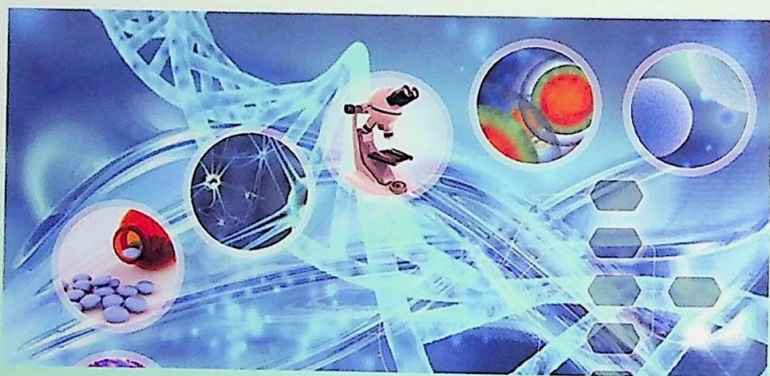


XALMUMINOVA G.Q., XO'JANAZAROVA M.Q.,  
JUMANAZAROV G'.X.

# BIOTEXNOLOGIYADA ILMIY TADQIQOT USLUBLARI

magistratura talabalari uchun  
o'quv qo'llamma



ТАШКЕНТ -2021

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
QISHLOQ XO'JALIGI VAZIRLIGI

TOSHKENT DAVLAT AGRAR UNIVERSITETI  
AGROBIOTEXNOLOGIYA КАФЕДРАСИ

XALMUMINOVA GULCHEHRA QULMUMINOVNA  
XO'JANAZAROVA MO'TABAR QO'SHOQOVNA  
JUMANAZAROV G'AYRAT XUSANOVICH

# BIOTEXNOLOGIYADA ILMIY TADQIQOT USLUBLARI

*( magistratura talabalari uchun o'quv qo'llanma)*

Toshkent  
"Shafoat Nur Fayz"  
2021



**UO‘K: 602.4(075.8)**

**KBK 30.16ya7**

**X 21**

Xalmuminova G.Q., Xo‘janazarova M.Q., Jumanazarov G‘.X.

Biotexnologiyada ilmiy tadqiqot uslublari [Matn] : o‘ quv qo‘ llanma / G.Q. Xalmuminova, M.Q. Xo‘janazarova, G‘.X. Jumanazarov . - Toshkent: "Shafoat Nur Fayz", 2021.-100 b.

**UO‘K: 602.4(075.8)**

**KBK 30.16ya7**

O‘quv qo‘llanma o‘quv va ishchi dasturlariga muvofiq tuzilgan bo‘lib, "Biotexnologiyada ilmiy tadqiqot uslublari" fani bo‘yicha o‘tiladigan amaliy mashg‘ulotlarining mavzusi, uni o‘tkazish uchun dastur, materiallar va jihozlar, topshiriqlarning qisqacha mazmuni hamda bajarish usuli, tartibi va olingan natijalarni muhokama qilish bo‘yicha tushunchalar berilgan.

O‘quv qo‘llanma talabalar, magistrlar, aspirantlar, ilmiy xodimlar, shuningdek "Biotexnologiyada ilmiy tadqiqot uslublari" faniga qiziquvchi keng kitobxonlarga mo‘ljallangan.

**Qirizchilar:**

**Raxmonov U.N.** Toshkent davlat agrar universiteti, Qishloq xo‘jaligi fitopatologiyasi kafedrası mudiri, dosent.

**Mavjudova A.M.** O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti, katta ilmiy xodimi, b.f.n.

**ISBN 978-9943-7603-1-8**

© G.Q. Xalmuminova va boshq., 2021.

© «Shafoat nur fayz», 2021

## KIRISH

Ushbu qo'llanma O'zbekiston respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining qishloq ho'jalik oliy o'quv yurtlari uchun Davlat ta'lim standartlari va o'quv dasturlariga mos yozilgan. Hozirgi vaqtda dunyoning ko'plab mamlakatlarida biotexnologiya-ning taraqqiyotiga asosiy e'tibor qaratilmoqda, chunki boshqa texnologiyalarga qaraganda, biotexnologik jarayonlar energiya sarfining kamligi, deyarli chiqindisizligi, ekologik sofliги jihatidan bir qator afzalliklarga ega. Bundan tashqari bu texnologiyalar muayyan asbob-uskuna, texnik qurilma va preparatlardan foydalanishni talab qiladi, shuningdek, iqlim sharoitlariga qaramasdan kichik hajmni egallaydigan maydonlarda ham tadqiqotlar o'tkazish mumkinligi bilan ajralib turadi.

Qadimgi davrlardan boshlab insoniyat amaliyotining turli sohalarida qo'llaniladigan ma'lum biotexnologik jarayonlar ma'lum bo'lgan.

Tadqiqotchilar biotexnologik ishlanmalarga muhim hissa qo'shdilar: 1930-yillarda o'tin gidrolizatlari, qishloq xo'jaligi chiqindilari va sulfitli lyundan ozuqa xamirturushini ishlab chiqaradigan birinchi zavodlar qurildi, atseton va butanolni mikrobiologik ishlab chiqarish texnologiyasi muvaffaqiyatli joriy etildi.

Jarayonning ko'p bosqichli bo'lishi uni amalga oshirishda turli xil mutaxassislarni jalb qilishni taqozo etadi: genetiklar va molekulyar biologlar, biokimyogarlar va bioorganiklar, virusologlar, mikrobiologlar va hujayralar fiziologlari, texnologik muhandislar, biotexnologik uskunalar dizaynerlari va boshqalar.

Biotexnologiyada ilmiy tadqiqot uslublari fani ustuvor vazifalari yaratish va keng milliy iqtisodiy rivojlanish bilan belgilanadi:

Tadqiqot usullari nafaqat meva, rezavor meva va sabzavot ekinlarining hosildorligini oshirish bo'yicha samarali tavsiyalar ishlab chiqishi, balki mahsulot sifatini oshirishga ham hissa qo'shishi kerak.



Aholini yil davomida yuqori ta'mga ega yangi uzilgan mevalar, mevalar va sabzavotlar bilan ta'minlash uchun meva-sabzavot mahsulotlarini saqlash sharoitlarini yanada o'rganish va takomillashtirish zarur.

Metodikani takomillashtirish uchun tadqiqot usullaridan ilmiy tadqiqotlar samaradorligi va sifatini oshirishning asosiy usullaridan biridir.

Eksperimental ish metodikasidan ijodiy foydalanish tadqiqot ishlari sifati va samaradorligini sezilarli darajada oshirishi mumkin.

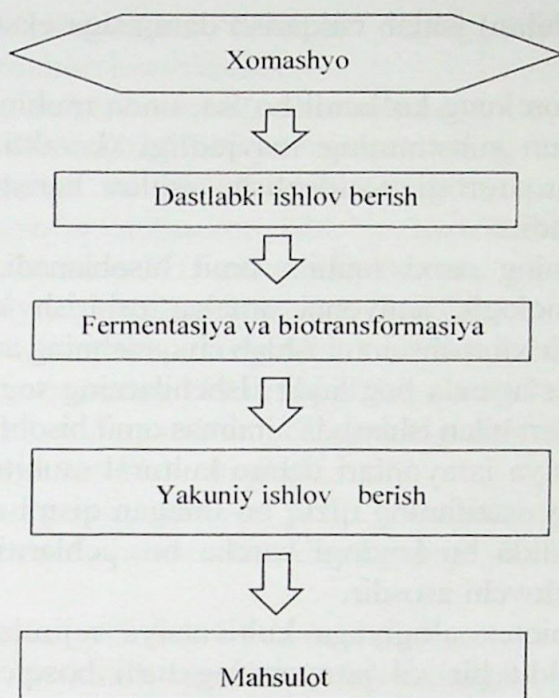
Ushbu qo'llanma talabalarni, magistrnlarni bilimni mustahkamlashda va ularda biotexnologiya dunyosi to'g'risida to'liq ko'nikmalar hosil bo'lishida katta ahamiyatga ega.

### **1- Amaliy mashg'uloti** **Biotexnologik mahsulotlarning ishlab** **chiqarish unumini hisoblash**

**Asbob-uskunalar va materiallar:** 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarni saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), penitsillin idishlari (10 dona), 1-10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich va turli xil kimyoviy moddalar.

**Mavzuni tushuntirish.** "Biotexnologiya" atamasi 1917 yilda Venger muhandisi Karl Ereki tomonidan qabul qilingan. Sanoat ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan yoki ularning fermentlaridan foydalanish, texnologik jarayonni ta'minlash qadim zamonlardan beri bizga ma'lum bo'lgan, ammo tizimli ilmiy tadqiqotlar biotexnologiya usullari va vositalarining imkoniyatlarini sezilarli darajada kengaytirishga imkon berdi.

Shaklda ko'rsatilgan 1 diagramma biotexnologik jarayonni aks ettiradi.



**1-rasm. Biotexnologik jarayonning asosiy bosqichlari. Bu atama Karl Ereki tomonidan ishlab chiqilgan**

Har bir biotexnologik jarayon uchun tegishli sxema ishlab chiqilishi va jarayonning o'zi doimiy ravishda kuzatilishi va sinchkovlik bilan nazorat qilinishi kerak.

Aksariyat amaliy biotexnologik jarayonlar uchun bunday tizimlar fermentatorlar yoki bioreaktorlar bo'lib, ular katalizatorning atrof-muhit va etkazib beriladigan material bilan eng yaxshi o'zaro ta'siri uchun zarur fizik sharoitlarni ta'minlaydi. Bioreaktorlar oddiy tomirlardan tortib, har xil darajadagi kompyuter texnikasiga ega bo'lgan juda murakkab tizimlarga qadar olib boriladi. Barcha (yoki deyarli barchasi) biotexnologik jarayonlarning asosiy qismi suvdur.

Laboratoriyada har qanday organizmning o'ziga xos ehtiyojlarini osongina aniqlash mumkin va keyin (ma'lum bir yaqinla-



shish darajasi bilan) ishlab chiqarish darajasiga ekstrapolyatsiya qilish mumkin.

Agar jarayon keng ko'lamli bo'lsa, unda muhim bir nuqtani etishtirish uchun substratning mavjudligi (kerakli miqdordagi mavjudligi, barqarorligi, to'ldirilishi, ishlov berish va saqlash qulayligi) bo'ladi.

Materiallarning narxi muhim omil hisoblanadi, chunki har qanday biotexnologik jarayonni amalga oshirish ko'p jihatdan uning narxini bir xil mahsulotni ishlab chiqarishning amaldagi usullari bilan taqqoslaganda bog'liqdir. Ishchilarning sog'ligi, ayniqsa chang materiallari bilan ishlashda ajralmas omil hisoblanadi.

Fermantatsiya jarayonlari uchun kultural muhitni tayyorlash odatda umumiy vazifaning qiziq bo'lmagan qismi sifatida qaraladi, ammo aslida bu keyingi barcha bosqichlarning muvaffaqiyatini ta'minlovchi asosdir.

Yaqinda biotexnologiyaga kultivatsiya rejimlarini farqlash printsipli kiritildi: bir xil jarayonning turli bosqichlari har xil sharoitlarda - harorat, shamollatish va hk. Tabiiyki, bu reaktorlarni loyihalash uchun yangi (qo'shimcha) talablarni yaratadi.

Shunday qilib, biotexnologik jarayonlarni amalga oshirishning asosiy tamoyillariga muvofiq zamonaviy bioreaktorlar quyidagi tizimlarga ega bo'lishi kerak: sanoat korxonasining ishlab chiqarish quvvati - bu rejalashtirilgan assortimentdagi sifatli mahsulotlarning maksimal yillik ishlab chiqarishidir.

Ushbu ko'rsatkich uskunalarni rejalashtirilgan modernizatsiya qilish, texnologiyani takomillashtirish va ishlab chiqarish jarayonini tashkil etishni hisobga olgan holda ishlab chiqarish uskunalari va ishlab chiqarish maydonlaridan to'liq foydalanish bilan hisoblanadi. Korxonaning rejalashtirilgan ishlab chiqarish quvvati va korxonaning loyihalash quvvati o'rtasida farqlash kerak.

Rejalashtirilgan ishlab chiqarish quvvati qo'llaniladigan texnologik jarayonlar, mavjud uskunar parki va ishlab chiqarish maydonlari asosida belgilangan qiymatlar asosida belgilanadi va rejalashtirilgan nomenklatura bo'yicha ishlab chiqarish



hajmi kerakli sharoitda o'rnatiladi. asosiy vositalardan to'liq foydalanish muhim hisoblanadi.

Bundan farqli o'laroq, korxonaning loyihaviy ishlab chiqarish quvvati ishlab chiqarish dasturining ma'lum hajmiga qarab hisoblanadi va kerakli qiymatlar korxona tarkibi, ushbu dasturga muvofiq mahsulot ishlab chiqarishning texnologik jarayoni, uskunalar parki, uning miqdoriy va sifat tarkibi, ishlab chiqarish maydonlarining kattaligi, binolar va inshootlarning tabiati va o'lchamlari, energetika va transport inshootlari va boshqalar. Korxonaning ishlab chiqarish quvvati doimiy emas, u vaqt o'tishi bilan o'zgarib turadi, shuning uchun u ma'lum bir kalendar sanaga hisoblab chiqiladi.

Qoida tariqasida, quvvat tezlik rejalashtirish yilining 1-yanvarida va rejalashtirish davridan keyingi yilning 1-yanvarida hisoblanadi.

Rejalashtirish yilining 1 yanvar holatiga ko'ra ishlab chiqarish quvvati bu kirish quvvati; rejalashtirilgan yildan keyingi yilning 1 yanvar holatiga korxona quvvati ishlab chiqarish quvvati. O'rtacha yillik quvvat ko'rsatkichi ham hisoblab chiqiladi, bu reja va ishlab chiqarish hisoboti bilan taqqoslash uchun ishlatiladi.

Eng umumiy shaklda ishlab chiqarish hajmini hisoblash uchun quyidagi formulalardan foydalaniladi:

$$M_n = \text{Sub} \times \text{Pob}, (1)$$

yoki

$$M_n = \text{Fob} / T, (2)$$

bu erda  $M_p$  - korxonaning ishlab chiqarish quvvati;

$\text{Pob}$  - mahsulot birligi (qism) bilan ifodalangan uskunaning vaqt birligi bo'yicha unumdorligi;

$\text{Fob}$  - uskunaning ishlash vaqtining haqiqiy (ishchi) fondi, vaqt birligi;

$T$  - ushbu uskunada ishlab chiqarilgan mahsulotlar (qismlar) to'plamining me'yoriy soat, ish kuni, mehnat zichligi.



Imkoniyatlarni hisoblashda uskunalar korxonaning tarkibiy ishlab chiqarish birliklari bo'yicha va ularda - o'zaro almashinish asosida, ya'ni iloji bo'lsa, xuddi shu texnologik operatsiyalarni bajaradigan guruhlar bo'yicha guruhlanadi.

### **Topshiriq.**

Biotexnologik mahsulotlarning ishlab chiqarish unumini hisoblash bo'yicha olgan bilimlaringiz asosida **Insert** usulidan foydalanib jadvalni to'ldiring.

### **Insert jadvali**

| <b>V</b> | <b>*</b> | <b>-</b> | <b>?</b> |
|----------|----------|----------|----------|
|          |          |          |          |
|          |          |          |          |
|          |          |          |          |

**V** - men bilaman;

**\*** - yangi axborot;

**-** - men bilganimga zid;

**?** - meni o'ylantirib qo'ydi.

### **Nazorat savollari:**

1. Har bir biotexnologik jarayon uchun tegishli sxema ishlab chiqish deganda nima tushunasiz?

2. Rejalashtirilgan ishlab chiqarish quvvati qo'llaniladigan texnologik jarayonlar qanday amalga oshadi?

3. Biotexnologik jarayonlarni amalga oshirishning asosiy tamoyillariga muvofiq zamonaviy bioreaktorlar nima?



## 2-Amaliy mashg'ulot

### Sabzavot ekinlaridan ajratilgan hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa muhitlarini tayyorlash

**Asbob-uskunalar va materiallar:** 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarni saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), penitsillin idishlari (10 dona), 1-10 ml li pipetkalar, sabzavot ekinlaridan namunalar olish, oziqa muhitlari, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich va turli xil kimyoviy moddalar.

**Mavzuni tushuntirish.** Sabzavot ekinlaridan ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan oziqa muhitda o'simliklarga kerakli hamma *makroelementlar*: azot, fosfor, kaliy, kalsiy, oltingugurt, magniy, temir va *mikroelementlar*: bor, rux, mis, kobalt, manganets, yod, molibden, shuningdek vitaminlar, uglevodlar, karbon suvlar, fitogormonlar bo'lishi kerak, ba'zi bir oziqa muhitlari tarkibida esa kazein gidrolizati va ayrim aminokislotalar bo'lishi kerak. Bundan tashqari, oziqa muhiti tarkibiga, hujayralarning temirga bo'lgan ehtiyojini turli Ph ko'rsatkichlarda qondirish uchun EDTA (etilendiamintetrasirka kislotasi) yoki uning natriyli tuzi kiritilishi kerak. Ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan oziqa muhitning asosiy tarkibiy qismini uglevodlar tashkil qiladi, chunki hujayra va to'qimalar avtotrof oziqlanish qobiliyatiga ega emas. Ko'pincha uglevod manbai sifatida saxaroza yoki glyukozaning 20-40 g/l eritmasi qo'llaniladi. Uglevodli oziqa manbai sifatida polisaxaridlar ishlatilmaydi, chunki ba'zi to'qimalar, asosan o'smalar faol gidrolitik fermentlarga (amilaza va boshqalar) ega bo'lib, kraxmal eritmasi bor oziqa muhitlarida o'sishi mumkin. O'sish regulyatorlari hujayralar dedifferensirovkasi va hujayra to'qimalari induksiyasi uchun zarurdir. Shuning uchun kallusli to'qimalar olishda oziqa muhitlari tarkibiga auksin (hujayra dedifferensirovkasini yuzaga keltiruvchilar) va sitokinin (dedifferensiyalangan hujayralarning bo'linishini induksiyalovchi) kiritish



kerak. Poya morfogenezi induksiyasida oziqa muhiti tarkibida auksinning miqdori kamroq bo'lishi yoki umuman bo'lmasligi mumkin. Ikkala gormonlarga yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik shu hujayralarning gormon ishlab chiqarish qobiliyatiga bog'liq. Auksin manbai sifatida oziqa muhitlarda 2,4-dixlor fenoksisirka kislotali (2,4-D) 1-10 mg/ml; indolil sirka kislotali (ISK) 1-30 mg/l;  $\alpha$ -naftil sirka kislotali (NSK) – 0,1-2 mg/l kabilar ishlatiladi. Ko'pincha 2,4-D ishlatiladi. ISK 2,4-D ga nisbatan 30 marta kam faollikka egadir. Kallusning rivojlanishi uchun ko'pincha auksinning yuqori miqdori ishlatiladi, to'qima keyingi qayta ekilganda auksinning miqdori bir necha marta kam bo'lganda ham to'qima o'sishi davom etaveradi.

Sun'iy oziqa muhitlarida sitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin (0,001-10 mg/l) qo'llaniladi. To'qimalarning o'sishida va organogenez induksiyasida 6-BAP kinetinga nisbatan yuqori faollikni namoyon qiladi, ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga adenin kiradi.

Auksin va sitokininlardan tashqari, ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga gibberal kislotali (GK) qo'shiladi. Oziqa muhitida GKning bo'lishi shart bo'lmasa ham, ba'zi hollarda u izolyatsiyalangan to'qimalarning o'sishini tezlashtiradi. Birlamchi kallus induksiyasini va uning o'sish faoliyatini tezlashtirish uchun oziqa muhitiga o'simlik ekstraktlari yoki sharbatlari qo'shiladi. Kokos suti-kokos yong'og'i suyuq endospermi o'sish tezligini oshirish xususiyatiga ega. Qattiq oziqa muhitni tayyorlashda dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxarid, agar-agardan foydalaniladi. "Bacto agar" nomli bakterial agarda keraksiz qo'shimchalarning miqdori kamroq bo'ladi. Bunday agarlarni qattiq oziqa muhit tayyorlashda tozalamasdan ishlatish mumkin. Odatda qattiq oziqa muhiti tayyorlashda 5-7% agardan foydalaniladi. Vaqtdan unumli foydalanish uchun makro-mikro-tuzlar va vitaminlarning eritmaları yuqori miqdorda boshlang'ich eritma holda tayyorlanib, ularni ko'p marta suyultirib ishlatish



mumkin. Konsentrlangan eritmalar muzlatgichda saqlanadi, vitaminli eritmalar minusli haroratda saqlanadi.

Makrotuzlar eritmaları 10-20 marta ko'p miqdorda, mikrotuzlar eritmaları 100-1000 marta ko'p miqdorda, vitaminlar eritmaları esa 1000 marta ko'p darajali miqdorda tayyorlanadi. Har xil turlarga mansub o'simliklar hujayralari, to'qimakari va organlarini o'stirishda turli tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Ko'pincha Murasige Skuga, Uayt, Eller oziqa muhitlari ishlatiladi. Murasige-Skuga oziqa muhitlaridan turli modifikatsiyalar bilan apikal meristemalar o'stirishda va o'simliklarni mikroko'paytirishda foydalanish mumkin.

**Ishning borishi.** Kartoshka va qulupnayning apikal meristemalarini o'stirish uchun moslashtirilgan (modifikatsiyalangan) Murasige Skuga oziqa muhitlarini tayyorlash. Oziqa muhitlari tarkibi 4-5 jadvallarda berilgan. Avvalo makro-, mikrotuzlar va vitaminlarning boshlang'ich eritmalarini tayyorlash kerak. Odatda, Murasige va Skuga oziqa muhitlari quyidagi birikmalardan tayyorlanadi.

1.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KN}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{MgSO}_4$  ni cho'k-maga tushishini oldini olish uchun, qizdirmasdan oxirida solinadi);

2.  $\text{CaCl}_2$  eritmasi;

3. Temir xelati eritmasi ( $\text{FeSO}_4$  va  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  eritmasi birgalikda qaynagunga qadar qizdirilganda temir xelati hosil bo'ladi);

4. Mikroelementlar eritmasi.

Boshlang'ich eritmalar uchun kerakli tuzlar miqdori va boshlang'ich eritmalarining oziqa muhit uchun kerakli miqdorlari 1-jadvalda keltirilgan.

Tayyorlangan eritmalarini og'zi zich yopiladigan idishlarga solib, qog'oz yorliq yopishtirib, muzlatgichda saqlash lozim. Temir xelati to'q rangli shisha idishda saqlanadi. Vitaminlarning o'ta to'yingan eritmaları alohida-alohida tayyorlanadi va penitsillin idishlarida saqlanadi. Eritmalar tayyorlash uchun vitaminlar o'n martalik og'irlikda o'lchanib 10 ml suvda eritiladi.



Shu eritmaning 1 ml miqdori 1 litr Murasige-Skuga eritmasini tayyorlash uchun etarlidir. Endi boshlang'ich eritmalardan foydalanish holda keyingi darslarda kartoshka va qulupnay apikal meristemalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash kerak.

### 1-jadval

#### Murasige-Skuga bo'yicha boshlang'ich eritmalar tayyorlash

| Oziqa muhitning tarkibiy qismi                        |      | Qo'shimchalar                                              |
|-------------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------------|
| Makrotuzlar boshlang'ich eritma uchun                 | g/l  | 1 litr oziqa muhit uchun 50 ml boshlang'ich eritma olinadi |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$                              | 33   |                                                            |
| $\text{KNO}_3$                                        | 33   |                                                            |
| $\text{CaCl}_2$ (suvsiz)                              | 8,8  |                                                            |
| yoki $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$        | 13,8 |                                                            |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                              | 3,6  |                                                            |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yoki suvsiz | 7,4  |                                                            |
| Mikrotuzlar, 100 ml boshlang'ich eritma uchun         | mg/l | 1 litr oziqa muhit uchun 1 ml boshlang'ich eritma olinadi  |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                               | 620  |                                                            |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$             | 2230 |                                                            |
| $\text{ZnSO}_4$                                       | 860  |                                                            |
| KI                                                    | 83   |                                                            |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   | 25   |                                                            |
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$             | 25   |                                                            |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$             | 25   |                                                            |
| 100 ml boshlang'ich eritma uchun                      | mg   | 1 litr oziqa muhit uchun 5 ml boshlang'ich eritma olinadi  |
| Fe-xelat                                              | 557  |                                                            |
| EDTA                                                  | 745  |                                                            |

O'lchami 1 litrli kimyoviy stakanga saxaroza solib idishning yarmigacha distillangan suv quyib isitiladi, saxaroza erigandan so'ng, xona haroratigacha sovitiladi va unga makro-, mikrotuzlarning boshlang'ich eritmaları va vitaminlar kerakli miqdorda solinadi (1-jadval). Kartoshka apikal meristemasini o'stirish uchun oziqa muhitga aktivlangan ko'mir va regulyatorlar:



GK, kinetin, adenin solinadi. Gibberal kislotasi bir necha tomchi spirtga eritilib, ozgina suv qo'shiladi va oziqa muhitga solinadi. Sitokininlar suvda yaxshi erimaydi, balki ishqor, kislota, etil spirti va etil efiri eritmalarida yaxshi eriydi. Sitokinin eritmaları tayyorlash uchun gormonlarga ozgina (3-5 ml) distillangan suv, 0,5-1 ml 0,1 N KOH qo'shib aralashtiriladi va eriguncha isitilib, so'ngra oziqa muhitga solinadi. So'ng albatta eritmaning Ph i o'lchanadi, Ph ko'rsatkichi 5,5-5,6 atrofida bo'lishi kerak. Eritma Ph normaga to'g'ri kelmagan hollarda oziqa muhitga 0,1 M HCl eritmasidan qo'shiladi. Bir vaqtning o'zida boshqa shaklga agar-agar eritiladi. Buning uchun suvda ivitilgan agar (7 g) elektroisitgichda to'liq erigunga qadar qizdiriladi va harorat 50°S ga tushguncha saqlab turiladi. So'ng agarni tuzlar, vitaminlar va saxaroza bilan birga idishga solib, eritmaning hajmini suv bilan 1 litrga etkazish kerak. Oziqa muhitini probirkalarga solib (taxminan 1/3 hajmda), probirkalar og'zi paxta tiqinlar bilan yopiladi. Oziqa muhitlari avtoklavda sterillanishi kerak.

**Topshiriq:** Sabzavot ekinlaridan ajratilgan hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa muhitlarini tayyorlash bo'yicha olgan bilimlaringiz asosida **Insert** usulidan foydalanib jadvalni to'ldiring.

**Insert jadvali**

| V | * | - | ? |
|---|---|---|---|
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |

V - men bilaman;

\* - yangi axborot;

- - men bilganimga zid;

? - meni o'ylantirib qo'ydi.



### Nazorat savollari:

1. Qanday oziqa muhitlari turlarini bilasiz?
2. Apikal meristema ajratish jarayoni haqida gapirib bering?
3. Sterillash jarayonini aytib bering?

### 3-Amaliy mashg'ulot

#### Sabzavot ekinlari hujayrasidan kallus to'qimalarini olish

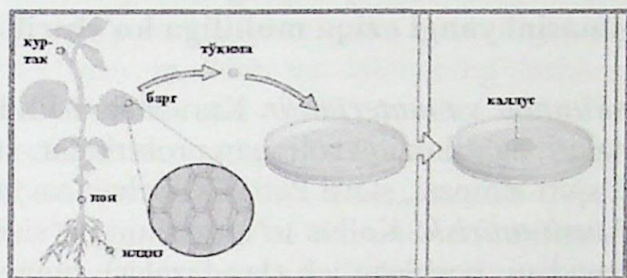
**Asbob-uskunalar va materiallar:** Probirkada steril sabzavot ekinlari, steril pinset, skalpel, matrascha yoki Petri likobchasi, spirtovka, stakanda spirt, kartoshka kallusini olish va o'stirish uchun steril oziqa muhitli (1- jadval) kolba yoki probirka, parafilm varag'i, qaychi va gugurt.

**Mavzuni tushuntirish.** Fitogormonlar tutuvchi oziqa muhitga o'tkazilgan kartoshka poyasi parenxima to'qimalari zararlangandan so'ng, hujayralar dedifferensiyaga uchraydi va o'linishga o'tib nodifferensiyalangan to'qima, ya'ni kallus hosil iladi. Kallusni o'simlikning turli organlaridan, xususan artoshkaning poya to'qimalaridan, bargidan, tugunagidan, dizidan, changdonidan olish mumkin. Quydagi steril kartoshka o'simligi poyasidan kallus olishni ko'rib chiqamiz.

**Ishning borishi.** Laminarning ichki yuzasi spirt bilan artiladi. steril o'simlik solingan probirkani spirt bilan artib, spirtovka ungasida sterillanadi. Probirkadagi steril o'simlikni steril pinset an steril matraschaga olamiz, o'ng qo'lda skalpel, chap qo'lda set bo'lishi kerak. Pinset yordamida o'simlikni ushlab turib, skalpel bilan poya qismlarining bo'g'in oralig'idan 5-10 mm uzunlikda kesamiz. Kallus hosil bo'lishi uchun poya eksplantlarining bir necha joyidan skalpel bilan shilib chiqamiz. Oziqa muhitini agari eriguncha qizdiramiz va 37-40°S gacha sovitamiz. Kolba og'zini ochib, spirtovka alangasida qizdirib olamiz, oziqa muhitini Petri likobchalariga solamiz. Har bir likobchaga taxminan 15-30 ml oziqa muhiti solinadi va 10-15



daqiqa qotiriladi. Bitta Petri likobchasiga 10-20 tacha timalgan poya eksplantlari agarli muhit yuzasiga pinset bilan salgina botirib joylanadi. Petri likobchasi qopqog'i bilan yopilib, ikki qavat parafilm bilan qoplanadi va harorati 22-25°S, namligi 70% bo'lgan sharoitda qorong'i kameraga qo'yiladi. Uch haftadan keyin natijasi ko'riladi va hosil bo'lgan kallus rasmi chizib olinadi.



2-rasm. Arpikal meristemadan kallus to'qima olish



3-rasm. Kallus to'qimasining ko'rinishi va rivojlanishi

**Topshiriq.** Mavzudan yoritilgan ma'lumotlarni diqqat bilan o'qing, so'ng "T-jadvali"dan foydalanib ularning afzal va kamchilik tomonlarini jadalga yozib chiqing.

*T-jadval*

| №  | Afzalliklari | Kamchiliklar |
|----|--------------|--------------|
| 1. |              |              |
| 2. |              |              |
| 3. |              |              |
| 4. |              |              |



### Nazorat savollari:

1. Sabzavot ekinlaridan qanday usulda kallus olish mumkin?
2. Kallus to'qima nima?
3. Apikal meristema qanday ajratiladi?

### 4 – Amaliy mashg'ulot.

#### Kallus to'qimasini yangi oziqa muhitiga ko'chirib o'tkazish

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Kartoshka hamda bedaning kallus to'qimalari, agarli oziqa solingan probirkalar, steril pinset, steril skalpel, spirt lampasi, steril Petri likobchasi va 96% li spirt.

**Mavzuni tushuntirish.** Kallus to'qimasining o'sishi S-tarzida kechadi. U quyidagi: boshlang'ich (lag-fazalar), hujayralarni faol bo'linish, sekin o'sadigan logariflik o'sish, statsionar va degradatsiya fazalardan iborat. Bo'linish xususiyatini saqlash va keyingi o'sishini davom ettirish uchun bir bo'lak kallus to'qimasi yangi oziqa muhitga ko'chirib o'tkaziladi. Hujayraning bo'linishini ushlab turishning bunday usuli to'qimalarni **passirlash** deyiladi. To'qimalarni passirlashni chegarasiz ravishda amalga oshirish mumkin. Lekin buni juda ko'p marta sodir etish, to'qima hujayralarini gormonlarga o'rganib qolishi, kallus hujayralaridan butun boshli o'simlikni hosil bo'lishini sekinlashtiradi.

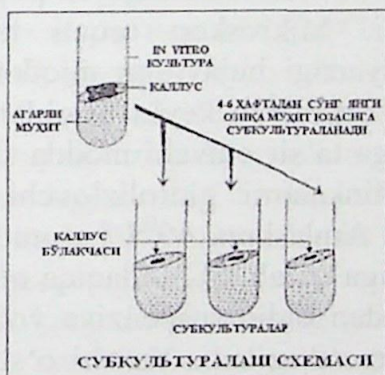
**Ishning borishi.** Sterillash qoidalariga to'liq rioya qilgan holda kallusni yangi oziqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. To'qima qo'ng'ir tusga kirgan va agar qoldiqlaridan xolos qilinadi. So'ngra kallus to'qimalari teng bo'laklarga bo'linadi va har bir bo'lakka rioya qilgan holda oziqa solingan steril probirkalarga ko'chirib o'tqiziladi.

Butun jarayon quyidagicha amalga oshiriladi: oziqa solingan probirka chap qo'lga olinib, o'ng qo'l bilan probirkaning paxtadan yasalgan probkasi olinadi. Probirkaning og'zi spirt lampasi alangasi yordamida kuydiriladi va tozalanadi.



So'ngra chap qo'ling bo'sh barmoqlari yordamida Petri likobchasining qopqog'i ochiladi va o'ng qo'l bilan steril pinset yordamida kallus to'qima bo'laklari yangi oziqa solingan steril probirkaga ko'chirib o'tkaziladi hamda bu bo'laklar probirkadagi oziqaga botirilishi zarur. Qancha zararlangan qismi bo'lsa, shuncha kallus to'qima rivojlanishi tez bo'ladi.

Bundan keyin probirka og'zi kuydirilib probka bilan berkitiladi. Probirkaning yuqori qismi selofan bo'lagi bilan o'raladi va probirkaga ekilgan muddat va talabaning ismi sharifi yozib qo'yiladi. Probirka harorati  $25^{\circ}\text{C}$ , namligi 60% bo'lgan termostatda 3-4 haftagacha saqlanadi. Bu muddat tugagandan so'ng kallus to'qimasini nazorat qilib, uning rasmini chizib olish kerak va zarurdir. Kallus to'qima betartib rivojlanuvchi to'qima deyiladi. Kallus to'qimani qadoq deb ham atashimiz mumkin bo'ladi.



4-rasm. Subkulturalash sxemasi

**Topshiriq.** Guruh talabalarini 2 ta guruhga bo'lib "B/B/B" jadvalini to'ldiring.

| №  | Bilaman+ - | Bilishni<br>istayman+ - | Bilib oldim+<br>- |
|----|------------|-------------------------|-------------------|
| 1. |            |                         |                   |
| 2. |            |                         |                   |
| 3. |            |                         |                   |



## Nazorat savollari:

1. Kallus to'qima olishda qanday oziqa muhitidan foydalanish mumkin?
2. Subkulturalash sxemasini tushuntiring?
3. Passirlash deganda nimani tushunasiz?

## 5 – Amaliy mashg'ulot

### Suspenziya kulturasidagi hujayralar zichligini hisoblash

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Suspenziya solingan kolba, uchi to'mtoq steril pipetkalar, rezina nok, pensillin solingan idish 20% li xrom kislotasi, uchi uchli pipetkalar, Garyaev kamerasi (gemotsitometr), qon elementlarini hisob oladigan kamera, mikroskop va qoplag'ich oynalar.

**Mavzuni tushuntirish.** Hujayra suspenziyasining sifatini belgilovchi ko'rsatkichlardan biri hujayra populyasiyasining zichligi hisoblanadi. Mikroskop orqali hisoblash kamerasi yordamida suspenziyadagi hujayralar miqdori matseratsiyadan, ya'ni hujayralar bo'linishidan keyin hisoblanadi. Suspenziyaga hujayrani bo'linishiga ta'sir etuvchi modda sifatida hujayralarni birlashtiruvchi plastinkalarni gidrolizlovchi 10-20% li xrom kislotasi qo'shiladi. Aralashma 60<sup>0</sup>S haroratli termostatga suspenziyani xususiyatiga qarab 10-30 daqiqa qo'yiladi. Hujayralar miqdorini hisoblashdan oldin suspenziya yo'g'on ignali shprits orqali bir necha bor o'tkaziladi. Yaxshi o'suvchi suspenziyada rivojlanish S – egri yo'nalishda amalga oshadi.

Suspenziyani o'sish sikli 3 ta fazada o'tadi: lag - faza (2-3 kunda davom etadi), eksptensial o'sish fazasi (2-10 sutka davom etadi) va statsionar fazasi (10-15 sutka davom etadi). Hujayralarning davomiyligi kallus va suspenziya olingan o'simlik turi va hosiliga, inokulyasiya uchun olingan boshlang'ich hujayra miqdoriga va o'stirish sharoitiga bog'liq. Passaj (ko'chirib o'tkazishgacha) davomligi 14-16 kun bo'lishi mumkin. Bu holda suspenziya zichligi  $5 \times 10^4$ - $10^5$  dan  $10^6$ - $5 \times 10^6$  gacha oshadi. Subkulturalash, ya'ni suspenziyani ko'chirib o'tkazish ekspten-



sial faza oxirida amalga oshiriladi. Har bir ekin uchun suspenziyani o'sishi uchun qulay S-egri yo'nalishining eng yuqori (70-80%) sharoitni tanlab olinadi.

**Ishning borishi.** Uchi to'mtoq pipetka yordamida suspenziyani kolbadan yaxshilab aralashtirib bir necha millilitr olinadi. Hujayralarni dastlabki hisobini olish uchun 1 kolbadagi namuna etarli bo'ladi. O'simlik S – egri yo'nalishini aniqlash uchun esa kamida uchta namuna, ya'ni suspenziyali uchta kolbadagi 2 ml dan olinadi va ular bir idishga quyiladi. Bu idishdagi suspenziyaning 1 hajmdagi qismiga 2 hajm miqdorda xrom kislotasi ( $H_2CR_2O_7$ ) qo'shiladi. So'ngra bu arashma  $60^0S$  haroratli termostatda 10 daqiqa saqlanadi. Aralashma termostatdan olinib, yo'lg'on ignali shprits orqali uch marta o'tkaziladi. Bu ishlar juda ehtiyotlik bilan amalga oshirilishi zarur, chunki xrom kislotasi tekkan har qanday joy sarg'ayib qoladi.

Suspenziyaning xar bir tomchisidan Goryaev kamerasiidagi 10 ta katta kvadratda joylashgan hujayralarning soni aniqlanadi.

Hujayralarning kamida beshta tomchisidagi soni hisoblab chiqilishi kerak. Quyuq suspenziyalar suyultiriladi va katta kvadratda hujayralarning soni 16 ta dan oshmagan suspenziyadan foydalaniladi. Bunda 50 ta katta kvadrat ( $5 \times 10$  katta kvadrat) ning hajmi  $0,2 \text{ mm}^3$  ga teng bo'ladi.

Masalan, 50 ta katta kvadratlardagi suspenziyada 530 ta hujayra bor. Agar  $1 \text{ mm}^3$  0,001 ml ga teng bo'lsa, bitta kichik kvadrat:

$$X = \frac{0,00025 \text{ mm}^3 \cdot 0,001 \text{ ml}}{1 \text{ mm}^3} = 0,00000025 \text{ ml hujayra suspenziyasi bor}$$

Bitta katta kvadrat esa:

$$1 \text{ mm}^3 - 0,001 \text{ ml}$$

$$0,004 \text{ mm}^3 - X \text{ ml}$$



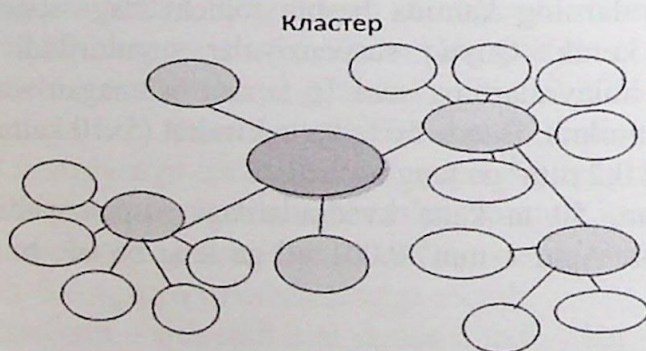
$$X = \frac{0,004 \text{ mm}^3 \cdot 0,001 \text{ ml}}{1 \text{ mm}^3} = 0,000004 \text{ ml hujayra suspenziyasi bor}$$

Demak, 50 ta katta kvadratlardagi 0,0002 ml ( $0,000004 \text{ ml} \times 50$ ) hujayra suspenziyasida 530 ta hujayra bor bo'lsa, u holda 1 ml suspenziyada:

$$\begin{array}{l} 0,0002 \text{ ml} \text{ ----- } 530 \text{ ta} \\ 1 \text{ ml} \text{ ----- } X \text{ ta} \end{array}$$

$$X = \frac{1 \text{ ml} \cdot 530 \text{ ta}}{0,0002 \text{ ml}} = 2650000 \text{ ta hujayra bor}$$

**Topshiriq.** Mavzuni Klasterda yoriting.



### Nazorat savollari:

1. Suspenziya kulturasi haqida tushunchangiz qanday?
2. Hujayralar zichligini hisoblash uchun qanday formuladan foydalanasiz?
3. Hujayralar suspenziyasining o'sish fazalarini aytib bering?



## 6 – Amaliy mashg'ulot.

### Alohida ajratib olingan o'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirish texnikasi

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Regulyasiya qilinadigan, turg'un yorug'likni ta'minlovchi va namlik, harorat darajasi o'zgarmaydigan, lyuminitsent lampa, laminar boks, bakteritsid va simobli lampalar bilan jihozlangan xona. 5-6 bargchalari bo'lgan o'simliklar, oziqa muhiti, sterilizatsiya qilingan probirkalar, sterillangan probirkachalar, shtativ, qaychi, skalpel, spirt lampasi, pinsetlar va etil spirti.

**Ishni bajarish tartibi.** Probirkalardagi meristemalar lyuminitsent lampalar bilan yoritilgan harorat rejimi (sovutgich ishlaganda)  $24-25^{\circ}\text{C}$ , yorug'lik  $6 \pm 2$  lyuks fotoperiodi 16 soat, namligi 70% lar atrofida bo'lgan maxsus kameralarda o'stiriladi. Meristema ekilgandan keyin ulardan 5-6 bargli o'simlikning regeneratsiya qilinishi 30-45 kun davomida o'tkaziladi.

5-6 bargli o'simlikdan novdachalar kesib olib ularni ko'paytirish uchun sterilizatsiyalangan oziqali probirkalarga o'tkazilib ularni yana shtativlarda o'stiruvchi kameraga joylanadi.

Bu ish quyidagi tartibda bajariladi:

1. Spirt lampasi alangasi tepasida probirkalarning probkalari ochiladi.

2. Sterillangan pinset bilan probirkadan o'simlik olinadi.

3. O'simlikdan 2 ta barg qismi kesib olinib sterillangan Petri likobchasiga quyiladi.

4. Oziqali sterillangan probirkalarning probkalari gorelka alangasida olinadi.

5. Sterillangan pinset bilan o'simlik yangi oziqali probirkaga ekiladi.

6. Spirt lampasi alangasida probirkalar og'zi probkalar bilan yopiladi.

7. Probirkalar shtativlarga o'rnatiladi.



8. Shtativlarga o'rnatilgan probirkadagi o'simliklarni o'stirish maqsadida doimiy yorug'lik va haroratli kameralarga joylashtiriladi.

### 6.1. Protoplastlarni sun'iy oziqa muhitida o'stirish

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Kartoshka mezofilidan protoplastlarni ajratib olish uchun: qalamchalardan probirkada o'stirilgan o'simlik, Erlenmeyer kolbalari, 3-5 ta shisha filtrlar, Komrov nasosi, kachalka, №70 kapron setka (teshigining o'lchami 93 mkm), 200-1000 aylana/daqiqqa sentrifuga, Goryaev kamerasi, Petri likobchalari, paster pipetkalar, shishi voronkali kolbachalar, 10 ml sentrifuga probirkalari, pinsetlar, sklpellar, reaktivlar – D-mannit,  $\alpha$ -naftilsirka kislotasi, 2,4-D, saharoza, agar-agar,  $V_5$  steril oziqa muhiti.

**Mavzuni tushuntirish.** 1960 yil Kokking gidrolitik fermentlar yordamida o'simlikning hujayra devorlarini emirish orqali protoplastlarni ajratib olgan. Sun'iy oziqa muhitlarida o'stirilgan protoplastlarni hujayra devorlarini resinteziga olib keladi, bundan so'ng esa hujayralar o'zlarini in vitro sharoitida o'stirilgandek tutadi, ya'ni ular bo'linadi, hujayralar koloniyasini hosil qiladi va butun boshli o'simlikni regeneratsiyalaydi.

Ajratilgan protoplastlar eritmadagi makromolekulalari va organellalarini so'rib olish qobilyatiga ega. Ularni bu xususiyatiga ko'ra va protoplastlarni birlashib keta olishi, meristematik o'lligi, butun boshli o'simlikni regeneratsiya qila olishi ulardan foydalanishning muxandisligining ob'ekti sifatida va o'simlik hujayrasini o'zlashtirish uchun foydalaniladi. Ular yordamida bir-biridan uzoq turlarning somatik hujayralari yoki hujayraga begona genomni yoki uning bir bo'lagini kiritib yangi o'simlik shakllari olinmoqda.

Ajratilgan protoplastlarni olish uchun boshlang'ich material sifatida barg mezofillidan yoki kallus to'qmasidan foydalaniladi. Buning uchun quyidagi:



1. M-s (Murasige va Skuga deb nomlanuvchi modifikatsiyalangan oziqa);

2. V-5(Gamborga);

3. 8 r (V-5 oziqa muhitli darmondori, aminokislotalar va qandlar bilan boyitilgan oziqa) oziqa muhitlari ishlatiladi.

O'stirishning boshlang'ich davrida hujayra devorining bo'lmaganligi sababli uning ichidagi muvozanatni saqlashda osmotik bosimni ushlab turish muhim ahamiyatga ega. Osmotik bosimni ushlab turuvchilar sifatida saharoza, glyukoza, mannitol, sorbitol, qand moddalari va ksilozadan foydalaniladi. Hujayra devorlari tiklanib va hujayra koloniyalar yuzaga kelgandan so'ng protoplastlardagi osmotik bosimni ushlab turuvchi agentlar reduksirlanadi. Buning texnik talablaridan biri, ekiladigan hujayralarni ma'lum bir zichlikda bo'lishidir. Ko'pincha bu ko'rsatgich 2,5-10 ml kulturada ularning miqdori  $10^4$ - $10^5$  kl/ml ga teng bo'ladi.

Yuksak o'simliklarning protoplastlari ikki xil yo'l bilan hujayra devorlarini mexanik yoki fermentativ gidroliz qilishi bilan olinadi. Ayni vaqtda bu ikki usulni birgalikda qo'llash orqali ham olish mumkin. Mexanik usulga nisbatan fermentativ usul afzalroq hisoblanadi, chunki o'simlikning xoxlagan a'zosi-dan ajratilgan protoplastlari bu usulda shikastlanmasdan olinadi.

**Ishning borishi.** Tajriba uchun 20 ml probirkalarda modifikatsiyalangan M-s oziqasida (darmondorilar:  $V_1$ -1,0,  $V_6$ -0,5, saharoza -1%, agar-agar 0,7%) o'stirilgan kartoshka o'simligi ishlatiladi.

Probirkada o'stirilgan kartoshka o'simligining (oziqada qalamchalar ekilgandan so'ng 15-20 o'stirilganda) barglari steril sharoitda eni 1 mm dan, uzun-uzun qilib kesiladi va 100 ml li Erlenmeyer kolbadagi fermentli eritmaga joylashtiriladi (0,25 g barg to'qmasi 10 ml eritmaga solinadi). Ferment tariqasida eng samarali 2,0% konsentratsiyaga ega, Ph 6,1 bo'lgan ksilanaza hisoblanadi. Fermentli eritma 3x5 o'lchamli shishi filtr orqali Komov vakuum nasosi yordamida 3-4 daqiqa ichida filtrlanadi.



To'qima eritma yuzasida  $25^{\circ}\text{S}$  haroratda 5 soat davomida kachalkada qoldiriladi (1 daqiqa davomida 72 marta tebranadi, tebrinish yo'li 20 mm). Bu vaqt davomida amaliy jihatdan barg mezofillidagi barcha protoplastlar hujayra devoridan xolos bo'ladi va inkubatsion muhitda suspenziyaga aylanadi.

Suspenziyani epidermis va tomirlardan xolos qilish uchun u filtrlanadi. So'ngra o'sha konsentratsiyadagi mannitga 0,05% li  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  qo'shilgan eritma bilan 2 marta sentrifugalash orqali yuvib fermentlardan xolos etiladi. Hujayra devorlarni yo'q bo'lganligini molekulyar og'irligi  $2 \cdot 10^3$  bo'lgan, konsentratsiyasi 25% li polietilenglikol qo'shilganda protoplastlar bir-biriga oson birlashganligidan bilish mumkin.

Ajratilgan protoplastlar eritmaning osmotik bosimiga juda ta'sirchan hisoblanadi. *Sol.chacoense* uchun eng qulay osmotik bosimni mannitning 0,3 eritmasi hosil qiladi.

Protoplastlarning ekish uchun uning zichligi 1 ml suspenziyada  $1-1,3 \cdot 10^5$  protoplast bo'lishi kerak (protoplast zichligi Garyaev kamerasi yordamida aniqlanadi).

Protoplastlar modifikatsiyalangan suyuq Murasige-Skug yoki agarli oziqada o'stiriladi. Moddalarning konsentratsiyalari: mannit 0,35 m;  $\alpha$ -naftisirka kislotasi-3; 2,4-D-2 mg/l; saharoza - 20 g/l; agar -6 g/l; steril

Petri likobchalariga 1,5 ml dan suspenziya solinadi va ularni  $25^{\circ}\text{S}$  haroratda 16 soat yoritiladigan namlik kamerasiga o'yiladi. Protoplastlarni hayotchanligi 2,5% li  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  eritmasidagi tarkibda 100 mg/l metilen ko'k bo'yog'i bo'lgan eritma yordamida bo'yash orqali aniqlanadi.



**Topshiriq.** Mavzudan yoritilgan ma'lumotlarni diqqat bilan o'qing, so'ng **"T-jadvali"**dan foydalanib ularning afzal va kamchilik tomonlarini jadalga yozib chiqing.

**T- jadval**

| <b>№</b> | <b>Afzalliklari</b> | <b>Kamchiliklar</b> |
|----------|---------------------|---------------------|
| 1.       |                     |                     |
| 2.       |                     |                     |
| 3.       |                     |                     |
| 4.       |                     |                     |
| 5.       |                     |                     |
| 6.       |                     |                     |
| 7.       |                     |                     |

### **Nazorat savollari:**

- 1.To'qimalarni o'stirish jarayonida harorat va nisbiy namlikni haqida tushuncha bering?
2. Protoplastlar nima?
3. Sun'iy oziqa muhitlari haqida tushuncha bering?

### **7-Amaliy mashg'ulot.**

#### **Tuproqdan zamburug'lar ajratib olish va ularning fitogormonlik xususiyatini o'rganish**

**Asbob-uskunalar va materiallar.** 5-6 gr tuproq, fitogormon, steril suv, oziqa muhiti, Regulyasiya qilinadigan, turg'un yorug'likni ta'minlovchi va namlik, harorat darajasi o'zgarmaydigan, lyuminitsent lampa, laminar boks, bakteritsid va simobli lampalar bilan jihozlangan xona, sterilizatsiya qilingan probirkalar, sterillangan probirkachalar, shtativ, qaychi, skalpel, spirt lampasi, pinsetlar va etil spirti.



### 7.1. Namlik kamerasini hosil qilish usuli

**Mavzuni tushuntirish.** Tuproqdagi zamburug'larni ajratib olishda namlik kamerasi usulidan ham foydalanildi (Bilay, 1973). Buning uchun namlangan, filtr qog'ozli sterilizatsiya qilingan Petri likopchasiga tuprok quyildi va o'stirish uchun +24-26<sup>0</sup>S haroratli termostatga joylashtirildi. Tuproqdan unib chiqqan zamburug'larni yuqorida aytgan usulda sof xolda ajratib olindi va umumiy miqdori va sistematikasi aniklandi.

### 7.2. Zamburug'larni ekish va ajratish usuli

Zamburug'larning umumiy miqdorini aniqlash uchun suslo-agar, agarli Chapek, kartoshkali agar va faqat agarli oziqa, shuningdek *Verticillium* Nees et L ajratib olish maqsadida ishlatiladigan oziqa muhitlardan (G'ulomova, 1972) foydalanildi. Bakteriya o'sishining oldini olish uchun agarli ozika muhitiga limon kislotasi yoki streptotsid qo'shib oziqa muhiti Ph ko'rsatgichi 4,5 ga teng qilib olindi. Ba'zi bir zamburug'lar neytral va kuchsiz ishkoriy muhitda rivojlanishini inobatga olib, parallel xolda agarli oziqa muhitini Ph-6,5-7 ga teng qilib ekildi. Petri likobchalar termostatda + 26-28<sup>0</sup>S haroratda 15 kungacha saqlandi.

Ekilgan likobchalar 3-nchi kundan boshlab vaqti-vaqti bilan shirilib turilib, tez rivojlanadigan zamburug' koloniyalari agarli oziqa solingan probirkalarga ekib olindi. Kuzatish 15 kungacha davom etdi. Zamburug' miqdorini hisoblash uchun agarli oziqa muhitida saqlanadigan zamburug'lar soni 100 gacha bo'lgan namunalar tanlab olindi. Bunda har bir koloniya shartli ravishda spora yoki giflar bo'lagidan hosil bo'lgan deb hisoblandi. Har bir koloniyadagi zamburug' turini aniqlash uchun ularni qiya qilib qotirilgan agarli ozika solingan probirkalarga ekildi.

Zamburug'larning turini aniqlashda Barnett (1960), Litvinov (1967), Ellis (1971, 1976), Pidoplichko (1953, 1972, 1977), Pidoplichko, Milko (1971), Milko (1974), Bilay (1977),



Bilay, Koval (1988), Egorova (1986), Kirilenko (1977, 1978), Xasanov (1992), SHeraliev (1992) aniqlagichlaridan foydalandik.

### **7.3. Zamburug'larning antibiotik hosil kilish faolligini o'rganish usuli**

Zamburug'larning o'z-o'zidan antibiotik moddalarni ajratib chiqarish xususiyatini aniqlashda filtr qog'ozlarining doirachalaridan foydalanildi (Egorov, 1979).

Zamburug'lar +26-28<sup>0</sup>S haroratda 10-15 kun davomida o'stirildi. Zamburug'ning antibiotik ajratish xususiyatini uning oziqa muhiti suyuqligida, shuningdek ekmada o'rganildi. Sababi, ba'zi antibiotiklar mitseliyda to'planib, oziqa muhitiga ajralib chikmaydi.

Qog'ozli doiracha usulining mohiyati shundan iboratki, filtr qog'ozidan yasalgan doirachalar o'rganilayotgan zamburug'ning oziqa muhiti suyuqligida ivitilib, so'ngra agarli oziqaga ekilgan test-organizm ustiga qo'yiladi. Petri likobchasi termostatga +26-28<sup>0</sup>S sharoitda 48-72 soat davomida o'stirish uchun joylashtirildi. O'rganilayotgan antibiotik suyuqligida ivitilgan doiracha atrofida zona paydo bo'lib, test-ob'ektning o'sishini cheklab qo'yadi.

**Ishning borishi.** Tuproqni suyultirish namuna dingan kunning ertasigayok umumiy mikrobiologiyada va mikologiyada qabul kilingan usul asosida o'tkazildi (Litvinov, 1969). Mikroorganizmlarning umumiy miqdorini hisoblash uchun 10 g tuproqni 90 ml sterilizatsiya qilingan kolbadagi suvga solib 5 daqiqa davomida eritildi. Sterilizatsiya qilingan pipetka yordamida 1 ml suspenziya 9 ml sterilizatsiya qilingan probirkadagi suvga solinadi. Bu jarayon yana qaytariladi. Uchinchi va turtinchi probirkadagi suyuklik likobcha oziqa muhitiga (1:1000, 1:10000) ekiladi. Buning uchun 0,5 ml olingan suspenziya Petri likobchasiga solingan agarli oziqa muhiti yuziga shpatel yordamida bir tekis qilib yoyildi. Bu jarayon uch marta takror-



lanadi. Undan tashqari zamburug'larni ajratish uchun tuproqning mayda zarrachalarini Petri likobchalaridagi agarli oziqa muhiti yuzasiga bir tekis qilib sepiladi. 3-7 kundan keyin tuproq bo'laklari atrofida har xil zamburug'lar koloniyasi paydo bo'ldi. Unib chikkan zamburug'lar mikologik ilgak vositasida probirkadagi agarli oziqa muhitiga ekildi. So'ngra 1 g absolyut quruq tuproqdagi zamburug'larning miqdorini aniqlash uchun olingan tuproq namunasidan bir vaqtning o'zida tajriba uchun olingan tuproq bilan birga 1 g tuproqni torozida tortib quritib qo'yildi. 1 g tuproqdagi zamburug'larning miqdori quyidagi formula bo'yicha aniqlandi:

$$a = \frac{b \cdot v \cdot g}{d}$$

- a- 1 g quruq tuproqdagi hujayra miqdori, dona hisobida  
 b- likobchadagi o'rtacha koloniyalar miqdori, dona hisobida  
 v- ekilgan suyuqlik miqdori, ml hisobida  
 g- 1 ml suspenziyaning miqdori, tomchi hisobida  
 l- tekshirish uchun olingan quruq tuproq og'irligi, g (Zvyaginsev, 980)

**Topshiriq.** Mavzudan yoritilgan ma'lumotlarni diqqat bilan o'qing, so'ng "T-jadvali"dan foydalanib ularning afzal va amchilik tomonlarini jadalga yozib chiqing.

*T- jadval*

| 2  | Afzalliklari | Kamchiliklar |
|----|--------------|--------------|
| .  |              |              |
| 2. |              |              |
| 3. |              |              |
| 4. |              |              |



## Nazorat savollari:

1. Tuproqdan qanday usullar bilan zamburug' ajratib olish mumkin?
2. Zamburug'lar o'zi nima va qanday yo'llar bilan ko'payadi?
3. Nam kamera tushunchasini aytib bering?

## 8-Amaliy mashg'ulot.

### Bakteriyalarni tuproqdan ajratib olish va ularning fitogormonlik xususiyatini o'rganish

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Ildiz bakteriyasi koloniyasi, fitogormon, steril suv, oziqa muhiti, Regulyasiya qilinadigan, turg'un yorug'likni ta'minlovchi va namlik, harorat darajasi o'zgarmaydigan, lyuminitsent lampa, laminar boks, bakteritsid va simobli lampalar bilan jihozlangan xona, sterilizatsiya qilingan probirkalar, sterillangan probirkachalar, shtativ, qaychi, skalpel, spirt lampasi, pinsetlar va etil spirti. Mikroskop. Buyum va qoplag'ich oynachalar. Mikrobiologik sirtmoq. Mikroorganizmlarning sof kulturasi ekilgan probirkalar va Petri likobchalari. Doimiy preparatlar. Paster naychasi. Spirt lampasi. Immer-sion moy. Bo'yoq eritmaları (Gensian violet bo'yog'i, fuksin, metilen ko'ki, Lyugol). Suv va kolbalar. Shtativlar.

**Mavzuni tushuntirish.** Ezilgan va osilgan tomchi usulidan foydalanib preparat tayyorlanadi. Mikroorganizmlarning harakati aniqlanadi. Qattiq va suyuq oziqa muhitlaridan quruq preparat tayyorlanadi va preparatlarni mikroskop ostida ko'riladi va rasmlari chiziladi.

Oddiy va murakkab bo'yash usullari va ularni tayyorlash texnikasi ishlab chiqiladi. Mashg'ulot davomida Gramm usulida sporalarni bo'yash bilan tanishiladi, keyin mustaqil ravishda mazoklar tayyorlanadi, oddiy va murakkab usulda bo'yaladi, preparatlarni mikroskop ostida ko'riladi va rasmlari chiziladi.

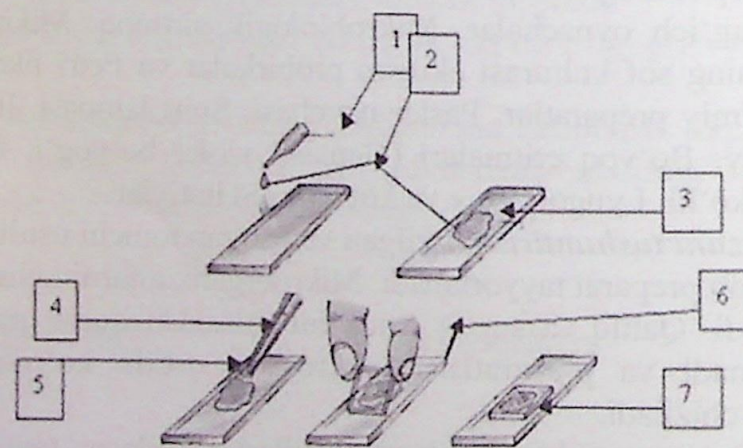


Mikroorganizmlar preparatlarini tayyorlash uchun buyum oynasi bilan qoplag'ich oynalar ishlatiladi. Preparat tayyorlashdan oldin buyum oynasidagi moyini ketkazish uchun u spirtga ho'llangan latta, so'ngra toza latta bilan artib quritiladi. Suv oyna ustida tomchilar hosil qilmasdan yoyilib ketsa, bunday oyna toza hisoblanadi.

Mikroorganizmlarni buyum oynasiga surish uchun mikrobiologik sirtmoq kerak bo'ladi. Egilgan shisha tayoqcha (shpatel) tutqich va unga biriktirilgan ingichka simdan iborat. Bu sim platinadan yoki qizdirilganda havo kislorodi bilan oksidlanmaydigan va tez qizib (cho'g' bo'lib) tez soviydigan boshqa biror metallardan yasaladi.

Mikroorganizmlarni mikroskopda tirik yoki o'lik holda ko'rish mumkin. O'lik mikroblar bo'yalgan preparatlardagina ko'rinadi. Tirik mikroblarni esa «ezilgan» va «osilgan» tomchi preparatlarida ko'rish mumkin.

#### Ezilgan tomchi preparatini tayyorlash



5-rasm. 1-pipetka; 2-suv; 3-buyum oynasi; 4-pinset;  
5-mikroorganizm; 6-qoplag'ich oyna; 7-tayyor  
mikropreparat.



**Ezilgan tomchi preparatini tayyorlash.** Toza buyum oynasiga pipetka bilan toza suvdan bir tomchi tomiziladi. Keyin spirt lampasi alangasida cho'g' bo'lguncha qizdirilgan mikrobiologik sirtmoq bilan zarur mikroorganizmlar olinib, suv tomchisiga qo'shib aralashtiriladi. Shundan keyin sirtmoq qizdirilib, undan qolgan mikroorganizmlar yo'q qilinadi. Mikroorganizmlar aralashtirilgan suv tomchisi qoplag'ich oyna bilan yopiladi, tomchi shu tariqa ezilib, mikroskopda o'rtacha katta qilib qaraladi.

Qoplag'ich oynani tomchi chetiga qirrasi bilan qo'yib, keyin asta-sekin butun tomchini yopish kerak.

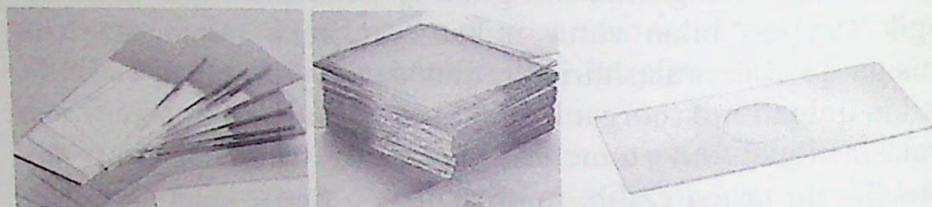
**"Osilgan" tomchi tayyorlash.** "Osilgan" tomchi tayyorlash uchun o'rtasida dumaloq chuqurchasi bo'lgan maxsus buyum oynalaridan foydalaniladi. Chuqurchaning tashqi chetlariga vazelin surtiladi, so'ngra toza qoplag'ich oynaning o'rtasiga mikrobiologik sirtmoq bilan yuqorida aytilgan usulda bakteriyalar aralashgan kichik suv tomchisi surtiladi. Shundan keyin qoplag'ich oyna tomchili tomoni bilan shunday ag'darib qo'yiladiki, undagi tomchi buyum oynasidagi chuqurchaning o'rtasi ustidan osilib turadi, qoplag'ich oynaning chetlari chuqurcha chetlariga surtilgan vazelinga yopishadi. Vazelin surtilganligi uchun chuqurchaga havo kirmaydi va tomchi qurib qolmaydi.

Ezilgan va osilgan tomchi preparatlari bakteriyalarning harakatini tekshirishga imkon beradi.

**Surtma (quruq preparat) tayyorlash.** Mikroorganizmlarni immersion ob'ektiv bilan katta qilib ko'rish uchun o'ldirilgan mikroblardan quruq preparat tayyorlanadi. Bu preparatlar mikrobiologik amaliyotida ko'p qo'llaniladi. Ularni bo'yalgan holda mikroskop ostida ko'riladi. Fiksatsiyalangan preparatlarining mohiyati shundan iboratki, tirik ob'ektning hayot faoliyati to'xtatilib, uning tuzilishi saqlab qolinadi. Fiksatsiyalanish tufayli hujayra shishaga mahkam yopishadi va yaxshi bo'yaladi. Fiksatsiyalangan preparatlar patogen mikroorganizmlar bilan

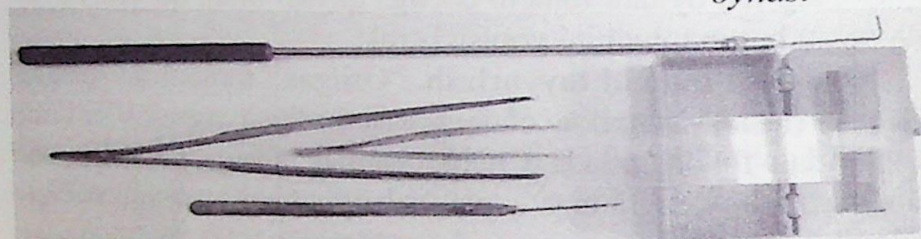


ishlaganda juda muhim qoidalarga rioya qilish zarur. (Havfsizlik nuqtai nazaridan).



*Preparat va qoplag'ich oynalar*

*Maxsus preparat oynasi*



#### **6-rasm. Preparat tayyorlash uchun zarur asosiy jihozlar**

Buyum oynasi etil spirti va oltingugurt efirini (1:1) aralashmasidan iborat suyuqlik bilan maydon tozalangandan so'ng, uning sirtiga bir tomchi vodoprovod suvi tomiziladi. Kuydirilgan bakterial ilgak yordamida mikroorganizm ekilgan probirkadan uning ma'lum massasini olib, suv tomchisiga qo'yiladi. Ilgak yordamida tomchidagi massa buyum oynasi sirtiga, aynan 4 sm<sup>2</sup> yuzaga surtiladi. Suspenziya quyuq bo'lsa, suv bilan suyultiradi. Buning uchun steril ilgak yordamida ozgina spenziyadan olinadi va boshqa buyum oynasidagi bir tomchi suvga qo'shiladi. So'ngra yupqa qilib surtiladi va buyum oynasi quyidagi haroratida yoki spirt lampasining alangasidan ancha yuqori qilib ushlangan holda quritiladi. Mazokni quritishda qattiq qizdirish mumkin emas, chunki hujayra oqsillari ivishi natijasida uning tuzilishi va shakli o'zgarib ketadi. Quritilgan preparat fiksatsiyalanadi. Hujayra shakli o'rganiladigan bo'lsa mazokni fiksatsiyalash spirt lampasi alangasi ustida, agar hujayrani ichki



tuzilishi o'rganiladigan bo'lsa kimyoviy birikmalar yordamida amalga oshiriladi. Birinchi holatda preparat alanga ustidan yon tomoni bilan 3-4 marta sekinlatib o'tkaziladi.

Kimyoviy moddalar bilan fiksatsiyalanganda xrom birikmalaridan, formalin, atsetondan foydalaniladi.

Preparatni fiksatsiyalashning keng tarqalgan usullaridan biri, uni 96% etil spirti va efirni (Nikiforov eritmasi) teng miqdordagi aralashmasi bilan ishlov berish hisoblanadi. Bunda preparat ma'lum vaqtga fiksatsiyalovchi suyuqlikka botirib qo'yiladi.

**Quruq preparatni bo'yash.** Mazokni bo'yashda preparatni preparat ushlagichga o'rnatiladi. Mazokka bir necha tomchi bo'yovchi suyuqlik tomiziladi. Bo'yovchi suyuqlik va taqqiqotning maqsadiga qarab bo'yash muddati turlicha bo'ladi (1-5 daq. ayrim hollarda 30 daq. va undan ko'p). Preparat bo'yalgandan so'ng, uni suv bilan yuviladi va filtr qog'oz yordamida suv qoldiqlari shimdirib olinadi, havoda quritiladi va mikroskop ostida kuzatiladi. Bunday quruq preparat surtma deyiladi. Tayyorlangan surtma fiksatsiya qilinadi (qotiriladi), ya'ni spirt lampasi alangasiga uch marta tutib olinadi. Umuman preparatlarni fiksatsiya qilish uchun spirt lampasi alangasi, spirt bilan efir va kislota bilan formalin aralashmalari ishlatiladi.

Surtmani bir necha daqiqa davomida eritmaga solib ham fiksatsiya qilish mumkin. Surtma fiksatsiya qilinganda buyum oynasidagi mikroorganizmlar o'lib, oynaga yopishadi va yaxshi bo'yaladi, buning sababi, bo'yoq tirik protoplazmadan ko'ra, o'lik protoplazmaga yaxshiroq o'tadi.

**Preparatlarni bo'yash usullari.** Bo'yashning oddiy va differensiyalashgan usullari mavjud. Oddiy bo'yashda biror bir bo'yovchi modda masalan, ishqorli yoki karbolli eritmasi metilen ko'ki, fuksin, binafsha rang gensian ishlatiladi. Bunda hujayraning hamma qismi bo'yaladi. Turli bo'yoqlar bilan differensiyalashgan bo'yashda esa hujayraning ma'lum bir tegishli qismi bo'yaladi. Bunga sporalarni Gramm usulida bo'yashni keltirish mumkin.



Mikrobiologiya texnikasida mikroorganizmlarni bo'yash uchun quyidagi anilin bo'yoqlari ishlatiladi: qizil bo'yoqlardan - asosan fuksin, eritrozin; ko'k bo'yoqlardan - metilen ko'ki, tionin; binafsha bo'yoqlardan - gensian violet, metil violet va boshqa bo'yoqlar ishlatiladi. Mikroblar quyidagi usullarda bo'yaladi:

1. *Oddiy usul*. Bunda fiksatsiya qilingan preparatlar faqat bir xil fuksin, metilin ko'ki, gensian violet kabi bo'yoqlar bilan bo'yaladi.

2. *Murakkab usul*. Bunda fiksatsiya qilingan preparat bir necha xil bo'yoq bilan bo'yaladi. Masalan: bakteriyalarni Gramm va bakteriya sporalarini Sil-Nilsen usulida bo'yashlarni keltirish mumkin.

**Gramm usulida bo'yash.** Mikroorganizmlar Gramm usulida bo'yalish-bo'yalmasligiga qarab ikki guruhga bo'linadi:

1. Gramm usulida mikroorganizmlar binafsha rang bo'yalssa gramm-musbat deyiladi.

2. Gramm usulida mikroorganizmlar qizil rangga bo'yalssa gramm – manfiy deyiladi.

Gramm usulida bo'yash mikroorganizmlarning turini aniqlash uchun asosiy belgi bo'lib, u quyidagilardan iborat:

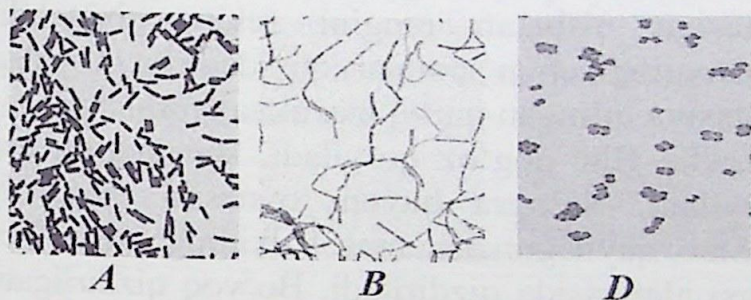
Qurtilgan va fiksatsiya qilingan mazokka gensian-violet bo'yog'idan quyilib, 1-2 daqiqa saqlanadi. So'ngra bo'yoq suv bilan yuvib tashlanadi va mazokka Lyugol eritmasi (Kj dagi j ritmasi) tomizilib, 1-2 daqiqa qo'yiladi. Bu eritma ham suv bilan yuvib tashlanib, mazok spirtga 0,5-1 daqiqa solib qo'yiladi. So'ngra preparat yana suv bilan yuviladi va unga fuksin bo'yog'idan quyiladi, 3-4 daqiqa keyin bo'yoq suv bilan yuvilib, mazok havoda quritilgach, unga bir tomchi immersion moy qo'yiladi va mikroskopda immersion ob'ektiv bilan qaraladi.

*Gramm-musbat* usulida bo'yaladigan mikroorganizmlar protoplazmasida gensian-violet bilan yod eritmasining birikmasi vujudga keladi, bu eritma spirtga erimaydi; bunday mikroorganizmlar spirtga botirilganda rangini yo'qotmay, to'q binafsha-



ligicha qolaveradi. *Gramm-musbat* usulida bo'yalmaydigan mikroorganizmlarning protoplazmasida gensian-violet bilan yod birikmasi hosil bo'ladi, lekin spirtida erib ketadi. Natijada mikroorganizmlar rangini yo'qotadi. Rangsizlangan mikroorganizmlar fuksin bilan bo'yalganda qizil tusga kiradi. Gramm-musbat mikroorganizmlar mikroskopda to'q binafsha, gramm-manfiy mikroorganizmlar esa qizil bo'lib ko'rinadi.

### Grammusbat va grammanfiy barteriyakar



**Grammusbat barteriyakar**

*A – Clostridium perfringens, B – Bacillus subtilis, D – Micrococcus luteus*



**Grammanfiy barteriyakar**

*A – Escherichia coli, B – Pseudomonas aeruginosa*

### 7-rasm. Grammusbat bakteriyalar va grammanfiy bakteriyalar

Namuna uchun preparat tish g'uboridan tayyorlanadi. Bunda gramm-musbat mikroorganizmlar va gramm-manfiy mikroorganizmlar ham bo'ladi. Gramm-musbat mikroorganizmlar bo'ya-



lish jihatidangina emas, bir qancha biologik xossalari bilan ham gramm-manfiy bakteriyalardan farq qiladi. Antibiotiklar gramm-manfiy mikroorganizmlardan ko'ra gramm-musbat mikroorganizmlarga tezroq ta'sir etadi. Mikroorganizmlarning Gramm usulida qanday bo'yalishiga qarab, unga turli antibiotiklarning qanday ta'sir etishini oldindan bilish mumkin.

**Sil-nilsen usulida bo'yash.** Sporalarining qobig'i va protoplazmasi hujayra protoplazmasiga nisbatan qiyinroq bo'yaladi, shu sababli sporalarini bo'yash uchun kuchli bo'yoq eritmalarini ishlatish va mazokni qizdirishga to'g'ri keladi. Sporalar hujayra protoplazmasiga nisbatan rangini sekin, qiyinchilik bilan yo'qotadi. Shuning uchun sporalar quyidagicha bo'yaladi:

1. Fiksatsiya qilingan quruq mazok tayyorlanadi.

2. Mazokka filtr qog'oz qo'yiladi, shu qog'oz ustidan Sil fuksini quyiladi. So'ngra buyum oynasini pinset bilan bir uchidan ushlab, qaynaguncha emas, balki bug' paydo bo'lguncha spirt lampasi alangasida qizdiriladi. Bo'yoq qizdirilganda qurib qolmasligi uchun buyum oynasiga tez-tez Sil fuksini tomizib, qo'shib turiladi.

3. Filtr qog'oz pinset bilan avaylab olinadi.

4. Buyum oynasi 1% li sulfat kislota eritmasiga 2 daqiqa so'ib qo'yiladi. Ayni vaqtda protoplazma hujayralari rangsizlanib, sporalar qizilligicha qolaveradi.

5. Preparat suv bilan yuviladi.

6. Preparat metilen ko'ki bilan 1-2 daqiqa davomida bo'yaladi va suv bilan yuviladi. Ayni vaqtda rangsizlangan batsillalar o'q tusga kiradi, sporalar esa qizilligicha qolaveradi.

**Kapsulalarni bo'yash.** Kapsulalarni Jon, Giss va elyanskiy usullari kabi bir necha xil usulda bo'yash mumkin, ardan asosan Omelyanskiy usulidan ko'proq foydalaniladi.

Ba'zi bakteriya hujayralari shilimshiq kapsulalar bilan bo'yalgan. Bunday kapsula bakteriyalarni qurib qolishdan va boshqa noqulay sharoitdan saqlaydi. Kapsulalar yorug'lik nurlarini aksini sindiradi va preparat maxsus usulda bo'yalgan-



dagina yaxshi ko‘rinadi. Negativ qilingan kapsulalar Omelyanskiy usulida quyidagicha bo‘yaladi: buyum oynasiga yarmigacha suv qo‘shib suyultirilgan Sil fuksinidan bir tomchi tomizib, tekshiriladigan bakteriyalar mikrobiologik sirtmoq bilan aralashiriladi. 2-3 daqiqadan keyin fuksin tomchisiga suyuq tush tomchisi qo‘shiladi va oynaga yaxshilab yoyiladi. Preparat havoda quritilib, mikroskopda immersion ob‘ektiv bilan tekshiriladi. Ayni vaqtda buyum oynasi tush bilan bo‘yalib, qora tusda ko‘rinadi, bakteriyalarning hujayralari qizil bo‘lib ko‘rinadi, kapsulalar esa rangsiz bo‘ladi

**Topshiriq:** Yuqoridagi mavzu bilan tanishib chiqib “**Insert usuli**”dan foydalanib jadvalni to‘ldiring.

**Insert jadvali**

| V | * | - | ? |
|---|---|---|---|
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |
|   |   |   |   |

V - men bilaman;

\* - yangi axborot;

- - men bilganimga zid;

? - meni o‘ylantirib qo‘ydi.

### **Nazorat savollari:**

1. Bakteriyalarni tuproqdan ajratib olish usullari va preparat tayyorlash jarayonlarini aytib bering?
2. Preparatlar bo‘yash usullari haqida ayting?
3. Bakteriyalarni murakkab usulda bo‘yash jarayonlari nima?



## 9-Amaliy mashg'ulot.

### Hujayra va to'qimalar kulturasi

**Asbob-uskunalar va materiallar.** 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarini saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og'zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1 – 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar.

**Mavzuni tushuntirish.** O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan oziqa muhitda o'simliklarga kerakli hamma makroelementlar: azot, fosfor, kaliy, kalsiy, oltingugurt, magniy, temir va mikroelementlar: bor, rux, mis, kobalt, manganets, yod, molibden, shuningdek vitaminlar, uglevodlar, karbon suvlar, fitogormonlar bo'lishi kerak. Ba'zi bir oziqa muhitlari tarkibida esa kazein gidrolizati va ayrim aminokislotalar bo'lishi kerak. Bundan tashqari, oziqa muhiti tarkibiga, hujayralarning temirga bo'lgan ehtiyojini turli pH ko'rsatgichlarda qondirish uchun EDTA (etilendiamin-tetrasirka kislota) yoki uning natriyli tuzi kiritilishi kerak. Ajratilgan hujayra va to'qimalar o'stiriladigan oziqa muhitning asosiy tarkibiy qismini uglevodlar tashkil qiladi, chunki hujayra va to'qimalar avtotrof oziqlanish qobiliyatiga ega emas. Ko'pincha uglevod manbai sifatida sahara-roza yoki glyukozaning 20-40 g/l eritmasi qo'llaniladi. Uglevodli oziqa manbai sifatida polisaharidlar ishlatilmaydi, chunki ba'zi to'qimalar, asosan o'smalar faol gidrolitik ferment-rga (amilaza va boshqalar) ega bo'lib, kraxmal eritmasi bor oziqa muhitlarida o'sishi mumkin. O'sish regulyatorlari hujayra- ar dedeffrensirovkasi va hujayra to'qimalari induksiyasi un zarurdir. Shuning uchun kallusli to'qimalar olishda oziqa muhitlari tarkibiga auksin (hujayra dedifferensirovkasini yuzaga keltiruvchilar) va sitokinin (dedifferensiyalangan hujayralarning bo'linishini induksiyalovchi) kiritish kerak. Poya morfogenizi induksiyasida oziqa muhiti tarkibida auksinning miqdori kamroq bo'lishi yoki umuman bo'lmasligi mumkin. Ikkala gormonlarga



yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik shu hujayralarning gormon ishlab chiqarish qobiliyatiga bog'liq. Auksin manbai sifatida oziqa muhitlarda 2,4 dixlor fenoksisirka kislotasi (2,4-D) 1-10 mg/ml; indolil sirka kislotasi (ISK) 1-30 mg/l;  $\alpha$ -naftil sirka kislotasi (NSK) – 0,1-2 mg/l kabilar ishlatiladi. Ko'pincha 2,4-D ishlatiladi. ISK 2,4-D ga nisbatan 30 marta kam faollikka egadir. Kallusning rivojlanishi uchun ko'pincha auksinning yuqori miqdori ishlatiladi, to'qma keyingi qayta ekilganda auksinning miqdori bir necha marta kam bo'lganda ham o'sishda davom etaveradi. Sun'iy oziqa muhitlarida sitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin (0,001-10 mg/l) qo'llaniladi. To'qimalarning o'sishida va organogenez induksiyasida 6-BAP kinetinga nisbatan yuqori faollikni namoyon qiladi. Ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga adenin kiradi.

Auksin va sitokininlardan tashqari ba'zi oziqa muhitlari tarkibiga gibberal kislotasi (GK) qo'shiladi. Oziqa muhitida GK ning bo'lishi shart bo'lmasa ham, ba'zi hollarda u izolyatsiyalangan to'qmalarning o'sishini tezlashtiradi. Birlamchi kallus induksiyasini va uning o'sish faoliyatini tezlashtirish uchun oziqa muhitiga o'simlik ekstraktlari yoki sharbatlari qo'shiladi. Kokos suti – kokos yong'ogi suyuq endospermi o'sish tezligini oshirish xususiyatiga ega. Qattiq oziqa muhitni tayyorlashda dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaharid, agar-agardan foydalaniladi. "*Bakto agar*" nomli bakterial agarda keraksiz qo'shimchalarning miqdori kamroq nobud bo'ladi. Bunday agarlarni qattiq oziqa muhit tayyorlashda tozalamasdan ishlatish mumkin. Odatda qattiq oziqa muhiti tayyorlashda 5-7% agardan foydalaniladi. Vaqtdan unumli foydalanish uchun makro-, mikrotuzlar va vitaminlarning eritmaları yuqori miqdorda boshlang'ich eritma holda tayyorlanib, ularni ko'p marta suyultirib ishlatish mumkin. Konsentrlangan eritmalar muzlatgichda saqlanadi, vitaminli eritmalar minusli haroratda saqlanadi.



Makrotuzlar eritmalari 10-20 marta ko'p miqdorda, mikrotuzlar eritmalari 100-1000 marta ko'p miqdorda, vitaminlar eritmalari esa 1000 marta ko'p darajali miqdorda tayyorlanadi.

Har xil turlarga mansub o'simliklar hujayralari, to'qmalari va organlarini o'stirishda turli tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Ko'pincha Murasige-Skuga (1-jadval), Uayt, Gamborga (V-5) oziqa muhitlari ishlatiladi. Murasige-Skuga oziqa muhitlaridan turli modifikatsiyalar bilan apikal meristemalar o'stirishda va o'simliklarni mikroko'paytirishda foydalanish mumkin.

**Ishning borishi.** Kartoshka va qulupnayning apikal meristemalarini o'stirish uchun moslashtirilgan (modifikatsiyalangan) Murasige-Skuga oziqa muhitlarini tayyorlash. Oziqa muhitlari tarkibi 4-5 jadvallarga berilgan. Avvalo makro, mikrotuzlar va vitaminlarning boshlang'ich eritmalarini tayyorlash kerak. Odatda, Murasige va Skuga oziqa muhitlari quyidagi birikmalardan tayyorlanadi.

1.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{KN}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{MgSO}_4$  ni cho'k-maga tushishini oldini olish uchun, qizdirmasdan oxirida solinadi);
2.  $\text{CaCl}_2$  eritmasi;
3. Temir xelati eritmasi ( $\text{FeSO}_4$  va  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  eritmasi birgalikda qaynagunga qadar qizdirilganda temir xelati hosil nobud bo'ladi);
4. Mikro elementlar eritmasi.

Boshlang'ich eritmalar uchun kerakli tuzlar miqdori va boshlang'ich eritmalarning oziqa muhit uchun kerakli miqdorlari 2-jadvalda keltirilgan.

Tayyorlangan eritmalarini og'zi zich yopiladigan idishlarga olib, qog'oz yorliq yopishtirib, muzlatgichda saqlash lozim. Temir xelati to'q rangli shisha idishda saqlanadi. Vitaminlarning to'yingan eritmalari alohida-alohida tayyorlanadi va pensil idishlarida saqlanadi. Eritmalar tayyorlash uchun vitaminlar 5-n martalik og'irlikda o'lchanib 10 ml suvda eritiladi. Shu erit-



maning 1 ml miqdori 1 litr Murasige-Skuga eritmasini tayyorlash uchun etarlidir.

## 2-jadval

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

| Oziqa muhiti<br>komponentlari                       | Konsentratsiyasi mg/l |          |                        |                   |
|-----------------------------------------------------|-----------------------|----------|------------------------|-------------------|
|                                                     | Murasiga-<br>skuga    | Gamborga | Shenka-<br>xildebrandt | Gressxoff-<br>dau |
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$                            | 1650                  | 2500     | 2500                   | —                 |
| $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$                  | —                     | —        | 300                    | —                 |
| $\text{KNO}_3$                                      | 1900                  | 2500     | —                      | 1000              |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 440                   | 150      | 200                    | 150               |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 370                   | 250      | 400                    | 250               |
| $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$                        | —                     | 134      | —                      | —                 |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                            | 170                   | —        | —                      | —                 |
| $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  | 37,3                  | 37,3     | 20,0                   | 37,3              |
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 27,95                 | 28,0     | 15,0                   | 27,8              |
| $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  | —                     | 150      | —                      | 90,0              |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 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              |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 0,025                 | 0,025    | 0,1                    | 0,25              |
| Glitsin                                             | 2,0                   | —        | —                      | 2,0               |
| Mezoinozit                                          | 100                   | 100      | 1000                   | 10                |
| Nikotin kislotasi                                   | 0,5                   | 1,0      | 5,0                    | 1,0               |
| Piridoksin-HCl                                      | 0,5                   | 1,0      | 0,5                    | 0,1               |
| Tiamin-HCl                                          | 0,1                   | 10,0     | 5,0                    | —                 |
| 2,4-dixlorfenok-<br>sirka kislotasi<br>(2,4-D)      | —                     | 2,0      | —                      | —                 |
| Kinetin                                             | —                     | —        | 0,1                    | —                 |
| Glutamin                                            | —                     | —        | —                      | 2,0               |
| Saxaroza                                            | 30 000                | 20 000   | 30 000                 | 20 000            |



Endi boshlang'ich eritmalardan foydalangan holda keyingi darslarda kartoshka va qulupnay apikal meristemalarini o'stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash kerak. O'lchami 1 litrli kimyoviy stakanga saharoza solib idishning yarmigacha distirlangan suv quyib isitiladi, saharoza erigandan so'ng, xona haroratigacha sovutiladi va unga makro, mikrotuzlarning boshlang'ich eritmaları va vitaminlar kerakli miqdorda solinadi (2 jadval).

Kartoshka apikal meristemasini o'stirish uchun oziqa muhitga aktivlangan ko'mir va regulyatorlar: GK, kinetin, adenin solinadi. Gibberal kislotalari bir necha tomchi spirtga eritilib, ozgina suv qo'shiladi va oziqa muhitga solinadi. Sitokininlar suvda yaxshi erimaydi, balki ishqor, kislota, etil spirti va etil efiri eritmalarida yaxshi eriydi. Sitokinin eritmaları tayyorlash uchun gormonlarga ozgina (3-5 ml) distillangan suv, 0,5-1 ml 0,1 N KOH qo'shib aralashtiriladi va eriguncha isitilib, so'ngra oziqa muhitga solinadi. So'ng albatta eritmaning Ph i o'lchanadi, Ph ko'rsatgichi 5,5-5,6 atrofida bo'lishi kerak. Eritma Ph normaga to'g'ri kelmagan hollarda oziqa muhitga 0,1 M HCl eritmasidan qo'shiladi. Bir vaqtning o'zida boshqa stakanga agar-agar eritiladi. Buning uchun suvda ivitilgan agar (7 g) elektroisitgichda to'liq erigunga qadar qizdiriladi va harorat  $50^{\circ}\text{S}$  ga tushguncha saqlab turiladi. So'ng agarni, tuzlar, vitaminlar va saxaroza bilan birga idishga solib, eritmaning hajmini suv bilan 1 litrga etkazish kerak. Oziqa muhitini probirkalarga solib (taxminan 1/3 hajmda), probirkalar og'zi paxta probkalar bilan yopiladi. Oziqa muhitlari avtoklavda sterillanishi kerak.



**Topshiriq.** Mavzudan yoritilgan preparatlarni diqqat bilan o'qing, so'ng "T-jadvali"dan foydalanib ularning afzal va kamchilik tomonlarini jadvalga yozib chiqing.

**T- jadval**

| №  | Afzalliklari | Kamchiliklar |
|----|--------------|--------------|
| 1. |              |              |
| 2. |              |              |
| 3. |              |              |

**Nazorat savollari:**

1. Oziqa muhitlarining turlarini ayting?
2. Kallus to'qimaning o'sish jarayonini tushuntirib bering?
3. Xujayralar kulturasida deganda nimani tushunasiz?

**10-Amaliy mashg'ulot.**

**Kallus to'qimalar kulturasida**

**Asbob-uskunalar va materiallar.** 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarni saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og'zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1 – 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar.

**Mavzuni tushuntirish.** Kallus kulturasida bu – dedifferensiyalangan hujayralarning tarqoq bo'linayotgan to'qimalaridir. **Kallus** - qadoq ma'nosini bildirib, o'simliklarning shikastlangan joyida va *In vitro* kulturalanayotgan o'simlik to'qimalarida (eksplantlarda) hujayralarning betartib bo'linishi va o'sishidan hosil bo'lgan qabariqdir.

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



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

O'simlik hujayrasini dedifferensiyalanishi va uning kallusga aylanishi uchun oziqa muhit tarkibida fitogormonlarning ikki guruhi: auksinlar va sitokininlarning ishtirok etishi zarur. Auksinlar hujayralarning dedifferensiyalanish jarayonini yuzaga keltirib hujayra-larni bo'linishga tayyorlaydi, sitokininlar esa dedifferensiyalangan hujayralarning bo'linishini amalga oshiradi.

Agar gormonsiz oziqa muhitga differensiyalangan hujayralardan iborat poya, barg, ildiz (uchki meristemasi olingan) qismlari yoki o'simlikning boshqa eksplantlari joylashtirilsa, hujayralar bo'linmaydi va kallusli to'qimalar hosil bo'lmaydi, chunki differensiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga ega emas. Har bir hujayra o'sishning uchta davridan o'tadi: 1) bo'linish; 2) cho'zilishi; 3) differensiyalanish.

Differensiyalanish davrida hujayraning ikkilamchi qobig'i qalinlashadi va hujayra bo'linish xususiyatini yo'qotadi. Differensiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga qayta ega bo'lishlari uchun ularning dedifferensiatsiyasi yuzaga kelishi ya'ni hujayralar meristematik holatga qaytishi kerak.

Dedifferensiyalangan hujayralarning ko'payishi tartibsiz, barcha o'sishga, natijada kallusli to'qimalar hosil bo'lib olib keladi. Demak, kallus to'qimalari hosil qilish uchun hujayralar bo'linishini induksiyalash lozim.

Oziqa muhitda sitokininning yo'qligi tamakini o'zak mexanizmasi (TO'P) mitoz oldi davrda hujayra siklini to'sib qo'yadi. Shuning uchun agar oziqa muhitida faqat auksin ishtirok etsa, hujayralarda bo'linish ketmaydi va to'rt kunlik



latent davrdan so'ng cho'zilish orqali o'sishga o'tadi. Oziqa muhit tarkibida auksinsiz faqat sitokinin bo'lsa, u holda gormonsiz muhitdagi kabi TO'P to'qimalar qariy boshlaydi.

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

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

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

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

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

Hujayralarning *In vitro* differensiyalangan holatidan dedifferensiyalangan holatiga o'tishiga va hujayralarning faol bo'linishga genlar faolligining (epigenom o'zgaruvchanligi) o'zgarishi



sabab bo'ladi. Ba'zi genlarni faollashishi va boshqalarining repressiyalanishi hujayra oqsil tarkibining o'zgarishiga olib keladi.

Kallus hujayralarida spetsifik oqsillar hosil bo'ladi va bir vaqtning o'zida bargni fotosintezlovchi hujayralariga hos bo'lgan oqsillar miqdori kamayadi yoki umuman yo'qolib ketadi.

Ikki pallali o'simliklarda dedifferensirovka asosida yotuvchi genlarni repressiya va derepressiya jarayoni bir pallali o'simliklarga nisbatan engilroq o'tadi.

Dedifferensiatsiyalangan hujayralarning uyushmagan, tartibsiz ko'payishga o'tishi natijasida, kallus to'qimasi hosil bo'ladi va hujayrada biokimyoviy hamda sitologik o'zgarishlar yuzaga keladi.

Dedifferensirovka-hujayradagi zahira moddalardan foydalanish va ixtisoslashgan hujayra organellalarini parchalanishidan boshlanadi. Hujayraning dedifferensiyalanishi induksiya qilinishidan 6-12 soat o'tganidan so'ng, hujayra devori po'kaklashadi va shishadi, erkin ribosomalar, Golji apparati elementlari, yadrochalar soni va o'lchami ortadi. Barcha o'zgarishlar 48-72 soatdan so'ng boshlanadigan hujayralar bo'linishi uchun asos yaratadi. Kulturalashning boshlang'ich davrida eksplant hujayralari metabolizmida, dedifferensiyalanish natijasida paydo bo'lgan o'zgarishlarni kuzatish mumkin. Bu jarayonlarning oldini olish uchun eksplantlarni oldindan gormonsiz oziqa muhitlarda 3-6 kun inkubatsiya qilish maqsadga muvofiqdir. Kallus to'qimasi o'zining rivojlanish sikliga ega bo'lib, boshqa hujayralarga hos bo'lgan: bo'linish, cho'zilish va dedifferensiyalanish kabi rivojlanish davrini takrorlaydi, so'ng hujayralar qarishi va nobud bo'lishi boshlanadi. Kallus hujayralari dedifferensiyalanishini ikkilamchi deb atash mumkin, lekin uni morfogenez asosida yotuvchi hujayraning ikkilamchi dedifferensiya-lanishi bilan adashtirmaslik lozim.

Eksplantlarda paydo bo'lgan birlamchi kallus to'qimalari 4-6 hafta o'tgandan so'ng, hujayralarining bo'linish xususiyatlari



yoʻqolib, qarishi boshlanmasdan oldin, yangi oziqa muhitlarga koʻchirib oʻtkazilishi kerak. Bu muolajani passirlash yaʼni qayta ekish deyiladi. Muntazam passirlash orqali hujayralarning boʻlinish qobiliyatini oʻn yillab saqlab turish mumkin.

Kallus hujayralarining oʻsishi S-simon shakldagi egri chiziqqa ega. Oʻsishning bunday xarakterini kallus hujayralarining suspenziyalı kulturasida kuzatish mumkin. Oʻsish egri chizigʻi beshta fazani oʻz ichiga oladi. Birinchisi, latent yoki lag-fazada hujayralar soni yoki massasi oʻzgarishi kuzatilmaydi. Bu fazada hujayralar boʻlinishga tayyorlanadi. Navbatdagi ikkinchi logorifmik yoki ekpotensial oʻsish fazasi-mitotik faolligi va kallus toʻqimalari massasining ortishi bilan xarakterlanadi, bundan tashqari oʻsishi tezlashadi. Uchinchi doimiy fazasida hujayralar oʻsishi doimiy boʻladi. Shundan soʻng Toʻrtinchi oʻsishning sekinlashish fazasi-hujayraning mitotik faolligi keskin kamayganda yuzaga keladi. Beshinchi statsionar fazada oʻsish egri chizigʻi platoga chiqadi. Bu davrda hujayralar degradatsiyasi boshlanadi, ammo hujayralar boʻlinishi hisobiga hujayralar soning ortishi sababli yana tenglashadi: umuman olganda hujayra massasining oshish tezligi nolga teng boʻladi.

**Kallus hujayralarining xususiyatlari.** Kallus hujayralari *In vitro* sharoitida oʻsimlik organizmining normal hujayralariga hos boʻlgan barcha fiziologik va biokimyoviy xususiyatlariga ega boʻladi. Ular ikkilamchi metabolitlar sintez qilish qobiliyatini ham saqlab qoladi. Sovuq haroratga chidamli oʻsimliklardan olingan kallus toʻqimalari sovuqqa chidamlilikni namoyon qiladi. Tropik va subtropik oʻsimliklardan olingan kallus toʻqimalari esa bunday xususiyatga ega emas. Demak, hujayraning past haroratga chidamlilik xususiyati kallus toʻqimasi hosil boʻlganda ham saqlanib qolar ekan. Kallus toʻqimalariga fotoperiodik reaksiyalar ham hos boʻlib, bu undagi fitoxrom faollikning saqlanishi bilan bogʻliqdir.



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

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

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

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

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

Kallus hujayralarining energiya almashinishida ham katta farq mavjud. Ular normal hujayralarga nisbatan kam kislorod talab qiladi. Ramsgorn 1938 yilda meristema to'qimalarining faol bo'linayotgan hujayralarining ham xuddi shunday xususiyatini aniqlagan edi. Kallus hujayralarining **nafas olish koef-titsenti** (N.O.K) 1 dan ortiq, masalan: no'xat kallusi hujayralarida  $N.O.K > 3,5$  (A.V.Romanova va boshqalar 1988) ni ashkil etadi. Bu nafas olish va bijg'ish orasidagi nisbatining bijg'ish tomoniga surilishi, Paster effektini kamayib, bijg'ish uchayishidan dalolat beradi. Paster effekti deganda kislorodli nafas olish orqali bijg'ish jarayonini to'xtatilishini tushunish mumkin. O'zgarimas nafas olish substartida nafas olish

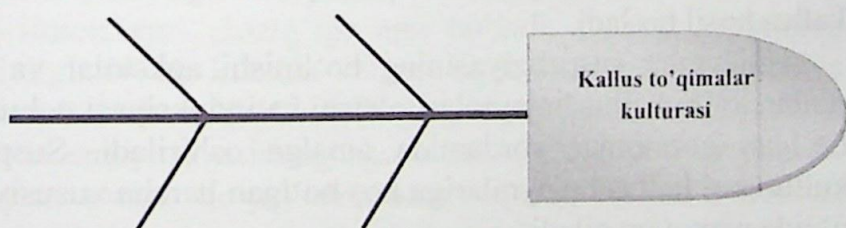


koeffitsientining oshishi shundan dalolat beradiki, kallus hujayralarining nafas olishi hatto kislorod ishtirokida ham bijg'ishni to'xta olmaydi, uglerodlarning kislorodsiz parchalanishi ya'ni bijg'ishi amalga oshadi. Uyushmagan to'qimalarni o'sishida uglevodlarning kislorodsiz parchalanishi-bijg'ish natijasida bo'linayotgan hujayralar tarkibidagi etil spirti to'planadi. Shunday natijalar no'xatni intakt o'simtalarini uyushmagan xolda o'sishi induksiyalanganida olingan (G.M.Artamonov, 1975, 1978).

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

Paster effektining buzilishini hayvonlarning shish hujayralarida Varburg tomonidan o'rganilgan. U Paster effekti buzilishi natijasida, kislorod ishtirokida uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi ya'ni aerob glikoliz shish hujayralarining uglevodlarga bo'lgan ehtiyojini (19 martagacha) keskin oshiradi.

**Topshiriq. "Baliq skeleti"** sxemasidan foydalanib, Kallus to'qimalar kulturasini shakidagi savollarga javob bering.



### Nazorat savollari:

1. Kallus hujayralarining xususiyatlari nima?
2. Differensiyalanish davrida hujayraning qanday o'zgarish bo'ladi?
3. Kallus hujayralarining nafas olish koeffitsienti nima?



## 11-Amaliy mashg'ulot

### Xujayralar suspenziyasi kulturasini

**Asbob-uskunalar va materiallar.** 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarni saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og'zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1 – 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar.

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

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

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

Suspenziyalar po'k kallusdan 2,4-D tutuvchi oziqa muhitida yaxshi hosil bo'ladi. Oziqa muhit tarkibida kalsiy ionlari ishtirok etmasligi suspenziyaning suspendirlanishini engildiradi. Agar oziqa muhitga pektinaza fermenti qo'shilsa (bu ferment alohida hujayralarni bir-biriga elimlab turuvchi pektat yini parchalaydi) va bu jarayon yanada engillashadi.



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

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

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

Yaxshi o'sayotgan suspenziya kallus kulturasida kabi o'sishning S-simon egri chizig'iga ega bo'ladi. Odatda passajning davomiyligi 14-16 kundan iborat bo'ladi. Bunda suspenziya zichligi  $5 \cdot 10^4$  dan  $5 \cdot 10^6$  huj/ml gacha ortadi. Subkulturlash uchun suspenziya o'sishning eksponensial davri oxirida olinadi. Hujayralar sonini ko'payishi, ularni quruq va ho'l massasi suspenzion kulturani asosiy o'sish darajasini tashkil etadi.

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

Suspenziya kulturalari qimmatli ikkilamchi metabolitlar manbai bo'lib xizmat qiladi, shuningdek ular tarkibida yangi



ajoyib birikmalar, masalan, komptotetsin, xarringtonin va boshqa antikanserogenlar, peptid-lar, (proteazalar, fitoviruslar ingibitorlari) tutadi. Ikkilamchi metabolitlarning sintezini o'sishi stat-sionar fazasida maksimal darajaga etadi.

**Topshiriq.** Mavzudan yoritilgan ma'lumotlarni diqqat bilan o'qing, so'ng "**T-jadvali**"dan foydalanib ularning afzal va kam-chilik tomonlarini jadvalga yozib chiqing.

*T- jadval*

| <i>No</i> | <i>Afzalliklari</i> | <i>Kamchiliklar</i> |
|-----------|---------------------|---------------------|
| 1.        |                     |                     |
| 2.        |                     |                     |
| 3.        |                     |                     |
| 4.        |                     |                     |
| 5.        |                     |                     |
| 6.        |                     |                     |
| 7.        |                     |                     |
| 8.        |                     |                     |
| 9.        |                     |                     |
| 10.       |                     |                     |

### **Nazorat savollari:**

1. Hujayralar suspenziyasi nima ?
2. Hujayralar suspenziyasida fitogormonlarning roli qanday?
3. Suspenziya kulturasida ikkilamchi metabolitlarning roli qanday bo'ladi?

### **12-Amaliy mashg'ulot.**

#### **O'simliklarni klonli mikroko'paytirish**

**Ob-uskunalar va materiallar.** Suspenziya solingan koloni to'g'ri to'g'ri steril pipetkalar, rezina nok, pensillin solingan 20% li xrom kislotasi, uchi uchli pipetkalar, Garyaev kamerasi (gemotsitometr), qon elementlarini hisob oladigan



kamera, mikroskop va qoplagich oynalar, 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalardi saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og'zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1 – 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar.

**Mavzuni tushuntirish.** Urug'li o'simliklar ikki xil yo'l bilan: urug'dan va vegetativ yo'l bilan ko'payadi. Bu ikkala yo'lni ustivorligi ham kamchiligi ham bor. Urug'dan ko'payishning kamchiligiga eng avvalo, olingan ko'chatlarni genetik xilmaxilligi va yuvenil (urug'dan chiqqan maysadan yoki vegetativ kurtakdan reproduktiv organlar hosil qilish) davrining uzunligini ko'rsatish mumkin.

Vegetativ ko'payishda ona o'simlikni genotipi saqlanib qoladi va yuvenil davr qisqaroq bo'ladi. Ammo ko'pchilik turlar (eng avvalo yog'och hosil qiladiganlar) uchun vegetativ ko'payish muammosi oxirigacha o'z echimini topgani yo'q. Bunga asosiy sabablar quyidagilar:

**birinchidan,** ko'pchilik turlar (navlar) hattoki, yuvenil bosqichda ham vegetativ usulda kerakli samara bilan ko'payayvermaydi (eman, tilog'och, yong'oqdoshlar va boshqalar);

**ikkinchidan,** ko'pchilik daraxtli o'simliklarni 10-15 yoshdan keyin, qalamcha yordamida ko'paytirish mumkin emas;

**uchinchidan,** har doim ham standart ekish materialini olish mumkin emas (yuqumli kasalliklar to'planishi va o'tishi mumkin);

**to'rtinchidan,** payvand qilish orqali katta yoshli (yog'ochli) o'simliklarni ko'paytirish juda ham qiyin va murakkab;

**beshinchidan,** yil davomida bir xil genetik materialni olish uchun ishlab chiqilgan texnologiyalar samaradorligining o'ta pastligidir.

Hujayra va to'qimalar kulturalari sohasida erishilgan yutuqlar vegetativ ko'payishni tubdan yangi bo'lgan usuli klonal mikroko'paytirish (*in vitro* sharoitida (probirkada), jinsiy bo'lmagan



yo'l bilan, o'simliklarni dastlabki nusxasi bilan genetik bir xil bo'lgan navini yaratish) usulining yaratilishiga olib keldi.

Bu usul asosida o'simlik hujayralarigagina xos bo'lgan noyob xususiyat, totipotentlik xususiyati, ya'ni tashqaridan keladigan ta'sir orqali butun o'simlik organizmi hosil bo'lishiga turtki bo'lishi yotadi. Albatta, bu usulni boshqa an'anaviy usullardan ustunlik tomonlari juda ham ko'p: eng avvalo bu ustunliklar quyidagicha izohlanishi mumkin:

- *genetik bir xil ekuv materialining olinishi;*
- *meristema to'qimalari kulturalari ishlatilishi hisobiga o'simliklarni virusli va boshqa yuqumli kasalliklardan holi bo'lishi;*
- *ko'payish koeffitsientining yuqoriligi (o'tchil va gulli o'simliklar uchun  $10^4$ - $10^5$ ; ninabargli o'simliklar uchun –  $10^4$ );*
- *seleksiya davrining qisqarishi;*
- *o'simlik rivojlanishshini yuvenil davrdan reproduktiv fazaga o'tishini tezlashishi;*
- *an'anaviy yo'llar bilan qiyin ko'payadigan o'simliklarni ko'paytirish;*
- *ishni yil davomida tashkil etish imkoniyatlarining mavjudligi va ko'chat materiallari o'stirish uchun kerak bo'lgan maydonni tejash;*
- *o'stirish jarayonini avtomatlashtirish imkoniyatlari va h.k.*

Klonal mikroko'paytirishni dastlabki muvaffaqiyatlari o'tgan asrning 50-yillari oxirida fransuz olimi Jorj Morel orxideya o'simligining regenerantini yaratganda erishilgan edi. Bu muvaffaqiyatga o'sha vaqtlarda yaratilgan, *in vitro* sharoitida o'simliklarni apikal meristemalarini ko'paytirish texnikasi o'z hissasini qo'shgan. Odatda olimlar birlamchi eksplant sifatida o'tchil o'simliklarni ustki meristemalaridan foydalanadilar, va oziqatarkibini o'simlikni regeneratsiya va paydo bo'lish sharoitlariga ta'sirini o'rganadilar. Xuddi shu maqsadda chinni-



gul, xrizantema, kungaboqar, no'xat, makkajo'xori, qoqio't va boshqa o'simliklar o'rganib chiqilgan edi.

J.Morel o'z tajribalarida xuddi shunday qilib, simbidium (orhideyalar oilasiga mansub o'simlik)ni uchki qismini ishlatgan. U o'sib kelayotgan konussimon ko'rinishdagi va ikki-uch barg oldi elementlaridan iborat bo'lgan va undan ma'lum sharoitda qubbali, yumaloq-prokorimlar paydo bo'lishini kuzatgan edi.

Hosil bo'lgan (etilgan) protokormlarni bo'lish va ularni keyin alohida mustaqil ravishda, yangi tayyorlangan oziqa muhitida barg va ildiz paydo bo'lguncha o'stirishga erishilgan edi. Natijada J.Morel bu jarayonni chegarasiz ekanligini va shu yo'l bilan yuqori sifatli genetik bir xil, virussiz ekuv materialini juda ham ko'p miqdorda tayyorlash mumkinligini kuzatgan edi.

Rossiyada klonal mikroko'paytirish professor R.G.Butenko nomi bilan bog'liq. K.A.Temiryazev nomidagi o'simliklar fiziologiyasi institutida bu olim o'z shogirdlari bilan, kartoshka, qand lavlagi, chinnigul va boshqa gullarni klonal ko'paytirish sharoitlarini ishlab chiqqan.

Mamlakatimizda bu usul ilmiy laboratoriyalarda sinab ko'rilmoqda. Xususan, Toshkent Davlat Agrar universiteti biotexnologiya kafedrası ilmiy laboratoriyasida kartoshkani klonal mikroko'paytirish usullari orqali kasalliklarga, issiqqa, sho'rlanishga chidamli navlarini yaratish bo'yicha ilmiy izlanishlar olib borilgan.

Shuni ham eslatib o'tish o'rinliki, mikroko'paytirishdan foydalanish doirasi juda keng bo'lib, kundan - kunga yanada oshib bormoqda. Eng avvalo bu *In vitro* sharoitida o'simliklarni yog'ochli turlarini, nina bargli va ayniqsa, yo'qolib ketayotgan o'simliklar hamda dorivor o'simliklarni ko'paytirish maqsadida bu usuldan foydalanish katta samara berishi isbotlangan.

Klonal mikroko'paytirish jarayonini to'rt bosqichga bo'lish mumkin:

birinchi – *donor o'simlikni tanlash, eksplantlarni ajratish va yaxshi o'sadigan steril kultura olish;*



ikkinchi – mikroko'paytirishni o'zi, meriklonlarni eng ko'p (maksimal) miqdorini olishga erishilgan davrni va sharoitni tanlash;

uchinchi – ko'paytirilgan navdani ildiz olishi va ularni tuproq sharoitiga moslashtirish, kerak bo'lganda regenerant – o'simliklarni sovuq haroratda ( $+2^{\circ}$ ,  $+10^{\circ}$ ) saqlash;

to'rtinchi – o'simlikni issiqxona sharoitida o'stirish va ularni maydonga chiqarib ekish yoki sotishga tayyorlash.

Klonal mikroko'paytirishni ko'p usullari ma'lum. Ko'plab mualliflar eksplantlarni o'stirishga sharoitni morfogenez jara-yoniga ta'sirini o'rgana borib, o'stirish sharoitini o'zgarishiga har xil morfogenetik reaksiya bo'lishini kuzatganlar, bu esa klonal mikroko'paytirish metodlarini yangi klassifikatsiyasini yaratilishiga olib keldi.

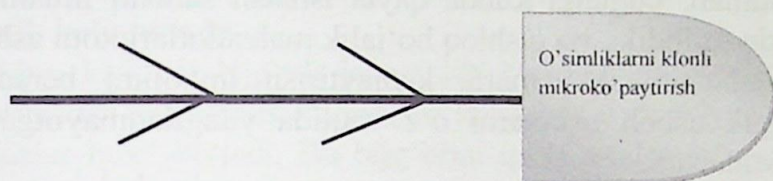
Ilmiy adabiyotlardan ma'lum bo'lgan, o'simliklarni mikroko'paytirish uslublari asosida, bu jarayonni quyidagi yo'llar bilan amalga oshirish mumkin:

- o'simlikda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini jadallashtirish (poya apeksi, poyani kurtaklari);
- eksplantlar to'qimalarida to'g'ridan - to'g'ri adventiv kurtaklar hosil bo'lishini induksiya qilish;
- somatik embriogenezni induksiya qilish;
- birlamchi va ko'chat oluvchi kallusli to'qimalarda adventiv kurtaklarni tabaqalashtirish.

Fitogormonlar tutuvchi oziqa muhitga o'tkazilgan kartoshka poyasi parenxima to'qimalari zararlangandan so'ng, hujayralar dedifferensiyaga uchraydi va bo'linishga o'tib nodifferensiyalangan to'qima, ya'ni kallus hosil qiladi. Kallusni o'simlikning turli organlaridan, xususan kartoshkaning poya to'qimalaridan, bargidan, tuganagidan, ildizidan, changdonidan olish mumkin.



**Topshiriq. “Baliq skeleti”** sxamasidan foydalanib O‘simliklarni klonli mikroko‘paytirish hakidagi savollarga javob bering.



### **Nazorat savollari:**

1. Klonli mikroko‘paytirish haqida nimani tushunasiz?
2. Qanday fitogormonlar oziqa muhitiga qo‘shiladi?
3. Urug‘li o‘simliklar qanday ko‘payadi?

### **13-Amaliy mashg‘ulot**

#### **Qishloq xo‘jalik mahsulotlarini saqlash va qayta ishlash biotexnologiya**

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Limon kislota, achitqi zamburug‘lari, etil spirti, 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang‘ich eritmalarni saqlash uchun og‘zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og‘zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1 – 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar.

**Mavzuni tushuntirish.** Biotexnologik usullar va yondashishlar mahsulotlarning ta‘m va boshqa xil sifat xususiyatlarini saqlash va yaxshilashga qaratilgan bo‘lib, ular o‘simliklardan olingan yoki sintetik birikmalardan olingan biologik komponent qo‘shimchalar – konservant va ta‘m beruvchi birikmalardan foydalanishga, shuningdek mahsulotlarni uzoq vaqt, ishonchli saqlash imkonini beradigan transgen mikroorganizmlar membrana texnologiyalarini qo‘llashga asoslanadi.

Vitaminlar, aminokislotalar, oziqa va oziq-ovqat qo‘shimchalarini ishlab chiqarish zamonaviy sanoat biotexnologiya-



sining eng so'nggi yutuqlarini o'z ichiga olgan usullariga asoslanadi. Bugungi kunda ularni ishlab chiqarish hajmi xaridor korxonalar va sohalarning ehtiyojini to'la qondira olmayapti.

Umuman, bugungi kunda qayta ishlash sanoati muammoli vaziyatda turibdiki, bu qishloq ho'jalik mahsulotlari xom ashyosi kelib tushishini ikki marta kamaytirish imkonini beradigan texnologik asbob uskularni o'z vaqtida yangilanmayotganligi bilan izohlanadi.

Hozirgi vaqtda o'simlik va hayvon mahsulotlarini qayta ishlovchi korxonalar, zavodlarni tiklash va rivojlantirish bilan bog'liq katta vazifalar turibdi, bu esa ularda eng yangi biotexnologik usullarni qo'llash imkonini bergan bo'lar edi.

Meva-sabzavotlarni etishtirish va qayta ishlashdan hosil bo'lgan chiqindilarga mikroorganizmlar yordamida ishlov berib, olinadigan mahsulotlarning xillari u qadar ko'p emas.

Bunga yorqin misol qilib lavlagidan qand, kartoshkadan esa kraxmal ishlab chiqaradigan korxonalarda yuzaga keladigan chiqindilarni mikroorganizmlar yordamida qayta ishlash orqali olinadigan mahsulotlarni misol qilish mumkin.

Lavlagidan qand olish jarayonining chiqindisi bo'lgan melassa achitqi zamburug'larini ko'paytirish uchun arzon oziqa hisoblanadi. Ma'lumki achitqi zamburug'lari non mahsulotlarini, turli xil alkogolli va alkogolsiz ichimliklarni ishlab chiqarish uchun muhim ashyo hisoblanadi.

Bundan tashqari melassa va kartoshkaning kraxmalining qoldiqlaridan bijg'ish jarayonlari yordamida turli xil mahsulotlar olinadi. Ulardan eng muhimi etil spirti hisoblanadi. Bu modda olinadigan qandda aytib o'tilgan chiqindilarni spirtli bijg'ish tufayli olinadi. Etil spirti oziq-ovqat sanoatida ichimlik sifatida va turli mahsulotlarini tayyorlash uchun ishlatilsa, meditsinada dezinfeksiya qiluvchi modda va turli dorivor preparat tayyorlashda keng foydalaniladi.

Hozirgi yillarda undan avtomobillar uchun yoqilg'i sifatida foydalanish yo'lga qo'yilmoqda. Eng muhimi ishlab chiqarila-



digan etil spirtining 90% kimyo va mikrobiologiya sanoatida organik erituvchi sifatida ishlatiladi.

Bijg'ish jarayonlari tufayli chiqindilardan olingan sirka kislotasi oziq-ovqat sanoatida turli xil mahsulotlar tayyorlashda ishlatib kelinmoqda.

Moy kislotali bijg'ish jarayonida meva-sabzavot chiqindilari ishlatilganda ham sanoat va xalq xo'jaligi uchun ahamiyatli bo'lgan moddalar hosil bo'ladi. Bu bijg'ishni qo'zg'atadigan bakteriyalar Ph muhitiga qarab, turli xil moddalarni hosil qilishi kuzatiladi. Agar muhit kislotali bo'lsa (Ph-5,5), unda asosiy moddalar atseton va butil spirti hosil bo'ladi. Butil spirti turli xil qurilish bo'yoqlarini va laklarni tayyorlashda foydalaniladi. Bijg'ish tufayli hosil bo'lgan gaz esa metil spirtini sintez qilish uchun ishlatiladi. Atseton esa sun'iy shoyi, teri va fotoplyonkalar ishlab chiqarishda, sun'iy sement va boshqa mahsulotlarni olishda ishlatiladi.

Zamburug'lar uglevodlarni oksidlaganda bir qancha moddalar qatorida limon kislotasi ham hosil bo'ladi. Limon kilotasi meditsinada, konditer mahsulotlarini tayyorlashda va boshqa maqsadlar uchun ishlatiladi.

**Topshiriq:** Qishloq xo'jalik mahsulotlarini saqlash va qayta ishlashni o'rganib quyidagi **B/B/B JADVALI ni to'ldiring**

| №  | Bilaman + - | Bilishni istayman+ - | Bilib oldim+ - |
|----|-------------|----------------------|----------------|
| 1. |             |                      |                |
| 2. |             |                      |                |
| 3. |             |                      |                |

#### **Nazorat savollari:**

1. Qayta ishlashda biotexnologiya haqida tushunchangiz qanday?
2. Zamonaviy sanoat biotexnologiyasi nima?
3. Bijg'ish jarayonlari haqida tushuncha bering?



#### 14-Amaliy mashg'ulot.

##### O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish

**Asbob-uskunalar va materiallar.** Termostat, apikal meristema, oziqa muhiti, eksplant hujayra, suspenziya solingan kolba, uchi to'mtoq steril pipetkalar, rezina nok, pensillin solingan idish, 20% li xrom kislotali, uchi uchli pipetkalar, mikroskop va qoplag'ich oynalar, 1 litrli kimyoviy stakanlar (4 ta), boshlang'ich eritmalarni saqlash uchun og'zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), og'zi berkitiladigan kichik hajmdagi shisha idishlar (10 dona), 1–10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar, 37% li streptomitsin sulfat, fitomitsin 20%li streptomitsin nitrat, agrimitsin-10-15% li streptomitsin va oksitetratsiklin.

**Mavzuni tushuntirish.** Qishloq xo'jaligida etishtirilayotgan o'simliklarning katta qismi har yili turli xil kasalliklar hisobiga nobud bo'ladi. O'simlik kasalliklarini asosan uch toifaga mansub parazit mikroorganizmlar chaqiradi. Ular viruslar, bakteriya va zamburug'lardir.

Viruslar 300 ga yaqin turli xil qishloq ho'jalik ekinlarida kasallik tug'diradi. Fitopatogen zamburug'lar va bakteriyalarga nisbatan bu ko'rsatgich uncha yuqori emas: o'simliklarda kasallik jo'zg'atadigan zamburug' va bakteriyalarnig soni bundan 100 narta ko'proqdir. Biroq virusli kasalliklarning havfi, keltiradigan zarari, bakterial va zamburug'li kasalliklarga nisbatan kam emas, chunki ulardan yuqori hamdir. Kasallangan o'simliklarning tashqi ko'rinishi o'zgaradi, hosilning sifati va miqdori kamayib ketadi.

Virusli infeksiyalarga qarshi kurashning qiyinligi shundaki, ular o'simlik yoki hayvon organizmida obligat parazit hisoblanadi. Virusni yo'qotish tirik organizm xo'jayralarining o'zini nobud qilishiga sabab bo'ladi. Viruslar bilan kasallangan o'simliklarni davolashda to'liq davolash mumkin emas ular bilan kurash usullari, asosan, viruslarni kelib chiqishi va tarqalishini oldini olishga asoslanadi.



Ekish materiallarini sog'lomlashtirish va ularni virusli infeksiyalardan himoya qilishda ajratib olingan to'qima va organlardan foydalanish usuli keng imkoniyatlar ochdi. 1943 yilda to'qimalar kulturasiga asos solgan olim F.Uayt tamaki virusi bilan zararlangan o'simliklarning ildizlari uchki qismida viruslar uchramaslini aytib o'tgan edi. Shunga o'xshash natijalar boshqa mualliflar tomonidan ham keltirilgan. Bu ma'lumotlarga tayanib, Fransiya Milliy agronomik instituti xodimlari tomonidan georginiya o'simliklarining oziqa muhitlarida o'stirilayotgan meristemalaridan sog'lomlashtirilgan ekish materialini olish usullari taklif etilgan. Ular o'simliklarning apikal meristemasi-dan virusdan holi etuk o'simliklarni etishtirishga muvaffaq bo'lganlar. Kartoshkaning Bel de fontene navining zararlangan qismidan ajratib olingan va sun'iy oziqa muhitida o'stirilgan sog'lom meristemalaridan foydalanib uni virusdan batamom holi qilishga erishilgan.

Fransuz olimlarining sog'lomlashtirilgan ekish materiallarini olish borasidagi tadqiqotlari ushbu sohadagi barcha ishlarga poydevor yasadi.

Infeksiyalardan holi o'simliklarni olish jarayonini quyidagi bosqichlarga bo'lish mumkin:

viruslar mavjudligini aniqlashga yordam beradigan o'simliklar yordamida sog'lomlashtiriladigan namunalarning zararlanish darajasini aniqlash;

termoterapiya va meristemalarni o'stirish;

o'simlik meristemalaridan olingan regeneratsiya qilingan ko'chatlarda viruslar mavjudligini tekshirish.

**Ishning borishi.** O'simliklarni viruslardan samarali himoya qilishda o'lchami 0,1-0,2 mm bo'lgan, meristemadan ajratib olingan eksplantlardan foydalaniladi. Eksplantning o'lchami qancha kichik bo'lsa, u shuncha qiyin yashab keta oladi va etuk o'simlikka qadar regeneratsiya bo'ladi. Kartoshkadan meristema to'qimalarini ajratib olishda tugunaklardagi kurtaklardan yoki o'simliklarning poya uchki qismidan foydalaniladi. Eksplantlarni



olishda poya uchki qismlarini kalsiy gipoxlorid eritmasida sterrillanadi, keyin bir necha marta steril suv bilan yuvib tashlanadi.

Viruslardan holi qilishda eksplantlarga termik ishlov berish usulidan ham foydalaniladi. 30-40<sup>0</sup>S haroratda o'simliklar tarkibidagi viruslar konsentratsiyasining keskin pasayishi, ayniqsa, bu holat, o'suvchi qismlarida kuzatiladi. Mazkur usul birmuncha yirik, oson yashab keta oladigan eksplantlardan foydalanishda samara beradi.

Ajratib olingan to'qima bo'lagini agarli muhiti solingan 3-4 mg hajmli probirka yuzasiga ko'chirib o'tkaziladi, keyin og'zini paxta tiqin bilan berkitiladi. J. Morel kartoshka eksplantlarini ildiz olishi uchun oziqa muhiti tarkibini taklif etgan. Bu oziqa muhiti, xuddi shu maqsadda tayyorlangan oziqa muhitlaridan kaliy va ammoniy miqdorining ko'pligi, o'sish va rivojlanishni stimullovchi modda sifatida gibberellin qo'shilganligi bilan farq qiladi.

Meristema o'tkazilgan probirkalarni harorati 25<sup>0</sup>S bo'lgan yorug' xonaga joylashtiriladi. Shunday so'ng har yigirma-o'ttiz kunda meristemalar alohida probirkalarda poyalar bera boshlaydi. 3-4 sm li poyalarni 0,5-1,0 sm li bo'laklarga bo'linadi. Ularning har biri barg va yashirin kurtaklarga ega bo'lishi kerak va ildiz hosil qilishi uchun aynan o'sha oziqa muhitiga ekib boriladi. Shundan so'ng o'simliklarni tuproqqa ko'chirib o'tkaziladi.

To'qimalar kulturasi usuli viruslardan himoya qilishda qo'llaniladigan samarali usullardan biri bo'lib hisoblanadi. Chunki virusli infeksiyalarga chalingan o'simliklar, ko'pincha yaxshi navlar ham 100% gacha zararlangan bo'ladi. Unga qo'llaniladigan meristemalar kulturasi usuli navni qayta tikonini beradi.

kur usul yordamida qulupnay, maymunjon kartoshka va mevali ekinlar, shuningdek, manzarali o'simliklardan lashtirilgan ekish materiallarini olishga muvaffaq bo'-



To'qimalar kulturasida usulidan tashqari o'simliklarni virusdan holi qilishda gen muhandisligi usullari ham muhim ahamiyatga egadir. Masalan, nuklein kislotalarni klonlash o'simlik to'qimalaridagi viruslarni aniqlash va zararlangan o'simliklarni ajratib olish imkonini beradi. Bu yo'l bilan AQSH Qishloq ho'jalik xizmati tadqiqot markazida kartoshkaning urchuqsimon virusi RNK si viroidi ajratib olinib, unga mos DNK nusxasini teskari transkriptaza yordamida sintezlab, klonlashga muvaffaq bo'lingan. Bu viroiddan qutulish juda qiyin, uni kartoshka tugunaklarida aniqlash hosilni sezilarli darajada oshirish imkonini beradi. Faqat sog'lom tugunaklardan foydalanish ham hosildorlikni ko'tarishga yordam beradi. Shunday qilib, klonlangan DNK virus va viroidlarga aniq va ishonchli ravishda tashxis qo'yish imkonini bo'lib, u virus RNK si bilan gibrizatsiya bo'la oladi.

Tabiiy sharoitlarda fitopatogen zamburug'lar - o'simliklarning kasallik chaqiruvchilarida boshqa zamburug'larning parazit holda yashab, ko'payishi holatlari ham ko'p uchraydi. Boshqa parazit zamburug'larda rivojlanadigan parazit zamburug'lar ikkilamchi tartibdagi giperparazitlar degan nom bilan yuritiladi. Agar birinchi parazit qaysidir kasallikni chaqiruvchisi bo'lsa, ikkinchisidan shu kasallik bilan kurashda foydalanish mumkin. Biotexnologiyaning vazifasi ochiq va himoyalangan er sharoitidagi fitopatogenlarga qarshi kurashda ishlatiladigan mikrobiologik preparatlarni ishlab chiqarish jarayonlarining ishlanmasini tuzishdir.

O'simliklarni kasalliklardan himoya qilishda mikroorganizmlar ishlab chiqaradigan antibiotik moddalar alohida o'rin tutadi. Ular evolyusiya jarayonida mikroorganizmlarning bir-biriga nisbatan kuchli kurash vositasi sifatida kelib chiqqan. O'simliklarni himoya qilishda ba'zi antibiotiklardan foydalanish biotexnologiyada yangi yo'nalishlar - turli xil agroximikatlarni, ular orasida mikroblar asosida olingan gerbitsidlar, hayvonlardan olinadigan attraktantlar, ekdizonlar, fitogormonlar va boshqa xil



moddalarni ham olish yo'llari va qishloq ho'jaligida qo'llash istiqbollarini ochib berdi.

Antibiotiklar fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi kurashda foydalaniladigan boshqa vositalarga qaraganda bir qator afzalliklarga ega. Ular o'simliklarning organ va to'qimalariga oson kirib boradi, shuning uchun ularning ta'sir etish mexanizmi tashqi muhit omillariga juda kam darajada bog'liqdir. O'simlik hujayralariga ayniqsa, neytral tabiatli (xloramfenikol, pensillin) oson o'tsa, amfoterlari (xlortetratsiklin, oksitetratsikin) va asosli antibiotiklar (neomitsin, streptomitsin) qiyin o'tadi. O'simlik to'qimalariga nisbatan hayvon to'qimalari antibiotiklarni birmuncha qiyin inaktivatsiyalaydi. Shunday qilib, antibiotiklarni o'simlik to'qimalariga tez o'tishi va ularning a'zolar bo'ylab tez tarqalishi, nisbatan qiyin parchalanishi fitopatogen mikrofloraning nobud bo'lishi uchun zarur antibiotiklar bilan ma'lum darajada to'yinishga sharoit yaratadi.

Olimlarning ko'plab tadqiqotlari natijasida antibiotiklarning o'simlik to'qimalaridagi biologik faolligi hayvon to'qimalariga nisbatan kuchliligi isbotlandi. Ko'pgina fitopatogen zamburug' va bakteriyalarni ular yordamida nobud qilish mumkinligi qayd etiladi.

Bundan tashqari fitopatogen bakteriya va zamburug'larga qarshi qo'llaniladigan antibiotiklar o'simliklar va ular bilan oziqlanadigan hayvonlar uchun ham zaharsizdir. Ba'zan antibiotiklar o'simliklarning o'sib rivojlanishi uchun ijobiy ta'sir ko'rsatib, ularning hosildorligini oshirishga yordam ham beradi. Suv havzalari yoki tuproqqa tushgan antibiotiklar oson parchalanadi ular qishloq xo'jaligida qo'llaniladigan sun'iy preparatlardan farq qiladi. Olimlar antibiotiklarning degradatsiya tezligini ularning sintezida ishtirok etuvchi fermentlari bilan bog'laydilar. Bu fermentlar ishtirokida antibiotic-parchalanishi amalga oshadi. Kimyoviy yo'l bilan sintez-birikmalar tabiatda juda qiyin parchalanadi, chunki ularni loychi mikroorganizmlarda tegishli fermentlar uchramay-



di. O'simlikshunoslikda antibiotiklardan foydalanishga bo'lgan qiziqishning keskin ortishiga sabab, zaharli kimyoviy moddalardan foydalanishning oqibatlar va ular qo'llanilgan o'simliklar bilan oziqlanadigan hayvonlarning zaharlanishi bilan bog'liqdir. Tuproqdan suv havzalariga tushgan zaharli kimyoviy moddalar suv hayvonlarining turli xil vakillari va boshqalarning ham nobud bulishiga olib keladi.

Antibiotiklar birinchi marta o'simlik kasalliklariga qarshi ba'zi Evropa mamlakatlari va AQSH da qo'llanilgan. Streptomitsin tetratsiklin bilan kombinatsiyada sabzavot va poliz ekinlarining bakterial kasalliklariga qarshi qo'llanilgan. Keyinroq ayni shu maqsadda siklogeksimid va grizeofulvin ishlatila boshlandi. Horijiy mamlakatlarda o'simliklarni kasalliklardan himoya qilishda hozir ham tibbiy maqsadlarda foydalaniladigan antibiotiklar ishlatiladi. Masalan, agrisept preparati 37% li streptomitsin sulfat, fitomitsin-20%li streptomitsin nitrat, agrimitsin-10-15% li streptomitsin va oksitetratsiklinning 10:1 nisbati va hokazolardan iboratdir.

Shuni ham qayd etish lozimki, odamda kasallik tug'diradigan ko'plab mikroorganizmlar tuproq va o'simliklar yuzasida uchraydi. O'simliklarga tibbiyot maqsadlarida foydalaniladigan antibiotiklar bilan ishlov berish odamlarda kasallik chaqiruvchi mikroorganizmlarni chidamlilik belgisiga ko'ra tanlanishiga va oqibatda tibbiyotda qo'llaniladigan antibiotiklarning samarasi pasayib ketishiga olib keladi. Shuning uchun keyingi yillarda aynan o'simliklarda kasallik tug'diruvchi mikroorganizmlarga qarshi qo'llaniladigan antibiotiklarni izlab topishga jiddiy e'tibor qaratilmoqda. Bunday izlanishlar Yaponiyada keyingi 15 yil ichida ko'p miqdorda o'ndan ortiq preparatlar – blastitsidin, kasugamin, validamitsin, sellotsidin, tetranaktin ishlab chiqarish borasida keng ko'lamda olib borilmoqda.

O'simliklarning turli kasallik va zarakunandalariga qarshi dunyoning ko'plab mamlakatlari – Kanada, Niderlandiya, Avstraliya, Ruminiya, Polsha, Misr, Pokiston va Fillipinda



Yaponiyada ishlab chiqarilgan antibiotik va sintetik fungitsidlar tutuvchi kompleks preparatlar qo'llanilmoqda.

Hozirgi vaqtda pomidor va boshqa o'simliklarda so'lish, un shudring kabi kasalliklarga qarshi o'simliklarni himoya qilishda qo'llaniladigan preparatlar AQSH da ishlab chiqarilayotgan bo'lsa, Hindistonda aurefungin, Belgiyada nikomitsin ishlab chiqarilmoqda. Ularning ta'sir doirasi keng bo'lib bakterial va zamuburug'li kasalliklarga qarshi ishlatiladi.

Bunday antibiotiklardan biri - fitobakteriomitsin, u bakteriya va zamburug'larga qarshi keng spektrga ega. Uni *Actinomyces lavendulae* aktinomitsetidan ajratib olinadi. Fitobakteriomitsin asosida bir necha xil tovar ko'rinishidagi preparatlar ishlab chiqariladi: urug'larga ishlov berish uchun 2-5% li fitobakteriomitsin dusti, o'simliklarga sepish uchun fitolavin-100 ning 10% li eruvchan kukuni qo'llaniladi. Fitobakteriomitsinning 12% li dusti loviya bakterioziga, 5% lisi bug'doy va ildiz chirishiga qarshi qo'llaniladi. Urug'larga ekish oldidan ishlov berilganda loviya o'simligida bakterioz bilan kasallanish 70% ga kamayishi va hosildorlik 1,5-3 ga/s oshishi aniqlangan. Umuman, bu preparatlarni urug'larga ekish oldidan ishlov berishda 2-3kg/t miqdorda qo'llaniladi.

Olingan tadqiqot natijalarining ko'rsatishicha, fitobakteriomitsin g'o'za gommози, dukkakli ekinlarda fuzarioz so'lish, ndorida vertitsillyoz so'lish, qoraqatda antraknoz, bedada 'lanish kabi kasalliklarga qarshi kurashda yaxshi samara idi.

Preparatlarning samaradorligini aniqlash asosida uni sanoat sida ishlab chiqarish texnologiyasi yo'lga qo'yilgan. Yan-logik ishlanmalarni amaliyotga joriy etish ularni qo'llash rligini ortishiga sabab bo'lgan, bunday preparatlarni etishtiriladigan hosil tannarxining arzon bo'lishiga olib



Fitolavin -100 fitobakteriomitsinning faol moddasi hisoblanadi. Uni bug'doy va arpa urug'larida ildiz chirishi va soya o'simligida bakteriozni oldini olish uchun purkaladi.

Trixotetsin - keng spektrdagi ta'sir doirasiga ega antibiotik. Uni pushti rang trixotetsium (*Trichothecium roseum*) zamburug'idan ajratib olinadi. Bu netrotrof mikroorganizm giperparazit sifatida ko'plab fitopatogen zamburug'larda uchraydi. Trixotetsiumning zamburug'larda parazitlik qilishi uning tarkibida zamburug'larga qarshi trixotetsin antibiotigi ajralib chiqishi bilan bog'liq. Bu antibiotik zamburug' gifalarini nobud qiladi va pushti trixotetsium ularga joylashib olib, nobud bo'lgan hujayralardan oziq moddalarini shimib oladi.

Trixotetsin 10% li eruvchan kukun yoki 20% li dust sifatida ishlab chiqariladi. Uni ekish oldidan urug'larga ishlov berish, o'simliklarda ilk kasallik belgilari ko'rinishi bilan purkash orqali qo'llaniladi. Trixotetsin ochiq va himoyalangan er sharoitida etishtiriladigan bodringni un shudring, tamakining un shudring, uzumning oidium, danak mevali daraxtlarning monial kuyishi, olma parshasi kabilarda qo'llaniladi.

Mikroorganizmlarda antagonizm xususiyati ancha ilgari aniqlangan. Ularni 20 yillarda antibiotiklar kashf etulganga qadar fitopatogen mikrofloraga qarshi qo'llanilgan. Aktinomitsetlar va mikolitik bakteriyalar zig'ir, g'o'za, sabzavot ekinlari, danakli mevalarning kasalliklariga qarshi qo'llanilganda ijobiy samara bergan.

Antagonist mikroblardan tuproqni sog'lomlashtirish maqsadida ham foydalaniladi. Antibiotiklarning kashf etilgach so'ng mikroorganizmlarning o'zi emas, balki ular ajratib chiqaradigan moddalar qo'llanila boshlandi. Biroq hozirda ham ko'pchilik mamlakatlarda mikroblar preparatlari ishlab chiqarilmoqda. Ular o'simlik kasalliklariga qarshi nobud qiluvchi ta'sir ko'rsatadi. Shu yo'sinda ushbu sohada ikki xil yo'nalish antibiotiklar va mikroblar - antagonistlardan foydalanish tarmoqlari kelib chiqdi. O'simlik urug'laridagi infeksiyalar va o'simliklarning o'suv



davridagi kasalliklariga qarshi ishlov berish uchun antibiotik moddalaridan foydalanilsa, o'simlik qoldiqlari bilan birga saqlanib qolgan tuproq infeksiyalariga qarshi yoki tuproqni boyitish maqsadida kompost sifatida mikroob antagonistlarning o'zidan yoki toza kulturasidan foydalaniladi. Chunki antibiotiklarning o'zidan foydalanish samaradorligi past bo'lib, bu ularning tuproq mikroorganizmlari ishtirokida tez parchalanib ketishi bilan bog'liqdir. Antagonist sifatida bakteriyalar, viruslar, zamburug'lar qo'llanilishi mumkin.

Antagonist – zamburug'lar orasida trixoderma avlodi vakillari keng qo'llaniladi. Trixodermani mevali daraxtlar kuydirgisiga qarshi qo'llaniladi. Hozirda AQSH da trixodermani yeryong'oq sklerotiniyasiga qarshi tuproqqa berish maqsadida ishlab chiqarish usullari takomillashtirilmoqda. Fransiyada uzumning qo'ng'ir chirish kasalligiga qarshi trixoderma preparatlari bilan ishlov berish ijobiy natijalar bergan. Isroilda kartoshkaning rizoktonioz kasalligi va boshqa kasalliklariga qarshi preparat ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan.

Trixodermin preparati trixoderma zamburug'ini turli xildagi o'simlik chiqindilari va boshqa substratlar (non mag'zi, somon, g'alla chiqindilari, torf) da o'stirish asosida olinadi. U tuproqda uchraydigan turli xil qishloq ho'jalik ekinlarining kasalliklari - ildiz chirishi, zig'ir o'simligi kasalliklari, g'o'zaning vertitsillez so'lishi va boshqalarga qarshi qo'llaniladi. Yashil trixoderma (*Trichoderma viridae*) va u asosida ishlab chiqarilgan preparat tarkibida ikki xil antibiotik – gliotoksin va viridin bo'lib, ular antibakterial va zamburug'larga qarshi ta'sir xususiyatiga ega. Trixodermin chuqur davomli ekish usulida maxsus uskunada o'stirish yo'li bilan olinadi. Tadqiqot natijalarining ko'rsatishiga ko'ra, bug'doy urug'lariga ekish oldidan 4 kg/ga miqdorda ishlov berish o'simliklarning butun vegetatsiya davomida kasallanishini 54-71% ga kamaytirib, hosilni 2 ga/s ga oshiradi. Trixoderminni torf chiqindisi solingan tuvakchalarga 50 mg miqdorda 1 bodringni ildiz chirish bilan kasallanishini 60% ga



kamaytirib, hosilini 31-74% ga oshiradi. 1 gramm trixoderminni g'o'za o'simligida qo'llash samaradorligi +51,2% ga teng. Biotexnologiya va gen muhandisligi usullari o'simlik kasalliklariga qarshi mikroorganizmlarning odam va hayvonlarga zararsiz va yuqori samardor yangi shakllarini yaratishga imkon beradi.

**Topshiriq:** O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish quyidagi **B/B/B JADVALI ni to'ldiring**

| №  | Bilaman + - | Bilishni istayman+ - | Bilib oldim+ - |
|----|-------------|----------------------|----------------|
| 1. |             |                      |                |
| 2. |             |                      |                |
| 3. |             |                      |                |

#### Nazorat savollari:

1. Antibiotiklarning antogonistik xususiyati haqida tushunchalar bering?
2. Gen muhandisligi usullarini aytib bering?
3. Ajratib olingan to'qima haqida tushunchangiz?

#### 15-Amaliy mashg'ulot.

##### Sog'lom o'simliklarning meristemasidan foydalanish

**Asbob-uskunalar va materiallar.** O'simlik eksplantlari, binokulyar lupa, skalpellar, ajratish ninalari, pakk, ushlagichli qisqichlar va steril oziqa muhitli probirkalar.

**Mavzuni tushuntirish.** O'simliklarni klonal mikro-ko'paytirishda ishlatiladigan asosiy usul – bu o'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish bo'lib, u apikal



ustivorlikni olib tashlashga asoslangan. Bunga ikki yo'l bilan erishish mumkin:

➤ *poyani tepa meristemasini olib tashlash va keyin novdani In vitro sharoitida gormon saqlamagan muhitda mikro-qalamchalash;*

➤ *oziqa muhitiga sitokinin ta'siriga ega bo'lgan moddalar qo'shish (navdani o'sishini kuchaytirish).*

Odatda, sitokinin sifatida 6-benzilaminopurin (BAP), 6-furfurilaminopurin (kinetin), hamda 2-izopenteniladenin (2ip) va zeatin ishlatiladi.

Shunday yo'l bilan olingan navdalarni birlamchi ona eksplantidan ajratiladi va qaytadan yangi tayyorlangan oziqa muhitida o'stiriladi.

Hozirgi vaqtda bu usul qishloq xo'jalik o'simliklarini virus-siz ekuv materiallarini tayyorlashda keng qo'llaniladi. Shu yo'l bilan qand lavlagi, tamaki, topinambur, pomidor, kartoshka, bodring, qalampir, oshqovoq va boshqa o'simliklarni sog'lomlashtirilgan ko'chatlarini tayyorlash yo'lga qo'yilgan.

O'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni faollashtirish usulini ishlatilishi bir yilda har bir meristemasidan  $10^5$  dona o'simlik etishtirish imkonini beradi.

Izolyasiyalangan apikal meristemalar kulturasini, o'simliklarni mikroklonal ko'paytirish uchun ekiladigan virussiz materiallar olishda foydalaniladi. Virussiz material olish uslubi kasal o'simlikning o'sish nuqtasiga yo'nalishi bilan viruslarning miqdori kamayishiga asoslangan.

Odatda apikal meristema viruslardan umuman holidir. Xususan viruslardan holi apikal meristema faol bo'linuvchan, uzunligi 1 mm, eni 0,25 mm bo'lgan konus shaklidagi hujayralardan iboratdir.

Sosan meristemani jarohatlarsiz bo'laklarga ajratish qiyin bo'lganligi sababli, uni 1-2 barg primordiylar (o'lchami 100-250 µm) va apekslar bilan ajratib olinadi. O'simlikning faol sog'lomlashtirishini oshirish uchun yuqori meristemalar uslubi termotera-



peya va kimyoterapeya bilan birgalikda olib boriladi. Termoderapiya usuli kartoshka tuganaklariga viruslarni infaaktivatsiyaga uchratuvchi issiqlik bilan ishlov berishga asoslangan.

Yuqori meristemalar usulini kimyoterapeya bilan birgalikda olib borish oziqa muhitlariga viruslarni ingibirlovchi moddalar qo'shilishiga asoslangan. Apikal meristemalardan oziqa muhitda apikal virussiz o'simliklar olinadi va ko'paytiriladi.

**Ishning borishi.** Meristemalarni bo'laklarga ajratish ishlari bakteriotsid lampalar bilan sterillangan laminar bokslarda amalga oshiriladi. Ishni boshlashdan avval ish joylari, stol, binokulyar lupalar va probirkali shtativlar spirt bilan artib chiqiladi. Bo'laklarga ajratish uchun ishlatiladigan asboblari (pinsetlar, skalpel va ignalar) har bir ajratishdan so'ng sterillanadi, buning uchun asboblari spirtga solinib, spirtovka alangasiga tutiladi.

Nihollar meristemalarga ajratishdan oldin 3-5 daqiqa davomida 0,1% li diotsid eritmasida sterillanadi. Buning uchun nihollar kimyoviy stakanga solinib ustidan diotsid eritmasi quyiladi. Keyin uch marta steril suvda chayiladi. SHuningdek 1-6% li kalsiy yoki natriy gipoxlorid eritmasida yoki 0,1% li sulema eritmasida ham sterillash mumkin. Sterillangan nihollar Petri likobchasiga joylanadi va qurib qolmasligi uchun bir necha tomchi sterillangan suv solinadi. Niholni bo'laklarga ajratishdan oldin, bargni yuqori va yon meristemalarni asta-sekinlik bilan yalang'ochlagan holda uning uchidan yopqich barglari olib tashlanadi.

Bu ishni binokulyar mikroskop ostida ajratish ignasi yordamida bajarish mumkin. 100-250 mk kattalikdagi boshlang'ich bargsiz meristema ushlagichga qistirilgan oddiy ingichka nina bilan bo'laklarga bo'linadi. O'sish nuqtasining yon va yuqori meristemalari bo'laklarga ajratiladi. Har bir bargni yulishda alohida sterillangan asbobdan foydalanish kerak.

Ajratilgan meristema ninaning uchida probirkadagi oziqa muhit yuzasiga joylashtiriladi. Probirka og'zi paxta tiqini spirtovka alangasida sterillanib yopiladi va shtativga joylanadi.



Shtativ probirkalar bilan to'lgandan so'ng oziqa muhit qurib qolmasligi uchun selofan qalpoqcha bilan yopib qo'yiladi. Oziqa muhiti sifatida avvaldan tayyorlanib, avtoklavda 20 daqiqa 1 atm. bosimda sterillangan Murasige-Skuga oziqa muhiti ishlatiladi. Oradan 2, 3, 4 hafta o'tgandan so'ng meristemadan nihollarning rivojlanishi kuzatiladi va shu jarayon bosqichlari chizib olinadi.

**Topshiriq.** Guruh talabalarini 2 ta guruhga bo'lib "B/B/B" jadvalini to'ldiring.

| Bilaman | Bilishni hohlayman | Bilib oldim |
|---------|--------------------|-------------|
|         |                    |             |
|         |                    |             |
|         |                    |             |
|         |                    |             |
|         |                    |             |
|         |                    |             |
|         |                    |             |

### Nazorat savollari:

1. Izolyasiyalangan apikal meristemalar kulturasini nima?
2. Kultura ajratish jarayonida qaysi kimyoviy moddalardan foydalanish mumkin?
3. Oziqa muhiti haqida tushuncha bering?

### 16 – Amaliy mashg'ulot

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

**Asbob-uskunalar va materiallar.** O'simlik eksplantlari, kulyar lupa, skalpellar, ajratish ninalari, pakki, ushlagichli shlar va steril oziqa muhitli probirkalar.

**Avzuni tushuntirish.** Kallus hujayralari sun'iy oziqa larda faqat gormonlar ishtirokidagina bo'linishi mumkin. Ammo, ba'zi hollarda, ular uzoq vaqt o'sitirilganda ham



gormonsiz muhitlarda o'sish xususiyatini paydo qiladi ya'ni auksinlar va sitokininlarga nisbatan avtonom bo'lib qoladi. Bunday hujayralar «moslashgan» hujayralar deyiladi. «Moslashgan» hujayralardan hosil bo'lgan to'qimalar kimyoviy shishlar deb yuritiladi. «moslashgan» to'qimalar shish to'qimalar kabi normal regeneratsiyalanmaydi va faqat teratomlar hosil qiladi, kamdan kam hollardagina normal regenerantlarni paydo qiladi. Kallus to'qimalari to'rtinchi marta qayta ekilgandan so'ng regeneratsiyalanish qobiliyatini yo'qotadi. Qari kallus to'qimalari ham regeneratsiyalanmaydi. Hujayralar moslashuv sabablarining hali aniq javobi yo'q. Lekin ularning normal differentsiyalanishi va bo'linishida ishtirok etuvchi gormonlarning uzoq vaqt ta'sir etishi bilan bog'liq bo'lishi ham mumkin degan taxminlar bor.

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

O'simliklarning «moslashgan» va shish to'qimalarining umumiy xususiyatlari ularning gormonga nisbatan extiyojsizligi, ya'ni gormonsiz oziqa muhitlarda o'sish xususiyatiga ega ekanligidir. Bu ularning kallus to'qimalaridan asosiy farqidir. «Moslashgan» to'qimalar va shish to'qimalarida o'zining gormonlari sintezlanadi, shuning uchun ular o'sayotgan oziqa muhitga gormonlarni qo'shishning xojati yo'q. Tashqi ko'rinishidan bu to'qimalar kallus to'qimalaridan farq qilmaydi,



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

Shish to'qimalarda gormonlarning sintezi-o'simlik hujayra-bu jarayonga javobgar bo'lgan bakteriya genlarini kiritilishi og'liq.

gan asrning 40-yillarida F.Uaytning shogirdi, Braun galli shish to'qima kulturasi xatto agrobakteriya ishtirok



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

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

Shunday qilib, Ti-plazmida segmenti (T-DNK) xromosomaga integratsiyalanadi (ulanadi) va o'simlikning transformatsiyalangan (shish) hujayrasi irsiy apparatining bir qismi bo'lib xizmat qiladi. Agrobakteriyalarning Ti-plazmidalari T-DNKsining o'simliklar xromosomasiga integratsiyasi shish paydo bo'lishiga va shish hujayralarning sun'iy ozuqa muhitlarida gormonga nisbatan ehtiyojsiz ravishda o'sishiga olib keladi. Bu har ikki hodisa bir-biri bilan o'zaro uzviy bog'liq, chunki aynan auksin va sitokininlar sintezini nazorat qilib turuvchi genlarning ekspressiyasi natijasida gormonga ehtiyojsizlik kelib chiqadi va u hujayralarning dedifferensirovkasiga va proliferatsiyasiga olib keladi.



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

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

Shunday qilib, agrobakteriyalar tomonidan induksiyanuvchi «moslashgan» va shish to'qimalarning birinchi umumiy xususiyati, o'zining gormonini sintez qilish xususiyati bilan bog'liq bo'lgan gormonga nisbatan extiyajsizligidir.

Gall shishlaridagi bunday qobiliyat bakteriya hujayrasidagi na genlarni o'simlik hujayralariga kiritilishi natijasida bo'ladi. Kimyoviy (moslashgan) shish hujayralarida bu



xususiyat gormonlar sintezi uchun javobgar genlarni depressiyasi bilan aloqador bo'lishi mumkin deb taxmin qilinadi, ammo u mutatsiya bilan bog'liq bo'lishi ham mumkin.

Ikkinchi umumiy xususiyat, birinchisidan kelib chiqib, agrobakteriyalar tomonidan indutsirlangan «moslashgan» va shish hujayralarning fertil o'simliklarni regeneratsiya qilish qobiliyatining yo'qotilishidir. Gall shishlarini ko'pchilik xolatlarda sog'lom o'simlik regeneratsiya qila olmaydi.

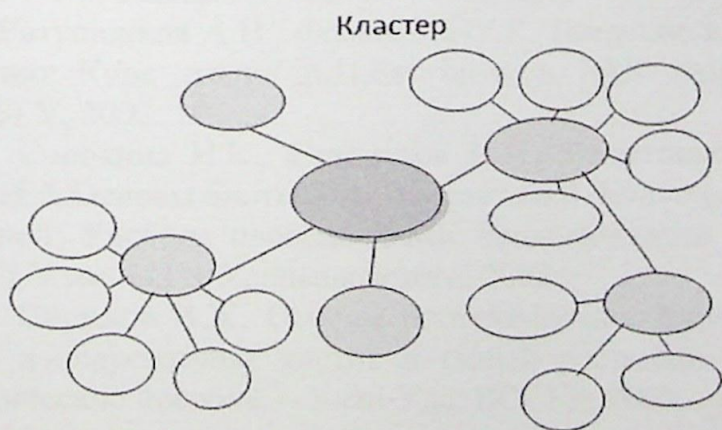
Ba'zida ular teratomlar (yaroqsiz, organsimon tuzilmalar) hosil qiladi va ular normal rivojlana olmaydi.

Odatda «moslashgan» to'qimalar ham normal o'simlikni regeneratsiya qila olmaydi, ularning hujayralari ikkilamchi differensiyalanish va morfogeneza bo'lgan qobiliyatlarini yo'qotadi.

Ammo ba'zida, oziqa muhiti tarkibini o'zgartirish orqali, «moslashgan» chegarasini orqaga surish mumkin.

Demak, uzoq vaqt passaj qilingan kulturalar to'qimalaridan ham regenerant o'simliklar olish imkoniyatlari ham yo'q emas.

**Topshiriq:** Mavzu asosida Gormonga bog'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalarining **Klaster**ini tuzing.





### **Nazorat savollari:**

1. To'qimalarni o'stirish uchun sun'iy oziqa muhitining tarkibi haqida tushuncha bering?
2. SHish to'qimalarning umumiy xususiyati qanday?
3. Ti-plazmida haqida tushuncha bering?



## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Артамонова Г.М., Герасимова С.И. и др. Лабораторно-практические занятия по сельскохозяйственной биотехнологии (Методические указания). Издательство МСХА, Москва – 1991

2. Artikova R., Murodova S.S., Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi, 2010, Toshkent, "Fan va texnologiya" nashriyoti, 252-bet.

3. Davranov Q.D. va boshq. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi, Toshkent, 2000 (uslubiy qo'llanma)

4. Davronov Q. Xujamshukurov N. Umumiy va texnik mikrobiologiya. Toshkent-2005 yil.

5. Davranov Q.D. Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. T.: 2008.

6. Davronov Q.D., Artikova R.M., T.YUusupov. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi (Amaliy-laboratoriya mashg'ulotlari). ToshDAU-2001, 63-bet.

7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. 5 изд. переруб и доп. М. Агропромиздат, 1985. – 351 с.

8. Шевелюра В.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник/ Под ред. Б.С. Шевелухи. - 3-е изд., переруб. и доп.— М.: Высш. шк., 2008.— 710с.: ил.

9. Евтушенков А.Н., Фомичев ЙУ.К. Введение в биотехнологию: Курс лекции:/ А.Н.Евтушенков, Ю.К. Фомичев. - Мн.: БГУ, 2002. 105 с.

10. Сорокина И.К., Старичков Н.И., Решетникова Т.Б., Грин Н.А. Основы биотехнологии растений. Культура клеток и тканей: Учебное пособие /УМК биологического факультета СГУ им. Н.Г.СХернышевского, 2002

11. Сиринов В.Ж. Основы биотехнологии: Культивирование изолированных клеток и тканей растений: Учебно-методическое пособие. – Улан-Уде: ВСГТУ, 2003. - с.



## GLOSSARIY

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Agar-agar     | ba'zi dengiz o'simliklaridan olinadigan mahsulot; uning eng muhim tarkibiy qismi uglevodlar qatoriga kiradi, u sovuq suvga solinganida bo'kadi, qaynoq suvda batamom eriydi, eritmasi soviganda ta'msiz va hidsiz, tiniq, iviq cho'kma hosil bo'ladi. Bu mahsulot mikroorganizmlarga qattiq oziqa muhiti tayyorlashda, qandolatchilikda shirinliklar tayyorlashda ishlatiladi. Turlari: o't (safro) suyuqligi va binafsha rang agar; jo'xori uni qaynatmasidagi agar; pivo atalasidagi agar; achitqi zamburug'li ekstraktli agar; suv peptonli agar; glitserinli agar; uzum shakarli agar; dezoksixolli agar; laktozali dezoksixolli agar; dekstrozali agar; jelatinali agar; safroli agar; kartoshka va qonli agar; kraxmalli agar; qonli agar; laktoza-lakmusli agar mannitli agar; sut-peptonli agar; siydikli agar; yumshoq agar-mikroblarni ikki qatlamli oziqa muhitida undirishga ishlatiladigan agarning ustki qatlami; go'sht-peptonli agar; oziqali agar; yarim suyuq agar; oddiy agar; baliq-jelatinali agar; shakarli agar; qo'rg'oshin-sirkali agar; qiyshaytirilgan agar; pivo atalali agar; zardobli agar; fenoltaleinli agar; fuksinli agar; tuxum oqsilidagi agar; tuxum sarig'idagi agar. |
| Agaroza       | dengiz suvo'tlaridan olinadigan polisaxarid; elektroforez va xromatografiyada gelli muhit sifatida foydalaniladi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Agregatsiya   | ayrim organizm yoki hujayralarning to'planishi, g'uj bo'lib qolishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Agrobiotsenoz | ekin ekiladigan erlarda yashaydigan organizmlar yig'indisi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| 'atsiya       | moslashish-organizmlarning evolyusiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| v kurtaklar   | o'simliklardagi kurtaklar, ular odatda paydo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |



|                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | qilmaydigan hujayra va to'qimalardan hosil bo'ladi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Adenillanish        | yo'li bilan fermentlar faolligi o'zgarishining bir turi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Adenin              | (aminopurin)-azotli organik birikma bo'lib, adenin nukleotidi tarkibiga kiradi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Azotobakterin       | ushbu turga kiradigan bakteriyalardan tashkil topgan bakterial o'g'it.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Azotobakter         | erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakteriyalar turi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Akropetal transport | o'simlikda moddalarning poya apikal meristemi yo'nalishi bo'yicha tashilishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Amplifikatsiya      | xromosoma DNK ketma-ketligining qo'shimcha nusxasini hosil bo'lishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Anaeroblar          | kislorodsiz muhitda modda almashinishi va ko'payishini davom ettira oladigan mikroorganizmlar; faqat anaerob sharoitda o'sadigan mikroorganizmlar; fakultativ anaeroblar kislorodli yoki kislorodsiz sharoitda o'sa oladigan mikroorganizmlar.                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Androgenez          | mikrospora yoki chang donachalaridan somatik embriogenez yoki kallus hosil qilish orqali o'simlik yoki uning organlarining hosil bo'lish jarayoni.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Antagonist          | raqib-mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Antibiotiklar       | mikroorganizmlar hayot faoliyati davomida hosil bo'ladigan kimyoviy moddalar; juda oz miqdori ham boshqa mikroorganizmlarga zaharli ta'sir etadi. Antibiotiklar soni hozirda 2000 dan ortib ketgan bo'lib, ularning sintezlanishida zamburug'lar (aspergillar), sho'lasimon zamburug'lar va boshqa mikroorganizmlar xizmat qiladi; antibiotiklar ishlab chiqarishning Penicillium, Cephalosporium va Streptomyces avlodlariga mansub turlarida ishlab chiqariladigan penitsillinlar-asosiy tijorat antibiotiklar |



|                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | hisoblanadi;                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Antigenlar              | immun tizimda antitelalar hosil bo'lishini indutsirolovchi, antitela paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi spetsifik hamkorlik qiluvchi oqsillar.                                                                                                                                                                                                               |
| Antitela                | immun tizim tomonida yoki patogen agentlar; oqsillarni (antigenlar) yo'qotuvchi ta'sirga ega oqsillar.                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Apikal dominantlik      | apikal meristemadagi gormonlar yordamida yon navdalarning yuqori meristemi kurtaklari o'sishini to'xtatishi.                                                                                                                                                                                                                                              |
| Attragirlash xususiyati | stimulyator fitogarmonlarning oziqa moddalarni o'suvchi organga katta miqdorda tashilishini faollash xususiyati.                                                                                                                                                                                                                                          |
| Auksotrof mutantlar     | jinsiy bo'lmagan xromosomalar to'plami (1, 2, 3, va hokazo sonlar bilan belgilanadi).                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Bazal                   | asosiy, asosga tegishli; asosida yoki uning tagida joylashgan-bazal tanachalar-eukariotik jonivorlar (oddiy jonivorlar, suvo'tlar) xivchinlarini sitoplazmaning tashqi qavatiga yopishib turishiga yordam beradigan tuzilma.                                                                                                                              |
| Bazipetal transport     | o'simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasiga transporti.                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Bakteriofaglar          | bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Binar                   | ikki qismdan iborat; binarli nomenklatura-mikroorganizmlarda avlod va tur nomi bilan atalishi; binarli bo'linish-hujayralarning ko'payish vaqtida ikkiga bo'linishi.                                                                                                                                                                                      |
| Biogenez                | tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo'lishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Biomassa                | mikroorganizmlarni o'stirilganida hujayralari massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko'rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho'l biomassaning 15-30% ini tashkil etadi; ho'l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho'ktirish natijasida suyuq oziqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi. |
| aktor                   | biologik reaksiyalarni amalga oshirishga                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |



|                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                | mo'ljallangan sig'im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o'stirish uchun zarur bo'lgan sig'implarda hamda hujayra va fermentlarni to'plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Biosintez      | fermentlar ta'sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo'lishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Biotexnologiya | tirik organizmlar yoki biologik qonuniyat va xususiyatlarning sanoat miqyosida ishlatilishi haqidagi fan yo'nalishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Vektor         | genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar-kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun'iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi; o'rni olish vektori-klonlashtiruvchi vektor; o'simliklarda klonlash vektori-o'simlik hujayrasiga begona DNKni o'tkazish va joylashtirish bilan shug'ullanadigan gen muhandisligida ishlatiladigan vektor; plazmida vektori-begona, yot DNKdagi gen yoki bir necha genlarni bu xildagi genlari bo'lmagan organizmga o'tkazib qo'yishda qatnashadigan plazmida. |
| Viruslar       | birorta tirik organizmda rivojlanish qobiliyatiga ega bo'lgan, tarkibida nuklein kislotalar, oqsillar, ayrimhollarda lipidlar bo'lgan zarrachalar. Viruslar zarrachalardan tashkil topgan bo'lib, ular nuklein kislotalar va oqsillar po'stloqli holda bo'ladi. Viruslar 1892 yilda D. I. Ivanovskiy tomonidan ochilgan bo'lib, 1889 yilda "virus" atamasi M. Beyerink tomonidan taklif etilgan. Virus hamma tirik organizmlarda kasallik qo'zg'atadi va hamma erda tarqalgan.                                                                                                            |
| Gaploid        | bir organizm turiga hos bo'lgan butun to'planning yarmi, xromosomalar to'plamining bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra, organizm.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Gen            | genetik axborotlarning yagona strukturasi muayyan regulyator funksiya, bir yoki bir nechta                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |



|                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                        | polipeptid zanjirlar, yoki RNK molekulasini strukturasi kodirlovchi xromosoma qismi (DNK molekulasini).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Gen muhandisligi                                       | usullar va texnologiyalar; rekombinant ribonuklein va dezoksiribonukleinkislotalar olish texnologiyasi, organizmlardan genlarni ajratish, ular bilan turli manipulyasiyalar o'tkazish va ularni boshqa organizmlarga kiritish texnologiyalari.                                                                                                                                                                                    |
| Genetik kod (GK)                                       | nuklein kislotalar izchilligi ko'rinishidagi nuklein kislotalari molekularida nasliy axborotning yozma tizimi. GK birligi bo'lib kodon yoki triplet xizmat qiladi. GK sintezlanayotgan polipeptid zanjiriga aminokislotalarning birikish tartibini aniqlaydi.<br>Nuklein kislotalari molekularida ketma-ketlik ko'rinishida "yozilgan" irsiy axborotning tirik organizmlarga hos yagona tizimi. Genetik kodning birligi kodondir. |
| Genetik modifikatsiyalangan transgen organizmlar (GMO) | gen – muhandisligi usullari yordamida genomiga begona genlarni kiritilishi orqali irsiyati o'zgargan o'simlik, hayvon, mikroorganizm va viruslar.                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Genetik havf                                           | insonlar hayoti va sog'ligi, atrof-muhit uchun havfli bo'lgan kutilmagan irsiy o'zgarishlarning genomda paydo bo'lishi va organizmlar sifatining o'zgarishi.                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Genlar bibliotekasi                                    | butun genomni tutuvchi klonlangan DNK fragmentlari to'plami.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Genlar ekspressiyasi                                   | genda ribonuklein kislota, oqsil va fenotipik xususiyatlar shaklida yozilgan genetik axborotlarning yuzaga chiqishi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Genom                                                  | mazkur organizm protoplazmasi organellalarida joylashgan xromosomalardan tashqari genlarini tutuvchi genlar yig'indisi. Diploid holatdagi turlar gametasida bittadan, somatik hujayralarda esa ikkitadan genom bo'ladi.                                                                                                                                                                                                           |
| terapiya                                               | retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |



|                           |                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           | biologik ob'ekt to'qimalarida genetik sog'lom somatik hujayralarni olish yordamida nasliy kasalliklarini davolash.                                                                                                           |
| Genotip                   | asos genlarining to'plami. Irsiy asos-organizmlarning genetik (irsiy) konstitutsiyasining va uning barcha genlarining majmui.                                                                                                |
| Genofond                  | organizm turlari yoki populyasiyasidagi har xil genlar turlarining soni va tarixi.                                                                                                                                           |
| Geterozis                 | bir-biridan qator xususiyatlar va belgilari bilan farqlanuvchi boshlang'ich shakllarni chatishtirish natijasida paydo bo'lgan birinchi avlod duragaylarining yashash qobiliyatining oshishi.                                 |
| Gibrid                    | duragay-genetik jihatdan har xil bo'lgan turlarni chatishtirish natijasida hosil bo'lgan geterozigota jinsi. Ota-ona irsiy belgilarini o'zida mujassamlashtirgan organizm.                                                   |
| Ginogenez                 | murtak xaltasi hujayralaridan o'simlik paydo bo'lish jarayoni.                                                                                                                                                               |
| Giflar                    | ipchalar-zamburug' tanasini tashkil etuvchi bir yoki bir necha hujayradan hosil bo'lgan, mikroskopda arang ko'rish mumkin bo'lgan iplar.                                                                                     |
| Gormon retseptor kompleks | gormon va oqsil retseptorining birikishi, gormon ta'siri amalga oshirishining birinchi bosqichi.                                                                                                                             |
| Gormon statusi            | ontogenezda o'simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati, endogen va ekzogen ta'sirlarga nisbatan hosil bo'lish jarayonlarida gormonlar miqdori va ular orasidagi nisbati, harakati, foydalanilish va inaktivatsiyasi. |
| Destruksiya               | moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.                                                                                                                                                           |
| Didifferensiya            | ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanish.                                                                                                             |
| Diploid                   | mazkur turga hos sonlarni ko'rsatuvchi gomologik xromosomalarning ikkita to'plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra va organizm.                                                                                         |



|                          |                                                                                                                                                                                                           |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Diploidlash              | xromosoma to'plamini ikki marta ko'paytiruvchi model. Xromosomalarning diploid to'plami (avtodigaploid) ota yoki ona xromosomalari tutuvchi ikkita gaploid xromosomalar to'plami.                         |
| Differensiyalash         | asosiy va yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida, shuningdek yangi hosil bo'lgan hujayralar orasida farq yuzaga keltiruvchi jarayonlar kompleksi.                                                         |
| DNK                      | dezoksiribonuklein kislotalar molekulasini, nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, timin), dezoksiriboza va fosfor kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.                                                  |
| DNK bo'shlig'i           | DNK zanjirida bitta yoki bir nechta nukleotidlarning etishmasligi.                                                                                                                                        |
| DNK dupleksidagi uzilish | ikki zanjirli DNKning zanjirlarining bittasida yonma-yon ikkita nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'ining yo'qligi.                                                                                    |
| DNK replikatsiyasi       | fermentlar to'plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekularini ikkilanishi (ikki marta ko'payishi).                                             |
| Yopiq tizim              | tashqi muhit bilan faqat energiya orqali almashinuvchi tizim.                                                                                                                                             |
| Yopishqoq uchlar         | komplementlar holdagi DNK molekulasining bitta ipli uchi bo'lib, endonukleazalar yordamida kesib olinadi.                                                                                                 |
| Jinsiy jarayon           | erkak (spermiya) va urg'ochi (tuxum hujayra) jinsiy hujayralarining qo'shilish, natijada diploid hujayra (zigota) hosil bo'ladi va asosning jinsi belgilanadi.                                            |
| Jinsiy xromosomalar      | asosning jinsini belgilovchi xromosomalar (X, Y, W, Z va boshqa harflar bilan belgilanadi).                                                                                                               |
| Zatravka                 | DNKning bitta zanjiri bilan komplementar hamkorlik qiluvchi qisqa izchillik (ko'pincha RNK); erkin 3' - OH - uch hosil qilib, u asosida DNK-polimeraza dezoksiribonukleotid zanjir sintez qila boshlaydi. |
| Identifikatsiya          | aynan o'xshatish, tenglashtirish-moddayoki mikroorganizmlar turi va xillarini aniqlashga                                                                                                                  |



|                                      |                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                      | qaratilgan tadqiqotlar turi.                                                                                                                                                                                   |
| Immobilizatsiya (to'plash)           | membranalarda hujayra, fermentlarni to'plashda foydalaniladigan fizik va kimyoviy jarayon.                                                                                                                     |
| Invertirlangan takroriy izchilliklar | bir molekula tarkibidagi bir-biriga qarama –qarshi tomonlarda joylashgan bir xil izchillikning ikkita nusxasi. Bir-birlariga yonma-yon joylashgan invertirlangan takroriy izchilliklar palindrom hosil qiladi. |
| Ingibitor                            | to'xtatuvchi-fermentlar, faolligini to'xtatuvchi tabiiy yoki sintetik modda (sun'iy olingan).                                                                                                                  |
| Induktor                             | repressor bilan qo'shib, uni operator bilan qo'shilish xususiyatini yo'qotadigan, nofaol holatga o'tkazadigan past molekullar modda.                                                                           |
| Induksiya                            | ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.                                                                                                          |
| Initsiatsiya                         | molekulyar biologiyadagi translyasiya jarayonining birinchi bosqichi.                                                                                                                                          |
| Inkubatsiya                          | o'stirish-ma'lum sharoitda, haroratda mikroblarni ushlab turish, o'stirish.                                                                                                                                    |
| Inokulyat                            | ko'paytirish usuli-tirik organizmlar, masalan, mikroorganizmlar suspenziyasi oziqa muhitga o'tkazilgandan keyin yangi avlod beradi.                                                                            |
| Intron                               | genning transkripsiyalanayotgan "sukunat saqlovchi" protsessing jarayonida RNK molekulalari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.                                                            |
| Issiqlik shoki oqsillari (ISHO)      | haroratning normadan oshishiga organizm tomonidan hosil bo'ladigan oqsillar.                                                                                                                                   |
| Klon                                 | bitta hujayra yoki molekuladan olingan hujayra va molekulalar yig'indisi.                                                                                                                                      |
| Klonlash                             | populyasiyalarning organlari bilan genetik bir xil hujayralar olish.                                                                                                                                           |
| Klonli mikroko'paytirish             | <i>in vitro</i> jinssiz usul yordamida boshlang'ich o'simlik bilan genetik bir xil o'simliklar.                                                                                                                |
| Kodon                                | muayyan aminokislotalar yoki komplementar terminatsiyalovchi signalni kodirlovchi nukleotidlar tripleti.                                                                                                       |
| Kompetensiya                         | hujayra, to'qima, organ va organizmning                                                                                                                                                                        |



|                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       | indutsirlovchi ta'sirlarni qabul qilishi va unga rivojlanishini o'zgartirish orqali spetsifik ta'sirlanish.                                                                                                                                                                                                               |
| Komplementar zanjir   | RNK va unga hamkorlik uchun mos keladigan nukleotidlarni sintezlan uchun foydalaniladigan DNK zanjirlaridan biri.                                                                                                                                                                                                         |
| Ligaza-DNK            | zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefirbog' hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.                                                                                                                                                                                                                                |
| Ligirlash             | DNKning bir zanjirdagi uzilish orqali ajralgan asoslar orasidagi fosfodiefir bog'larining hosil bo'lishi. Bu ibora to'g'ri uchlarni birlashtirish hollarida va RNK bog'lar hosil bo'lishida ham qo'llaniladi.                                                                                                             |
| Lizis                 | erib ketish, parchalanish-fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta'sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofaglarining ko'payishi natijasida uning erib ketishi.                                                                                                                                 |
| Marker (DNK)          | elektroforez gelida fragmentlar o'lchamini aniqlashda foydalaniladigan ma'lum o'lchamdagi DNK fragmenti.                                                                                                                                                                                                                  |
| Marker gen            | joylashgan joyi aniqlangan va aniq fenotipik ko'rinishga ega gen.                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Matritsa              | 1) ma'lum bir tana (shakl) bo'lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo'lishi; 2) (molekulali biologiyada) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalardagi azot asoslarining ketligi.                                                                       |
| Mahsuldorlik jarayoni | moddalar hosil bo'lishi va metabolizmning o'simlikda bir vaqtda kechayotgan fiziologik, biokimyoviy, biofizik va boshqa jarayonlarning yig'indisi, donor-akseptor munosabatlar va genetik nazorat asosida o'simliklarning ho'jalik ahamiyati qimmatli organlarining shakllanishi, ikkilamchi almashinishni ta'minlanishi. |
| Meyoz                 | xromosomalar sonini reduksiyasiga va genlar rekombinatsiyasiga olib keluvchi jinsiy hujayralarning bo'linish jarayoni.                                                                                                                                                                                                    |



|                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Meristema                  | faol bo'linayotgan differensiyalanmagan hujayralardan iborat to'qimalar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Metabolizm                 | oralik almashinish, ya'ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtidan oxirgi mahsulotlar hosil bo'lgunga qadar aylanishi; katabolizm va anabolizm jarayoni yig'indisi; qorong'ulikda kechadigan metabolizm-mikroorganizmlarning (qirmizi bakteriyalar <i>Rhodospirillum</i> ) qorong'ida aerob holda o'sish xususiyati. Bu xususiyat bakteriyalarda nafas olish zanjirining kerakli qismlari borligidan dalolat beradi. |
| Metabolitlar               | metabolizm jarayonida hosil bo'ladigan moddalar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Mikoriza                   | yuksak o'simliklar ildizi bilan zamburug' ipchalarining birga yashashi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Mikroorganizmlar uyushmasi | har doim birga uchraydigan va bir-biri bilan bog'liq holda yashaydigan mikroorganizmlar birlashmasi.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Mikroflora                 | har xil turdagi mikroorganizmlarning ma'lum yashash muhitidagi to'plami; avtohton mikroflorasi; suv mikroflorasi; havo mikroflorasi; balchiq mikroflorasi; odatdagi mikroflora; organizm mikroflorasi; qo'shimcha mikroflora; tuproq mikroflorasi; rizosfera mikroflorasi.                                                                                                                                               |
| Mitoz                      | eukariot somatik hujayralarning bo'linish jarayoni.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Mitselliy                  | zamburug' tana-zamburug', jumladan sho'lasimon zamburug'larning o'sadigan tanasi bo'lib, bir va ko'p hujayrali ipchalar (gif)dan iborat.                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Modifikatsiya              | mikroorganizmlarning fenotipik o'zgarishi, ya'ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo'lmagan o'zgarishlar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Morfogenez                 | organ (organogenez), to'qima (gistogenez) va hujayralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyalanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.                                                                                                                                                                                                                |



|                       |                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mutagenез             | mutagenез o'zgarishning (mutagenезning) ro'y berishi-organizmda irsiy o'zgarishlar-mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqllovchi va naslga o'tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasiining o'zgarishi yotadi. |
| Mutagenlar            | DNK molekulasiida mutatsiyalarning paydo bo'lish chastotalarini oshiruvchi omil. Irsiyatni o'zgartiruvchilar-mutatsiyalar hosil qiluvchi fizikaviy va kimyoviy omillar;                                                                                |
| Mutatsiya             | gen, xromosomadagi nukleotid izchillik, genomning birorta belgining o'zgarishiga va ularning avlodlarda saqlanishiga olib keluvchi spontan va indutsirlangan o'zgarishi.                                                                               |
| Nishon - hujayra      | u yoki bu fitogarmon retseptorini tutuvchi va fitogarmonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.                                                                                                                         |
| Nozern-blot-RNK       | bo'lakchalarini gellardan elyuitsiya qilishda ishlatiladi.                                                                                                                                                                                             |
| Nuklein kislotalar    | turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekulyar tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi: RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.                        |
| Operon                | genetik regulyator strukturaning birligi, tarkibida bitta yoki bir nechta o'zaro birikkan struktura, operon va regulyator qismlar genlarini tutadi.                                                                                                    |
| Organogenez           | uyushmasdan o'sayotgan kallus hujayralarida organlar (ildiz, boshlang'ich barglar va nihollar) hosil bo'lish jarayoni.                                                                                                                                 |
| Ochiq tizim           | tashqi muhit bilan energiya va moddalar bilan almashinadigan tizim.                                                                                                                                                                                    |
| Partenogenez          | asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.                                                                                                                                                                                           |
| avtonom replikasiyada | avtonom replikasiyalanishga qodir, tarkibida retsipientlarning begona genlarini va boshqa DNK izchilligini tutish va genomga kiritish xususiyatiga ega, ikki zanjirli halqasimon DNK                                                                   |



|                 |                                                                                                                                                                                            |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                 | plazmid vektori asosi.                                                                                                                                                                     |
| Poliadenillash  | poliadenil kislota izchilligining eukariot RNK 3-uchiga uning sintezi tugaganidan so'ng birikishi.                                                                                         |
| Poliploidiya    | organizm gaploid xromosomalar yig'indisining karrali ortishi bilan bog'liq bo'lgan irsiy o'zgaruvchanlik.                                                                                  |
| Proliferatsiya  | hujayra va to'qimalarning ko'payish yo'li bilan hosil bo'lishi.                                                                                                                            |
| Promotor        | genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.                                                                                                                                  |
| Pronukleus      | urug'langan tuxum hujayra yadrosi.                                                                                                                                                         |
| Proton pumpasi  | maxsus oqsillar yordamida protonlarning hujayra membranasi orqali o'tish jarayoni.                                                                                                         |
| Protoplast      | mexanik yo'l bilan yoki fermentlar yordamida hujayralar qobig'idan mahrum qilingan, membrana yordamida shaklini ushlab turuvchi o'simlik hujayrasi.                                        |
| Profag          | bakteriya xromosomasiga o'rnatilgan fag genomi. Lizogen bakteriyalardan yashiringan, yuqmaydigan shakldagi mo'tadil bakteriofag.                                                           |
| Protsessing     | etilish jarayoni bo'lib, unda birlamchi RNK-transkript modifikatsiyasi uchraydi va etilgan RNKga aylanadi.                                                                                 |
| Regeneratsiya   | hujayralar tiklanishi.                                                                                                                                                                     |
| Rekombinant gen | turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.                                                                                                                                           |
| Rekombinant DNK | turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.                                                                                                                                      |
| Rekombinatsiya  | krossingover natijasida ota-onalar genlarining qayta guruhlanishi (tabaqlanishi).                                                                                                          |
| Reparatsiya     | DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK molekulasi uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulalarni tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi. |
| Repressiya      | gen ekspressiyasini va yoxud o'shanga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.                                                                                                    |
| Repressor       | ma'lum operonda RNK sintezini to'xtatadigan boshqaruvchi oqsil.                                                                                                                            |



|                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Restriktazalar                 | kesuvchi fermentlar, restriksiya fermentlari, DNKni ma'lum bir nukleotidlar qatorida kesadigan fermentlar. Gen muhandisligida qo'llaniladigan vosita.                                                                                                                                   |
| Rivojlanish determinatsiyasi   | boshqa yo'nalishlardagi rivojlanish imkoniyatining cheklash bilan bir vaqtda boradigan organizm, organ, to'qima va hujayraning muayyan yo'l bilan rivojlanishga tayyorgarlik holati. Determinatsiya davrida rivojlanishning yangi yo'nalishi uchun ichki zaruriy sharoitlar yaratiladi. |
| Rivojlanishning yuvenil fazasi | urug' yoki vegetativ kurtakdan vegetativ organlarning reproduktiv organlar hosil qilish qobiliyatini namoyon bo'lishiga qadar o'sishi va rivojlanishi.                                                                                                                                  |
| Rizosfera                      | ildiz atrofidagi tuproqning mikroflorasi-mikroorganizmlarning ko'pligi bilan farqlanadigan 2-3 mm qalinlikdagi ildiz atrofida joylashgan tuproq qatlami.                                                                                                                                |
| RNK                            | tarkibiga nukleotidlar (adenin, guanin, sitozin, uratsil), riboza va fosfor kislotasi qoldiqlari kiruvchi ribonuklein kislot molekulasini.                                                                                                                                              |
| RNK blottingi                  | RNKni agarozali geldan nitrotsellyulda filtriga komplementar DNK bilan duragaylash uchun olinishi.                                                                                                                                                                                      |
| Sayt                           | o'rin, joylanish-genlar xaritasidagi nuqtali mutatsiya o'ri.                                                                                                                                                                                                                            |
| Sauzern bo'yicha DNK blottingi | denaturlangan DNKni komplementar nukleotid ketma-ketlik bilan duragaylash uchun agarozali geldan nitrotsellyulda filtrga olinishi.                                                                                                                                                      |
| Segment                        | karj, bo'lak.                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Sekvenirlash                   | ketma-ketlikni aniqlash, sekvenirlash-oqsildagi aminokislota qoldig'ini va nuklein kislotalardagi nukleotidlarning ketma-ketligini aniqlash.                                                                                                                                            |
| Seleksiya                      | tanlash-hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning yangi zotlari, navlari va shtammlarini yaratish usuli.                                                                                                                                                                                 |
| Sinergizm                      | moddalar, jarayonlar va boshqa omillarning                                                                                                                                                                                                                                              |



|                        |                                                                                                                                                                                                                                                          |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                        | hamkorlikdagi ta'sirini oshiruvchi samara.                                                                                                                                                                                                               |
| Skrining               | bitta hujayradan klon olish yo'li bilan mikroorganizmlarning aralash populyasiyasidan keragini ajratish.                                                                                                                                                 |
| Somaklonal variabellik | kulturalangan somatik hujayralardan regeneratsiyalangan o'simliklardagi xususiyatlarning o'zgarib turishi.                                                                                                                                               |
| Somaklonlar            | boshlang'ich shakllaridan muayyan farqlar bilan farqlanuvchi somatik hujayralardan olingan regerant o'simliklar.                                                                                                                                         |
| Somatik duragay        | somatik hujayralar qo'shilishi (duragaylanishi) orqali olingan regerant o'simlik.                                                                                                                                                                        |
| Somatik duragaylash    | jinsiy jarayondan tashqarida yadro va organellalar genlari va xromasomalarni genetik rekombinatsiyaga chaqirish jarayoni.                                                                                                                                |
| Somatik embriogenez    | hujayra va to'qimalar kulturasida murtaksimon strukturalar (embrioidlar) hosil bo'lish jarayoni.                                                                                                                                                         |
| Stimulyatorlar         | o'simliklarning o'sishini kuchaytiruvchi omil - o'simliklarning o'sishini, hujayralarning bo'linishini tezlashtiradigan, kuchaytiruvchi moddalar. Ular tabiiy yoki sintetik holda bo'lishi mumkin. Tabiiylari tauksinlar, gibberelinlar va sitokininlar. |
| Stress oqsillar        | noqulay sharoitlarda organizm tomonidan sintezlanuvchi va stress omillarning organizmga zarali ta'sirini kamaytirish imkonini beruvchi maxsus oqsillar.                                                                                                  |
| Subbirlik              | oqsil molekulalarini tashkil etuvchi (to'rtlamchi strukturasi) oqsil globulalari.                                                                                                                                                                        |
| Subkulturalash         | transplantlarni (inokulumlarni) boshqa kultural idishga yangi oziqa muhitiga o'tkazish.                                                                                                                                                                  |
| Substrat               | oziqa muhit-mikroorganizmlarning o'sishi uchun kerak bo'lgan oziqa muhiti.                                                                                                                                                                               |
| Termodinamik tizim     | energiyani yutish, qayta hosil qilish, to'plash va foydalanish xususiyatiga ega o'zaro bog'liq elementlar kompleksi.                                                                                                                                     |
| Totipotentlik          | muayyan o'stirish sharoitida o'simliklar somatik hujayralarining o'zining ontogonik rivojlanishi                                                                                                                                                         |



|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                             | irsiy dasturini to'liq amalga oshirish.                                                                                                                                                                                                                             |
| Transgenoz                  | turli vektorlar yordamida donor, begona genlarni retsipient o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayrasiga kiritish jarayoni. Transduksiyaga moyil faglar yordamida genetik axborotni bakteriya hujayrasidan eukariotlar hujayrasiga sun'iy yo'l bilan o'tkazish. |
| Transduksiya                | bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor hujayradan retsipient hujayraga olib o'tish.                                                                                                                                                                      |
| Transkripsiya               | RNK polimeraza fermenti yordamida DNK matritsasida RNK-nusxasining hosil bo'lishi.                                                                                                                                                                                  |
| Translyasiya                | axborot, transport RNKsi va boshqa omillar ishtirokida ribosomalarda oqsillar sintezi.                                                                                                                                                                              |
| Transplant (inokulyum)      | kallus (supenziyali) kulturasining boshqa yangi oziq muhitiga ko'chirib o'tkazishda foydalaniladigan qismi.                                                                                                                                                         |
| Transpozonlar               | DNKning bir bo'lagi bo'lib, molekula ichida bir joydan ikkinchi joyga va bir molekuladan ikkinchisiga o'tishga qodir.                                                                                                                                               |
| Transformatsiya             | alohida ajratilgan DNK yordamida hujayraga genetik axborotni kiritish. Transformatsiya yordamida olingan hujayrada va undan keyingi avlodlarda yangi belgilar DNK yordamida olingan manbadagiga o'xshagan bo'ladi.                                                  |
| Uratsil                     | RNK tarkibiga kiradigan pirimidin asosi.                                                                                                                                                                                                                            |
| O'simliklarni gormon tizimi | fitogormonlar, ularning retseptorlari va ikkilamchi vositachilaridan iborat reguliyator kompleks.                                                                                                                                                                   |
| Faglar                      | mikroorganizmlar ichiga kirib, unda ko'payib, keyin ularni eritib yuboruvchi viruslar.                                                                                                                                                                              |
| Faollashtirish              | 1) faollikni qo'zg'atish va kuchaytirish; 2) molekulalar faolligini qo'zg'atib kimyoviy reaksiyaga kirishni tezlatish.                                                                                                                                              |
| Fenotip                     | organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig'indisi.                                                                                                                                                                       |
| Fermenter                   | ayrim xomashyolarni mikroorganizmlar yordamida bijg'itish uchun ishlatiladigan hamma tomoni berk asbob.                                                                                                                                                             |
| ar                          | biologik tezlatkichlar, enzimlar-oqsilning o'ziga                                                                                                                                                                                                                   |



|                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                 | hos turi; tirik hujayralarda ham tezlatkich rolini bajaradi.                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Fitoaleksinlar                                  | o'simliklarning kasalliklarga qarshi chidamlilik tizimining patogenlar rivojlanishini pasaytiruvchi genotipik va real komponentlari.                                                                                                                                                                                                   |
| Fitogormonlar biosintezi yo'llarining ajralishi | tashqi sharoit kompleksi bilan aniqlangan bir necha fitogarmonlar uchun asos bo'lgan oraliqdan u yoki bu fitogarmonning bir necha fitogarmonlarning fermentativ biosintezi yo'li.                                                                                                                                                      |
| Fitoregulyatorlar                               | o'simliklarning o'sishi va rivojlanishiga ta'sir etuvchi, o'g'itlar va gerbitsidlar ta'siriga ega bo'lmagan tabiiy va sun'iy preparatlar.                                                                                                                                                                                              |
| Fosforobakterin                                 | fosfor organik birikmalarni parchalash xususiyatiga ega bo'lgan bakteriyalardan tashkil topgan bakteriyali o'g'it.                                                                                                                                                                                                                     |
| Fotosintez                                      | yorug'lik energiyasi ishtirokida o'simliklar, suvo'tlari va ayrim bakteriyalar hujayralarida $SO_2$ dan organik moddalar hosil bo'lish jarayoni.                                                                                                                                                                                       |
| Fragmentlar                                     | parchalar, qismlar.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| Xemosintez                                      | ayrim mikroorganizmlarga hos bo'lgan oziqlanish turi. Ular ayrim anorganik moddalar (masalan, vodorod sulfat)ni oksidlanish natijasida hosil bo'lib, energiya hisobiga anorganik moddalardan (masalan, ko'mir kislotasi va suv) organik moddalar hosil bo'ladi.                                                                        |
| Xromosomalar                                    | DNK va oqsillardan iborat hujayra yadrosini genetik struktura hosilasi. Xromosomalarda organizmning irsiy axboroti berilgan.                                                                                                                                                                                                           |
| Hujayralar seleksiyasi                          | selektiv sharoitlar yordamida genetik modifikatsiyalangan mutant hujayralar va somoklonal variantlar ajratish usuli.                                                                                                                                                                                                                   |
| Sentrifuga                                      | ajratkich, cho'ktirgich-markazdan qochish kuchiga asoslangan turli xil aralashmalarni qismlarga ajratuvchi asbob; analitik (laboratoriya) ajratkich; tebranuvchi ajratkich; gorizontal ajratkich; bug'lantiruvchi ajratkich; cho'ktiruvchi ajratkich; tindiruvchi ajratkich; preparativ ajratkich; o'z-o'zini bo'shatadigan ajratkich; |



|                  |                                                                                                                                                                               |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                  | suzish yo'li bilan ishlaydigan ajratkich; ko'p bo'limli ajratkich; o'ta tez aylanadigan ajratkich; tabaqalashtiruvchi, tafovutli ajratkich.                                   |
| Sitozin          | DNK va RNK tarkibida bo'lgan pirimidin asosi.                                                                                                                                 |
| Eksplant         | oziqa muhitida inkubatsiya qilinayotgan to'qima yoki organ, yoki kallus to'qimasi olish uchun foydalaniladigan fragmentlar.                                                   |
| Elektroporatsiya | hujayra membranasida qo'shimcha teshiklarni hosil qilishga yordam beruvchi elektr toki yordamida hujayraga genlarni kiritish usuli.                                           |
| Elektroforez     | elektr maydoni yordamida aralashmalarning bir joydan ikkinchi joyga o'tishi, bo'laklarga ajratish.                                                                            |
| Endonukleazalar  | fosfodiefir bog'larining o'ziga hos bo'lmagan parchalanishi orqali nuklein kislotalarini parchalovchi fermentlar. DNKni purin yoki pirimidin qismlaridan kesuvchi fermentlar. |
| In vitro         | tirik materialni probirkada sun'iy oziqa muhitlarda steril sharoitda o'stirish.                                                                                               |
| In vivo          | tirik materialni tabiiy sharoitda o'stirish.                                                                                                                                  |



## MUNDARIJA

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>KIRISH</b> .....                                                                                                                          | 3  |
| <b>1- Amaliy mashg'ulot.</b> Biotexnologik mahsulotlar<br>ishlab chiqarish unumini hisoblash.....                                            | 4  |
| <b>2-Amaliy mashg'ulot.</b> Sabzavot ekinlaridan ajratilgan<br>hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun oziqa<br>muhitlarini tayyorlash..... | 9  |
| <b>3-Amaliy mashg'ulot.</b> Sabzavot ekinlari hujayrasidan<br>kallus to'qimalarini olish.....                                                | 14 |
| <b>4-Amaliy mashg'ulot.</b> Kallus to'qimasini yangi oziqa<br>muhitiga ko'chirib o'tkazish.....                                              | 16 |
| <b>5-Amaliy mashg'ulot.</b> Suspenziya kulturasidagi<br>hujayralar zichligini hisoblash.....                                                 | 18 |
| <b>6-Amaliy mashg'ulot.</b> Alohida ajratib olingan o'simlik<br>hujayra va to'qimalarini o'stirish texnikasi.....                            | 21 |
| <b>6.1.</b> Protoplastlarni sun'iy oziqa muhitida o'stirish.....                                                                             | 22 |
| <b>7-Amaliy mashg'ulot.</b> Tuproqdan zamburug'lar ajratib<br>olish va ularning fitogormonlik xususiyatini<br>o'rganish.....                 | 25 |
| <b>7.1.</b> Namlik kamerasini hosil qilish usuli.....                                                                                        | 26 |
| <b>7.2.</b> Zamburug'larni ekish va ajratish usuli.....                                                                                      | 26 |
| <b>7.3.</b> Zamburug'larning antibiotik hosil kilish faolligini<br>o'rganish usuli.....                                                      | 27 |
| <b>8-Amaliy mashg'ulot.</b> Bakteriyalarni tuproqdan ajratib<br>olish va ularning fitogormonlik xususiyatini<br>o'rganish.....               | 29 |
| <b>9-Amaliy mashg'ulot.</b> Hujayra va to'qimalar<br>kulturasi.....                                                                          | 38 |
| <b>10-Amaliy mashg'ulot.</b> Kallus to'qimalar kulturasi.....                                                                                | 43 |
| <b>11-Amaliy mashg'ulot.</b> Xujayralar suspenziyasi<br>kulturasi.....                                                                       | 50 |
| <b>12-Amaliy mashg'ulot.</b> O'simliklarni klonli<br>mikroko'paytirish.....                                                                  | 52 |



|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>13-Amaliy mashg'ulot.</b> Qishloq xo'jalik mahsulotlarini saqlash va qayta ishlash biotexnologiya.....      | 57 |
| <b>14-Amaliy mashg'ulot.</b> O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish..... | 60 |
| <b>15-Amaliy mashg'ulot.</b> Sog'lom o'simliklarning meristemasidan foydalanish.....                           | 69 |
| <b>16 Amaliy mashg'ulot.</b> Gormonga bog'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari.....                              | 72 |
| <b>Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.....</b>                                                                 | 79 |
| <b>Glossariy.....</b>                                                                                          | 80 |



XALMUMINOVA GULCHEHRA QULMUMINOVNA  
XO'JANAZAROVA MO'TABAR QO'SHOQOVNA  
JUMANAZAROV G'AYRAT XUSANOVICH

# BIOTEXNOLOGIYADA ILMIY TADQIQOT USLUBLARI

*( magistratura talabalari uchun o'quv qo'llanma)*

Muharrir: — G.Sh. Vaxidova

Musahhih: — M.X. Mustafayeva

Kompyuterda  
sahifalovchi: — M.F. Fozilov



Noshirlik faoliyatini boshlagani haqida vakolatli  
davlat organini xabardor qilgani to'g'risida

TASDIQNOMA

№ 3991

2021 yil 01 noyabrda bosishga ruxsat etildi

Bichimi 60x84, 1/16. Times New Roman garniturasida.

Ofset bosma. Shartli bosma tobog'i 6,25, nashr bosma tobog'i 6.

Adadi 20 nusxada. 9352790-sonli buyurtma

“Shafoat nur fayz” Toshkent shahar,  
Uchtepa tumani, maxorat-71

“Shafoat nur fayz” MChJ bosmaxonasida chop etildi.

Toshkent shahar, Olmazor tumani, Nodira-19

Telefon +99899 993-83-36





ISBN 978-9943-7603-1-8

