималари узок вақт ўстирилганда улар шиш тўқималарига яъни ўсиши организм томонидан назорат қилинмайдиган тўқималарга айланиши мумкин. Бунинг сабаби, тўқима ўзининг бўлиниши учун зарур бўлган фитогормонлар (ауксин ва цитокинин) ни бошқа органлардан олмай, ўзини ичида синтезлаш хусусиятига эга бўлишидир. Ташқи

мухитдаги фитогормонлар концентрациясининг ўзгаришига таъсирланмайдиган *in vitro* культурасидаги шиш тўқималари, гормонга боғлиқ бўлмаган ёки “мослашган” тўқималар дейилади.

Гормонга боғлиқ бўлмаслик ҳолатининг пайдо бўлиши ўсимликлар биотехнологияси имкониятларини чегаралаб қўяди, чунки бу хусусиятга эга тўқима хужайралари дифференциаланиш, сўнгра етук ўсимлик регенерациялашга умуман кодир эмас. Гормонга қарам бўлмаслик сабаблари ва механизмини ўрганиш жуда муҳим бўлиб, нафақат кишлоқ ҳўжалик биотехнологияси муаммоларини ҳал қилишда, шунингдек инсонлардаги онкологик касалликларни даволаш йўлларини топишда ҳам ёрдам бериши мумкин.

Каллус тўқималарини узоқ вақт ўстирилганда гормонга боғлиқ бўлмаслигини енгиш учун фитогормонлар ва уларнинг рецепторларининг ортиқча синтезини тўхтатишложим. Немис тадқиқотчилари тамакининг ауксинга боғлиқ бўлмаган морфогенезни индукциялаш бўйича жуда қизиқарли натижалар олишган, озиқа муҳитига бошқа фитогормонлар – брассиностероидлар киритилганда, каллус эмбрионид структуралар пайдо қилиш қобилиятини пайдо қилган. Каллуснинг морфоген қобилиятини оширишнинг яна бошқа йўли, каллус тўқималари ўсаётган озиқа муҳитга этилен ҳосил бўлишини тўхтатувчи сифатида кумуш нитратнинг киритилиши эмпирик равишда топилган.

#### 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. Хужайрада ҳосил бўлган моддаларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва модификациялаш усуллари

##### Режа:

1. Ўсимликларда ҳосил бўладиган метаболитларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва модификациялаш усуллари

Хужайрада ҳосил бўлган моддаларни тоза ҳолда ажратиб олиш усуллари

Ажратиб олинган моддаларни концентрациялаш ва сувсизлантириш

Ўсимликларда ҳосил бўладиган метаболитларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва модификациялаш усуллари. Биотехнологик жараён қўзланган маҳсулотни олиш билан якунланади. Лекин бу жараён олинадиган маҳсулотни қаерда ҳосил бўлишига қараб (яъни хужайранинг ичида ип ёки ўстириладиган

суюкликдами ёки хужайранинг массасидами) ўзаро бир – бирдан фарқ қилади. Хужайра ичида ҳосил бўладиган маҳсулотни ажратиб олиш энг кийиндир.

Керакли маҳсулотни ажратиб олиш технологияси асосан унинг табиатига боғлиқ. Масалан ферментлар (протезалар, целлюлозалар ва бошқалар) органик эритувчилар ёки сульфат аммони ёрдамида чўктиришга асосланган таризда олинган ферментларни тоза ҳолда ажратиб олиш шарт эмас, чунки халқ хўжалигида физик ва кимёвий хусусиятлари билан бир – бирига яқин бўлган оксидан иборат аралаш ферментлар кенг қўлланилади. Шу билан бир қаторда эндо- ва экзонуклеазалар, лигаза ҳар бирини алоҳида ажратиб олиш учун босқичли, мураккаб жараёнда амалга оширилади.

Керакли маҳсулотни ажратиб олишнинг биринчи босқичи хужайра ўстирилган суюклик билан биомассани бир – бирдан ажратиш, яъни сепарация қилиш ҳисобланади.

Сепарация қилишнинг бир қанча усуллари мавжуд бўлиб, шулардан айримлари қуйидагилардир:

**Флотация усули.** Бу усул ажратиб олинadиган модда ўстириладиган суюклик юзасида ҳосил бўлиб, ҳўлланилмайдиган хусусиятга эга бўлса қўллаш мумкин.

Флотация усулини иктисодий жиҳатдан самарадор, нисбатан маҳсулдор ва узлуксиз жараёнлар учун тавсия этса бўлади.

**Фильтраш усули.** Бу усул ғовак фильтр тўсиқларида биомассани тутиб қолишга асосланади. Ғовак фильтр тўсиқлари орасидаги тешикларнинг керакли диаметри бир оз катта бўлса ҳам амалий жиҳатидан унинг самарадорлигига таъсир қилмайди. Чунки биомасса бу тешиклар орқали ўтиши туфайли унинг диаметри кичрашиб қолади. Бу эса кейинчалик суюқ-ликни ўтишига таъсир қилиб, натижада суюклик бутунлай ўтмаслиги мумкин. Баён этилган камчилиكنи хаво роқали сўриб олиш йўли билан камайитириш мумкин.

Фильтрлашнинг бир ва кўп марта ишлатиладиган қурилмалари мавжуд.

**Центрифугалаш усули.** Бу усул айланма ҳаракат туфайли марказдан қочувчи кучни юзага келтириш асосида керакли моддаларни чўктириб олишга асосланган.

Кўпинча центрифугалаш усули фильтрлаш усули билан биргаликда олиб борилади.

**Хужайрада ҳосил бўлган моддаларни тоза ҳолда ажратиб олиш усуллари.** Ўстирилган хужайра биомассасидан керакли бўлган моддани соф ҳолда ажратишнинг бир неча усуллари мавжуддир. Бу усуллар қуйидагилардир.

**Чўктириш усули.** Чўктириш физик (қизитиш, совутиш, суюлтириш ёки қуюлтириш) ва кимёвий йўл билан олинadиган моддани ёмон эрийдиган моддага айлантиришга асосланади.

Масалан: каллий бирикмалари таъсирида пенцилин антибиотикни кристаллар ҳосил қилиб ажралади. Оксидларнинг эса аммоний сульфат, этанол ва ацетон қўшиб ажратиб олиш мумкин. Нуклеин кислоталар эса полиминлар ёрдамида ажратиб олинади.

**Экстракция усули.** Бу усул каттик – суюқ яъни бу боскичда олинадиган модда каттик ҳолатдан суюқ ҳолатга ўтади ва суюқ – суюқ ҳолатли боскичларда (бир суюқ ҳолатдан иккинчи суюқ ҳолатга ўтади) кечади.

Экстракция усулининг каттик – суюқ боскичи каттик моддалардан сув ва органик эритувчилар ёрдамида эрийдиган моддаларни ажратиш олишга асосланади (ҳужараларни каттик озиқа муҳитда ўстирилганда).

Экстракция усулининг суюқ – суюқлик ҳолдаги боскичи органик эритувчилар ёрдамида суюқлик ичидан кевкли моддани ажратиш олишга асосланади (антибиотиклар, витамин, каротиноидлар ва липидларни ажратишга асосланади).

**Адсорбция усули.** Суюқ ёки газ ҳолдаги моддаларни каттик моддаларда ушланиб қолишга асосланади. Адсорбция учун писта, қўмир ва лойдан фойдаланиш мумкин. Бу усул билан суюқликдан антибиотик витаминлар ажратиш олинган.

Ҳозирда экстракция ва адсорбция усулларига асосланган бир қатор усуллар мавжуд. Улар қуйидагилардир:

а) **Хроматография усули.** Бу усул орқали моддаларни ажратиш, ўзаро қўшилиб кетмайдиган бири ҳаракатдаги иккинчиси ҳаракатсиз икки муҳитни таъсирига асосланади. Хроматография учун қўпинча коғоз ва турли хил пластинкалар ишлатилади. Масалан: коғоз ишлатиладиганда эритувчи сифатида бутанол ишлатилади. Бу ҳолатда бутанол ҳаракатидаги коғоз толалари ҳаракатсиз муҳитдир. Моддаларни ажратиш олиш учун ана шу модда ҳаракатдаги ва ҳаракатсиз муҳит таъсирида бўлиши керак.

б) **Электрофарез усули.** Аралашма кучли электр майдонига жойлаштириш туфайли ионларни ҳаракатлантиришга асосланади. Турли зарядга эга бўлган ионлар пластинкаларга тўпланади.

Бу усул ген мкхандислигида кенг қўлланилади.

**Ажратиш олинган моддаларни концентрациялаш ва сувсизлан-тириш.** Ҳужайрадан ажратиш олинган моддаларнинг энг биринчи навбатда концентрацияси оширилади. Моддаларнинг концентрациясини оширишнинг бир неча усуллари мавжуддир. Бу усуллар қуйидагилардир:

а) **Осмоз усули** сувда эриган моддаларни ўзида ушлаб, сувни эса ўтказадиган мембраналардан фойдаланишга асосланади. Бунинг учун мембранадан қилинган ҳалтача ичига ажратишга мўлжалланган суюқлик солинади ва эритувчи суюқлик бор идишга ботирилиб қўйилади. Сўнгра ҳалтача ичида босим оширилади, натижада сув ташқарига чиқиб ҳалтачадаги модда концентрацияси ошади.

б) **Ультрафилтрлаш усули.** Бу усул мембрана филтрлашлари ёрдамида моддаларни ажратиш олишга асосланади. Ультрафилтрлаш усули бошқа усуллардан нисбатан оддийлиги ва олинадиган моддаларни таркибига таъсир асалиги билан ажралиб туради.

в) **Буглантириш усули.** Бу усул ажратиш олинган моддаларни қиздириш билан унинг таркибидаги сув ёки турли хил эритувчиларни буглантириб ажратишга асосланади.

Хужайра ўстириш туфайли ажратиб олинган моддаларни концентрация-си оширилгандан сўнг бу моддалар сувсизлантирилиши мумкин. Сувсиз-лантириб куриштишнинг ҳам бир қатор усуллари мавжуд.

а) Ёйиб куриштиш усули. Бу усул қадимги усуллардан бўлиб қиздирилган патнус ёки тасмалар сиртига қўйиб куригилади. Қўпинча бу йўл билан антибиотик ва аминокислоталар олинади.

б) Газ ёрдамида куриштиш усули. Қўшимча бу мақсад учун буг усули  $\text{CO}_2$  ва бошқа газлардан фойдаланилади. Қиздирилган газ махсус қурилманинг остки томонидан юборилади, натижада унинг ичидаги моддалар сувсизлантирилади. Бу усул антибиотик, аминокислота ва крахмал олишда ишлатилади.

в) Вакумли шкафларда куриштиш усули. Иссиқлик таъсирида парчаланадиган моддаларни ажратиб олишда босим ва ҳароратни пасайтириб куриштишга асосланади.

г) Пуркаш билан куриштиш усули. Ажратиб олинган модда айланиб турган форсункалар орқали босим таъсирида  $+110^\circ - 150^\circ \text{C}$  ҳароратли куриштиш камералари ичига пуркашга асосланади.

Бу усул иссиқда парчаланмайдиган моддаларни олишда ишлатилади қўпинча силослар тайёрлаш учун ишлатиладиган ачитқилар олишда қўлланилади.

**Чўктириш усуллари ва унинг назарияси.** Саноат учун зарур бўлган кўпчилик ферментлар сувда эрувчан оксиллардир. Фермент эритмалари олиниш манбаларига қараб микроорганизмлар лизатлари, экстрактлари, культурал суяқлик филтратлари, ўсимлик ёки хайвон тўқималари гомогенатлари бўлиши мумкин. Бу фермент эритмалари таркиби жуда мураккаб тизимга эга. Унда ферментлардан ташқари коллоид табиатига эга бўлган ҳар хил бирикма ва моддалар ҳам учрайди. Бундай мураккаб тизимлардан ферментларни ажратиб олиш мушкул вазифадир.

Ферментни кўпроқ ва фаол ҳолда ажратиб олишни таъминлаш учун барча эҳтиёткорлик чораларини кўриш даркор.

Маълумки, оксилнинг гидрофоб гуруҳлари оксил молекуласи ичида тўпланишига ҳаракат қилади, лекин уларнинг етарлича миқдори молекула сиртида жойлашади. Оксилни ҳар хил эритувчиларда эриш даражаси молекула сиртида гидрофоб ва гидрофил қолдиқларнинг тарқалиши билан белгиланади.

Оксилларни асосий эритувчиси бўлиб ҳисобланмиш сувнинг баъзи хусусиятларини (ҳарорат, pH, ион кучи, нейтрал тузлар, органик эритувчилар ёки инерт бирикмаларни қўшиши йўли билан) ўзгартириш ҳисобида, оксил молекуласининг гидрат ёки сольват қатламга таъсир қилиб агрегацияга учратиш ва чўкмага тушириш мумкин. Саноатда асосан органик эритувчилар ёки тузлар билан чўктиришдан фойдаланилади. Бу усуллар бир-биридан чўктириш механизми билан фарқ қилади.

**Нейтрал тузлар ёрдамида чўктириш.** Ферментларни тузлар ёрдамида чўктириш жараёни асосан оксил молекуласини гидрофоблиги даражасиғи боғлиқ. Типик оксил молекуласи сиртида бир қанча аминокислоталар (тирозин, триптофан, лейцин, изолейцин, метионин, валин ва фенилаланин) занжири

шаклида ёпишган гидрофоб қисмларга эга. Оксил молекуласининг гидрофоб қисми сув билан тўқнашганда сув молекулалари билан мўлжалланган кават ҳосил бўлади ва шу жойлар “музлатилган” ҳолатда бўлади. Бундай тартибли структуралар термодинамик жихатдан чидамли эмасдир. Агарда сув молекулаларини оксил табиатига ўхшамаган моддалар билан иммобилизация қилинса, оксил молекулалари ўзаро таъсирга кириб агрегатлар ҳосил қила бошлайди.

Маълумки тузларнинг ионлари гидратланади, агарда оксил эритмасига маълум миқдорда туз қўшилса у сув билан боғланади ва сувдан бўшаган оксил молекулалари агрегатлар ҳосил қилади. Туз ионлари қанча кўп бўлса, оксилларнинг агрегатланиши ҳам шунча кучаяди ва чўкмага тушиши ортади.

Тузлар билан чўктириш жараёни таъсирига кўра ҳар хил оксилларда ҳар хил бўлади. Бу биринчидан, оксил молекуласи сиртидаги гидрофоб қисмларнинг миқдори ва ўлчамига боғлиқ, қанча шундай қисмлар кўп бўлса шунча оксил тез чўкмага тушади. Баъзи оксиллар борки тузларнинг энг юқори миқдорида ҳам чўкмага тушмайди. Чўктириш жараёнида оксиллар ёнида турган бошқа оксиллар билан ҳам агрегат ҳосил қилиб чўкмага тушиши мумкин. Бунда бир қанча ферментлар комплексини олиш мумкин. Лекин фракцияларга бўлиб чўктирилса, бир мунча юқори натижага эришиш мумкин. Оксилларни тузли эритмаларда эрувчанлиги Коннинг эмпирик тенгласига бўйсунди.

$$\lg S = \lg S_0 - k_{\mu},$$

бунда,  $S$ ,  $S_0$  – оксилнинг тузли эритма ва тоза сувдаги эрувчанлиги;

$k_{\mu}$  – тузлаш константаси;

$\mu$  – эритманинг ион кучи.

Тузлар билан чўктириш жараёнини унумли ўтказиш учун  $k_{\mu}$  кўрсаткичи иложи борица катта бўлиши керак.  $k_{\mu}$  кўрсаткичи тузнинг табиатига боғлиқ бўлиб, водород ионлари миқдorigа боғлиқ эмас.

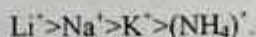
Ушбу жараён гидрофоб ўзаро таъсирга асосланган бўлсада унинг боришига таъсир қилувчи бошқа омиллар ҳам мавжуддир. Улар: муҳит рН кўрсаткичи, ҳарорат, фермент эритмаси тозаллиги даражаси, жараёни ўтказиш муддати ва бошқалардир.

Туз билан чўктиришда асосан ишқорий металлларнинг нейтрал тузлари ишлатилади. Ҳар хил ионларнинг чўктириш самарадорлиги уларнинг ион чига боғлиқ.

Чатрий тузлари анионларини тузлаш таъсири кучига қараб қуйидагича аштириш мумкин:



онларни эса қуйидагича жойлаштириш мумкин:



Фермент препаратларини туз ёрдамида чўктирилганда уларнинг таркибида

60–85% гача ҳар хил балласт қўшимча моддалар учраши мумкин. Ушбу жараённинг энг кийин босқичи, бу–тузни қўшиш ва уни эритишдир. Эритмада тузнинг локал миқдорини ошириб юбормаслик учун у аввал майдаланиб, секин асталик билан маълум бир қисмдан қўшиб борилади ва тинимсиз аралаштириб турилади. Аралаштириш давомида кўпик ҳосил бўлишига йўл қўймаслик керак. Жараён эриган ва агрегатланган оксилларнинг мувозанати ҳосил бўлгунча 20–40 мин, баъзида бир неча соат давом этади.

Туз билан чўктириш жуда ҳам кўп омилларга боғлиқ бўлган мураккаб технологик жараёндир. Шунинг эса туттиш керакки, туз ҳеч қачон ферментни бутунлай чўқтирмайди, балки унинг эрувчанлигини пасайтиради ҳолос. Агарда эритмада 1 мг/мл оксил бўлса, унинг 90% и чўкмага тушиши мумкин, лекин эритмада бор– йўғи 0,1 мг/мл оксил бўлса ҳеч қандай фермент препаратини олишнинг иложи бўлмайди.

Нейтрал тузлар билан оксилларни чўқтириб фермент препаратларини олиш усуллари асосан чет элларда кенг тарқалган.

**Органик эритувчилар ёрдамида чўктириш.** Ферментларни сувда эрувчан органик эритувчилар билан чўқтириш усуллари саноат миқёсида кенг қўламда қўлланилади. Оксилларни чўқтириш самараси органик эритувчилар таъсирида сувнинг фаоллигини камайиши билан узвий боғлиқдир.

Эритувчининг миқдори ортиши билан ферментнинг зарядланган гидрофил молекулаларини сув таъсирида солватланиш қобилияти пасаяди. Оксилнинг гидроб қисмидаги сув молекулалари органик эритувчи томонига ўта бошлайди ва натижада ферментнинг эрувчанлиги пасаяди. Оқибатда оксил молекулалари агрегатланади ва чўкмага тушади.

Оксилларни агрегатланиши электростатик ва Ван – дер – Ваальс кучлари таъсирида, алоҳида жойлашган оксил молекулалари ўртасида юзага келади.

Оксилларни агрегатланиши жараёни ва чўкма ҳосил бўлиши чўқтиришнинг бир қанча омилларига боғлиқдир. Шулардан бири оксил молекуласининг ўлчамидир. Чўқтириш жараёнида оксил молекуласининг ўлчами қанчалик катта бўлса, эритувчининг салбий таъсир қилувчи миқдори шунчалик паст бўлади. Бу боғлиқликка молекуланинг гидрофоблик даражаси, солват қаватига чидамлилиги ва бошқа омиллар таъсир қилиши мумкин.

Чўқтириш учун ишлатиладиган органик эритувчи сув билан тўлиқ аралашishi ва фермент билан эса алоқада бўлмаслиги керак. Асосан бу жараён учун этил спирти, ацетон ва изопропил спирти кенг қўлланилса, метанол, н-пропанол, диоксан, 2-метоксиэтанол ва бошқа спиртлар, кетонлар, эфирлар ва уларнинг аралашмалари камроқ ишлатилади. Эритувчиларни танлашда уларнинг токсиклигига, портлаш хавфидан ҳолислигига ва регенерация бўлиш қобилиятига эътибор бериш керак. Ишлаб чиқариш учун этил спирти ва изопропанол энг яроқли бўлиб ҳисобланса, ацетоннинг кўрсаткичлари эса сал пастроқдир. Булар орасида энг истиқболлиси изопропанолдир. Бу эритувчилар ёрдамида ферментларни комплексларга ажратиш ёки фракциялар ҳолида чўқтириб олиш мумкин.

Фермент препаратларини чўқтириш учун нафақат эритувчининг табиати ва

микдори, балки электролитларнинг иштироки, чўктириш харорати, муҳит pH кўрсаткичи, курук моддаларнинг таркиби ва микдори каби бир қанча омилларга эътибор бериш керак.

Чўктириш эритмасида баъзи ионларнинг учраши фермент мўтадиллигига таъсир қилиши мумкин. Масалан,  $\text{Ca}^{2+}$  ионлари  $\alpha$ -амилаза, протеиназа, глюкоамилаза ферментлари фаоллигига ижобий таъсир қилса, магний, марганец, кобальт каби металл ионлари химия вазифасини бажаради.

Шулар билан биргаликда баъзи металлларнинг ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  ва х.к.) ионлари салбий таъсир кўрсатади ва уларнинг эритмада бўлиши мақсадга мувофиқ эмасдир. Эритмада электролитларнинг бўлиши эритувчи сарфини камайтиришга ва чўкма структурасини яхшилашга хизмат қилади.

Фермент эритмаси ва эритувчининг харорати фермент чўктириш жараёнида паст бўлишга ҳаракат қилиш керак. Спирт ва ферментнинг сувли эритмаси аралаштирилганда иссиқлик ажралиб чиқади ва аралашма харорати  $5-10^{\circ}\text{C}$  га кўтарилади. Агарда спирт олдиндан совутилган бўлмаса ферментларнинг инактивациясини кузатиш мумкин. Бу ҳодиса нафақат термоинактивацияга, хаттоки фермент молекуласини денатурациягача олиб келади.

Фермент препаратларини чўктиришда pH кўрсаткичи жуда катта аҳамиятга эга. Бир хил фермент эритмасидан ҳар хил pH кўрсаткичи таъсирида бир-биридан чўкмаси микдори ва фермент фаоллиги билан фарқ қилувчи препаратлар олиш мумкин. Маълумки ферментлар ўзларининг изоэлектрик нуқталарида оксил агрегатлари ҳосил қилиб тўлиқ чўкмага тушади. Оксилларни изоэлектрик нуқталарида чўктирувчи реагентлар ишлатмай чўктириш жараёни изоэлектрик чўктириш дейилади.

Органик чўктирувчиларни изоэлектрик нуқта pH ига яқин pH да қўллаш ферментларни осон чўктириш ва эритувчини кам микдорда сарфлаш учун хизмат қилади. pH кўрсаткичи изоэлектрик нуқтадан четга чиқса, чўкма унуми ва фермент фаоллиги 30-50% гача йўқотилади.

Фаол ферментни препарат ёки мўтадил структурали чўкма ҳолида олиш учун эритмада 10-12% атрофида курук модда микдори бўлиши керак. Кўп тадқиқотлардан маълумки, ферментларни чўктиришда, айниқса протеолитик ферментларни, курук модданинг энг мўтадил микдори 10% бўлиши керак.

Юқорида қайд қилинган омиллар каторида фермент эритмаларини эритувчи билан алоқада бўлиш муддати ҳам катта аҳамиятга эга. Фермент саноатида ҳтовсиз ишлайдиган чўктирувчиларда ушбу вақтни жуда ҳам қискартиришга ишлагандир, бу албатта фермент фаоллигини камайтиришни олдини олади.

Органик эритувчилар билан чўктириш самарадорлиги шу жараёнга алланган ускунага ҳам узвий боғлиқдир. Бундай ускуналар асосан энг эритмаларини қабул қилгич, тўхтовсиз аралаштиргич, фермент таси ва эритувчини тўхтовсиз равишда узатувчи контурлар, сепаратор ва матизация тизимларидан тузилган бўлади. Цилиндр шаклидаги аралаштиргичдан фермент эритмаси ва эритувчи мураккаб ҳаракат йўналиши бўйлаб қисқа вақт ичида аралашиб ўтади ва натижада ҳосил бўлган аралашма сепаратор қисмига узатилади.

Сепараторда чўкмага тушган оксил моддалари ажратиб олинади. Бундай курилмада фермент билан эритувчининг алоқа муддати ўн маротабагача қисқартирилади ва ферментнинг чўкмага тушиш унуми 15-20% гача ортади. Сепараторда ажратилган чўкма ҳар хил усуллар билан мўтадил шаронгта куришиб олинади. Чўкма тепасида қолган суюқлик таркибида 50-75% гача эритувчи улуши бўлади ва ректификация бўлимида регенерация қилишга юборилади.

Органик эритувчилар билан чўктириш унуми продуцент ўстирилган озика муҳити таркибига ва фермент препаратини қуюклаштирилганлик даражасига ҳам боғлиқдир.

**Ферментларни тозалаш усуллари.** Ферментлар ва бошқа оксил моддалари ҳар хил эримайдиган бирикмаларга адсорбцияланиш (сўрилиш) қобилиятига эга. Бу хусусият оксил аралашмаларини ажратишда ва айниқса ферментларни лаборатория шаронгта тозалашда ҳамда гомоген бўлган фермент препаратларини олишда ишлатилади. Адсорбция усули, шу билан бирга колонкали хроматография усуллари ферментларни юкори даражада тоза ва кўп миқдорда олиш имконини беради.

Оксилларнинг муҳим адсорбентлари бўлиб ҳар хил ионалмашувчилар, яъни кальций фосфат, алюминий гидроксид, геллари ва маълум типдаги ферментлар учун махсус бўлган ҳар хил аффин адсорбентлар ҳисобланади. Ферментларни тозалаш ва оксилларни ажратиш технологияси қандай типдаги усулнингга қарамай қуйидагиларга асосланади.

Фермент махсулотини ўз таркибига олган оксиллар аралашмаси маъқул бўлган эритувчида (буферда) эритилади ва шу эритувчи билан мувозанатланган колонкага юборилади. Кейин шу колонкадан маълум таркибга эга бўлган буферни ёки миқдори ўсиб боровчи градиентли ювиш эритмаси, ёки бўлмаса ушбу фермент учун махсус бўлган боғловчи (лиганд) ёрдамида оксил босқичма-босқич ювиб олинади. Колонкадан ювиб олинган фермент препаратлари фракциялар тқпларида йиғилади ва ферментнинг тоза препаратини олиш учун бошланғич материал бўлиб хизмат қилади.

**Ионалмашув хроматография усули.** Бу усулда оксиллар электростатик куч ёрдамида боғланадилар, яъни бу ҳодиса зарядланган оксил сиртлари ва зарядланган ионалмашув бирикма гуруҳларининг зич қатлами ўртасида юзага келади.

Типик ионалмашувчи сифатида бўктирилган диэтиламиноэтилни (ДЭАЭ-) ёки карбоксиметил (КМ-) целлюлозани кўрсатиш мумкин. Улар бўктирилган ҳолатда зарядли гуруҳларнинг 0,5 М миқдорига эга бўлади. Бу зарядлар колонкада қарама-қарши бўлган ионларни (метал ионлари, хлор ионлари, буфер ва х.к.) нейтраллайди. Одатда оксилнинг умумий заряд белгиси ион алмашувчига ўтирган ион белгиси билан бир хил бўлади ва колонкадан ўтиш жараёнида айнан уни сиқиб чиқаради. Шунинг учун ҳам бу жараён хусусиятига қараб "ион алмашув" жумласи қўлланилади.

Колонкада адсорбланган керакли оксилни ювиш учун аффин усулидан ташқари икки усулдан фойдаланилади.

Биринчи усул - буфернинг рН кўрсаткичини маълум даражага ўзгартириш

билан ион кучини ошириб, адсорбент ва оксил ўртасидаги электростатик ўзаро таъсирни камайтиришдир. Бу усул умуман яхши натижа бермайди. Чунки буфер ҳажминини кичик бўлганлиги учун рН кўрсаткичинини бирданига ўзгартириш оксил аралашмалари ва бошқа бирикмаларнинг ёмон ажралишига сабаб бўлади.

Кейинги йилларда бу усул хроматофокус усулига ўтказиш йўли билан такомиллаштирилмоқда. Бунда ювиш жараёнида амфолит типидagi буфер ҳажми юқори бўлган буферлардан фойдаланилади ва шу усул кейинчалик саноат миқёсида ўз ўрнини топиши мумкин.

Иккинчи усул - кенг миқёсда фойдаланилаётган калий ёки натрий хлорид тузлари ёрдамида градиент тузишга асосланган. Туз ионлари иштирокида мустақил оксил ва адсорбентлар ўртасидаги ўзаро тортиш кучи камаяди. Туз ионлари миқдорининг ошиши билан адсорбентга боғланган оксиллар ўз ўринларини уларга бўшатадилар ва ўзлари колонкадан ювилиб чиқа бошлайдилар. Шу билан бирга туз ионлари таъсирида адсорбентлар ўзаро яқинлашиб оксил ҳаракати учун тор йўллар ҳосил қилади ва бу ҳодиса ферментларни колонкадан чиқишида фракцияларга ажратиб олиш имконини беради.

Ионалмашувчига боғланган ферментни аффинли ювиш ёрдамида ажратиш мумкин. Бунинг учун колонкага оксил билан боғланадиган махсус лиганд юборилади. Бунда оксил лиганд билан биргаликда тезда колонкадан ювилиб чиқади. Лекин керакли оксилни танийдиган ва уни сорбентдан ажратиб оладиган лигандни топиш жуда мушкул вазифадир. Шу билан бирга лиганднинг қандай зарядланганлиги ва миқдorigа алоҳида эътибор бериш керак. Акс ҳолда қарама-қарши ҳолатда лиганд ўзи ионалмашувчига боғланиб қолиши мумкин.

**Аффинли (биоспецифик) хроматография усули.** Бу усул оксил ва ферментларни тозалаш ва ажратишнинг адсорбция ҳодисасига асосланган лари ичида алоҳида ўринни эгаллайди. Кўпинча уни аффинли хроматография ёки биоаффинли, ёки биоспецифик хроматография дейилади. Маълумки барча биологик фаол бирикмалар, хусусан ферментлар ҳам андлар ёки аффинли лигандлар деб номланадиган бирикмаларга махсус ланиш хусусиятларига эгадир. Агарда шундай лигандларни инерт матрицага тент боғланса фақат керакли ферментни ушловчи ва қолган оксил ва ларни ўтказиб юбуровчи махсус адсорбентни олиш мумкин.

Усул ювувчилардан ёки жараён шароитлари фарқи асосида лигандни ва бўлган хусусиятини ўзгартириш йўли билан оксилни десорбцияга тозалаш натижасида битта юқори тозалikka эга бўлган ферментни олиш мумкин. Лекин лиганд ва уни ушлаб турувчини танлаш жуда қийин иш. Кўпчилик ҳолларда аффинли адсорбентларни синтез қилишда эълган ферментнинг хусусиятларини эътиборга олиш керак.

Жараён бошқа қийинчиликларга ҳам эга. Масалан, сорбент юқори аффинликка эга бўлмай керак бўлмаган бошқа ферментларни ҳам ушлаб қолиши ва натижада ферментни бу мураккаб комплексдан ажратиб олишни қийинлаштириши ҳам мумкин.

Аффинли хроматография учун ҳар хил турдаги эримайдиган сорбентлардан фойдаланилади, лекин энг кўп тарқалгани кўндаланг қилиб уланган агароза доначаларидир. Улар юқори босимда ўз шаклини саклайди ва буферларни ҳамда эритувчиларни алмаштиришга бардошлидир.

Лигандларга бўлган талаблар эса жуда каттиқлиги билан ажралиб туради, яъни улар матрицага шундай боғланган бўлиши керакки, оксиллар ҳеч қийинчиликсиз уларга келиб боғланиши ва бунинг учун матрица билан лиганд ўртасида қўприкча бўлиши керак. Булардан ташқари лиганд бошқа бирикмалар билан ўзаро боғланмаслиги, фақат матрицага боғланган ва ювиш, регенерация жараёнларига чидамли бўлиши шартдир.

Бу қўйилган шартларнинг оддий рўйхати ҳам ушбу жараённинг мураккаб ва кўп меҳнат сарф қилинишидан дарак беради. Шунга қарамай бу усул билан ўнлаб ферментлар тозаланган, лекин улар ҳали фермент саноатида кенг тарқалмаган.

**Гел хроматография усули.** Препаратив энзимологияда чидамли бўлмаган ферментларни «юмшоқ» (паст ҳароратли) шароитларда ажратишдан кўп фойдаланилади, яъни бунда фермент бутун тозалаш жараёни давомида эритма ҳолида бўлади. Бу усуллар орасида энг кенг тарқалгани гелфилтрация, электрофорез, изоэлектрик фокуслаш ва бошқалардир.

Фермент препаратлари технологиясида энг катта амалий аҳамиятга эга бўлгани - гелфилтрациядир. "Гелфилтрация" жумласи анча кўполроқ, лекин у илмий адабиётда жуда кенг тарқалган. Бу жараёни амалга ошириш учун дестран асосида олинган геллардан фойдаланилади ва улар ёрдамида ўлчамига қараб ҳар хил макромолекулаларни тез ажратиш мумкин.

Гел очик ҳолдаги кўндаланг тикилган уч ўлчамли молекула тури бўлиб, колонкаларни осон тўлдириш учун юмалоқ доначалар (гранула) кўринишида бўлади. Доначаларда кичик тешикчалари бўлиб уларга фақат жуда кичик молекулали бирикмалар кириб, йирик молекулалар эса қирмайди. Бу усул гелларнинг айнан ана шу хусусиятига асослангандир.

Бу усул ферментларни тозалаш ва ажратишда нафақат лаборатория, балки саноат миқёсида ҳам қўлланилади. Гелфилтрация учун кўндаланг тикилган декстран (сефадекслар ва сефакриллар) гелларидан, кўндаланг тикилган полиакриламид гелларидан (биогеллар), акриламид полимер занжири ёпиштирилган агароза геллардан (ультрагеллар) ва бошқа каттик кўндаланг тикилган (*CL*-сефарозалар ва *S*-сефакриллар) агароза геллардан фойдаланилади. Колонкада фермент эритмасининг бир қисми гел доначалар орасида ва бир қисми эса доначаларнинг тешикчалари ичида жойлашади.

Гелфилтрация - бу тарқалувчан хроматографиянинг бир шакли бўлиб, эритилган моддалар эритманинг бир мунча юзада жойлашган ҳаракатчан ва ички томонида жойлашган кам ҳаракатли қисмларида тарқалган бўлади. Колонкада эритилган модданинг ушлаб қоллиниш даражаси унинг гел тешикчаларига қира олиш қобилиятига боғлиқдир. Шунингдек, гелфилтрация жараёнида колонкадан аввал юқори молекулали моддалар ва кейин эса кичик молекулалари бирин-кетин чиқа бошлайди, бунда гел молекуляр тўр вазифасини бажаради. Бу жараён мукамал равишда олиб борилиши учун, гел

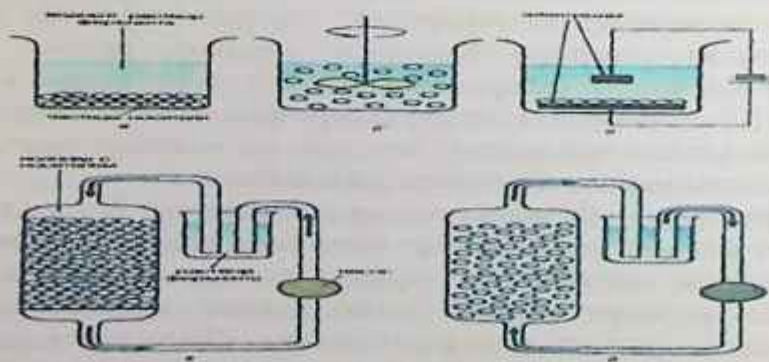
тайёрланган материал эриган бирикмалар таъсирига жуда ҳам инерт бўлиши керак.

Афсуски бугунги кунда ишлатилаётган барча геллар инерт эмас ва баъзан маълум рН кўрсаткичида улар сўриш қобилиятини намоён қилиши мумкин. Масалан, шундай гелларга сефакрилларни киритиш мумкин. Гелфилтрация усули билан майда гел дончаларида юкори босим остида жуда кўп ҳар хил моддаларнинг, шу жумладан оксилларнинг аралашмалари ажратилмоқда. Бу янги юкори босим остида суюк хроматография услуби қисқа вақт ичида юкори даражали ажратиш имконини беради ва у ферментларни тозалашнинг охириги боскичларида жуда ҳам унумлидир.

Ўсимликларда ҳосил буладиган метаболитларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва модификациялаш усуллари. Биотехнологик жараён кўзланган маҳсулотни олиш билан якунланади. Лекин бу жараён олинadиган маҳсулотни каерда ҳосил бўлишига қараб (яъни хужайранинг ичида ёки ўстириладиган суюқликдами ёки хужайрани массасидами) ўзаро бир - биридан фарқ қилади. Айтилган жараёнлар ичида хужайра ичида ҳосил бўладиган маҳсулотни ажратиб олиш энг қийиндир. Керакли маҳсулотни ажратиб олиш технологияси асосан унинг табиатига боғлиқ. Масалан ферментлар (протезалар, целлюлозалар ва бошқалар) органик эритувчилар ёки сульфат аммоний ёрдамида чўктиришга асосланган. Ҳар доим ҳам керакли олинган ферментларни тоза ҳолда ажратиб олиш шарт эмас, чунки халқ хўжалигида физик ва кимёвий хусусиятлари билан бир - бирига яқин бўлган оксиллардан иборат аралаш ферментлардан кенг фойдаланилади.

Шу билан баъзи - бир ферментлар, жумладан бир қаторда эндо ва экзонуклеазалар, лигаза ва бошқалар тоза ҳолда ажратиб олиши зарур. Ферментларни тоза ҳолда ажратиб олиш кўп боскичли, мураккаб жараёнлардан иборат ёки замонавий ускуналарни талаб қилади.

Керакли маҳсулотни ажратиб олишнинг биринчи босқичи хужайра ўстирилган суюқлик билан биомассани бир - биридан ажратиш, яъни сепарация қилиш ҳисобланади.



Ферментлар иммобилизацияси

## 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. Ўсимликларни химоя қилишда биотехнология

#### Режа:

1. Ўсимлик касалликларига қарши курашда биотехнологик усуллардан фойдаланиш
2. Қишлоқ хўжалик экинлари зарарқунада ҳашаротларига қарши кураш усуллари
3. Ўсимлик зарарқунада ҳашаротларига қарши курашда биологик фаол моддалардан фойдаланиш
4. Бегона ўтларга қарши кураш усуллари

Ҳозирги вақтда қишлоқ хўжалик экинларининг катта қисми-30% га яқини зарарқунада ва ҳашаротлар ҳисобига нобуд бўлади. Ўсимликлар химояси бўйича мутахассисларни маданий экинларнинг касаллик, зарарқунадалари ва бегона ўтларига қарши кураш борасидаги барча уринишлари қўтилган натижаларни бермаяпти. Шунинг учун ўсимликларни химоя қилишдаги долзарб муаммоларни ҳал этишда тубдан янгиланган усуллар ва йўналишларни излаш лозим. Бундай муаммоларни ечимини топишда биотехнологиянинг ўрни ҳоқда муҳимдир. Масалан, ажратиб олинган тўқима ва органлар культурасидан фойдаланиш, ўсимликшуносликда катта ҳажмдаги соғломлаштирилган экин материалларини олиш имконини беради.

Биотехнологиянинг мазкур соҳа бўйича эришган ютуқлари билан бир қаторда, қишлоқ хўжалик экинларини касаллик ва зарарқунадалардан химоя қилишда анъанавий биологик ва кимёвий кураш чораларини ҳам инкор этиб бўлмайди. Ҳозирги замон биотехнологиясининг ривожланиши туфайли инсектицид вирусларни ишлаб чиқариш ва улардан қишлоқ хўжалигида фойдаланиш имконияти пайдо бўлди. Уларни кенг ҳажмда ишлаб чиқариш ва ҳайвон ҳужайраларида ўстириш ишлари амалга оширилмоқда.

Маълумки, ўсимликларни биологик йўл билан химоя қилишда тирик организмлар ёки уларнинг фаолияти маҳсулотларидан зарарқунада организмлар етказадиган зарарнинг олдини олиш ва камайтириш тушунилади.

Ўсимликларни химоя қилишда турли хил захарли кимёвий моддалардан фойдаланиш натижасида ҳашаротларда уларга нисбатан кўникиш пайдо бўлади. Бундан ташқари кимёвий препаратлар мақсадга мувофиқ таъсир кўрсатмасдан, фойдали ҳашаротлар ва микроорганизмларга бир хилда зарарли таъсир кўрсатади.

Шунингдек, зарарқунадаларга қарши курашда уларнинг нейтрал турлари чексиз кўпайиб кетади, натижада одамларга ҳам ҳавф туғдиради. Умуман,

пестицидлар одам ва ҳайвонлар учун заҳарли ҳисобланади. Уларнинг кўп миқдорда тўпланиши атроф муҳитнинг ифлосланишига сабаб бўлади. Одам учун энг ҳафли пестицидлар хлороорганик табиатга эга бўлиб, ўн йиллар давомида тупроқда сақланиб туриши билан бирга, одам ва ҳайвонларнинг тўқималарида ҳам тўпланади. Бутун дунё соғлиқни сақлаш ташкилоти маълумотларига кўра, ер юзида ҳар йили ярим миллионга яқин аҳоли пестицидлар таъсирида турли хил касалликларга чалинса, беш мингдан ортиғи заҳарланиш оқибатида ҳалок бўлади.

Дунё олимларининг саъйи ҳаракатлари туфайли пестицидларнинг заҳарлилиги кейинги йилларда бирмунча пасайтирилган. Препаратларнинг тегишли туридан фойдаланиш натижасида пестицидларнинг атроф муҳитга зарарли таъсири кескин камайиб бормоқда. Ҳозирги кунда тупроқда заҳарли қолдиқлар қолдирмасдан тезда парчаланиб кетадиган препаратлар яратилган ва амалиётда фойдаланмоқда.

Шунга қарамасдан, пестицидларни ишлаб чиқариш ва улардан кишлоқ хўжалигида фойдаланиш бир катор жузъий камчиликларга эга. Статистик маълумотларга кўра, синтез йўли билан олинган препаратларнинг ўндан биригина амалиётда фойдаланиш учун яроқлидир.

Ўсимликларни химоя қилишда кимёвий усулларни қўллашнинг асосий камчиликларини бартараф этишда биотехнологик усуллари катта эътибор қаратилмоқда. Биотехнология ўсимликларни химоя қилишда вируслар, бактериялар, замбуруғлар, содда ҳайвонлар ва ҳашаротлар, шунингдек, тирик организмларнинг биологик фаол моддалари (антибиотиклар, гормонлар, феромонлар ва ҳ.к.) ишлаб чиқариш технологиялари билан шугулланади.

Шундай қилиб, мутахассисларни ўсимликларни химоя қилиш борасида тегишли воситалардан фойдаланиш муаммоси кизиқтирса, биотехнологларни уларни ишлаб чиқаришни қандай ташкил этиш лозимлиги муаммоси кизиқтиради. Бу ерда шунини ҳам қайд этиш лозимки, бактерия ва замбуруғларни ўсимликларни химоя қилиш мақсадида етиштириш, турли хил моддалар, масалан, антибиотикларни олиш борасидаги ишланмалардан тубдан фарқ қилмайди. Шу билан бирга биотехнология ва ген муҳандислиги ўсимликларни химоя қилиш воситаларидан фойдаланиш имкониятларини янада кенгайтиради.

**Ўсимлик касалликларига қарши курашда биотехнологик усуллардан фойдаланиш.** Кишлоқ хўжалигида етиштириладиган ўсимликларнинг катта миқдори ҳар йили турли хил касалликлар ҳисобига нобуд бўлади. Ўсимлик касалликларини асосан уч тоифага мансуб паразит микроорганизмлар ҳисобланади. Улар вируслар, бактерия ва замбуруғлардир.

Улар 300 га яқин турли хил кишлоқ хўжалик экинларида касаллик ҳисобланади. Фитопатоген замбуруғлар ва бактерияларга нисбатан бу кўрсаткич юқори эмас: ўсимликларда касаллик қўзғатадиган замбуруғ ва бактерияларнинг сони бундан 100 марта кўпроқдир. Бироқ вирусли касалликларнинг ҳавфи, келтирадиган зарари, бактерия ва замбуруғли касалликларга нисбатан кам эмас, балки улардан юқори ҳамдир. Касалланган ўсимликларнинг ташқи кўриниши ўзгаради, ҳосилнинг сифати ва миқдори камайиб кетади.

Вирусли инфекцияларга қарши курашнинг қийинлиги шундаки, улар ўсимлик ёки ҳайвон организмда облигат паразит ҳисобланади. Уларни йўқотиш тирик организм хўжайраларининг ўзини нобуд бўлишига сабаб бўлади. Вируслар билан касалланган ўсимликларни амалда тўлиқ даволаш мумкин эмас улар билан кураш усуллари, асосан, вирусларни келиб чиқиши ва тарқалишини олдини олишга асосланади.

Экиш материалларини соғломлаштириш ва уларни вирусли инфекциялардан химоя қилишда ажратиб олинган тўқима ва органлардан фойдаланиш усули кенг имкониятлар очди. 1943 йилда тўқималар культурасига асос солган олим Ф.Уайт тамаки вируси билан зарарланган ўсимликларнинг илдизлари учки қисмида вируслар учрамаслини айтиб ўтган эди. Шунга ўхшаш натижалар бошқа муаллифлар томонидан ҳам келтирилган. Бу маълумотларга таяниб, Франция Миллий агрономик институти ходимлари томонидан георгина ўсимликларининг озика мухитларида ўстирилаётган меристемаларидан соғломлаштирилган экиш материални олиш усуллари таклиф этилган. Улар ўсимликларнинг апикал меристемасидан вирусдан ҳоли етук ўсимликларни етиштиришга муваффақ бўлганлар. Картошканинг Бель де фонтене навининг зарарланган қисмидан ажратиб олинган ва суғий озика мухитида ўстирилган соғлом меристемаларидан фойдаланиб уни вирусдан батамом ҳоли қилишга эришилган.

Француз олимларининг соғломлаштирилган экиш материалларини олиш борасидаги тадқиқотлари ушбу соҳадаги барча ишларга пойдевор ясади.

Инфекциялардан ҳоли ўсимликларни олиш жараёнини қуйндаги босқичларга бўлиш мумкин:

- вируслар мавжудлигини аниқлашга ёрдам берадиган ўсимликлар ёрдамида соғломлаштириладиган намуналарнинг зарарланиш даражасини аниқлаш;

- термотерапия ва меристемаларни ўстириш;

- ўсимлик меристемаларидан олинган регенерация қилинган кўчатларда вируслар мавжудлигини текшириш.

Ўсимликларни вируслардан самарали химоя қилишда ўлчами 0,1-0,2 мм бўлган, меристемадан ажратиб олинган эксплантлардан фойдаланилади. Эксплантнинг ўлчами қанча кичик бўлса, у шунча қийин яшаб кета олади ва етук ўсимликка қадар регенерация бўлади. Картошкадан меристема тўқималарини ажратиб олишда тугунаклардаги куртаклардан ёки ўсимликларнинг поя учки қисмидан фойдаланилади. Эксплантларни олишда поя учки қисмларини кальций гипохлорид эритмасида стерилланади, кейин бир неча марта стерил сув билан ювиб ташланади.

Вируслардан ҳоли қилишда эксплантларга термик ишлов бериш усулидан ҳам фойдаланилади. 30-40°C ҳароратда ўсимликлар таркибидаги вируслар концентрациясининг кескин пасайиши, айниқса, бу ҳолат, ўсувчи қисмларида кузатилади. Мазкур усул бирмунча йирик, осон яшаб кета оладиган эксплантлардан фойдаланишда самара беради.

Ажратиб олинган тўқима бўлагини агарли мухити солинган 3-4 мг ҳажмли пробирка юзасига кўчириб ўтказилади, кейин оғзини пахта тикин билан

беркитилади. Ж.Морел картошка эксплантларини илдиз олиши учун озика мухити таркибини таклиф этган. Бу озика мухити, худди шу мақсадда тайёрланган озика мухитларидан калий ва аммоний миқдорининг кўплиги, ўсиш ва ривожланишни стимуловчи модда сифатида гиббереллин қўшилганлиги билан фарқ қилади.

Меристема ўтказилган пробиркаларни ҳарорати 25<sup>0</sup>С бўлган ёруғ хонага жойлаштирилади. Шундай сўнг ҳар йигирма-ўттиз кунда меристемалар алоҳида пробиркаларда поялар бера бошлайди. 3-4 см ли пояларни 0,5-1,0 см ли бўлакларга бўлинади. Уларнинг ҳар бири барг ва яширин куртакларга эга бўлиши керак ва илдиз ҳосил қилиши учун айнан ўша озика мухитига экиб борилади. Шундан сўнг ўсимликларни тупроққа кўчириб ўтказилади.

Тўқималар култураси усули вируслардан химоя қилишда қўлланиладиган самарали усуллардан бири бўлиб ҳисобланади. Чунки вирусли инфекцияларга чалинган ўсимликлар, кўпинча энг яхши навлар ҳам 100% гача зарарланган бўлади. Унга қарши қўлланиладиган меристемалар култураси усули нави қайта тиклаш имконини беради.

Мазкур усул ёрдамида кулупнай, маймунжон картошка ва кўплаб мевали экинлар, шунингдек, манзарали ўсимликлардан соғломлаштирилган экиш материалларини олишга муваффақ бўлинган.

Тўқималар култураси усулидан ташқари ўсимликларни вирусдан ҳоли қилишда ген муҳандислиги усуллари ҳам муҳим аҳамиятга эгадир. Масалан, нуклеин кислоталарни клонлаш ўсимлик тўқималаридаги вирусларни аниқлаш ва зарарланган ўсимликларни ажратиб олиш имконини беради. Бу йўл билан АҚШ Қишлоқ хўжалик хизмати тадқиқот марказида картошканинг урчуксимон вируси РНК си виронди ажратиб олинди, унга мос ДНК нусхасини тесқари транскриптаза ёрдамида синтезлаб, клонлашга муваффақ бўлинган. Бу виронддан қутулиш жуда қийин, уни картошка тугунакларида аниқлаш ҳосилни сезиларли даражада ошириш имконини беради. Фақат соғлом тугунаклардан фойдаланиш ҳам ҳосилдорликни кўтаришга ёрдам беради. Шундай қилиб, клонланган ДНК вирус ва вирондларга аниқ ва ишончли равишда ташхис қўйиш имконини бўлиб, у вирус РНК си билан гибридизация бўла олади.

Табий шаронтларда фитопатоген замбуруғлар - ўсимликларнинг касаллик уувчиларида бошқа замбуруғларнинг паразит ҳолда яшаб, кўпайиши ари ҳам кўп учрайди. Бошқа паразит замбуруғларда ривожланадиган г замбуруғлар иккиламчи тартибдаги гиперпаразитлар деган ном билан ади. Агар биринчи паразит қайсидир касалликни чакирувчиси бўлса, исидан шу касаллик билан курашда фойдаланиш мумкин. снологиянинг вазифаси очик ва химояланган ер шаронтидаги патогенларга қарши курашда ишлатиладиган микробиологик апаратларни ишлаб чиқариш жараёнларининг ишланмасини тузишдир.

Ўсимликларни касалликлардан химоя қилишда микроорганизмлар ишлаб чиқарадиган антибиотик моддалар алоҳида ўрин тутати. Улар эволюция жараёнида микроорганизмларнинг бир-бирига нисбатан кучли кураш воситаси сифатида келиб чиккан. Ўсимликларни химоя қилишда баъзи

антибиотиклардан фойдаланиш биотехнологияда янги йўналишлар - турли хил агрохимикатлар, улар орасида микроблар асосида олинган гербицидлар, хайвонлардан олинadиган аттрактантлар, экизонлар, фитогормонлар ва бошқа хил моддаларни ҳам олиш йўллари ва кишлоқ хўжалигида қўллаш истикболларини очиб берди.

Антибиотиклар фитопатоген микроорганизмларга қарши курашда фойдаланиладиган бошқа воситаларга қараганда бир қатор афзалликларга эга. Улар ўсимликларнинг орган ва тўқималарига осон кириб боради, шунинг учун уларнинг таъсир этиш механизми ташқи муҳит омилларига жуда кам даражада боғлиқдир. Ўсимлик хужайраларига айниқса, нейтрал табиатли (хлорамфеникол, пенциллин) осон ўтса, амфотерлари (хлортетрациклин, окситетрациклин) ва асосли-антибиотиклар (неомицин, стрептомицин) кийин ўтади. Ўсимлик тўқималарига нисбатан хайвон тўқималари антибиотикларни бирмунча кийин инактивациялайди. Шундай қилиб, антибиотикларни ўсимлик тўқималарига тез ўтиши ва уларнинг аъзолар бўйлаб тез тарқалиши, нисбатан кийин парчаланиши фитопатоген микрофлоранинг нобуд бўлиши учун зарур антибиотиклар билан маълум даражада тўйинишга шароит яратади.

Олимларнинг қўллаб тадқиқотлари натижасида антибиотикларнинг ўсимлик тўқималаридаги биологик фаоллиги хайвон тўқималарига нисбатан кучлилиги исботланди. Кўпгина фитопатоген замбуруғ ва бактерияларни улар ёрдамида нобуд қилиш мумкинлиги қайд этилади.

Бундан ташқари фитопатоген бактерия ва замбуруғларга қарши қўлланиладиган антибиотиклар ўсимликлар ва улар билан озикланадиган хайвонлар учун ҳам захарсиздир. Баъзан антибиотиклар ўсимликларнинг ўсиб ривожланиши учун ижобий таъсир кўрсатиб, уларнинг ҳосилдорлигини оширишга ёрдам ҳам беради. Сув хавзалари ёки тупроққа тушган антибиотиклар осон парчаланadi улар кишлоқ хўжалигида қўлланиладиган сунъий препаратлардан фарқ қилади. Олимлар антибиотикларнинг деградациясининг тезлигини уларнинг синтезида иштирок этувчи фермент тизимлари билан боғлайдилар. Бу ферментлар иштирокида антибиотикларнинг парчаланиши амалга ошади. Кимёвий йўл билан синтезланган бирикмалар табиатда жуда кийин парчаланadi, чунки уларни парчловчи микроорганизмларда тегишли ферментлар учрамайди. Ўсимликшуносликда антибиотиклардан фойдаланишга бўлган қизиқишнинг кескин ортишига сабаб, захарли кимёвий моддалардан фойдаланишнинг оқибатлари ва улар қўлланилган ўсимликлар билан озикланадиган хайвонларнинг захарланиши билан боғлиқдир. Тупроқдан сув хавзаларига тушган захарли кимёвий моддалар сув хайвонларининг турли хил вакиллари ва бошқаларнинг ҳам нобуд бўлишига олиб келади.

Антибиотиклар биринчи марта ўсимлик касалликларига қарши баъзи Европа мамлакатлари ва АҚШда қўлланилган. Стрептомицин тетрациклин билан комбинацияда сабзавот ва полиз экинларининг бактериал касалликларига қарши қўлланилган. Кейинроқ айни шу мақсадда циклогексемид ва гризеофульвин ишлатила бошланди. Хорижий мамлакатларда ўсимликларни касалликлардан химоя қилишда ҳозир ҳам тиббий мақсадларда

фойдаланиладиган антибиотиклар ишлатилади. Масалан, агрисепт препарати 37% ли стрептомицин сульфат, фитоминин-20%ли стрептомицин нитрат, агриминин-10-15% ли стрептомицин ва окситетрациклиннинг 10:1 нисбати ва хоказолардан иборатдир.

Шуни ҳам қайд этиш лозимки, одамда касаллик туғдирадиган кўплаб микроорганизмлар тупроқ ва ўсимликлар юзасида учрайди. Ўсимликларга тиббиёт мақсадларида фойдаланиладиган антибиотиклар билан ишлов бериш одамларда касаллик чакирувчи микроорганизмларни чидамлик белгисига кўра танланишига ва оқибатда тиббиётда қўлланиладиган антибиотикларнинг самараси пасайиб кетишига олиб келади. Шунинг учун кейинги йилларда айнан ўсимликларда касаллик туғдирувчи микроорганизмларга қарши қўлланиладиган антибиотикларни излаб топишга жиддий эътибор қаратилмоқда. Бундай изланишлар Японияда кейинги 15 йил ичида кўп миқдорда ўндан ортик препаратлар – бластицидин, касугамин, валидамицин, целлоцидин, тетранактин ишлаб чиқариш борасида кенг қўламда олиб борилмоқда.

Ўсимликларнинг турли касаллик ва заракундаларига қарши дунёнинг кўплаб мамлакатлари – Канада, Нидерландия, Австралия, Руминия, Польша, Миср, Покистон ва Филиппинда Японияда ишлаб чиқарилган антибиотик ва синтетик фунгицидлар тутувчи комплекс препаратлар қўлланилмоқда.

Ҳозирги вақтда помидор ва бошқа ўсимликларда сўлиш, ун шудринг каби касалликларга қарши ўсимликларни химоя қилишда қўлланиладиган препаратлар АҚШ да ишлаб чиқарилаётган бўлса, Ҳиндистонда аурефунгин, Белгияда никоминин ишлаб чиқарилмоқда. Уларнинг таъсир доираси кенг бўлиб бактериал ва замубуруғли касалликларларга қарши ишлатилади.

Бундай антибиотиклардан бири - фитобактериомицин, у бактерия ва замубуруғларга қарши кенг спектрга эга. Уни *Actinomyces lavendulae* актиномицетидан ажратиб олинади. Фитобактериомицин асосида бир неча хил овар кўринишидаги препаратлар ишлаб чиқарилади: уруғларга ишлов бериш учун 2-5% ли фитобактериомицин дуси, ўсимликларга сепиш учун нитролавин-100 нинг 10%ли эрувчан кукуни қўлланилади. Фитобактериомициннинг 12% ли дуси ловия бактериозига, 5% лиси буғдой а илдиз чиришига қарши қўлланилади. Уруғларга экиш олдида ишлов ерилганда ловия ўсимлигида бактериоз билан касалланиш 70% га камайиши ва ҳосилдорлик 1,5-3 га/ц ошиши аниқланган. Умуман, бу препаратларни ўларга экиш олдида ишлов беришда 2-3кг/т миқдорда қўлланилади.

Ўлинган тадқиқот натижаларининг кўрсатишича, фитобактериомицин гўза эзи, дуккакли экинларда фузариоз сўлиш, гармдорида вертициллёз сўлиш, атда антракноз, бедада доғланиш каби касалликларга қарши курашда самара беради.

Препаратларнинг самарадорлигини аниқлаш асосида уни саноат миқёсида ишлаб чиқариш технологияси йўлга қўйилган. Янги технологик ишланмаларни амалиётга жорий этиш уларни қўллаш самарадорлигини ортишига сабаб бўлган, бундай препаратларни қўллаш етиштириладиган ҳосил таннархининг арзон бўлишига олиб келади.

Фитолавин -100 фитобактериомициннинг фаол моддаси ҳисобланади. Уни бугдой ва арпа уруғларида илдиз чириши ва соя ўсимлигида бактериозни олдини олиш учун пуркалади.

Трихотецин - кенг спектрдаги таъсир доирасига эга антибиотик. Уни пушти ранг трихотециум (*Trichothecium roseum*) замбуруғидан ажратиб олинади. Бу нетрофотроф микроорганизм гиперпаразит сифатида кўплаб фитопатоген замбуруғларда учрайди. Трихотециумнинг замбуруғларда паразитлик қилиши унинг таркибида замбуруғларга қарши трихотецин антибиотиғи ажралиб чиқиши билан боғлиқ. Бу антибиотик замбуруғ гифаларини nobуд қилади ва пушти трихотециум уларга жойлашиб олиб, nobуд бўлган ҳужайралардан озик моддаларини шимиб олади.

Трихотецин 10% ли эрувчан кукун ёки 20% ли дуст сифатида ишлаб чиқарилади. Уни экиш олдида уруғларга ишлов бериш, ўсимликларда илк касаллик белгилари кўриниши билан пуркаш орқали қўлланилади. Трихотецин очик ва ҳимояланган ер шаронтида етиштириладиган бодрингни ун шудринг, тамакиннинг ун шудринг, узумнинг онднум, данак мевали дарахтларнинг моннал куйиши, олма паршаси кабиларда қўлланилади.

Микроорганизмларда антагонизм хусусияти анча илгари аниқланган. Уларни 20 йилларда антибиотиклар кашф этилганга қадар фитопатоген микрофлорага қарши қўлланилган. Актиномицетлар ва миколитик бактериялар зигир, гўза, сабзавот экинлари, данакли меваларнинг касалликларига қарши қўлланилганда ижобий самара берган.

Антагонист микроблардан тупрокни соғломлаштириш мақсадида ҳам фойдаланилади.

Антибиотикларнинг кашф этилигач сўнг микроорганизмларнинг ўзи эмас, балки улар ажратиб чиқарадиган моддалар қўлланила бошланди. Бирок ҳозирда ҳам кўпчилик мамлакатларда микроб препаратлари ишлаб чиқарилмоқда. Улар ўсимлик касалликларига қарши nobуд қилувчи таъсир кўрсатади. Шу йўсинда ушбу соҳада икки хил йўналиш – антибиотиклар ва микроб – антогонистлардан фойдаланиш тармоқлари келиб чиқди. Ўсимлик уруғларидаги инфекциялар ва ўсимликларнинг ўсув давридаги касалликларига қарши ишлов бериш учун антибиотик моддаларидан фойдаланилса, ўсимлик колдиклари билан бирга сақланиб қолган тупрок инфекцияларига қарши ёки тупрокни бойитиш мақсадида компост сифатида микроб антагонистларнинг ўзидан ёки тоза культурасидан фойдаланилади. Чунки антибитикларнинг ўзидан фойдаланиш самарадорлиғи паст бўлиб, бу уларнинг тупрок микроорганизмлари иштирокида тез парчаланиб кетиши билан боғлиқдир. Антагонист сифатида бактериялар, вируслар, замбуруғлар қўлланилиши мумкин.

Антагонист – замбуруғлар орасида триходерма авлоди вакиллари кенг қўлланилади. Триходермани мевали дарахтлар куйдиргисига қарши қўлланилади. Ҳозирда АҚШда триходермани ерёнгоқ склеротиниясига қарши тупроққа бериш мақсадида ишлаб чиқариш усуллари такомиллаштирилмоқда. Францияда узумнинг кўнгир чириш касаллиғига қарши триходерма препаратлари билан ишлов бериш ижобий натижалар берган. Исроилда

картошканинг ризоктонноз касаллиги ва бошқа касалликларига қарши препарат ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Триходермин препарати триходерма замбуругини турли хилдаги ўсимлик чиқиндилари ва бошқа субстратлар (нон мағзи, сомон, галла чиқиндилари, торф) да ўстириш асосида олинади. У тупроқда учрайдиган турли хил кишлоқ хўжалик экинларининг касалликлари - илдиз чириши, зигир ўсимлиги касалликлари, гўзанинг вертициллез сўлиши ва бошқаларга қарши қўлланилади.

Яшил триходерма (*Trichoderma viridae*) ва у асосида ишлаб чиқарилган препарат таркибида икки хил антибиотик – глиотоксин ва виридин бўлиб, улар антибактериал ва замбуругларга қарши таъсир хусусиятига эга.

Триходермин чуқур давомли экиш усулида махсус ускунада ўстириш йўли билан олинади.

Тадқиқот натижаларининг кўрсатишича, бугдой уруғларига экиш олдида 4 кг/га миқдорда ишлов бериш ўсимликларнинг бутун вегетация давомида касалланишини 54-71% га камайтириб, ҳосилни 2 га/ц га оширади.

Триходерминни торф чиқиндиси солинган тувакчаларга 50 мг миқдорда киритиш бодрингни илдиз чириш билан касалланишини 60% га камайтириб, ҳосилни 31-74% га оширади. 1 грамм триходерминни гўза ўсимлигида қўллаш самарадорлиги +51,2% га тенг.

Биотехнология ва ген муҳандислиги усуллари ўсимлик касалликларига қарши микроорганизмларнинг одам ва ҳайвонларга зарарсиз ва юқори самардор янги шаклларини яратишга имкон беради.

**Кишлоқ хўжалик экинлари зараркуанда ҳашаротларига қарши кураш усуллари. Бактериал препаратлар.** Ҳозирги вақтда ўсимлик зараркуанда ҳашаротларига қарши қўлаб микроорганизмлар мажмуалари ўрганилган ва улар асосида микроб биопрепаратлари тайёрлашнинг илмий асослари яратилган. Саноат асосида қўлаб препаратлар ишлаб чиқарилмоқда ва амалиётда кенг қўлланилмоқда.

Бундай препаратларни тайёрлаш учун бактериялар, замбуруглар ва энзимлардан фойдаланилади. Препаратларни ишлаб чиқариш технологиялари хилма хилдир. Уларни ишлаб чиқаришда микроорганизмларнинг иологияси ва биокимёвий хусусиятлари ва препарат нима максатда танилиши эътиборга олинади. Микроб препаратларини ишлаб-чиқариш кўйидаги талаблар қўйилади:

- уларнинг спецификлиги, факат маълум турдаги зараркуандаларга таъсир қилиб, фойдали ҳашаротларга зарарсизлиги;
- юқори самарали таъсир кучига эга бўлиши;
- ишлаб чиқариш ва қўллашнинг қўлайлиги;
- одам ва ҳайвонлар учун ҳавфсиз бўлиши;
- препаратнинг фойдали хусусиятларининг узоқ сақланиши;
- унинг яхши намланиши ва эритмасининг барқарорлиги;
- ўсимлик барги ва бошқа аъзоларига ёпишувчанлиги ва у ерда узоқ вақт сақланиши ва хоказо.

Дунёда 50 га яқин ўсимликларни зараркуанда ҳашаротлардан химоя

килиш учун микробиологик препаратлар яратилган.

Уларнинг кўпчилиги спорали энтомопатоген *Bacillus thuringiensis* бактериялари асосида ишлаб чиқарилади.

Бу бацилла бошқа бир канча энтомопатоген бактериялар қатори *Bacillaceae* оиласи *Bacillus* туркумига киради. *Bacillus* туркуми таёқчасимон, спора ҳосил қилувчи, граммусбат турларни бирлаштиради, кўпчилиги ҳаракатчан (хивчинлари мавжуд) факультатив ва облигат аэроблар бўлиб, аксарияти тупроқда тарқалган. *Bacillus thuringiensis* ўзининг асосий хоссалари жиҳатидан *Bac.cereus*га яқиндир. Шунинг учун улар бир гуруҳга бирлаштирилади, сунъий озиқа муҳити ва ҳашарот ичида яхши ривожланади.

*Bacillus thuringiensis* бактерияси жуда кўп муҳим хусусиятларга эга: тез кўпаяди; жуда кўплаб озиқа муҳитларида спора ҳосил қилади; вегетатив ўсиши тугагандан сўнг, факат спора ҳосил қилибгина қолмасдан, зарарқунанда ҳашаротларни нобуд қиладиган асосий восита — кристалл ҳолдаги эндотоксинни синтез қилади. Бу бактериянинг айрим штаммлари кристалл ҳолдаги эндотоксиндан ташқари ўзи ўсадиган муҳитга юқори ҳароратга чидамли, ҳашаротлар учун ўта зарарли  $\beta$ -экзотоксин ва ферментлар ажратиб чиқаради.

Шунингдек мазкур бактериялар турли хил технологик ишлов беришларга чидамли, сепарация, вакуумли буглатиш, қуритишнинг турли хил усуллари, субстрат-ташувчилар (бактерияни ўзига бириктириб турувчи восита) билан аралаштириш ва бошқалар учун қулай. Қуритилган ҳолатда тайёр препарат ўзининг дастлабки хусусиятини йўқотмасдан бир неча йилларгача яхши сақланади.

*Bacillus thuringiensis*нинг ҳамма кўрсатилган сифатлари уни ўсимликларни зарарли ҳашаротлардан химоя қилиш воситаси сифатида биринчи ўринга чиқарди. Энтомопатоген бактерияларда вирулентлик ва фермент фаоллигининг ўзаро боғлиқлиги ва штаммнинг юқори вирулентликка эга бўлишида С-фосфалипаза ферменти алоҳида ўрин тутishi аниқланган. *Bacillus thuringiensis* бактериясининг махсус фосфалипаза билан патогенлик хусусияти орасидаги боғлиқлиги ўрганилган ва С-фосфолипаза *Bac.thuringiensis* бактерияларнинг энтомоцид таъсирида асосий фактор ҳисобланади деган ҳулосага келинган.

Кристалл оксилли  $\delta$ -эндотоксин — ёки жуфт спора кристалли эндотоксин бактериянинг спора ҳосил қилиш жараёнида ҳужайранинг бир қисмида спора шакллангандан сўнг ҳосил бўлади, синтез жараёни културанинг стационар фазасида тахминан уч соат давомида кечади. Ҳужайрада турли кўринишдаги бир нечта кристаллар ҳосил бўлиши мумкин (тўғри бипирамидал, ромбсимон, кубсимондан овалсимонгача).

Уларнинг ўлчамлари 0,5х1,3 дан 1х3,5 мкм гача ва ҳаттоки субмикроскопик кўринишигача кичик бўлиши мумкин, рН кўрсаткичи кучли ишқорий (рН 11,5 дан юқори) шароитда яхши эрийди. Кристаллар 100°C ҳароратда 30-40 минут қиздирилгандагина ўзининг захарлилик хусусиятини йўқотади.

Дунёда ушбу препаратларни ишлаб чиқаришнинг 20 га яқин саноат шакллари яратилган, уларнинг барчаси асосида *Bac. thuringiensis* нинг у ёки бу

турлари ётади. Асосан саноат асосида куйидаги турлардан фойдаланилади: *Bacillus thuringiensis*, var. *thuringiensis*, *kurstaki*, *galleriae*, *dendrolimus*, *israelensis*.

Мамлакатимизда, Республика Фанлар Академияси Микробиология институтида, профессорлар Қ. Д. Давронов ва Т. Ю. Юсуповлар раҳбарлигида *Bac. thuringiensis* ни маҳаллий штаммлари асосида биопрепарат ишлаб чиқариш технологиясининг илмий асоси яратилди. Н. А. Хўжамшукуров томонидан колорадо қўнғизи личинкаларига қарши *Bac. thuringiensis* энтомопатоген бактериясининг мутант штаммлари асосида

«Биокристалл» инсектицид биопрепарати яратилди ва препаратнинг дастлабки нусхалари лаборатория ва дала шароитида синовдан ўтказилиб муваффақиятли деб топилди.

Россияда эса, бундай препаратларнинг 10 дан ортиқ хиллари ишлаб чиқарилмоқда ва амалиётда кенг қўлланилмоқда. Масалан, «энтобактерин» номи билан *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* бактерияси асосида саноатда биринчи марта кукун кўринишидаги препарат тайёрланган. Препарат таркибида 30 млрд/г спора, шунча миқдорда кристалл ҳолидаги эндотоксин ва ёпишқоқ қўшилмалар (каолин) мавжуд. Тангача қанотли ҳашаротларнинг кўпгина турлари: қарам ва шолғом оқ қапалаги, қарам қуяси, ботқоқ қапалаги, мева қуяси ва бошқаларга қарши қурашда самарали фойда беради. Ичакда таъсир қилувчи препарат озика билан ҳашаротнинг организмига кириб, уни заҳарлайди, ҳашаротларда ташқи таъсир натижасида вужудга келадиган фалажлик уйғотади, ичак тизимининг яхлитлиги бузилади. Шундан сўнг споралар гемолимфаларга кириб у ерда ўсиб, кўпая бошлайди ва ҳашаротда сепсис бошланади, натижада ҳашарот нобуд бўлади. Энтобактерин одам ва иссиққонли ҳайвонлар, балиқлар, асаларилар ва энтомофагларга таъсир қилмайди, лекин ипак қурти учун ҳавфлидир.

Препарат эритмаси ўсимликка пуркаш йўли билан қўлланилади. Уни 2-5 кг/га миқдорда 300-1500 л/га махсус пуркагичли мосламалар ёрдамида ҳам, катта майдонларга самолёт ёрдамида ҳам сепилиши мумкин. Энтобактеринни қўллашнинг мўътадил ҳарорати 18-32°C дир.

Ҳозирги кунда шунга ўхшаш, турли хил номлар билан бир қанча препаратлар бутун дунёда ишлаб чиқарилмоқда ва ўсимлик зараркунанда ҳашаротларига қарши қурашиш амалиётида кенг қўлланилиб келинмоқда. Масалан: *дентробациллин*, *битоксибациллин* (БТВ), *БИП-биологик инсектицид* препарат, *гомелин*, *летидоцид*, *бактокулицид*, *дипел*, *бактоспейн* ва бошқалар. *Bac. thuringiensis* бактерияси асосида тайёрланган биопрепаратлар юкори марадорликка эга. Бу препаратларнинг барчаси *Bac. thuringiensis* бактерияси гаммалари асосида тайёрланган бўлиб, ҳашаротлар турига кўра таъсири, препаратни тайёрлаш технологияси, самардорлиги ва бошқа бир қанча хисиятлари билан бир-бирларидан фарқ қилади.

Бекистонда бу препаратларни етарли миқдорда ишлаб чиқариш ва кенг қўллашда кишлоқ хўжалик экинлари, мева ва сабзавот экинлари зараркунанда ҳашаротларига қарши қўллаш кимёвий инсектицидларга нисбатан истиқболли биологик ҳавфсиз чралардан бири бўлиб ҳисобланади.

**Вирусли энтомопатоген препаратлар.** Ҳамма энтомопатоген препаратлар ичида вирусли препаратлар ҳўжайин хашаротга нисбатан ўзининг спецификлиги билан характерланади. Улар одатда бир турдаги хашаротларгагина таъсир кўрсатади. Уларнинг тор доирадаги таъсирининг ўзи бу препаратларнинг инсон, флора ва фауна учун зарарсизлигини кўрсатади. Вируслар ноқулай ташки таъсирлар (харорат, намлик)га ўта чидамли бўлиб, улар хашаротлардан ташқарида, алоҳида ҳам 10-15 йилгача ўз таъсир кучини йўқотмайди.

Хашаротнинг вируслар билан касалланиши уларнинг озикланиши орқали юз беради. Хашарот ичакларига тушган вирус танаси ишқорий муҳитда парчалана бошлайди. Ажралиб чиққан вирионлар ичак деворларидан хужайраларга ўтиб, ядроларда вируслар репликацияси рўй беради. Хужайралардан ажралиб чиққан вируслар бошқа хужайраларни ҳам зарарлай бошлайди ва оқибатда хашаротлар личинкаларининг нобуд бўлишига олиб келади. Вирусларнинг ўзига хос белгилари уларнинг фақат тирик тўқималардагина кўпая олишидир. Бу эса ўз навбатида саноат миқёсида вирусли энтомопатоген препаратларни ишлаб чиқаришда бир мунча қийинчиликлар туғдиради, чунки вирусларни кўпайтириш технологияси жараёнида фақатгина тирик ҳўжайин-хашаротлардан фойдаланиш талаб этилади. Ҳозирги пайтда 3 хил вирусли энтомопатоген препаратларни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган: вирин-ЭКС (карам қуртига қарши), ЭНШ (ток ичак қурти касалига қарши), АББ (америка оқ капалагига қарши).

Ҳар қандай вирусли препаратни ишлаб чиқариш ҳўжайин хашаротни физиологик соғломлигини таъминловчи суғий озиқа муҳитида ўстиришдан бошланади. Маълум бир ривожланиш фазасида (одатда вояга етган хашарот даврида) хашаротлар овқатига вирусли суспензия қўшиш йўли билан улар зарарлантирилади. Бунинг учун инокулят олдиндан бир қанча касалланган личинкалардан олиб тайёрланади. Хашаротлар зарарлангандан сўнг унинг тўқимасида максимал даражада вируслар тўпланишини таъминловчи катъий аниқ шароитда сақланади. 7-9 кундан кейин нобуд бўлган ва чалажон личинкалар йиғилади, 33-35° С да улар қуритилади, механик усулда тўқималар йиғиндиси майдаланади. Ҳар бир кўнгизга физиологик эритма ёки дистилланган сув 1 мл ҳисобида қўшилади, майдалангач, суюлтирилган тўқима филтрлаб ишлатилади.

**Замбуруғлар асосида олинадиган энтомопатоген препаратлар.** Замбуруғли энтомопатоген препаратлар зарарли хашаротларда микоз касаллигини туғдириш орқали уларнинг нобуд бўлишига олиб келади. Энтомопатоген бактериялар ва вирусларга нисбатан замбуруғлар қуйидаги ўзига хос хусусиятларга эга:

а) нобуд бўлиш овқат ҳазм қилиш йўллари орқали эмас, балки бевосита кутикула орқали рўй беради;

б) хашаротлар гумбак ва имаго ривожланиши фазасида нобуд бўлиб, бу бошқа микроорганизмлар билан бўладиган ўзаро муносабатларда кузатилмайди;

в) замбуруғлар нисбатан тез ўсиши ва жуда катта репродуктив қобилиятига эгалиги билан характерланади, энтомопатоген фаоллигини пасайтирмасдан спора ҳолатида узоқ вақт табиатда сақланиши мумкин.

г) айрим хашарот турларини нобуд қилишда юкори даражада специфик бўлиб, уларнинг вирулентлиги қўлланиладиган замбуруғларнинг штаммига боғлиқ бўлади.

Замбуруғли препаратнинг хашаротга таъсири спораларнинг тана бўшлиғи тери орқали киришидан бошланади. Хашарот танасига тушган замбуруғ спораси ўсиб гифага, кейин мицелийга айланади, улардан энтомопатоген замбуруғларнинг инфекция бирлигини ташкил этувчи конидиялар ажралиб чиқади. Конидиялар ўсиб чиққандан кейин хашаротлар нобуд бўлиш даври хашаротларнинг катта-кичиклига қараб 2-8 суткача давом этиши мумкин.

Beauveria авлодига мансуб замбуруғларнинг *B.bassiana* Vuill (60 дан ортиқ турдаги хашаротларга қарши) ва *B.tonella* Dell. (10 дан ортиқ турдаги хашаротларга қарши) турлари асосида саноат миқёсида препаратлар ишлаб чиқарилади.

Ҳозирги пайтда *B.bassiana* (Bals). Vuill. гифомицети конидиоспора-ларидан иборат замбуруғли энтопатоген препарат-боверин ишлаб чиқариш кенг йўлга қўйилган.

Тайёр ҳолдаги бу препарат оқ ёки куранг кўринишдаги кукун бўлиб, 1гр. препаратда 1,5 дан 6 млрд. гача конидиоспоралар мавжуд. Унинг фаоллиги замбуруғда синтез қилинадиган токсин-боверицин билан белгиланади. Бу препаратни қўллаш қишлоқ хўжалигида қўлланиладиган кимёвий препаратларни 90% гача қисқартишга имкон беради. Шу билан бирга препарат одам, ҳайвонлар учун зарарсиздир.

Боверин саноат асосида олиш учун ишлаб чиқариш штаммини суюқ ва қаттиқ озиқа муҳитида ҳам ўстириш мумкин. Конидиоспоралар ишлаб чиқаришда технология-иктисодий кўрсаткичлар иккала усулда ҳам деярли фарқ қилмайди.

Бирок, конидиоспораларни суюқ озиқа фазасида ўстириш орқали олиш оддий иш эмас, бунинг ўзига хос техник ноқудайликлари мавжуд. *B. bassiana* Vuill замбуруғини суюқлида ўстириш усули орқали ўстирилганда улар вегетатив кўпайиб, ҳаво конидиоспоралардан фарқ қилувчи гонидия (бластоспора, цилиндроспора) деб номланувчи гифали тана ҳосил қилади.

Хашаротларга таъсири юзасидан гонидиялар, конидиялардан қолишмайди, шунинг учун ишлаб чиқариш шароитида гонидиялар асосида юкори фаолликка эга препаратлар олиш имкони йўқ. Чунки улар қуритиш босқичида конидийларга тан юкори ҳароратли пурқаб қуритгич мосламаларда қуритилганда 20-кўп нобуд бўлади. Шунинг учун қуритилгандан сўнг споралар анлиги ва уларнинг вирулентлиги кўра боверин ишлаб чиқаришдаги эътибор конидиоспора миқдори максимал даража юкори бўлишига тиртилган. *B.bassiana* Vuill замбуруғини суюқ озиқада ўстириш орқали конидиоспора олиш муаммоси факатгина озиқа муҳитини ва ферментация шароитини тўғри танлаш муаммоси ҳал қилингандан сўнг ўз ечимини топти.

Ҳозирги вақтда кишлоқ хўжалик экинлари зараркунадаларига қарши курашда замбуруғларнинг бошқа турлари, жумладан метаризум, вертициллум, гирзутелла, гименостильбе, ашерсония, кониотириум, энтомофтора ва бошқалар ҳам жалб этилмоқда.

Зараркунада ҳашаротларга қарши кураш чоралари ичида ҳашаротларнинг биологик фаол моддаларидан фойдаланиш ҳам алоҳида ўрин тутadi. Уларга феромонлар, ювенил гормони, туллаш гормони ва бошқалар киради.

**Ўсимлик зараркунада ҳашаротларига қарши курашда биологик фаол моддалардан фойдаланиш.** Феромонлар биологик фаол моддалар бўлиб, ҳайвонлар томонидан ташқи муҳитга ажратиб чиқарилади ва айни турнинг бошқа жинсининг метаболизми, физиологик ва эмоционал ҳолати, ҳатти-ҳаракатига таъсир кўрсатади. Одатда феромонлар ҳайвонларнинг махсус безларидан ҳосил бўлади. Таъсир хусусиятига кўра, уларни агрегацион феромонлар (тўпловчи-ғужловчи феромонлар), ҳимоя ва огоҳлантириш реакцияларини юзага чиқарадиган феромонлар, ҳашаротнинг овқат қидириш йўлини белгилловчи, из қолдирувчи феромонлар, жинсни таниб олишда ёрдам берувчи, бошқарувчи феромонларга бўлинади. Энг яхши ўрганилган феромонлар турли жинс вакилларининг учрашуви ва бир-бирини таниб олишини таъминлайдиган, жинсий ҳатти-ҳаракатларни тарбиға солишда иштирок этадиган феромонлардир. Қарама-қарши жинс вакилларини жалб этадиган феромонларни аттрактантлар деб аталади.

1959 йилда немис биокимёғари Адольф Бутенант тут ипак қурти урғочисининг жинсий аттрактантининг тузилишини ўрганиб чиқди. Бу феромон бомбикол деб номланди.

Ҳаводаги концентрацияси  $10^{-12}$  мг/л бўлганда улар эркак индивидларда да жинсий кўзғалиш реакциясини чакиради. 1980 йилларда 700 дан ортиқ ҳашаротлардаги феромонлар ўрганилиб, улардан 220 турининг кимёвий тузилиши аниқланди. Кимёвий табиатига кўра, феромонлар кимёвий бирикмаларнинг бирор синфига киритилади. Тангача канотлиларнинг жинсий феромонлари одатда 10-18 углерод атоми спирт, ацетат ва альдегидларга яқин бўлади. Улар алоҳида кимёвий бирикмалар сифатида ифодаланади, лекин биологик таъсири бир неча хил компонентларни ўз ичига олади. Одатда феромонларнинг биологик таъсири учун тур спецификлиги ҳосдир. Ҳашаротларнинг турли хил турлари феромонлар сифатида муайян кимёвий бирикмалар ёки муайян тартибдаги компонентлар аралашмасидан фойдаланади.

Феромонларнинг кашф этилиши уларни зараркунада ҳашаротларга қарши қўллашда кенг имкониятлар очди. Ҳашарот безларидан ажратиб олинган аттрактантларни ишлаб чиқариш самарадорлиги кўп меҳнат талаб қилиши ва маҳсулот чиқиши унуми пастлиги сабабли кам самарага эға.

Кимёвий феромонларнинг ҳам спецификлиги паст бўлиб ҳисобланади, чунки кўплаб ҳашаротларнинг табиий феромонлари алоҳида кимёвий бирикмаларнинг йиғиндисидан иборат бўлиб, бир қатор феромонларнинг баъзи компонентлари бир неча ҳашарот турлари учун умумий бўлади. Юқори специфик феромонларни ишлаб чиқариш кимёвий тоза бирикмалар ва

уларнинг муайян нисбатдаги комбинацияларини олишнинг қийинлиги сабабли, шунингдек, ҳашаротларнинг жуфтлашиш жараёнидаги ҳатти-ҳаракатларини бошқаришда жинсларнинг алоҳида ўрни тўғрисидаги маълумотларнинг йўқлиги каби кўплаб муаммоларга дуч келмоқда. Маълумки, шарк мевахўрида жуфтлашиш тўрт босқичда амалга ошади: эркагини ургочига жалб қилиниши, унинг яқинлашиши, ургочининг ориентацияси ва копуляция. Ҳар бир босқич муайян кимёвий компонент таъсири билан тавсифланади.

Сунъий феромонларнинг самараси пастлиги сабабли ўсимликларнинг табиий аттрактантлар ҳосил қилишдаги ролини алоҳида қайд этиш лозим. Масалан, дарахтларнинг луб қаватини кемириб зарар келтирувчи лубхўр кўнгизнинг феромон комплексига мирицен қиради, у ўсимликларда ҳам ҳосил бўлади. Ҳашаротлар ўсимликларнинг баъзи алкоидларидан жинсий феромонлари синтезида оралик маҳсулот сифатда фойдаланадилар. Хўжайин-ўсимликларда учрайдиган  $\alpha$ -пинен моддаси *Ips paraconfusus* кўнгизлари цис – вербенoли биосинтезида дастлабки бирикма сифатида хизмат қилади.

Шуни ҳам қайд этиш лозимки,  $\alpha$  - пиненнинг вербенoлга айланишини *Bacillus cereus* штамми амалга оширади. Феромонларнинг оралик маҳсулотлари ўсимлик хўжайинларида синтезланиб, бактериялар иштирокида ҳашарот феромонларига айланиши уларнинг кимёвий йўл билан эмас, биологик йўл билан олинган турларидан амалиётда фойдаланиш имконини беради. Биотехнологик усуллар, жумладан ўсимлик тўқималари культураси усуллари, шунингдек ген муҳандислиги усуллари юқори самарадор феромонлар ишлаб чиқаришни ташкил этишда истиқболли ҳисобланади.

Ўсимликларни ҳимоя қилишда феромонлардан фойдаланишнинг уч хил йўли мавжуд:

- ҳашарот турларини топиш;
- ҳашаротларни оммавий тутиш;
- турли хил жинс вакиллари фазовий жуфтлашишига хизмат қиладиган ҳид бўйича мўлжал олиш тизимини издан чиқариш.

Кимёвий ва табиий феромонларни зараркуанда ҳашаротларга қарши амалиётда қўллашнинг асосий йўлларида бири - уларнинг популяцияларини мониторингини ўтказиш, туткич ёрдамида зараркундаларнинг сонини аниқлашдан иборат. Оддий кузатувларни экин майдонларида олиб бориш зараркундаларнинг учраш даражаси ва экин ёдонларининг зарарланганлик ҳолати тўғрисида аниқ ва тўлиқ маълумот олмайди. Туткичга тушган алоҳида ҳашаротлар маълум турдаги этнинг яқин атрофда учрашидан далолат берса, тутилган ҳашаротларнинг арга қарши кураш чоралари тўғрисида бир тўхтамга эришиш имконини беради. Бундай тадқиқотлар натижасида, зараркуанда ҳашаротларга қарши кураш учун сарфланадиган харажатларни кескин қисқартириш, ҳашаротларнинг бошқа ҳудудларга тарқалмаслигини олдини олиш мумкин.

Феромонларли туткичлар карантин зараркундаларини топиш имконини беради. Ҳозирги вақтда карантин объектларини эрта аниқлашда феромонлардан дунё амалиётида кенг фойдаланилмоқда (шарк мевахўри, картошка куяси,

америка оқ капалаги, калифорния қалқондори ва ҳ.к.) 1976 йилда АҚШда биринчи марта йирик ҳажмдаги майдонларда 17 мингдан ортиқ тримедлюр, кюлор ва метилевгенол феромони сакловчи туткичлар қўйилиб мамлакат жанубидаги уч хил хавфли зараркунандалар: ўрта ер денгизи мева пашшаси, ковун пашшаси ва шарқ мева пашшасини топишга муваффақ бўлишган. Улар зараркунандаларни янги майдонларга ўрнашиб олмасларидан олдин топиш ва йўқотиш имконини беради. Зараркунандаларни бундай эрта аниқлаш уларни кириш учун ишлатиладиган ўта хавфли интродуцентларни қўллашга сарфланадиган миллионлаб долларларни тежашга шароит яратди. Бундай мақсадларда импорт маҳсулотлари олиб ўтилинадиган портларда туткичлар халқа шаклида қўйилади. Агар қайсидир зараркунанда хашарот жойлашиб олган бўлса, феромонли туткичлар зараркунандалар жойлашган жойни аниқлаб, уларга қарши қўлланиладиган кимёвий инсектицидларни мўлжал бўйича қўллаш имконини беради ва табиатнинг ифлосланишини олдини олади. Масалан, 1956 йилда Флоридада ўрта ер денгизи мева пашшаси 0,4 млн га ерга тарқалиб кетади. Атрактантлар билан қўлланилган туткичлар зараркунанда хашарот жойлашган жойни аниқлаш ва ўрта ер денгизи мева пашшасини кимёвий инсектицидлар билан тўлиқ кириб ташлаш имконини беради.

Олимларнинг ҳисоб китобларига қараганда, зараркунандалар популяциясини йўқотиш учун агар уларнинг сони кўп бўлса, 1 га ерга 4,5 мингта ёки ҳар бир дарахтга 50 та туткич зарур. Агар зараркунанда хашаротлар сони бирмунча кам бўлса боғ зараркунандаларга қарши 1 га ерга 30-50 та туткич кифоя қилади.

Ўзбекистонда ҳам феромонлар зараркунанда хашаротларга қарши курашда фойдаланилади. Феромон туткичлар ўсимликнинг ўсув даврида ҳимоя тадбирлари ўтказишнинг зарурати ва муддатларини аниқлаш мақсадида қўлланилади. Жумладан, Армигаль препарати (цис-11-гексадециналь+цис-9-гексадециналь) 2 гектарга 1 донга миқдорда гўза тунламига қарши, атрактон (транс-10, транс-12, цис-14-гексадекстриенил ацетат) тут парвонасига қарши қўлланилади.

Зараркунанда хашаротларга қарши юқори самарадор препаратларни янгича турларини яратиш зарур. Феромонларнинг нархи жуда қиммат, шунинг учун олимлар улардан фойдаланишда бошқа усулларни ҳам таклиф қилмоқдалар, бунда таъсир этувчи модданинг бугланиши секин бориб, узок вақт давом этади. Уларга мисол сифатида диспарлюр – микрокапсулаларини келтириш мумкин. У тоқ ипак қуртнинг жинсий атрактанти ҳисобланади.

Микрокапсулалар желатин ёки полиамид шарчалар бўлиб, диаметри 3-40 мкм гача, ички қисмига секин бугланувчи феромон жойлаштирилган. Бу феромон ёрдамида тоқ ипак қуртини тўрт ҳафта ичида 98% гача йўқотиш мумкин.

Шунингдек, ҳозирги вақтда олимлар полимер диспенсер (ташувчи)лар ва уларни қўллаш устида ҳам изланишлар олиб бормоқдалар.

АҚШда Коирел фирмасининг икки хил турдаги диспенсери ва уч қаватли полимер пластинкалар (Геркон фирмаси маҳсулот) дан фойдаланилади. Феромоннинг 1 га ерга бир мавсумда ишлатиладиган миқдори бир неча

граммни ташкил этади. Зараркунанда хашаротларнинг физиологик фаол моддаларидан фойдаланиш ҳам жуда истиқболли соҳа ҳисобланади.

Феромонлар билан бирга ўсимликларни химоя қилишда хашаротларнинг бошқа хил физиологик фаол моддаларини ҳам қўллаш мумкин. Ички секреция безлари турли хил гормонларни ишлаб чиқаради. Улар ичида энг кўп ўрганилгани ювенил (личинка гормони) ва туллаш гормони (экдизон) дир. Улар хашаротларнинг гормон бошқарилувида асосий аҳамиятга эга. Ўсимликларни химоя қилиш соҳаси мутахассислари бу гормонлардан хашаротлардаги нормал ривожланиш ва кўпайиш жараёнларини издан чиқаришда фойдаланишлари мумкин.

Гормон препаратларидан зараркунанда хашаротларга қарши фойдаланиш ўзига хос хусусиятларга эга. Уларни қўллаганда хашаротга ўша заҳоти таъсир этмайди, шунинг учун кенг тарқалган хашаротлар ўсимликларга катта зарар етказиб қўйиши мумкин.

Бундан ташқари гормонларнинг таъсири маълум бир даврда эканлиги улардан фойдаланишни чеклаб, кийинчилик тугдиреди. Бирок гормон препаратларидан фойдаланишнинг афзалликлари ҳам мавжуд - улар организмда тўпланмайди, умуртқали хайвонлар учун заҳарсиз, уларга хашаротлар кўникиб қолмайди. Шунинг учун олимлар ушбу моддалардан хашаротларга қарши курашда фойдаланишнинг янги йўналишларини кашф этмоқдалар. Бундай тадқиқотлар биотехнология ва ген муҳандислиги усуллари асосида олиб борилса, янада самара бериши аниқ. Чунки хашаротлар гормонларига ўхшаш моддалар бир катор ўсимликлар томонидан ҳам ишлаб чиқарилади. Бу моддалар, масалан, фитоэкдизонлар ўсимлик тўқималари култураси усуллари асосида ферментерларда ҳам ишлаб чиқарилиши мумкин.

**Бегона ўтларга қарши кураш усуллари.** Ўсимликларни химоя қилишдаги яна бир муҳим йўналиш - бегона ўтларга қарши кураш. Ҳозирги вақтда бегона ўтларга қарши кураш гербицидларни қўллашга асосланган кимёвий усулар билан олиб борилади. Замонавий ўсимликшунослиқда гербицидларни қўллаш кишлоқ хўжалик экинларининг ҳосилдорлигини ошириш ва кишлоқ хўжалиги ишлаб чиқариши самарадорлиги юқори кўтариш йўллари билан бириктирилади. Гербицидларнинг асосий камчилиги - уларнинг хайвон ва одам организми учун оз ёки кўп даражада заҳарлилиги билан боғлиқ. Шунингдек, оқава сувлар ва аэрозоллар ишлатилиши натижасида улар тупроқда ва ҳавзаларига тушиши, ўсимлик озиқалари ва хайвон маҳсулотларида топилиб одам ва хайвонлар саломатлиги учун жиддий заҳарли тугдириши

мутахассислар бегона ўтларга қарши курашда биологик усуллар, организмлар ва уларнинг маҳсулотларидан фойдаланиш устида тинимсиз қўлланадиган қўлдалар. Бунда биотехнология ва ген муҳандислиги ютуқларини қўллаш қониятлар очмоқда. Биотехнологик усуллар воситасида бегона ўтларни қилувчи организмларни кўпайтириш, мазкур мақсад йўлида тегишли моддаларни ҳам ишлаб чиқариш мумкин.

Ҳозирги вақтда экотоксикологик ва самарадорлиги жиҳатдан ҳам юқори бўлган гербицидларнинг янги авлодлари яратилмоқда. Уларни кўпинча

микроорганизмлардан олинади. Микроб гербицидлари ишлаб чиқаришнинг афзаллиги — гербицид синтезловчи микроорганизмларни ўстириш ускуналари (ферментерлар)нинг универсаллигидир. Иккинчи яна бир муҳим афзаллиги — уларни ишлаб чиқаришдаги чиқиндиларнинг атроф муҳитга нисбатан зарарсизлигидир. Учинчидан, микробли гербицидлар табиат учун бегона эмас. Чунки тупроқда яшовчи актиномицетлар уларни доимий равишда ишлаб чиқиб, ташқи муҳитга ажратиб туради. Табиийки, тупроқ биоценозида эволюция давомида актиномицетлар томонидан ишлаб чиқариладиган моддаларни парчалайдиган тизимлар ҳам келиб чиққан. Мазкур тизимлар ўсимликларга фақат актиномицетлар асосида олинган гербицидлар билан ишлов берилганда ишга тушади. Натижада табиатда заҳарли моддалар тўпланмайди. Бу хусусият ўз навбатида инобатга олинishi лозим, чунки уларни кўпчилигининг самараси бевосита тупроққа киритилганда юқори эмас.

Ҳозирги вақтда гербицид ишлаб чиқувчи микроорганизмларнинг бир қатор турлари аниқланган. Уларни амалиётга жорий этиш, ген муҳандислигига оид чуқур тадқиқотларни ўтказиш, биотехнологик ишлаб чиқаришда микроорганизмлардан кенг фойдаланиш имкониятларини очади.

Японияда бегона ўтларга қарши *Streptomyces hygrosporicus* ва *S. viridochromogenes* актиномицетлари ажратиб чиқарадиган биалофос гербицидидан фойдаланиш таклиф этилмоқда. Бу гербицид кенг спектрга эга бўлиб, бир қатор бегона ўтларга қарши униб чиқиш давридан бошлаб бутун ўсув даври мобайнида фойдаланиш имконини беради. Бироқ, биалофосни бевосита тупроққа киритилганда, унинг самараси деярли бўлмайди, бунинг сабаби юқорида келтирилган эди.

Ўсимликларга гербицид эртмаси пуркалганда, у ўсимлик илдизларига ўтади ва ўсимлик нобуд бўлади. Ушбу гербициднинг бу борадаги таъсири глифосат (фосфонаметилглицин)га ўхшаш, лекин унинг бегона ўтларга таъсири бирмунча кучлидир. Унинг тавсия этиладиган меъёри 1 га/кг. Ҳозирги вақтда Японияда бу препаратни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Актиномицетларнинг баъзи штаммлари анисомидин деб номланувчи модда ишлаб чиқаради. У маймунжон, беда, помидор каби ўсимликларнинг ўсимталарида илдиз ўсишини пасайтиради. Бир йиллик бегона ўтларнинг кўпчилигига қарши самарали таъсир кўрсатади. Бу модда анисомидиннинг жуда кўп ҳосилаларини олиш учун дастлабки материал бўлиб хизмат қилади. Бундай ҳосилаларнинг тузилиши ва биологик фаоллигини ўрганиш натижасида янги гербицид «Метоксифенон» олинган. «Метоксифенон» ўсимликларнинг униб чиқиши олдида қўлланилади. Униб чиққан кўплаб бир йиллик бегона ўт ўсимталари гербицид таъсирида хлорозга учрайди ва нобуд бўлади. Бу гербицид шоли экинларидаги бегона ўтларига қарши курашда қўлланилади.

*Streptomyces saganonensis* 4075 штамми филтратларида гербицид фаоллигига эга иккита метаболит топилган бўлиб, кейинчилик яна учтаси аниқланди — С, Д, Е. Улар икки паллали бегона ўтларга қарши танлаб таъсир кўрсатиш хусусиятига эга бўлиб, уруғ унвчанлигини пасайтиради.

Илмий манбаларда микроорганизмларнинг гербицидсимон моддаларидан яна бошқа хил турлари - нараминицин, тойокамицин, пиолютерион, цитобарицин, формицин А ва В турлари ҳам келтирилади.

Гербицидсимон моддаларнинг истикболли продуцентлари сифатида *S. toyoasaensis*, ирпекс замбуруглари (*Irex rasyodon*) кабиларни кўрсатиш мумкин. Шунингдек, *Rhizobium japonicum* бактериясининг баъзи штаммлари 0,2 га/кг меъёрида гербицид таъсирга эга ризобитоксин ишлаб чиқариши ҳам маълумдир.

Ўсимликларни бегона ўтлардан химоя қилишда қўлланиладиган микробли гербицид препаратлари ҳажми анъанавий гербицидларга нисбатан кўп эмас. Лекин микробли препаратлар теварак - атроф ва одамга зарарсизлиги билан янги истикболли имкониятларни очади. Ўсимликларни химоя қилиш соҳаси мутахассисларининг фикрича, биотехнологик саноат асосида микробли гербицидлар ишлаб чиқариш қўлами яқин келажакда анча ортади. Бу борада уларни ишлаб чиқаришда ген муҳандислиги ҳам алоҳида ўрин тутади.

Гербицидларни нафакат микроорганизмлардан балки ўсимликлардан ҳам олиш мумкин. Чунки улар ҳам илдизлари орқали тупроққа ажралиб чиқадиган турли хил физиологик фаол моддаларни ишлаб чиқарадилар. Бу моддалар орасида бошқа ўсимликларни nobуд қилувчи таъсирга эга моддалар ҳам mavжуд. Бактериоцид, фунгицид ва шу билан бирга гербицид таъсирга эга агропирин шулар жумласидандир. Бу модда ўрмаловчи бугдойик бегона ўти томонидан ажратиб чиқарилади. Агар ушбу ўсимлик илдизидан эфир мойлари ажратиб олинса, унинг 95% и агропиринга тўғри келади. Агропирин илдиз ва баргларга шимилиб дастлаб илдиз қинчаси, кейин бутун илдиз тизимининг nobуд бўлишига олиб келади. У най-толали боғламлар орқали ўсимлик бўйлаб тарқалади ва ўсимликнинг бир мунча ёш аъзоларини захарлайди.

Ҳозирда дунё олимлари бегона ўтларга қарши махсус моддалар ишлаб чиқарадиган ўсимликлар коллекцияларидан турли экин навларини топишни тадқиқ этмоқдалар. Бундай хусусиятга эга навлар экилганда гербицидларни қўллаш талаб қилинмайди.

Ген ва ҳужайра муҳандислиги усуллари асосида касаллик, зараркунанда ва захарли моддаларга чидамлилиқ белгилари киритилган ўсимликлар тўғрисида юкоридаги бобларда батафсил маълумот берилган бўлиб, мазкур йўналиш ҳам қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришида муҳим аҳамият касб этаётганлигини яна бир бор таъкидлаш жоиздир.

#### Адабиётлар

- Белуха П.И. Сельскохозяйственная биотехнология. -М.: «Высшая школа» - 415 с.  
Омонов А.Д. Биотехнология агропромышленному комплексу. -М.: «Ка» 1989. -157 с.  
Авронов. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. -Тошкент: Я8. -504 с

## Мундарижа

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Ўсимликшунослик ва мева-сабзавотчиликда биотехнология фаннинг аҳамияти ва асосий вазифалари.....              | 3  |
| Юксак ўсимликлар ген муҳандислиги.....                                                                        | 12 |
| Ўсимликлар ҳужайрасига генларни киритиш усуллари.....                                                         | 16 |
| Ўсимликшуносликда ҳужайра ва тўқималар культураси.....                                                        | 26 |
| Ўсимликларни клонли микроўпайтириш боскичлари ва усуллари .....                                               | 29 |
| Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратиладиган ҳужайра ва тўқималар культураси.....                            | 38 |
| Ўсимликларни ҳужайраси селекцияси.....                                                                        | 41 |
| Ўсимликшуносликда фитогормонлар ва ўсимликларни ўсиши ҳамда ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар..... | 65 |
| Ҳужайрада ҳосил бўлган моддаларни тоза ҳолда ажратиб олиш ва модификациялаш усуллари .....                    | 86 |
| Ўсимликларни химоя қилишда биотехнология.....                                                                 | 97 |

Босишга рухсат берилди 15.10.2016 йили (60x84) 1/16. Шартли босма табағи 7,25.

Нашриёт босма табағи 7,25. Адади 50 нусха.

Ўзбекистон Республикаси Давлат матбуот қўмитасининг 21-3540 сонли гувоҳномаси асосида  
ТошДАУ Таҳририят-нашриёт бўлимининг РИЗОГРАФ аппаратида чоп этилди.