

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

С.С.Муродова

АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯ

Тошкент 2021

(Аннотация)

Агробиотехнология

Ушбу дарслик қишлоқ хўжалик олий ўқув юртларининг ўсимликлар ҳимояси ва карантини, қишлоқ хўжалиги экинлари уруғчилиги ва селекцияси, агрокимё ва агротупрокшунослик, агрономия (барча йўналишлар бўйича), қишлоқ хўжалик маҳсулотларини етиштириш, сақлаш ва уларни дастлабки қайта ишлаш технологияси, касб таълими, ўрмончилик ва мева-сабзавотчилик бакалавр йўналишлари ва магистратура мутахассисликлари талабалари ҳамда соҳа ўқитувчилари учун мўлжалланган.

Дарслик Ўзбекистон республикаси Олий ва ўрта махсус таълим вазирлигининг олий ўқув юртлари учун Давлат таълим стандартлари ва ўқув дастурларига мос ёзилган.

Дарсликда ген муҳандислиги асослари, ўсимликларнинг генетик муҳандислиги, ўсимликшунослик ва селекцияда хужайра ҳамда тўқималар биотехнологияси, биотехнология ва ўсимликшуносликда фитогормонлар ҳамда ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар, тупроқ унумдорлигини оширишда биотехнология ўсимликларни ҳимоя қилишда биотехнология, аграр ишлаб чиқаришда биотехнология ва биомуҳандислик ютуқларидан фойдаланиш каби масалалар ёритилган. Бундан ташқари олинган билимларни мустаҳкамлаш учун назорат саволлари ва баъзи таянч иборалар изоҳи келтирилади.

Агробиотехнология

Аннотация

Данный учебник рекомендован для студентов бакалавриата и магистратуры, преподавателям отрасли, по направлениям защита растений и карантин, селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур, агрохимия и почвоведение, агрономия (по всем направлениям), технология,

обработка, хранения и сельскохозяйственных продуктов, спец подготовки, лесоводство, биотехнологии плодовоощных культур высших учебных заведений сельскохозяйственного.

Учебник написан в соответствии стандартом и программой, принятых для учебных заведений Высшего образования Республики Узбекистан.

В нем приведены обобщенные результаты фундаментальных и прикладных исследований в области генетической инженерии, трансгеноза растений, клеточных, тканевых биотехнологий, биотехнология в повышения плодородия почв, биотехнология в защите растений, использование достижений аграр биотехнологии биоинженерии в аграрном производстве. А также в нем приводятся контрольные вопросы и глоссарий некоторых терминов для полученных знаний.

Agrobiotechnology

Resume

This textbook was written for students of bachelor direction and masters degree in Higher educational Institutions specializing in plants protection and quarantine, agricultural plants seed breeding and selection, agro-chemistry and agro-ecological soil science, agronomy (agricultural production), technology of growing of agricultural production, protection, protection and recycling, professional preparing, forest breeding and fruit vegetable production.

This textbook was composed in accordance to standards of Ministry of Higher and Secondary education of Uzbekistan for Higher education .

The basic knowledge in genetic engineering, plants genetic engineering, plants breeding and using cells and tissues biotechnology in selection, biotechnology and using phyto hormones and artificial regulators of plants growth and development, using biotechnology in increasing soil fertility, biotechnology in plants protection, biotechnology in agricultural production and using achievements

of biotechnology is given in this text book. Some testing questions and examples are given in order to push students' knowledge of this subject.

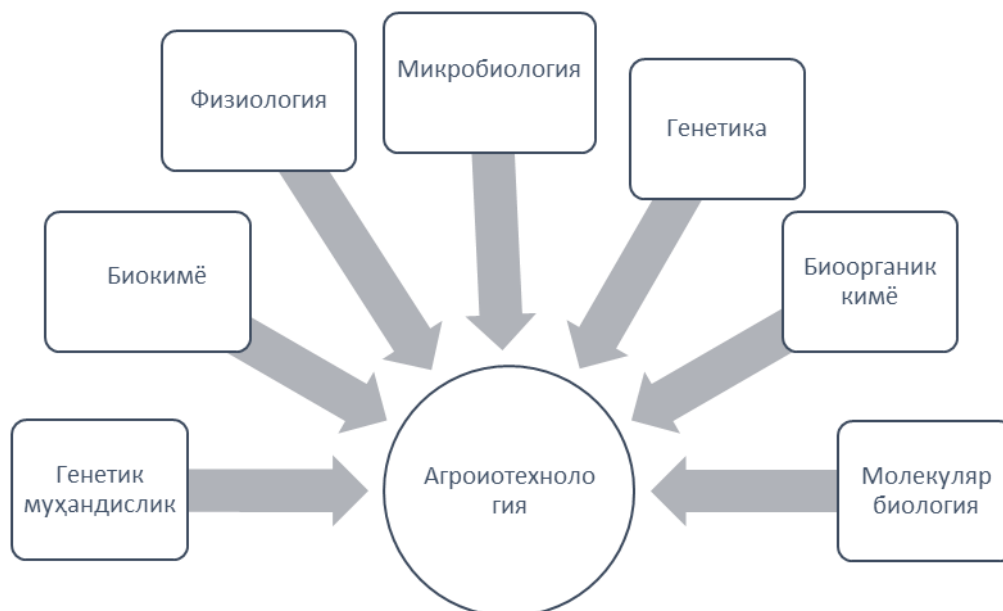
Такризчилар: Х.Ч.Бўриев - Тошкент Давлат аграр университети
Тошкент давлат аграр университети Сабзавотчилик,
полизчилик ва картошкачилик кафедраси профессори,
биология фанлари доктори.
З.Ф. Исмаилов . – Самарқанд давлат университети
биология фанлари доктори.

Агробиотехнология фанига кириш

Агробиотехнология – agro –қишлоқ хўжалиги, bio – ҳаёт, techno – маҳорат, санъат, ҳунар, logos –сўз, таълимот сўзларидан олинган бўлиб, тирик организм ва биологик жараёнлардан фойдаланиб саноат асосида маҳсулот ишлаб чиқариш тўғрисидаги фандир.

Агробиотехнологик жараёнлар энергия сарфининг камлиги, деярли чиқиндисизлиги, экологик софлиги муайян асбоб-ускуна, техник қурилма ва препаратлардан фойдаланиб, иқлим шароитларига қарамасдан кичик ҳажмни эгаллайдиган майдонларда ҳам тадқиқотлар ўтказиш мумкинлиги билан афзалдир. Агробиотехнология фанининг педмети микроорганизмлар, ўсимлик ва ҳайвон ҳужайралари, сунъий озиқа муҳитларида ўстирилаётган ҳужайра, тўқима ва органларни биосинтетик потенциалидан иборат.

Агробиотехнология фанининг бошқа фанлар билан алоқаси



Фаннинг тармоқларини қуйидаги чизмада ифода этиш мумкин:



Биотехнология ҳозирги вақтда энг замонавий фанлардан бўлиб ҳисобланади. Унинг кўлами йилдан-йилга ортиб бормоқда ва ундан кутилаётган натижалар ҳам юқоридир. Бунга биотехнологияни ривожлантиришга қаратилган инвестицияларнинг тобора ортиб бораётганлиги яққол мисол бўла олади.

Саноат тараққиёти тарихида биотехнология каби серқирра соҳа ҳали бўлмаган дейилса, муболаға бўлмайди. Фаннинг тез тараққий этиши жамиятда ижобий фикрлар билан бирга турли хил мунозарали ва танқидий фикрларга ҳам сабаб бўлиб келмоқда.

“Биотехнология” атамасини 1919 йилда Карл Эреки томонидан «*Biotechnology of Meat, Fat and Milk Production in an Agricultural Large-Scale Farm*», Берлин, 1919 асарида қайд этилган.



Karl Ereky

(1878 -1952)

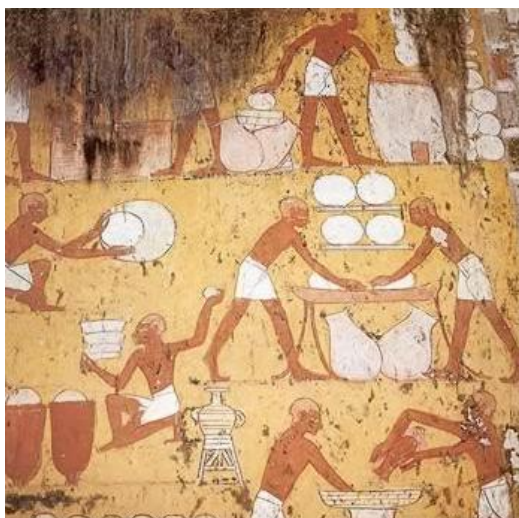
«БИОТЕХНОЛОГИЯ – тирик организмлар асосида олинган хом ашё материалларидан маҳсулот ишлаб чиқариш жараёнларини ўз ичига олган фан ва фаолият туридир.

1961 йилдан бошлаб, «БИОТЕХНОЛОГИЯ» атамаси фанда кенг фойдаланила бошлади ва биринчи марта “Биотехнология ва биоинженерия”



журнали чоп этилди.

1970-йилларга қадар биотехнология ишлаб чиқариш деганда фақат микроорганизмлардан фойдаланилган ишлаб чиқариш (саноат миқёсидаги хамиртуруш ишлаб чиқаришдан то антибиотиклар ишлаб чиқаришгача) жараёнлари тушунилган





1-расм. Энг қадимги биотехнологик жараёнлар.

Энг қадимдан фойдаланилиб келаётган биотехнологик жараёнлар (нон ва пишлоқ тайёрлаш). **Биотехнологик жараёнлар** 1933-1972 йилларга келиб йирик саноат даражасига кўтарила бошлади. Биотехнологияда жараёнларни амалга оширишда ихтисослашув юзага келиб, услубиётлар ва ускуналарни ўз ичига олган саноат биотехнологиясига асос солинди).

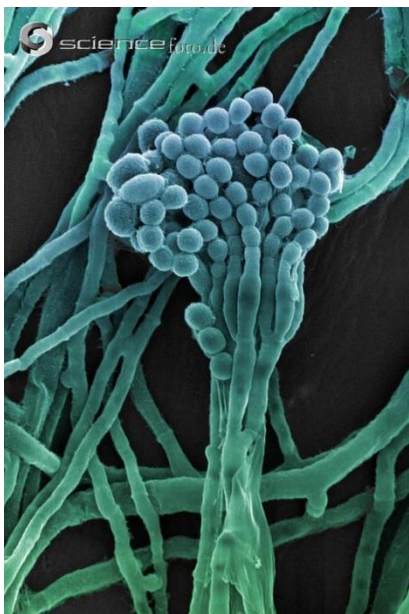


<http://chay.events.org.ua/>

2-расм. Автоматлаштирилган биотехнологик жараёнлар.

1940-1941 йилларда пенициллинни саноат миқёсида олишга эришилди.

1945 йилда Б.Чейн, Х.Флори, А.Флеминглар ушбу соҳадаги кашфиётлари учун Нобел мукофотиغا сазовор бўлдилар.



Penicillium chrysogenum



Борис Чейн

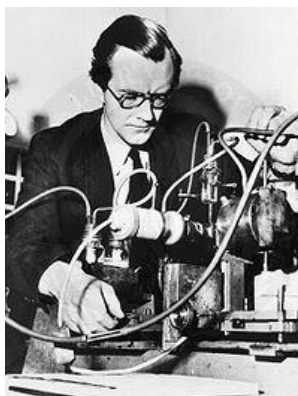


Хоуард Флори

1952 йилда ДНК нинг иккиламчи структураси модели кашф этилди. 1962 йилда мазкур кашфиёт учун М. Уилкинс, Ф. Крик, Дж. Уотсонлар Нобел мукофотини олишга эришидилар.



Френсис Крик, Джеймс Уотсон



Морис Уилкинс

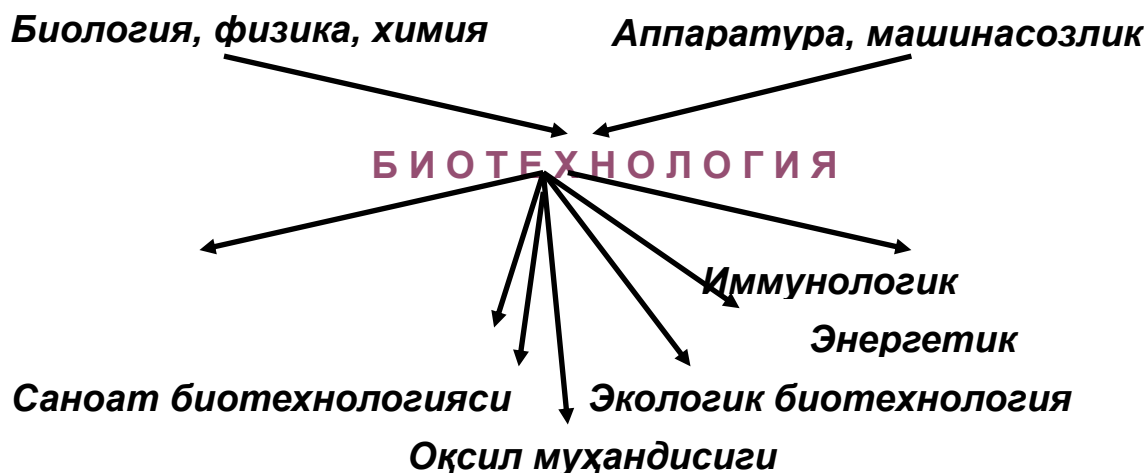


Розалинд Франклин

3-расм. ДНК нинг қўш занжирли структураси



1972 йилдан бошлаб биотехнологияда янги босқич ген технологияларига асос солинди. XX асрга келиб биотехнология бир қанча тармоқларга бўлиниб кетди.

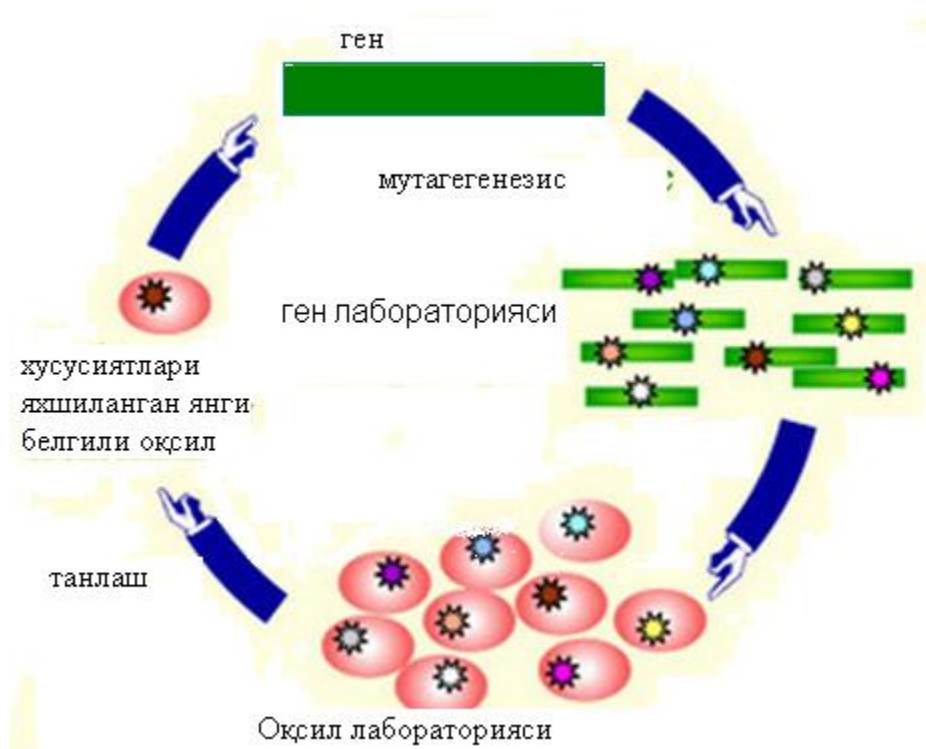


Саноат биотехнологияси микроорганизмлардан фойдаланиб, аминокислоталар, витаминлар, ферментлар, антибиотиклар, органик кислоталар, бактериал инсектицидлар, пестицидлар ва бошқаларни олиш йўлларини ўрганадиган биотехнологиянинг битта тармоғи.



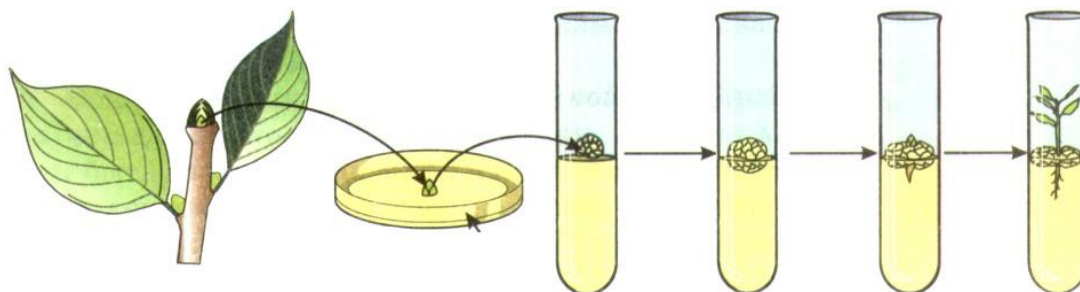
4-рам. Саноатда микроорганизмлардан фойдаланиш.

Оқсил муҳандислиги молекуляр биотехнологиянинг тармоғи бўлиб, янги хусусиятга эга оқсилларни олишни ўрганади.

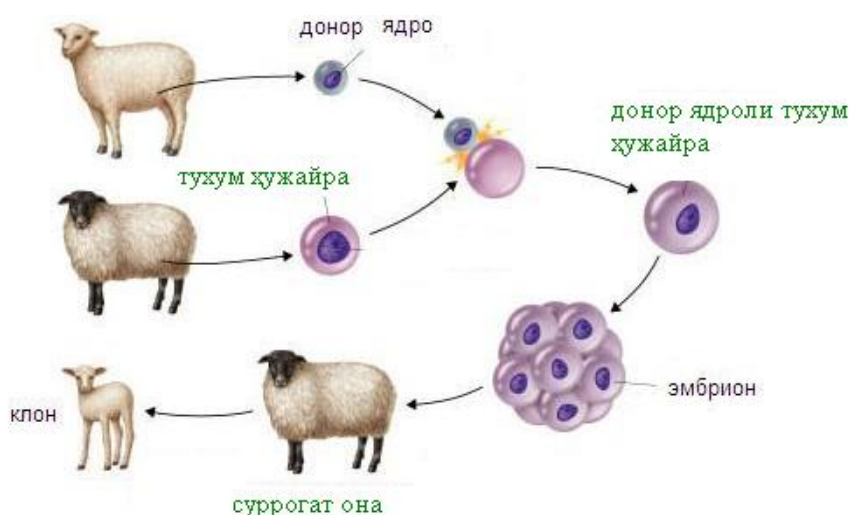


6-расм. Оқил муҳандислиги бир йўналишининг схематик кўриниши.

Ҳужайра муҳандислиги ҳужайранинг тузилиши ва фаолиятини ўзгартириш имкониятларини ўрганувчи биотехнологиянинг тармоғи.



7-расм. Ўсимликшуносликда ҳужайра муҳандислигининг схематик кўриниши.



8-расм. Ҳайвонларда ҳужайра муҳандислиги

Биотехнологиянинг ўрмон ҳосил қилувчи ўсимлик навлари селекцияси ва саноат учун муҳим бўлган ёғочбоп ўсимликларни модификация қилишга қаратилган тармоғи ҳисобланади.



9-расм. Ўрмончиликда биотехнология.

Биотехнология фан сифатида замон ва моҳиятига кўра, замонавий ва анъанавий (классик) биотехнологияга бўлинади. Замонавий биотехнология (биомуҳандислик) ген ва ҳужайра муҳандислиги усуллари орқали генетик трансформация (модификация) қилинган ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлардан ишлаб чиқаришни жадаллаштириш, турли хил мақсадларга мўлжалланган маҳсулотларнинг янги турларини тайёрлаш технологияларини яратиш ва улардан фойдаланиш тўғрисидаги фандир.

Анъанавий биотехнологияни, оддий, нотрансген ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлардан (табiiй ва селекцион йўл билан олинган) фойдаланиб

табiiй ва сунъiiй шароитларда қишлоқ ҳўжалик ва бошқа хил маҳсулотларни ишлаб чиқариш, сақлаш ва қайта ишлаш, уларни ташиш усуллари ва технологиялари ҳақидаги фан деб ҳам қараш мумкин.

Янги, замонавий биотехнологиянинг йирик ютуғи генетик трансформация, ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмларнинг реципиент ҳужайраларига бегона (табiiй ва сунъiiй яратилган) донор генларни киритиб, янги ёки кучайтирилган белги ва хусусиятларга эга трансген организмлар олиш билан боғлиқ. Мазкур йўналиш ўз мақсад, моҳияти ва имкониятларига кўра, келажакдаги стратегик йўналишлардан бири бўлиб ҳисобланади. Бу эса ташқи муҳитнинг ноқулай, стресс омилларига чидамли, юқори маҳсулдор ва сифатли ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмларни яратиш, табиат ва ишлаб чиқаришнинг барча соҳаларидаги экологик вазиятни соғломлаштириш борасидаги мутлақо янги муаммоларни ижобiiй ҳал этиш имконини яратади.

Бундай мақсадларга эришиш баъзи қийинчиликларни ҳал қилиш билан узвий боғлиқдир. Энг аввало, генларни идентификация қилиш ва клонлаш, уларнинг банкини яратиш, биологик объектларнинг белги ва хусусиятларини полиген детерминацияси механизмларини мукаммал ўрганиш, ишончли вектор тизимларини яратиш ва генлар экспрессиясининг юқори даражада чидамлилигини таъминлаш каби муаммоларни бартараф этишни талаб этади. Бугунги кунда дунёнинг кўплаб мамлакатларининг ихтисослашган лабораторияларида тижорат мақсадларида қўлланиладиган мутлақо янги хилдаги трансген ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар турлари яратилган ва тижорат мақадларида қўлланилиб келинмоқда.

Ҳужайра биотехнологияси ҳужайраларнинг нодир хусусияти - уларнинг тотипотентлиги, ўстиришнинг маълум шароитида соматик ҳужайрани ўз хусусиятини тўлиқ амалга ошириши яхлит ўсимлик сифатида етила олиш хусусияти, шунингдек, яратилган ўсимликларни иккиламчи синтез маҳсулотларини ишлаб чиқара олиш хусусияти; селекцияда эса чидамлилик, ҳосилдорлик ва сифат учун жавобгар бўлган қимматли

генотипларининг кўпайиши; ўсимликларни вирус ва вироидларидан озод қилиш; тиббиёт ва озиқ-овқат муаммоларини ечишда қўлланиладиган биологик фаол препаратларни тайёрлашда фойдаланиладиган қишлоқ хўжалик ўсимликларининг янги нав ва линияларини яратиш имконини берди. Бу соҳада анчагина қийинчиликлар ҳам юзага келди. Масалан, хужайралар қайта тикланиши (регенерацияси)ни камайиб кетиши ва организмнинг нормал онтогенезининг бузилиши, самоклонал вариацияларнинг хилма-хиллигини торлиги организмларнинг муҳим, қимматли хўжалик аҳамиятига молик бўлган белгилари ва иккиламчи метаболизм моддаларининг синтезини назорат қилувчи генлар экспрессиясининг сусайиб кетиши каби жараёнлар шулар жумласидандир.

Бу борада ЎзР ФА Микробиология, Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси, О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институтлари, М. Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети, Тошкент Фармацевтика институти, Тошкент кимё технологиялар институти ва бошқа бир қатор университетлар ва Давлат илмий-техникавий ва фундаментал тадқиқотлар дастури доирасида минтақамизда биотехнология, айниқса, ўсимлик, микроб биотехнологияси соҳасида олиб борилаётган илмий изланишлар микроорганизмларнинг тарқалиш қонуниятларини ўрганиш, улар орасидан халқ хўжалиги учун ўта зарур бўлган турлари ва туркумларини ажратиб олиш орқали микроорганизмлар тўпламини яратиш, энг фаол турлари асосида янги рақобатбардош биотехнологиялар яратиш, микроблар синтез қиладиган физиологик фаол моддаларни (антибиотиклар, витаминлар, оксил моддалар, ферментлар, фитогормонлар ва ҳ.к.) соф ҳолда ажратиб олиш, уларнинг физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш бўйича чуқур илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Жумладан:

- *Ўзани эрта пишар, толаси мустаҳкам, шўрланишга чидамли навларини яратиш соҳасида олиб бориладиган биотехнологик жараёнлар ва тупроқ биотехнологияси:*

- озиқа моддалари биотехнологияси;
- ферментлар ва бошқа физиологик фаол моддалар биотехнологияси;
- ошқозон – ичак фаолиятини яхшилашга ҳамда касалликларни олдини олиш ва даволашга мўлжалланган биотехнологиялар;
- ноёб, рангли ва нодир металллар биотехнологияси;
- атроф- муҳитни микроорганизмлар ёрдамида тозалаш ва унинг ифлосланишини олдини олишга мўлжалланган биотехнологиялар эътиборга лойиқдир.

Пахтачилик ва тупроқшунослик биотехнологияси йўналиши бўйича ҳам бир қатор янги, экологик тоза, импорт ўрнини боса оладиган, экспортга мўлжалланган, рақобатбардош биологик ўғитлар “Ер малҳами”, “Биоўғит”, “ФМГК”, “Микробли ўғит”, “Бист” “Замин-М” каби биопрепаратларни ишлаб чиқариш технологиялари яратилди ва улар мамлакатимизда кенг синовдан ўтказилиб, қатор ижобий натижаларга эришилди.

Бундан ташқари ҳар хил ўсимликларни касаллантирувчи (фитопатоген) микробларга қарши, жумладан ўсимликлар иммун тизимини оширувчи ҳамда ғўзани вилт, илдиз чириш ва гоммоз касалликларидан ҳимоя қилувчи бир қатор биопрепаратлар ишлаб чиқариш ҳам йўлга қўйилган. Биопрепаратлар Тошкент, Андижон, Наманган, Қашқадарё ва Сурхондарё, Хоразм вилоятлари ва Қорақалпоғистон автоном Республикаси ҳўжаликларида синаб кўрилган ва амалиётга кенгроқ тадбиқ қилиш учун тавсия этилган.

Ўсимликларни зарарқунанда ҳашаротлардан асраш бўйича, колорадо қўнғизи, барг ўровчи ҳашаротлар, америка оқ капалаги, ҳар хил куялар, ўтлоқ парвонаси каби ўндан ортиқ зарарқунанда ҳашаротларга қарши биоинсектицидлар ишлаб чиқарилган ва синовдан ўтказилган.

Маълумки, мамлакатимизда чорвачиликни ривожлантириш, чорва маҳсулотлари сифатини ошириш долзарб масалалардан биридир. Шу мақсадда ҳам сезиларли ишлар амалга оширилмоқда. Масалан, ғўзапоя, сомон, хазон ва бошқа ўсимлик қолдиқлари ва ишлаб-чиқариш чиқиндиларини микробиологик қайта ишлаш ва уларнинг озиқа бирлигини

ошириш туфайли чорвачилик учун оқсилга бой, сервитамин маҳсулотлар тайёрлаш биотехнологиялари яратилган бўлиб, унинг асосида Қашқадарё вилояти Яккабоғ туманида ва Тошкент вилояти Қибрай туманида махсус цехлар ташкил қилинган.

ЎзРФА Микробиология институти тажриба ишлаб-чиқариш лабораториясида яратилган озиқ-овқат, ёғ – мой, фармацевтика саноати чиқиндилари асосида юқори сифатли озиқа моддалари ишлаб чиқариш технологияси Республика, Россия, Украина давлат патентлари билан ҳимоя қилиниб чорвачилик ва паррандачилик учун катта самара бериши тажрибаларда тасдиқланган.

Минтақамиз иқлим шароити, овқатланиш маданиятининг ўзига хослиги ва бир қанча бошқа сабаблар ёз ойларида ошқозон-ичак фаолиятининг ўзгаришига олиб келиши мумкин. Бунга ўз вақтида эътибор берилмаса, жигар ва қон –томир хасталиклари келиб чиқиши маълум. Шунинг учун ҳам олимларимиз олдида қўйилган асосий вазифалар, шундай ҳолатларни олдини олиш ёки ўз вақтида ва сифатли даволашга шароит яратиш йўллари излаб топишга кўмаклашишга қаратилган. Бу мақсадда бир қатор янги биотехнологиялар яратилган бўлиб, улар асосида “Лактобактерин”, “Колибактерин”, “Ором”-1”, “Ором-2”, “Ором-3”, “Биофикол”, “Биофикол-М” каби ўндан зиёд биопрепаратлар ва 20 дан ортиқ ачитқи препаратлари тайёрланиб, харидорларга етказиб берилмоқда.

Жумладан, парҳезга мўлжалланган “Ором-1” биопрепарати Олмония ва Буюк Британия патентлари билан ҳимоя қилинган. Бу биопрепаратнинг чақалоқлар ва кекса кишилар организмида яхши фаолият кўрсатиши ҳамда минтақамиздаги экологик вазиятга мос ва чидамлилиги, ҳориждан келтириладиган бошқа шунга ўхшаш биопрепаратлардан устиворлигини белгилайди. Қолаверса, бу препаратларнинг арзонлиги алоҳида эътиборга лойиқдир.

Академик М.Э.Мавлоний раҳбарлигида нон ва нон маҳсулотлари сифатини ошириш буйича бир қатор илмий ишлар амалга оширилган. Бу

олимнинг илмий таклифлари асосида ачитқи замбуруғларининг махсус штаммлари сифатли, хушбуй таъмли нон ва нон маҳсулотлари ишлаб чиқаришда кенг кўламда қўлланилмоқда.

Мамлакатимизда экология муаммоларига боғлиқ бўлган бир қатор рақобатбардош биотехнологиялар яратилган. Нефть ва нефть маҳсулотлари билан ифлосланган тупроқ ва оқова сувларини тозалаш, гербицидлар, пестицидлар, дефолиантлар ва бошқа захарли кимёвий препаратлар ва ўсимликлар қолдиқлари (масалан, хазон) ва бошқа чиқиндиларни микробиологик йўл билан парчалаш бўйича олиб берилаётган ишлар шулар жумласидандир.

Ёғ-мой комбинатлари, спирт заводлари, озиқ-овқат саноати ва тиббиёт учун зарур бўлган бир қатор препаратлар (амилаза, глюкоамилаза, глюкоизомераза, пектиназа, протеаза, липаза, протеаза, лактаза, пероксидаза ва ҳ.к.) олиш технологияларининг баъзилари чет эл (Литва, Украина) фермент заводларида ишлаб чиқаришга жорий этилган.

Тупроқ шўрланиши сабабларини аниқлаш ва уни бартараф қилиш учун микроорганизмлардан фойдаланиш, ўсимликлар ўсиш ва ривожланишини бошқариш йўллариини излаб топиш, ўсимликлар иммун тизимини бошқариш ва бошқа соҳалар бўйича олиб борилаётган, катта салоҳиятга эга бўлган илмий ва амалий изланишлар фикримизнинг далилидир.

Ўзбекистон фанлар академияси Микробиология институтида юқори концентрацияли тузли эритмаларда бемалол яшаб, кўпаядиган микроорганизмлар ажратиб олишга эришилди. Бу микроорганизмлар шўрланган тупроқларда кўпайиши билан бир қаторда, ҳаводаги азотни ўзлаштириш ва ўсимлик ривожланишида муҳим аҳамиятга эга бўлган физиологик фаол моддалар синтез қилиш хусусиятлари борлиги билан эътиборга лойиқдир. Келгусида бундай микроорганизмлар асосида шўрланишга қарши биопрепаратлар тайёрлаш кўзда тутилган.

Мамлакатимизда мавжуд 4,3 млн гектар суғориладиган ер майдонининг 3,3 млн гектарида шудгорлаб деҳқончилик қилинади. Жумладан, 2 млн

гектарга яқин майдон шўрланганлигини, бу жараён фаол давом этиб, ҳар йили 50 минг гектардан зиёд ер майдони шўрланиб бораётганини эътиборга олсак, қилинаётган ишлар қанчалик долзарб эканлиги ўз-ўзидан намоён бўлади.

Қолаверса, ўсимликларда касаллик чақирувчи микроорганизмлар ва уларга қарши кураш йўллари топиш устида ҳам чуқур илмий изланишлар қилинмоқда. Масалан, катта иқтисодий самара берадиган ва экологик тоза маҳсулот етиштиришга мўлжалланган помидорда фузариум замбуруғи кўзғатадиган фузариоз (чириш) касалликларининг олдини олиш ва уни даволаш устида олиб борилаётган изланишларнинг келажаги порлоқдир.

Қишлоқ хўжалик биотехнологияси саонатининг ривожланиши мамлакатимиз иқтисодиётини кўтаришга хизмат қилишига шак-шубҳа йўқ. Бу фикр бир қатор ривожланган мамлакатлар мисолида ўз ифодасини топган. Мамлакатимизда бу соҳани янада ривожланиши учун барча имкониятлар мавжуд.

Биотехнология соҳасидаги илмий изланишларни ривожлантириш мақсадида мамлакатимиз илмий-тадқиқот институтлари ва марказлари дунёнинг Россия, АҚШ, Германия, Италия, Япония, Хиндистон, Жанубий Корея, Хитой каби ривожланган давлатларнинг кўплаб илмий тадқиқот муассасалари билан ҳамкорликларни ўрнатганлар.

Ген муҳандислиги, биомуҳандисликнинг тараққий этгани сари бу вақт мобайнида Ғарбий Европа, Америка, Россия матбуотида жамоатчиликнинг соҳага оид қарши фикрлари ҳам чоп этиб турилади, бу борада ҳозирга қадар, турли, ҳаттоки, қарама-қарши ғоялар ҳам илгари суриб турилади.

Жамоатчиликнинг ген муҳандислиги ривожига бўлган муносабати негизида биотехнологиянинг янги ютуқ ва ғояларининг мазмун моҳиятини чуқур англаб етмасдан, ундаги оқибатлардан ҳадиксираш, яъни муайян, табиати аниқланмаган янги касалликлар ўчоғи пайдо бўлишидан қўрқиш ва у орқали келажакда амалга оширилиши лозим ишларнинг фойдали ва самарали томонларини кўра олмаслик ётади. Биотехнология фани

ривождаги бундай тўсиқларни бартараф этишда кенг жамоатчилик оммасини соҳага оид маълумотлар билан таништириш, олиб борилаётган тадқиқотлар усуллариини такомиллаштириб, ген муҳандислиги фаолиятидаги ҳавфсизликни таъминлашга оид меъёрий – ҳуқуқий акт ва ҳужжатлар, қонунларга қатъий риоя этиб олиб бориш лозим бўлади.

Қишлоқ хўжалигида, ишлаб чиқариш ва халқ хўжалигининг турли соҳаларида фаолият юритаётган мутахассислар биотехнология ва биомуҳандислик усуллариини яхши ўзлаштирган бўлиши, бундай усуллардан қишлоқ хўжалик маҳсулотлари етиштириш ҳажмини ошириш, сифатини яхшилаш, атроф-муҳит ифлосланишининг олдини олиш ва бутун аграр ишлаб чиқаришни самарадорлигини юқори кўтаришда фойдалана билишлари лозим. Бундай мақсадларни амалга ошириш борасида мамлакатимизда, жумладан, Тошкент Давлат аграр университетида биринчи марта 1999 йилда Қишлоқ хўжалик биотехнологияси кафедраси ташкил этилиб, соҳа бўйича таълим берилди бошланди.

Агробиотехнология бўйича ёзилган мазкур дарслик, биотехнология ва биомуҳандислик фанларининг дунёдаги ҳозирги ҳолати, унинг фан сифатида, ишлаб чиқариш соҳасида энг янги фундаментал, амалий ва инновацион ютуқларни ўз ичига қамраб олган ҳолда, шунингдек ҳавфсизликни таъминлаш мақсадида ишлаб чиқилган ген муҳандислиги соҳасидаги меъёрий ҳуқуқий, қонун ҳужжатлари асосида тайёрланган. Дарсликда талабаларни биотехнология ва биомуҳандисликка оид маълумотлар билан ҳар томонлама ва чуқур таништиришга ҳаракат қилинган. Ушбу китоб мазкур соҳага оид масалаларнинг ечимига қаратилган бўлиб, хато ва камчиликлардан ҳоли эмаслиги муқаррар. Шунинг учун мазкур дарсликни бойитишга оид барча ўринли танқид ва таклифларни қабул қилишга тайёр эканлигини билдириш билан бирга, ҳамкасбларимиздан дарсликни ҳар томонлама бойитиш бўйича фикр ва мулоҳазалар кутиб қоламиз.

Агробиотехнологиянинг асосий йўналишлари ва истиқболлари

Қадим даврданоқ биотехнология, ундаги жараёнлар кишиларнинг кундалик эҳтиёжларини қондириш мақсадида фойдаланиб келинган бўлсада, амалий фан сифатида XX асрда шаклланди. У ҳозирги вақтда инсониятнинг энг асосий долзарб муаммоларидан бири ҳисобланмиш – озиқ-овқат, энергетик ресурс, атроф-муҳит ифлосланишининг олдини олиш билан боғлиқ муаммолари ечимини топиш зарурияти туфайли юзага келди.

Биотехнологик жараёнлар микроорганизмлар, ўсимлик ва ҳайвон ҳужайралари, сунъий озиқа муҳитларида ўстирилаётган ҳужайра, тўқима ва органларни биосинтетик потенциалидан амалий фойдаланишга асосланади. Ҳозирги вақтда дунёнинг кўплаб мамлакатларида биотехнологиянинг тараққиётига асосий эътибор қаратилмоқда, чунки бошқа технологияларга қараганда, биотехнологик жараёнлар энергия сарфининг камлиги, деярли чиқиндисизлиги, экологик софлиги жиҳатидан бир қатор афзалликларга эга. Бундан ташқари бу технологиялар муайян асбоб-ускуна, техник қурилма ва препаратлардан фойдаланишни талаб қилади, шунингдек, иқлим шароитларига қарамасдан кичик ҳажмни эгаллайдиган майдонларда ҳам тадқиқотлар ўтказиш мумкинлиги билан ажралиб туради.

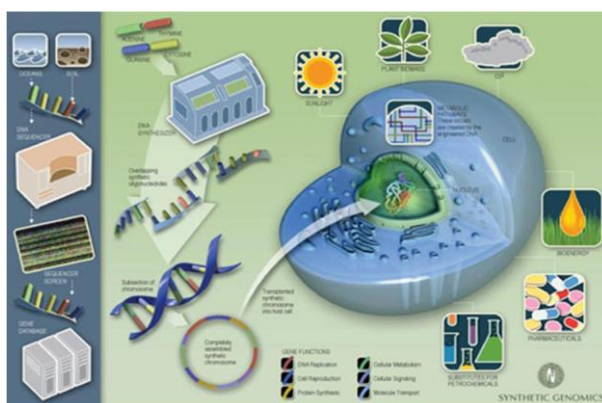
Бундай афзалликлар ҳужайралар култураси, ўсимлик тўқима ва органларига ҳам тегишлидир.

Замонавий биотехнология фан сифатида ўтган асрнинг қирқинчи йиллари бошида шаклланиб, 1953 йилда Джеймс Уотсон ва Френсис Криклар томонидан ДНК қўш спиралининг фазовий тузилиши тўғрисидаги кашфиётдан сўнг жадал ривож топди. Бу соҳада янги стратегик йўналиш - ген муҳандислиги 1972 йилда, яъни, Пол Бэрг лабораториясида биринчи марта ДНК нинг рекомбинат молекуласи синтезлангач пайдо бўлди. Бу эса биотехнологияни унинг асосий бўғини биомуҳандислик (ядро биологияси) билан боғлаб замонавий фанда асосий ўрин эгаллади.

Юксак кашфиётлар оралиғидаги тадқиқотлар машҳур олимлар Г.Бойер, С.Коэн, Д.Морр, А.Баев, А.Белозерский, О.Эйвери, Г.Гамов, К.Коран, Ф.Жакоб, Ж.Моно, Ж.Бэквист, Ю.Овчинников, А.Спирин, Р.Петров ва бошқалар томонидан генлар ва ферментларнинг идентификацияси, ўсимлик, микроб, ҳайвон ҳужайраларидан ДНК молекуласини ажратиш, генетик коднинг ўқилиши, прокариот ва эукариотларда генлар экспрессия механизмлари, оксил биосинтезини кашф этилиши билан боғлиқ ишлар билан тўлдирилди.

Ўтган асрнинг 50- йилларига келиб биотехнологияда яна бир муҳим янги йўналиш – ҳужайра муҳандислиги вужудга келди. Унинг асосчилари П.Ф.Уайт (АҚШ) ва Д.Готре (Франция)лардир. Бу йўналишнинг давомчилари сифатида А.Курсанов, Р.Г.Бутенколар томонидан яратилган мактабга жуда кўплаб ёш мутахассисларни жалб этиш орқали амалга оширилган соҳага оид тадқиқотларни кўрсатиш мумкин.

Ген ва ҳужайра муҳандислиги замонавий биотехнологиянинг асосий йўналишларини белгилаб бердики, ундаги усуллар ўтган асрнинг 80- йилларида кенг ривожланиб фан ва ишлаб чиқаришнинг кўплаб соҳаларида кенг қўлланила бошланди.



10-расм. Ген ва ҳужайра муҳандислигининг қўлланилиш соҳалари.

Жинсий гибридизация ва танлашга асосланган анъанавий селекция усуллари ўсимликларнинг янги генотипларини олиш имкониятини беради. Улар йирик ҳажмдаги қишлоқ хўжалик экинларининг гибрид ва навлари, шунингдек, селекциянинг нодир нусхаларини олишни таъминлайди. Россиянинг машҳур селекционерлари (П.П.Лукьяненко, В.С.Пустовойт,

В.С.Ремесло, П.В.Гаркавий, Кириченко, Калининко ва бошқалар), бу борада республикамизнинг йирик селекционер олимлари (Р.Р.Шредер, Я.Л.Навроцкий, Г.С.Зайцев, С.С.Канаш, А.И. Автономов, А.Дадабоев, Н.Н.Назирова, С.Мирахмедов, А.П. Ибрагимов, Ш.Ибрагимов, Ризамат ота Мусамухаммедов, О.Жалилов ва бошқалар) селекция ривожига муносиб ҳисса қўшганлар. Янги навларни олишда анъанавий (классик), селекция усуллари бундан кейин ҳам асосий усуллардан бўлиб хизмат қилади. Ген муҳандислиги манипуляциялари қишлоқ хўжалик экинларининг патогенларга чидамли янги нав, шакл, линия ва гибридларини олиш ва янги навларни жорий этиш муддатларини қисқартириш каби қатор муҳим муаммоларни ечиш имкониятини беради.

Янги, замонавий биотехнологиянинг йирик ютуғи генетик трансформация, ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмларнинг реципиент хужайраларига бегона (табиий ва сунъий яратилган) донор генларни киритиб, янги ёки кучайтирилган белги ва хусусиятларга эга трансген организмлар олишдир. Мазкур йўналиш ўз мақсад ва имкониятларига кўра, келажақдаги стратегик йўналишлардан бири бўлиб ҳисобланади. Бу ташқи муҳитнинг ноқулай стресс омилларига чидамлилиги юқори маҳсулдор ва сифатли ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмларни яратиш, табиат ва ишлаб чиқаришнинг барча соҳаларидаги экологик вазиятни соғломлаштириш борасидаги мутлақо янги муаммоларни ҳал этиш имконини беради.

Бундай мақсадларга эришиш учун генетик трансформация самарадорлигини оширишда баъзи қийинчиликлар ва энг аввало, генларни идентификация қилиш ва клонлаш, уларнинг банкини яратиш, биологик объектларнинг белги ва хусусиятларини полиген детерминацияси механизмларини мукаммал ўрганиш, ишончли вектор тизимларини яратиш ва генлар экспрессиясининг юқори даражада чидамлилигини таъминлаш кабиларни бартараф этиш лозим. Бугунги кунда дунёнинг кўплаб мамлакатлари лабораторияларида тижорат мақсадларида қўлланиладиган

мутлақо янги хилдаги трансген ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар яратилган.

Бу соҳада кўплаб қийинчиликлар юзага келди, уларнинг асосийлари хужайралар регенерацияси частотасининг камлиги ва организмнинг нормал онтогенезининг бузилиши, самоклонал вариацияларнинг тор спектри организмларнинг муҳим қимматли хўжалик аҳамиятига молик белгилари ва моддаларнинг иккиламчи метаболизмини назорат қилувчи генлар экспрессиясининг суствлиги кабилар ҳисобланади.

Дунё фанида биотехнология борасидаги кучли қўзғалиш ўтган асрнинг 80 – йилларида рўй берди, яъни, янги услубий ёндошишлар уларда фан ва амалиётда самарали фойдаланишга ўтиш имконини берди ва бундан катта иқтисодий самара олиш имконияти туғилди. Илмий асосланган тахминларга кўра, ХХІ асрнинг бошларидаёқ дунё бозорига келиб тушадиган маҳсулотлар умумий ҳажмининг қарийб 20 % ини биотехнологик маҳсулотлар ташкил этади.

Мамлакатимизда биотехнологияни ўрганиш ва унинг ютуқларидан илмий – тадқиқот ишларида фойдаланиш, соҳада олиб борилаётган изланишларни шакллантириш 70-80-йиллардан бошлаб юборилган.

Бугунги кунга келиб қишлоқ хўжалик биотехнологияси соҳасидаги кўплаб ишлар, тадқиқотлар бир қатор олимлар, мутахассисларнинг изланишлари билан изчил давом этмоқда.

Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси «Геномика ва биоинформатика» марказида ғўза, буғдой, картошка, узум, анор ва бошқа қишлоқ хўжалик экинларининг касалликларга, шўрланиш ва қурғоқчиликка чидамли навларини яратиш, қишлоқ хўжалигига кенг жорий этиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Биоорганик кимё институтида Э.Г.Холмуродов ва Г.Б.Носирова бошчилигида картошка ва бошқа ўсимликларни *in vitro* шароитида ўстириш йўли билан турли стресс

омиллар ва вирусли инфекцияларга чидамли навларини олиш борасида илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Тупроқ шўрланиши сабабларини аниқлаш ва уни бартараф қилиш учун микроорганизмлардан фойдаланиш, ўсимликлар ўсиш ва ривожланишини бошқариш йўллари излаб топиш, ўсимликлар иммун тизимини бошқариш ва бошқа соҳалар бўйича олиб борилаётган, катта салоҳиятга эга бўлган илмий ва амалий изланишлар фикримизнинг далилидир.

Тошкент давлат аграр университетида 2018 йилдан бошлаб Агробιοтехнология кафедраси ташкил этилиб, мамлакатимиз тарихида илк бор “Агробιοтехнология” йўналиши бўйича Давлат таълим стандартлари асосида бакалаврлар тайёрлаш йўлга қўйилди.

Агробιοтехнология бўйича ёзилган мазкур дарслик, биотехнология ва биомуҳандислик фанларининг дунёдаги ҳозирги ҳолати, унинг фан сифатида, ишлаб чиқариш соҳасида энг янги фундаментал, амалий ва инновацион ютуқларини ўз ичига олган ҳолда, шунингдек ҳавфсизликни таъминлаш мақсадида ишлаб чиқилган ген муҳандислиги соҳасидаги меъёрий ҳуқуқий, қонун ҳужжатлари асосида тайёрланган. Дарслик муаллифлари китобхонни биотехнология ва биомуҳандисликка оид маълумотларни ҳар томонлама ва чуқур ўзлаштиришлари учун фундаментал ва истиқболли фанларнинг замонавий ва анъанавий манбалари асосида илм олишларига йўналиш берадиларки, китобда бу маълумотлар олий ўқув юрти дастури доирасида ёритиб берилади.

II БОБ. АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯ ФАНИНИНГ НАЗАРИЙ АСОСЛАРИ

2. АГРОБИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ НАЗАРИЙ АСОСЛАРИ

2.1. Агробιοтехнологиянинг объектлари

Агробιοтехнологияда объект сифатида қуйидагилардан фойдаланилади:

Субхужайравий бирликлар (хужайра ичидаги) – вируслар, плазмидлар, митохондрия ва хлоропласт ДНК си, ядро ДНК си.

Микроорганизмлар - бактериялар, актиномицетлар, замбуруғлар, сувўтлар, содда ҳайвонлар.

Ўсимликлар: тубан – сувўтлар, йўсинлар, лишайниклар, юксак- кўплаб оилаларга мансуб очиқ уруғли ва гулли ўсимликлар.

Ҳайвонлар: умуртқасизлар ва хордалилар.

Дастлабки ёки кейин кўчириб ўтказиладиган ўсимлик ва ҳайвонларнинг хужайра ва тўқималари культураси.

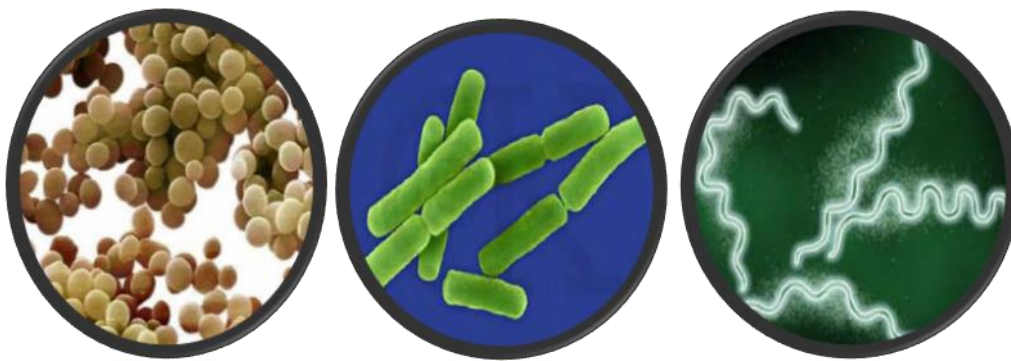
Микроорганизмлар

Биотехнологияда маҳсулот олишда ёки маҳсулот олишдаги жараёнларни амалга оширишда фойдали бўлган бир неча юзлаб микроорганизмлардан фойдаланилади.

Бактериялар. (лот. *Bacteria*), қадимги юнон тилида. *βακτήριον* — «таёқча») маъносини билдиради — прокариот микроорганизмлар домени. Бактерияларнинг бўйи одатда бир неча микрометрга етади, уларнинг хужайралари турли шаклларга эга бўлади: юмалоқ, таёқчасион, спирал ва ҳ.к.

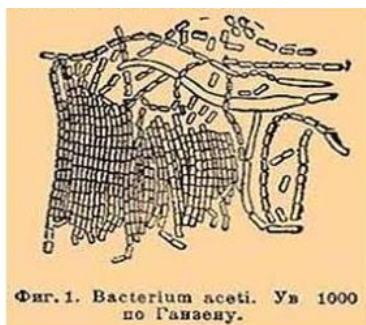
1

¹ **Domen** ([ingliz](#) *domeni* , [lot.](#) *Regio*) yoki **олам** , [biologik sistematikada](#), bu bir yoki bir nechta [kigik](#) olamni o'z ichiga olgan tizimdagi organizmlar guruhlanishining eng yuqori darajasi



11-расм. Бактерияларнинг шакллари (юмалоқ, таёқчасион, спирал шаклли бактериялар).

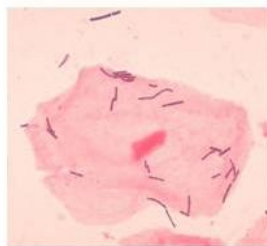
Сирка кислота ҳосил қилувчи бактериялар *Gluconobacter* ва *Acetobacter* туркумига мансуб грамманфий бўлиб, этанолни сирка кислотасига, сирка кислотасини углерод икки оксиди ва сувгача қайтарилишида иштирок этади.



<https://ru.wikipedia.org/wiki/Acetobacteraceae>
e

12-расм. Сирка кислотаси ҳосил қилувчи бактерия *Bacterium aceti*

Сут кислотасини ҳосил қилувчи бактерияларга граммулбат, спора ҳосил қилмайдиган, кислородга нисбатан таъсирчан бўлмаган *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ва *Streptococcus* туркуми вакиллари мисол бўлади.



http://cyclowiki.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B9%D0%B:3431410_com_lactobacillus_.jpg

13-расм. Сут кислотасини ҳосил қилувчи бактериялар.

Актиномицетлар, қатъий аэроблар бўлиб, (қадимги эскирган номи *нурли замбуруғлар*; лот. *Actinomycetales*) — таракқиётининг баъзи босқичида шохланаган мицелий ҳосил қилиб, мицелий²си улар учун қулай яшаш шароитида юзага келади.

Қаттиқ озуқа муҳитларида ўстирилганда актиномицетлар ҳаводаги гифалари конидиоспора занжирчаларига дифференциацияланадиган (ихтисослашадиган) жуда ингичка мицелийларни ҳосил қилади.

Баъзи тадқиқотчилар актиномицетларнинг бактерияларга мансублигини таъкидлаб, уларнинг замбуруғга хос мицелийси диаметри 0,4—1,5 мкм бўлган ингичка ип сифатида таърифлайдилар. Актиномицетлар хужайра девори кислотага чидамли (ингл. *acid fast*) типига эга, улар Грам² бўйича яхши бўйлиб,граммусбат бўлса ҳам, структураси жиҳатидан грамманфийга яқин туради.

Актиномицетларнинг *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura* туркумлари ёмғир чувалчанги, термитлар ва бошқа умуртқасизлар ичагининг доимий вакиллари ҳисобланади. Улар целлюлоза ва бошқа биополимерларни парчалаб, улар билан симбиоз ҳаёт кечиради. *Nocardia*, *Rhodococcus* каби вакиллари нефть углеводородларини

² **Gram** usuli - tadqiqot uchun mikroorganizmlarni bo'yash usuli, bu bakteriyalarni hujayra devorining biokimyoviy xususiyatlari bilan farqlashga imkon beradi. 1884 yilda daniyalik shifokor Xans Kristian Gram tomonidan taklif qilingan.

Gramga ko'ra bakteriyalar anilin bo'yoqlari - gentsian yoki metil binafsha va boshqalar bilan bo'yaladi, so'ngra bo'yoq yod eritmasi bilan fiksatsiya qilinadi ko'k bo'yalgan va qalin hujayra devori mavjud bo'lishi **gramm** - **musbat** bakteriyalar (**Gramm (+)**) va yuvilganda rangsizlanadigan yupqa hujayra devorilari - **gramm-manfiy**, **Gram (-)** deb belgilanadi.

ўзлаштира олади. Актиномицетларнинг ўзига хос хусусияти уларнинг физиологик фаол моддалар – антибиотиклар, пигментлар, ҳидли бирикмалар синтез қилиши билан боғлиқдир. Айнан уларнинг (моддалари геосмин, аргосмин, муцидон, 2-метил-изоборнеол) таъсирида тупроқ, баъзан сувнинг ўзига хос ҳиди шаклланади. Актиномицетлар антибиотикларнинг фаол продуцентлари бўлиб, фанга маълум бўлган антибиотикларнинг қарийб ярмини ҳосил қилади.

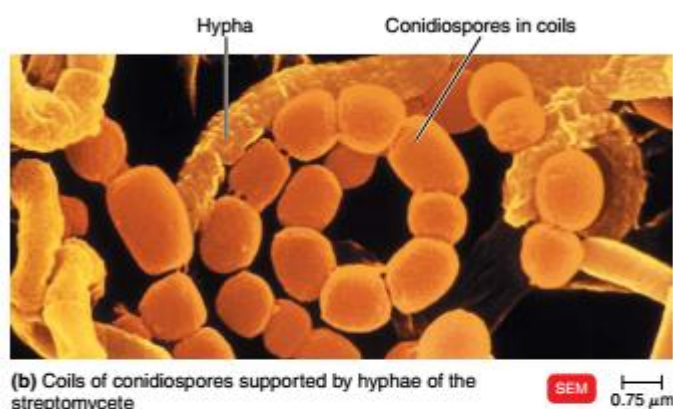


Figure 11.25 *Streptomyces*.

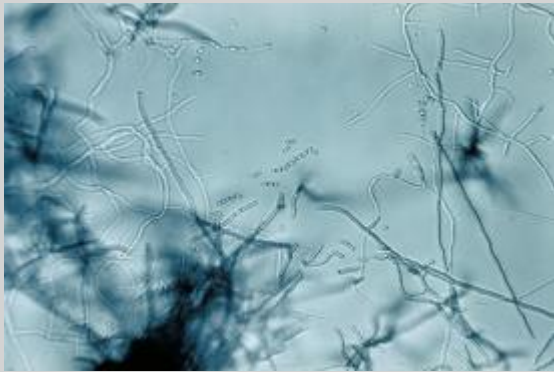
Q Why is *Streptomyces* not classified with fungi?



Figure 11.26 *Actinomyces*. Notice the branched filamentous hyphae.

Q Why are these bacteria not classified as fungi?

15-рasm. Баъзи актиномицетларнинг тузилиши



Streptomyces sp.

Илмий классификацияси

Домен: Бактериялар

Тип: Актинобактериялар

Синф: Актинобактериялар

Тартиб: **Актиномицетлар**

Халқаро номи

Actinomycetales BUCHANAN 1917

emend. ZHI ET AL. 2009

Замбуруғлар (лот. *Fungi* ёки *Mycota*) — тирик организмлар дунёси, эукариот организмларга бирлаштирилади, баъзи хусусиятлари ўсимликларга ва ҳайвонларга ҳам ўхшаб кетади. Замбуруғлар биологик ва экологик жиҳатдан жуда турли тумандир. Бу организмларнинг ер юзидаги сони замонавий ҳисоб-китобларга қараганда 100 дан 250 минггача, баъзи маълумотларга кўра 1,5 миллионгача замбуруғ турлари мавжуд.

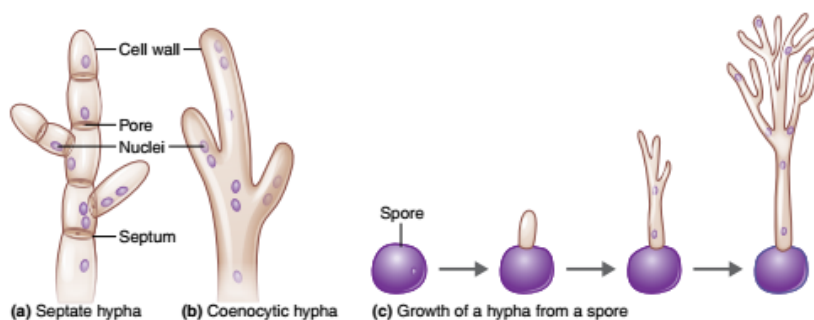
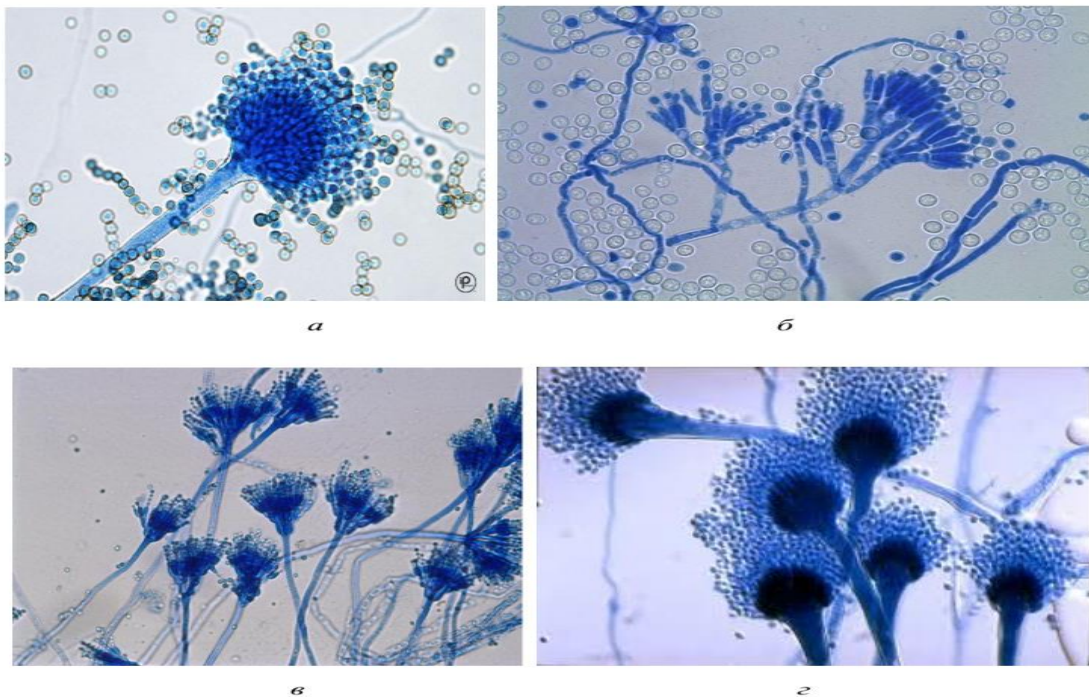


Figure 12.2 Characteristics of fungal hyphae. (a) Septate hyphae have cross-walls, or septa, dividing the hyphae into cell-like units. (b) Coenocytic hyphae lack septa. (c) Hyphae grow by elongating at the tips.

Q What is a hypha? A mycelium?



16.расм. Турли синфларга мансуб замбуруғларнинг морфологик хусусиятлари

a. Mucor. б. Penicillium. в. Aspergillus. г. Alternaria

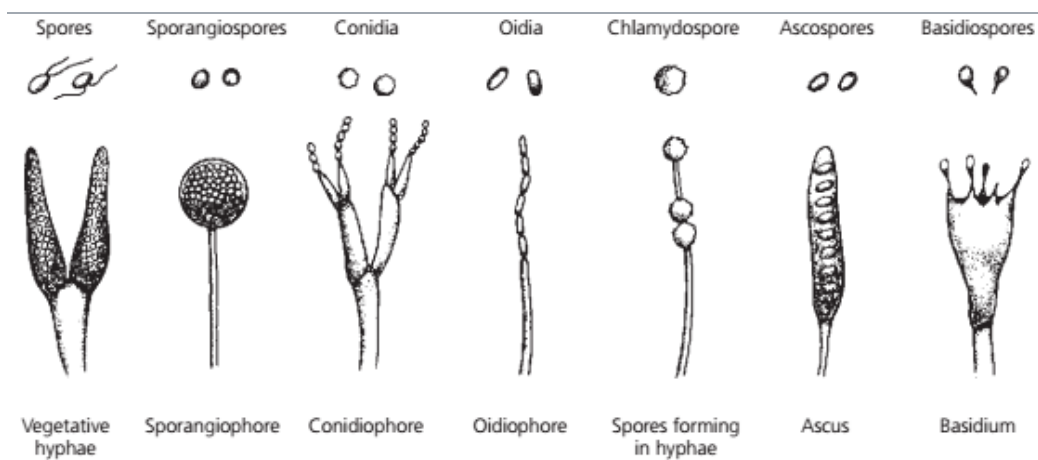


figure 36.1 Spore and sporangia types

17-расм. Замбуруғлар спорасининг кўриниши.



Colony of *Aspergillus niger*



Colony of *Penicillium chrysogenum*

18-расм. Замбуруғлар колониясининг умумий кўриниши.

Классификацияси. Замбуруғларни классификация қилишда уларнинг кўпайиш усули асос қилиб олинади:

Хитридиомицетлар (*Chytridiomycota*) — кўп ядроли синцитий (плазмодий)га эга, ҳужайра девори йўқ, вегетатив кўпайиши аниқланмаган, бир хивчинли зооспорали, жинсий спора бериши мавжуд эмас, гаметалари ҳаракатчан, изоёки гетерогамия, барча вакиллари паразитлар.

- Зигомицетлар (*Zygomycota*) — гаплоид синцитий (баъзан унча кўп бўлмаган микдордаги тўсиқлари) бўлиб, тубан тузилганларида протоплазманинг ялонғоч юмалоқчаси амёбоид шаклида ёки ризоидлари мавжуд битта ҳужайра шаклида бўлади, ҳужайра деворида хитиндан ташқари пектин ҳам кўп бўлади, куртакланиш хусусиятига эга, жинссиз кўпайиши спорангиоспоралар, зигогамия йўли билан амалга ошади.
- Аскомицетлар (*Ascomycota*) ёки *халтачали замбуруғлар* — яхши тараққий этган, кўп ҳужайрали гаплоид мицелийга эга, куртакланиш ва склероций, конидиялар ҳосил қилиш хусусияти мавжуд, аскоспорали халтачалар ҳосил қилиб гаметангиогамия йўли билан кўпаяди.
- Аскомицетлар энг кўп тарқалган замбуруғлар бўлиб, 32000дан ортиқ тур (фанга маълум бўлган барча замбуруғларнинг ~30 %) ни ташкил этади. Улар турли-туманлиги билан ажралиб туради, улар орасида куртакланадиган

микроскопик шаклдагидан тортиб, жуда катта мева танага эга турлари ҳам топилади.

- Базидиомицетлар (*Basidiomycota*) — кўп хужайрали, одатда дикариотик (икки ядроли мицелийга эга, хламидоспоралар ҳосил қилиши мумкин, базидиоспорали базидиялар ҳосил қилиб, соматогамия ёки автогамия йўли билан кўпаяди, ,
- Ушбу гуруҳга инсон томонидан истеъмол қилинадиган ҳамда заҳарли замбуруғлар, кўплаб маданий ва ёввойи экинларнинг паразитлари ҳам киради. Жами 30 000 дан ортиқ тури бор.
- Дейтеромицетлар (*Deuteromycota*) ёки такомиллашмаган замбуруғлар (*Anamorphic fungi*) —мазкур гетероген гуруҳга тараққий этган мицелийга эга, мицелийсининг бир қисми ёки конидиялари билан кўпаядиган, ва ҳозирги вақтга қадар номаълум бўлган жинсий кўпайиш йўли билан кўпаядиган замбуруғлар киради. 30000 га яқин тури мавжуд.

Аско-, базидио- ва дейтеромицетларни Юксак замбуруғлар гуруҳига киритилади. (*Dikarya*).

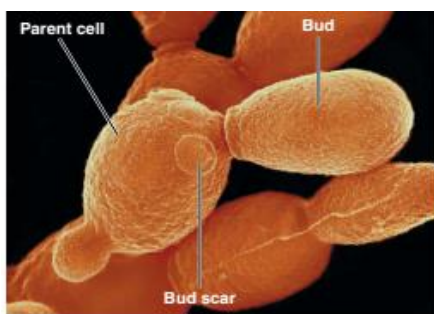
2000-йилларда зиго- ва хитридиомицетларнинг бир неча таксонлари мустақил бўлимларга ажратилган:

- *Blastocladiomycota*;
- *Glomeromycota*;
- *Neocallimastigomycota*,

Замбуруғлардан биотехнология саноатида кенг фойдаланилади. Айниқса, лимон кислотасининг биологик синтезида замбуруғлардан кенг фойдаланилади.

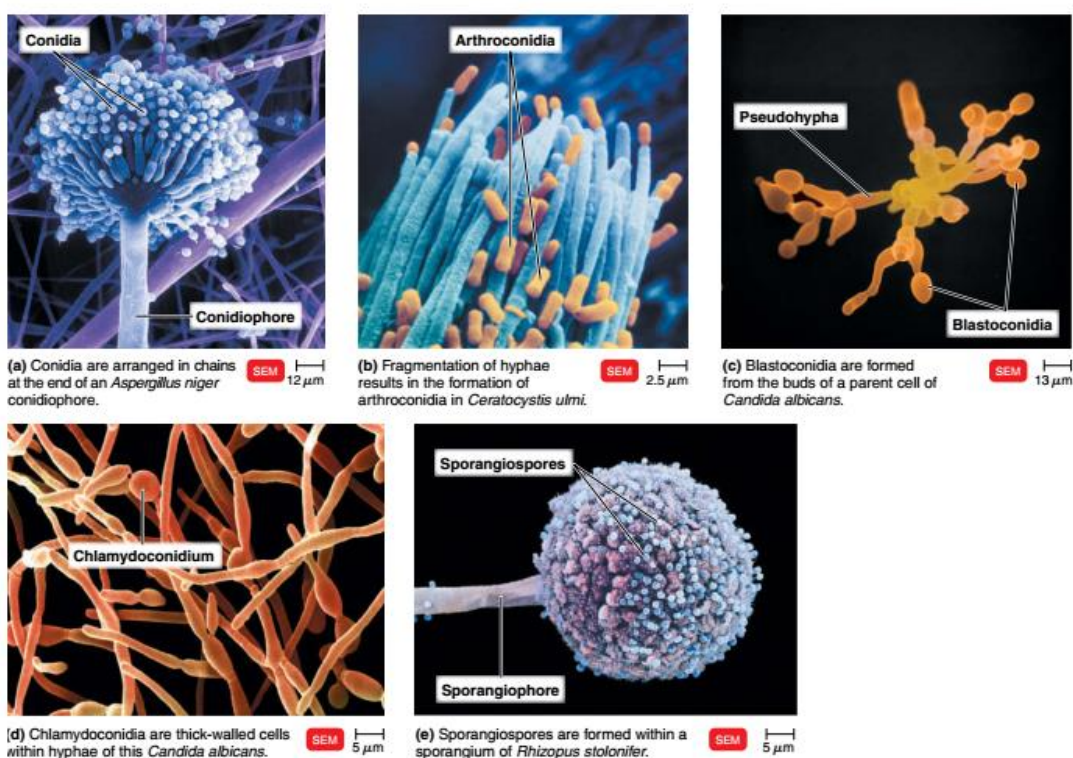
Ачитқилар

Ҳозирга қадар фанга маълум бўлган ачиткиларнинг *Saccharomyces cerevisiae* туридан инсонлар ҳаётида жуда қадимдан фойдаланиб келинади.



19-расм. *Saccharomyces cerevisiae* ачитки замбуруғининг микроскопик кўриниши.

Расм.



20-расм. Ачиткиларнинг тузилиши.

Штаммларга қўйиладиган талаблар:

- Арзон озуқа муҳитларида ўсиши, ўсиш тезлиги ва мақсадли маҳсулот ҳосил қилиш тезлигининг юқори бўлиши,
- Ножўя маҳсулотларнинг ҳосил бўлиши минималлиги, ишлаб чиқариш шароитларида барқарорлиги ,

- Маҳсулот берувчи штамм (продуцент) ва мақсадли маҳсулотнинг инсон ва атроф муҳит учун зарарсизлиги.
- Шу нуқтаи назардан саноатда ишлатиладиган микроорганизмлар одам, ҳайвонлар ва атроф муҳитга зарарсизлигини тасдиқлаш учун кўплаб синовлардан ўтказилади.

Продуцентларнинг асосий хусусиятларидан бири уларнинг инфекцияларга чидамлилиги ҳисобланиб, бу штаммларнинг стериллиги ва фағларга бардошлилигини таъминлаш учун зарур бўлади. Ачитқиларни қуйидаги гуруҳларга бўлинади: **Аскомицетлар:** *Saccharomycotina*; *Taphrinomycotina*; *Schizosaccharomycetes* ҳамда **Базидиомицетлар:** *Pucciniomycetes*, *Sporidiales*¹ *Tremellomycetes*; *Cryptococcus*.

Биотехнологияда қўлланилиши

Саноат миқёсида спирт ишлаб чиқариш³

Биотехнологияда спирт ишлаб чиқариш учун *Saccharomyces* замбуруғлари гемицеллюлозанинг мономерларидан бири - ксилоза ҳосил қилиш учун генетик модификация қилинган бўлиб, целлюлоза билан бирга анча миқдорда гемицеллюлоза сақловчи ўсимлик хом ашёсидан этанол ажралиб чиқишини оширишга сабаб бўлган. Бу этанолнинг нархини тушириш ҳамда углеводородли ёқилғи билан рақобатда ҳолатини яхшилашга хизмат қилади.

Озуқа ва ем ачитқилари

Ачитқилар оқсилга бой бўлиб, ачитқиларда уларнинг миқдори 66% гача, бунда 10% га яқин массасини алмашиниб бўлмайдиган аминокислоталар ташкил этади.

Ачитқи биомассаси қишлоқ хўжалик чиқиндиларида, ёғоч гидролизатларида олиниши мумкин. Ачитқи биомассасини олиш учун қулай шароит об-ҳаво талаб этилмайди. Шунинг учун ачитқиларни ишлаб чиқариш

³ Спиртли бижғиш — моддалар алмашинуви жараёнларининг бир тури, баъзи ачитқилар (*Saccharomyces*) таъсири натижасида углеводлар (қандлар)нинг сувли эритмасидан этанол ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) ҳосил бўлиш жараёни (ферментация) ҳисобланади.

инсон ва қишлоқ хўжалик ҳайвонлари, озукасини бойитиш учун фойдали ҳисобланади. Ачитқиларни колбасага қўшиш 1910 йилдан бошлаб Германияда қўлланилиб келинган. Ачитқилар асосида Ғарбда Vegemite, Marmite, Cenovis каби маҳсулотлар ишлаб чиқарилади. Ачитқи экстрактларини олиш учун ачитқиларнинг автолизатлари ишлатилади.⁴ Уларни таъм берувчи озиқ-овқат қўшимчалари сифатида ишлатилади.

Шунингдек дезактивирланган (иссиқлик билан ишлов бериш натижасида нобуд қилинган), лекин парчаланмаган озуқа ачитқилари, юқори миқдорда оксил ва витаминлар (айниқса, В гуруҳи витаминлари) га бой ва жуда кам миқдорда ёғ сақловчи, баъзилари бактериялардан олинадиган В₁₂ витамини билан тўйинтирилган турлари кенг қўлланилади.

• Бундан ташқари *Saccharomyces*. авлоди ачитқилари цитология, биокимё, эукариотлар генетикасида модель сифатида қўлланилиб келади. Айниқса, митохондрийлар биогенезини ўрганишда муҳим бўлиб, улар фақат гликолиз жараёни ҳисобига мавжуд бўла олиши, ҳужайраларнинг нормал тараққиётига таъсир этадиган митохондрияларнинг геномидаги мутациялари ҳисобига нобуд бўлмаслиги уларнинг бошқа организмларга нисбатан афзаллигига олиб келди. Генетик тадқиқотларда эса уларнинг ҳаёт циклининг жуда қисқа давом этиши муҳим омил бўлиб, кўплаб нусхалари ва авлодларини тез олиш мумкинлиги ноёб ҳодисаларнинг сирини очишга хизмат қилади.

Ҳужайралар культураси

Ҳужайралар культураси деганда кўпинча икки хил ҳайвон ва ўсимликлар ҳужайра культуралари тушунилади. Ҳайвон ҳужайралари дастлабки ва кўчириб ўтказилган ҳужайралар культураларига бўлинади. Ҳайвонларнинг дастлабки культуралари тўқималари деб эксплантдан

⁴ Ачитқи автолизатини олишда ҳужайраларни парчаланади, ҳужайра оксиллари эса ҳужайранинг ўзининг ферментлари иштирокида лизисга учраб, осон ўзлаштириладиган шаклга келади.

⁵ажратиб олинган ва озуқа муҳитларига трансплантация йўли билан ёки усиз кўчириб ўтказилаган тўқималарига айтилади. Одатда улар соғлом тўқималардан олинадилар, кўпайиш хусусияти чекланган бўлади, уларни муайян вақт оралиғидагина сақлаб туриш имкони мавжуд (кун, ҳафта) бўлиб, шундан кейин ҳужайра нобуд бўлади ёки кўчириб ўтказиладиган линияни клонлаш учун ишлатилади.

Кўчириб ўтказиладиган культураларни, одатда, чексиз бўлиниш (пролиферация) хусусиятига эга ўсма ҳужайраларидан олинадилар.

Ҳайвон ҳужайраларидан фарқли равишда ўсимлик ҳужайралари культуралаш шароитларига кам талабчан бўлади. Натижада генотипик жиҳатдан бир хил ўсимликлар олинадилар. Ўсимликлар тўқимаси . нисбатан қисқа вақт давомида, чегараланган жойда кўплаб ўсимлик популяцияларини олиш имконини беради. Бундай популяцияларда мутантлар олиш мумкин бўлиб, уларни селекцион мақсадларда қўллаш мумкин бўлади.

Ўсимлик тўқималари культураси кўплаб кимёвий бирикмалар - алкалоидлар (кодеин, хинин, дигоксин), флавоноидлар (кверцетин, рутин) ва инсектицидлар (пиретрин), ароматик бирикмалар ва бошқаларнинг манбаи бўлиб ҳисобланади.

Сувўтлар

Сувўтлар, асосан, оқсил олишда ишлатилади. Хлорелла (*Chlorella*) – оч-яшил бир ҳужайрали сув ўти бўлиб, турли хил экологик шароитларда яшайди. Ҳужайралари майда, юмалоқ, қўнғироқчасимон хромотофорга эга. 1 метр квадрат сув ҳавзасида 70 граммгача қуруқ масса бера олади. Қуруқ моддаси таркибида 40% гача оқсиллар, углеводлар, мойлар, В, С, К витаминлари учрайди.

Анабена (*Anabaena*) – ипсимон кўк-яшил сувўти ҳисобланади.

⁵ Eksplantat - bu ona o'simlik tanasidan ajratilgan hujayralar guruhi. U o'simliklarning mikroklonal ko'paytirish bilan bog'liq biologik tadqiqotlarda qo'llaniladi. Ikki pallali o'simliklarda eksplantslar, masalan, gipokotillarning qismlari, poyalari, ildizlari, urug'pallalariichanghilari va boshqalar bo'lishi mumkin.



21-расм. Сувўтларининг кўриниши. 1 - *Synechococcus aeruginosus*; 2 - *Dactylococcopsis raphidioides*; 3 - *Merismopedia glauca*; 4 - *Microcystis aeruginosa*; 5 - *Gloeocapsa turgida*; 6 - *Gomphosphaeria aponina*; 7 - *Chamaesiphon curvatus*; 8 - *Stigonema ocellatum*; 9 - *Nostoc pruniforme*; 10 - *Anabaena hassalii*; 11 - *Aphanizomenon flos-aquae*; 12 - *Tolypothrix tenuis*; 13 - *Calothrix gypsophila*; 14 - *Oscillatoria chalybea*; 15 - *Lyngbya confervoides* (<https://reki.volga.news/article/439268.html>).

Барча кўк яшил сувўтлари (ёки цианобактериялар) азотни ўзлаштириш қобилиятига эга, бу эса уларни истикболли оксил продуцентлари бўлишига сабаб бўлади. Сувўтлар, шунингдек, углеводлар ва ноёб кимёвий моддаларнинг манбаи сифатида хизмат қилиши мумкин. Кенг тарқалган (мўътадил ва тропик минтақаларнинг чучук ёки шўр сувларида яшовчи) яшил сувўтларида углеводород микдори яшаш шароити ва турига кўра куруқ массасининг 75% ни ташкил этиши мумкин. Улар хужайра ичида тўпланиб, хужайра ичида моддаси кўп бўлган сувўтлар сув юзасига қалқиб чиқади. Сувўтлар йиғиб олингач, мазкур углеводородларни бирон бир эритувчи билан экстракция ёки деструктив

хайдаш йўли билан ажратиб олинади. Бу йўл билан дизел ёқилғиси ва керосинга ўхшаш моддаларни ажратиб олиш мумкин.

Вируслар

Вируслар (лот. *virus* — захар) — фақатгина тирик ҳужайраларда кўпайиб, ўсимлик, ҳайвон ва одамда юқумли касаллик қўзғатувчи микроорганизмлардир. Ўтмишда вирус термини ҳар хил касаллик қўзғатувчиларга, айниқса номаълум агентларга нисбатан қўлланилган. Француз олими Л. Пастер бир қанча касалликларнинг келиб чиқишида бактерияларнинг ролини исботлаб берганидан сўнг В. тушунчаси "микроб" сўзининг синоними сифатида қўлланила бошланди. Касаллик қўзғатувчи бу икки гуруҳ агентлари, яъни бактериялар билан В. ўртасидаги муҳим фарқ рус олими Д. И. Ивановский (1892) ва кейинчалик бошқалар тамаки мозаикаси ҳамда жуфт туёқли ҳайвонларнинг оқсил касаллигини қўзғатувчилари бактериал сузғич (филтр)дан ўтишини исботлагач, аниқланди.

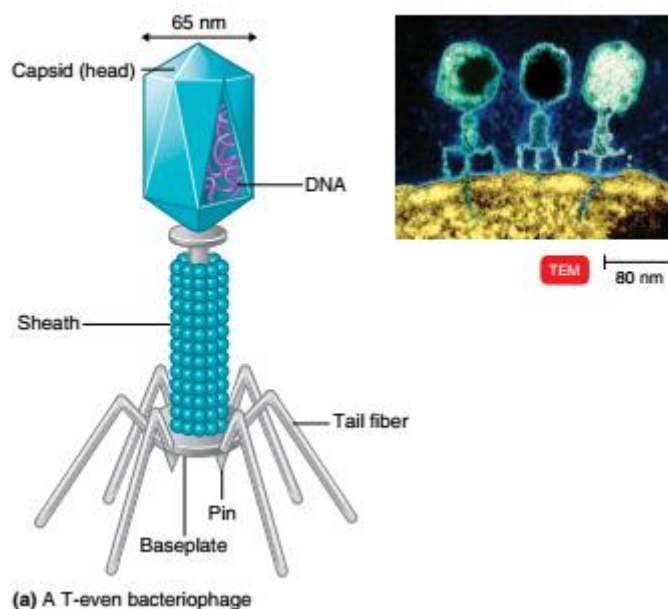
В. табиатда кенг тарқалган, одам, ҳайвонлар ва ўсимликларда ҳар хил оғир касалликларни пайдо қилади. Улар махсус тарқатувчи ёки механик йўл билан тарқалади. Кўпчилик вируслар йиллаб тириклик хусусиятини йўқотмайди, қулай шароитга (тирик ҳужайрага) тушиб қолиши билан касаллик қўзғата бошлайди. Миллионлаб вирус молекулалари йиғиндиси микроскоп остида кристаллар ёки Х-таначалар шаклида кўринади. Касаллик ҳолатини қўзғатиш хусусияти, касаллик қўзғовчи бошқа агентларга нисбатан жуда кичиклиги ва одатдаги сунъий озукали муҳитда ривожланмаслиги вирусларнинг ўзига хос хусусиятидир. Фақат баъзи бактериофаглар бундан мустасно, уларни лаб. шароитида кўпайтириш мумкинлиги исботланган. Уларнинг диаметри 10—300 мкм. Таёқча, шар ёки ипсимон шаклда бўлади. Ўсимлик ва ҳайвонларда касаллик қўзғатувчи кўпгина вируслар юмалоқ шаклда. Бугдой ва беда мозаикаси вируслари ташқи кўриниши билан бактерия таёқчаси ёки ўққа ўхшайди. Вируслар тузилишини электрон микроскоп ва рентгенда тадқиқ қилиш орқали баъзи нозик таркибий қисмлари аниқланган. Уларнинг ҳаммасида ички модда, асосан нуклеин

кислотадан иборат бўлиб, у оксил қобиқ билан ўралган. Бир неча тур вирусларнинг кимёвий таркиби ўрганилган, холос. Вирусларнинг тузилиши ҳам оддий бактерияларники каби мураккаб. Унинг таркибида нуклеопротеинлар, углеводлар ва липоидлар бор. Нуклеин кислотаси дезоксирибоза шаклида, липоидлар гуруҳи эса холестерол, фосфолипид ва нейтрал мой кўринишида учрайди. Фитопатоген Вируслар таркибида рибонуклеин кислота (РНК), ҳайвон ва одамларда касаллик қўзғатувчи В.да эса РНК ёки ДНК (дезоксирибонуклеин кислота) бор. Баъзи вируслар тозаланган препаратлар ҳолида олиниб, уларнинг бир қисми тоза ҳақиқий кристаллар (мас., тамаки некрозининг вируси), бошқалари эса суюқ кристаллар (мас., тамаки мозаикаси ируси) ёки шаклсиз чўкмалар ҳосил қилади. Вирусларни ажратиб олиш ва тозалаш учун ультрацентрифугаланади, турли хил физик-кимёвий усуллардан фойдаланилади.

Вируснинг таснифи (классификацияси) ва уларни фойдалайдиган белгилар ҳали қабул қилинмаган. Уларга ҳам худди ҳайвонлар ва ўсимликларга бериладиган тур ва туркум номи берилади, халқ фойдалари, ҳар хил қисқартмалардан фойдаланилади, касалланувчи организмнинг туркум номи билан аталиб, ёнига рақам қўйилади ёки вирус морфологик, кимёвий хоссалари ва репродуктив хусусиятларига биноан уруғ ва оилаларга бирлаштирилади. В. уруғининг латинча номига вирус сўзи (мас., *Enterovirus*), оиласи номига *viridae* сўзи қўшилиб ёзилади.

В. организмга ҳар хил йўллار билан киради, масалан, вирус ўсимлик хужайраларига четдан фақат улар шикастланганида кириши мумкин. Вирус билан зарарланган ўсимликлар, одатда, бутун ҳаёти давомида инфекция ўчоғи бўлиб қолади. Вирус экологик, биологик ва бошқа омиллар таъсирида вужудга келадиган кучли ўзгарувчанликка эга. Вирус табиатда кенг тарқалган бўлиб, улар жуда кўп хўжайинга эга. Асосан, сўрувчи ҳашаротлар, каналар ва нематодалар билан тарқалади.

Вируслар генетик муҳандислик амалиётларида (лямбда фаглар), оксил инженерлигида кенг қўлланилади.



22-расм. Бактерифаг (вируси) нинг тузилиши.

Ўсимликлар

Сув қирқбўғими - азолла қимматли азотли ва органик ўғит сифатида қадрланади. У кўк -яшил сув ўти анабена билан симбиоз ҳаёт кечиради. Бу симбиоз анабена-азолла организмнинг вегетатив массасида кўп миқдорда азот тўпланади. Анабена-азоллани шоли майдоналарида шоли экишдан олдин қўлланилади, бу эса минерал ўғитлар сарфини камайтириш имконини беради.

Legnaseae оиласи вакиллари энг майда ва тузилишига кўра содда гулли ўсимликлар бўлиб, катталиги камдан-кам ҳолларда 1 смдан ошади. Улар чорва моллари, ўрдак ва бошқа сувда сузувчи паррандалар учун ем-хашак сифатида хизмат қилади. Уни яшилликча ёки қуритилган шаклда қимматли оксил манбаи сифатида паррандалар, баликлар, ондатралар учун ем сифатида ишлатилади. Шунингдек уй ҳайвонлари учун озуқа сифатида ҳам қўлланилади. Улар таркибида протеин миқдори юқори (қурук

массасига нисбатан 45% гача), углеводлар 45 % гача, мойлар (5%) ва бошқа моддалар ҳамда клетка мавжуд бўлиб улар жуда юқори биологик маҳсулдорликка эга.

Сўнгги йилларда ряскалилар физиологик, биокимевий, генетик тадқиқотлар учун модель объекти сифатида ишлатилмоқда. Ряскалилар сувда хлор мавжудлигига ўта таъсирчан бўлиб, озгина микдордаги хлорнинг эритмада бўлиши уларнинг ўсиши тўхташига ва малларанг майда нуқталар билан қопланишига сабаб бўлади. Бу эса уларнинг сувда эриган хлорнинг биоиндикациясида қўлланилиши учун омил бўлиб хизмат қилмоқда.

III. БОБ ГЕН МУҲАНДИСЛИГИНИНГ МОДДИЙ АСОСЛАРИ

Молекуляр генетика ва молекуляр биология ген муҳандислигининг асосий пойдевори

Ген муҳандислигининг келиб чиқиши молекуляр биологиянинг тараққиёти билан боғлиқ. Бу соҳада олиб борилган сўнгги йиллардаги тадқиқотлар ҳужайранинг тузилиши ва вазифаларини изоҳлашдан ўтиб, уларда кечадиган жараёнларнинг молекуляр механизмларини органеллалар даражасида аниқлаш имконини беради.

Ўтган асрнинг 60-йиллари охирида қўплаб тадқиқотчилар асосий генетик жараёнлар - репликация, транскрипция, трансляция ва уларни бошқариш тизимлари молекуляр механизмлари деярли ўрганиб бўлинди, молекуляр биологиянинг устқурмаси, мантикий иморати қуриб бўлинди, деб тахмин қилишган. Генетик ахборотнинг бир томонлама схемасини ифодаловчи ДНК→РНК→оқсил тартиби молекуляр биологиянинг асосий ақидаси ҳисобланган ва қурилган иморатнинг мустаҳкамлигидан далолат берган. Бу схеманинг асосий ҳолати ичак таёқчаси бактерияси *Esherichia coli* (*E. coli*) учун кўрсатиб берилган бўлиб, у ҳақиқий ядроси бўлмайдиган прокариот организм ҳисобланади. Бироқ схеманинг мантикийлиги ва соддалиги уни барча тирик мавжудотлар, жумладан, ядрога эга эукариот организмлар: одам

ва ҳайвонлар учун ҳам қўллаш мумкин, деган фикрга олиб келган. Бу рўйхатга мезокариотлар (*Mezokaryotes*), замбуруғлар (фунги), ўсимликлар (*planta*) ва ҳайвонлар (*animalea*) киритилган. Прокариот организмлар молекуляр биологиясининг шубҳасиз муваффақиятига қарамасдан, юксак организмлар геномини таҳлил этиш қийин кечди. Хужайранинг умумий биокимёвий хусусиятларини ўрганиш генетик ташкилланишнинг барча деталларини аниқлаш имконини бермади. Эукариот организмларнинг геноми жуда катта бўлиши ва улар устида тажрибалар олиб боришнинг ўта мураккаблиги бунга сабаб бўлди. Бунинг учун энг оддийси ДНК ни бўлакларга бўлиб “қирқиш”, дуч келган жойидан эмас, балки муайян аниқ жойидан, ҳар битта нуклеотидга қадар аниқликда амалга ошириш лозим эди. Бу борада яна бошқа муаммо - ДНК таркибидаги нуклеотидлар кетма-кетлигини аниқлаш имкони мавжуд эмаслиги келиб чиқди. Шунинг учун бирорта ҳам ген аниқланмади. Бундай муаммонинг келиб чиқишига сабаб, ҳатто, энг оддий организмлар ҳам ДНК нинг жуда узун молекуласи (масалан, ичак таёқчаси геноми $4,2 \times 10^6$ нуклеотид жуфт – н.ж.) дан тузилган. Юксак организмлар - эукариотлар, жумладан, ўсимликлар ва сут эмизувчилар геноми 10^9 - 10^{11} н.ж. дан иборат. Умуман, геномда бир неча ўн минглаб генлар жойлашади.

Ҳозир ген муҳандислиги реципиент (генни қабул қилиб олувчи организм) ядро аппаратида ушбу организмга тегишли бўлмаган нафақат алоҳида янги генлар ва регулятор (бошқарувчи) кетма-кетликларни киритиш, балки яхлит хромосомалар, алоҳида органеллаларни кўчириб ўтказиш ёки хужайраларни бир-бирига қўшиши орқали организмларнинг янги шакллари олиш имконини беради.

Молекуляр биологиянинг ривожланиш тарихи

Генни (ирсиятни функционал бирлиги) бир организмдан бошқа организмга ўтказиш стратегияси 1973- йилда америкалик олимлар Стенли Коэн ва Герберт Бойер томонидан яратилган.

Бу олимлар рекомбинант ДНК яратиш технологияси, келажакда катта имкониятлар очиб беришини олдиндан башорат қилганлар.

Ўша даврдаёқ, Стенли Коэн, “..... *E.coli* (бактерияларни хужайралари)га бошқа биологик туркумга хос бўлган, масалан фотосинтез ёки антибиотик синтез қиладиган генларни кўчириб ўтказиш имкониятлари пайдо бўлса ажаб эмас” – деган эди.

Аммо, янги технологияга нисбатан намоён бўлган биринчи муносабат, бундай ишларни баъзи бирларини тўхтатиб қўйишга ҳам олиб келган. Бунга сабаб, уларни “ўта хавфли” деб ҳисоблаганлиги билан боғлиқ бўлган.

Хатто, ўша даврнинг энг йирик олимлари, жумладан Коэн, Бойер каби кучли молекуляр биолог олимлар ҳам ўз ишларини тўхтатиб қўйганлар.

Уларда, “икки ҳар хил организмлардан олинган генларни бирлаштирилиши, тўсатдан хавфли ёки керак бўлмаган хусусиятларга эга бўлган янги организмни пайдо бўлишига олиб келиши мумкин” деган фикрлар пайдо бўлган.

Йиллар ўтиб, олимларда янги технологияни яратиш бўйича тажрибалар тўпланиб, бундай тадқиқотларни хавфсизлигини таъминлаш бўйича (инструкциялар) йўриқномалар яратилиб, секин-асталик билан бу технологияга муносабат ижобий томонга ўзгариб борган. Аммо, ҳозиргача бу технологияга муносабат ҳар хиллигича қолиб келмоқда.

Коэн ва Бойер амалга оширган, генларни клонлаш ҳақидаги хабар тезгина бутун дунёга тарқалган. Кўп олимлар (тадқиқотчилар) тезкорлик билан бу стратегияни устуворлигини баҳолаб, жуда кўплаб методик қўлланмалар яратганлар. Бу қўлланмаларга риоя қилган ҳолда, катта самарадорлик билан генларни идентификация қилиш (аниқлаш), уларни ажратиш ва ишлатиш мумкин бўлган.

Бу технологик ишланмалар, биология фанининг деярли барча йўналишларини, жумладан ҳайвонларни хулқ-атворини ўрганиш ҳақидаги фан этология, ривожланиш биологияси, молекуляр эволюция, хужайра биологияси, инсон генетикаси ва бошқа фанларни тараққий этишига катта

ҳисса қўшдилар. Аммо, мана шу ривожланишлар орасида, биотехнология соҳасида ҳам чуқур ўзгаришлар амалга ошган.

Рекомбинант ДНК технологиясини ривожланиши билан, биотехнологиянинг имкониятлари ва уни табиати орқага қайтмас даражада ўзгарди. Биотрансформация босқичини тўғрироқ йўлдан оптималлаштириш имкониятлари пайдо бўлди. Эндиликда, юқори маҳсулдорликка эга бўлган штаммларни танлаб олиш эмас, уларни яратиш имконияти туғилди. Микроорганизмлардан ва эукариот организмларнинг хужайраларидан инсулин, интерферон, ўстириш гормони, вирусли антигенлар ва бошқа кўплаб оксил табиатли моддаларни ишлаб чиқара оладиган микроорганизмлар, тирик фабрикалар сифатида шаклландилар ва иқтисодий фойда берадиган бўлдилар.

Рекомбинант ДНК технологияси, катта миқдорда қимматбаҳо, паст молекулали моддалар ва хатто макромолекулалар олиш имкониятини берди. Ваҳоланки, бундай бирикмалар табиий шароитда, жуда кам миқдорда синтез бўлишлари мумкин халос.

Ўсимликлар ва ҳайвонлар табиий биореакторларга айландилар. Уларда янги ёки ўзгартирилган генларни маҳсулотлари, катта миқдорда синтез бўладиган бўлди. Ваҳоланки, бундай моддаларни ёки шундай катта миқдордаги моддаларни мутагенез ва селекция ёки чатиштириш йўллари билан ҳеч қачон олиш имконияти бўлмас эди. Ва ниҳоят мана шу янги технология, ҳар хил касалликларни диагностикаси ва даволанишини тубдан янги усуллари яратиш имкониятини берди.

Рекомбинант ДНК технологияси ва биотехнология фанларининг чегарасида, тадқиқотнинг янги, юқори рақобатга чидамли, динамик ўзгарувчан соҳаси-ген ва хужайра муҳандислиги пайдо бўлди.

Бу янги соҳа, ўз даврида молекуляр биологияга ўхшаш, жуда катта амбицияга эга бўлган, баъзида олдиға қўйган вазифа ва мақсадлари ҳозирча бор бўлган имкониятларга тўғри келмайдиган соҳадир.

Ген ва ҳужайра муҳандислигининг биотехнологик қисми, саноат микробиологияси ва кимёвий инженерликка асосланган бўлса, унинг молекуляр қисми-бактерияларни молекуляр генетикаси, молекуляр биология ва нуклеин кислоталарни энзимологиясига асосланган (1- жалвал). Биотехнология кенг маънода ген ва ҳужайра муҳандислиги ҳар хил фан соҳаларининг ютуқларидан фойдаланади ва улар асосида хилма-хил тижорат маҳсулотлари яратади (1.1-расм).

1.1-Жадвал

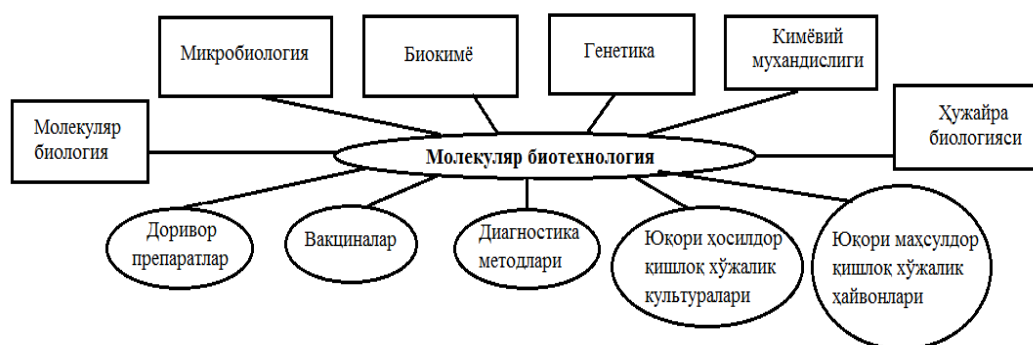
Ген ва ҳужайра муҳандислигининг ривожланиш тарихи

Сана	Биотехнологияга доир кашфиётлар
1917	Карл Эреки “биотехнология” атамасини киритди
1943	Саноат шароитида пенициллин ишлаб чиқарилган
1944	Эвери, Мак Леод ва Мак Картилар генетик материал ДНК дан ташкил топганлигини кўрсатдилар
1953	Уотсон ва Крик ДНК молекуласини тузилишини аниқладилар
1961	“Biotechnology and Bioengineering” журнали таъсис этилди
1961-1966	Генетик код ўқиб чиқилди
1970	Биринчи рестрикция қилувчи эндонуклеазалар ажратиб олинди, ДНК синтези амалга оширилди
1972	Корона ва бошқалар тРНКнинг тўлиқ ҳажмга эга бўлган генини синтез қилдилар
1973	Бойер ва Коэнлар рекомбинант ДНК технологиясига асос солдилар
1975	Колер ва Мильштейн моноклонал антителалар олиш усулини яратдилар
1976	Рекомбинант ДНК билан ишлашни тартибга солувчи 1- йўриқнома яратилди

1976	ДНК ни нуклеотид таркибини аниқловчи метод яратилди
1978	Genentech фирмаси <i>E.coli</i> ёрдамида инсон инсулинини ишлаб чиқарди
1980	АҚШнинг олий суди Даймондни Чакрабартига қарши ишини кўриб чиқди ва ген инженерлиги усулида олинган микроорганизм патентланиши мумкин деган қарор қабул қилди
1981	ДНКни биринчи автоматик синтезаторлари савдога чиқарилди
1981	Моноклонал антителаларни 1- диагностик тўплами АҚШда ишлатишга руҳсат этилди
1982	Рекомбинант ДНК технологияси асосида ҳайвон учун олинган биринчи вакцина Европада ишлатишга руҳсат этилди
1983	Ўсимликларни трансформацияси учун гибрид Ti-рекомбинант ДНК плазмидалар ишлатилди
1988	Ген инженерлиги методи асосида олинган шиш пайдо бўлиши кучайган сичқонлар линиясига АҚШ патенти берилди
1990	АҚШда инсоннинг соғлом хужайралари ёрдамида, генли даволашни режалари тасдиқланди
1990	“ Инсон геноми” лойихаси бошлаб юборилди
1994-1995	Инсон хромосомасининг батафсил генетик ва физик карталари чоп этилди
1996	1-рекомбинант оқсил (эритропоэтин)ни йиллик сотиш ҳажми 1 млрд доллардан ошиб кетди
1996	Эукариот микроорганизм (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) ни барча хромосомаларини нуклеотид кетма- кетлиги

	аниқланди
1997	Табақалаштирилган соматик хужайрадан сут эмизувчилар клонланди

Охирги йилларда генетиканинг янги тармоғи – *геномика* пайдо бўлди. Геномика алоҳида генни эмас, балки бутун геномни ўрганади. Молекуляр биология ва ген инженерлигини ютуқлари, инсонга аввал вирусларни, бактерияларни, замбуруғларни кейинроқ, кўп хужайрали ҳайвонларни генетик ахборотини ўқиб чиқишга имкон яратди. Масалан, патоген бактерияларни геномини структурасини билиш, юқори сифатли вакциналар тайёрлаш имконини беради. 2003-йил апрелида инсон геномини генетик харитасини тузувчи Халқаро Консорциум (Геномни Секвенлаш Маркази: Вашингтон университети ва Кембриждаги Сенгер маркази) АҚШ, Буюк Британия, Германия, Франция, Япония ва Хитой олимлари 10 йил давом этган тадқиқотлари натижасини-инсон геномини тўлиқ ўқиб чиқилганлигини чоп этди. Бу изланишнинг баҳоси 3 млрд долларни ташкил этди. Натижада юқори самарали технологиялар ва геномни харитасини тузувчи асбоблар яратилди.



23-расм. Биотехнологиянинг базаси ва маҳсулотлари (расм Б.Глик, Дж.Пастернакнинг “Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA, 4th Edition” (2009) дарслигидан олинган).

Секвенирлаш (ДНКни ташкил қилувчи асосларини кетма-кетлигини ўқиш) техникаси жуда ҳам тараққий этиб кетди. Масалан, кўп каналли томчи (капилляр) электрофорез, ДНКни бирламчи структурасини аниқлашни

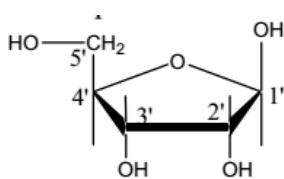
тезкор, самарали ва ва арзонлашган усуллари яратилди, ДНК нинг ўқиб чиқилган бўлагидаги генни топа оладиган компьютер дастурлари тузилди.

Ген муҳандислигининг моддий асослари

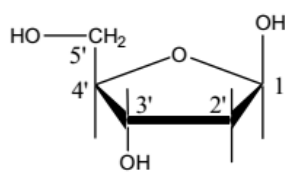
Ген муҳандислиги генлар устида турли хил муолажалар ўтказиш, керакли генларни қидириб топиш, уларни қирқиш, улаш, қўчириб ўтказишга асосланади. Ҳозирда ген муҳандислиги реципиент (генни қабул қилиб олувчи организм) ядро аппаратида ушбу организмга тегишли бўлмаган нафақат алоҳида янги генлар ва регулятор (бошқарувчи) кетма-кетликларни киритиш, балки яхлит хромосомалар, алоҳида органеллаларни қўчириб ўтказиш ёки ҳужайраларни бир-бирига қўшиши орқали организмларнинг янги шаклларни олиш имконини беради.

Ген муҳандислигининг асосий объекти нуклеин кислоталар – дезоксирибонуклеин кислотаси (ДНК) ва рибонуклеин кислотаси (РНК) ҳисобланади.

Нуклеин кислоталар юқори молекуляр полимерлар бўлиб, жуда кўп мономерлардан тузилган. Бу мономерлар нуклеотидлар деб аталади. Шунинг учун ДНК молекуласи полинуклеотид молекула деб ҳам аталади. Мононуклеотидлар фосфат кислотаси қолдиғи, моносахарид - рибоза ёки дезоксирибоза ва азотли асосдан ташкил топган.



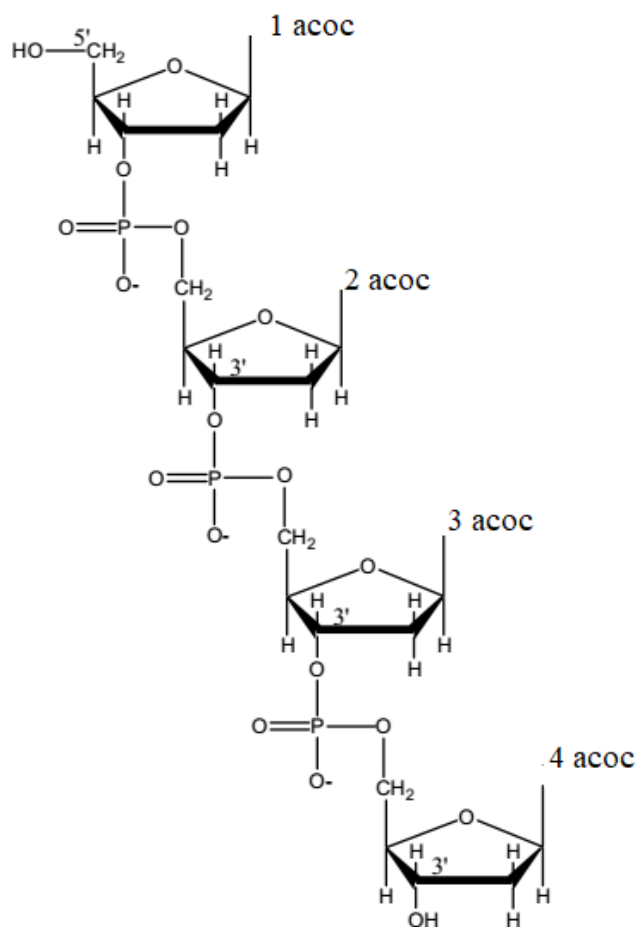
D-рибоза
(β-D-рибофураноза)
РНК таркибига киради



D-дезоксирибоза
(β-D-дезоксирибофураноза)
ДНК таркибига киради

ДНК нинг нуклеотидлардан ташкил топган полимери нуклеотид – 3 компонентдан: -пурин ёки пиримидин асослар; -5 углеродли циклик шакар; - фосфатдан ташкил топган. 5 углеродли углевод билан асос, ўзини n – гликозид боғи орқали боғланиб, нуклеозид ҳосил қилади. фосфат эса, углевод билан эфир боғи орқали боғланади ва нуклеотид ҳосил қилади. ДНК да 4 хилдаги нуклеотидлар бўлиб, улар азотли асослари билан бир-биридан фарқ

қилади. Бу асосларни 2 таси пурин – аденин ва гуанин (А ва Г) 2 таси пиримидан тимин ва цитозин (Т ва Ц) дан иборат.

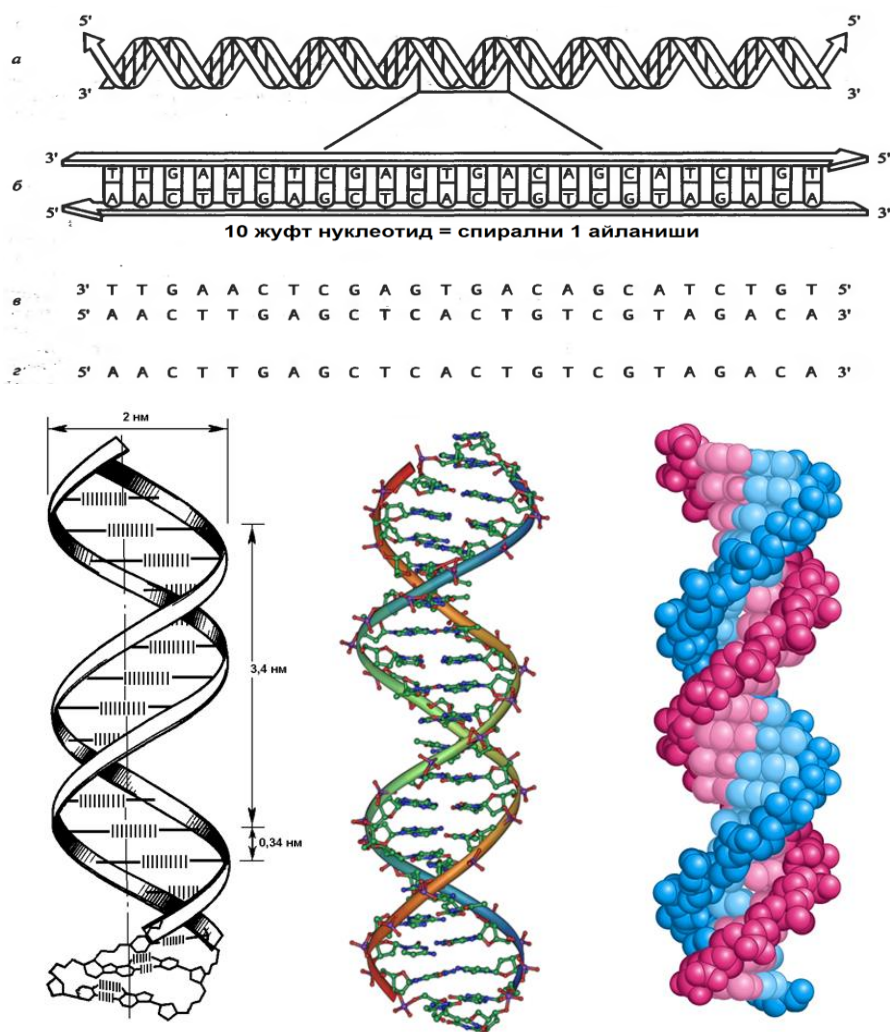


ДНК ни характерли хусусияти, унинг молекуласини 2 полимер занжирдан иборатлиги ва бу занжирни иккиламчи спирал ҳосил қилишидир.

ДНК молекуласининг қўш занжири унинг иккиламчи структурасини ва фазовий тузилиши учламчи структурасини ташкил этади. ДНК молекуласининг асосий физик хусусиятларига нуклеотид таркиби, эриш ҳарорати, сузиш зичлиги, циклик ёки циклик бўлмаган структураси, оптик зичлиги ва молекуляр массаси киради.

ДНК ўсимлик ҳужайрасида ядрога, хлоропласт ва митохондрияда жойлашган. Ҳайвон ҳужайрасида эса ядро ва митохондрияда учрайди. Бактерияларда ҳужайра ички мембраналари билан бириккан ҳолда, вирусларда эса оқсил қобиғи билан ўралган ҳолда учрайди.

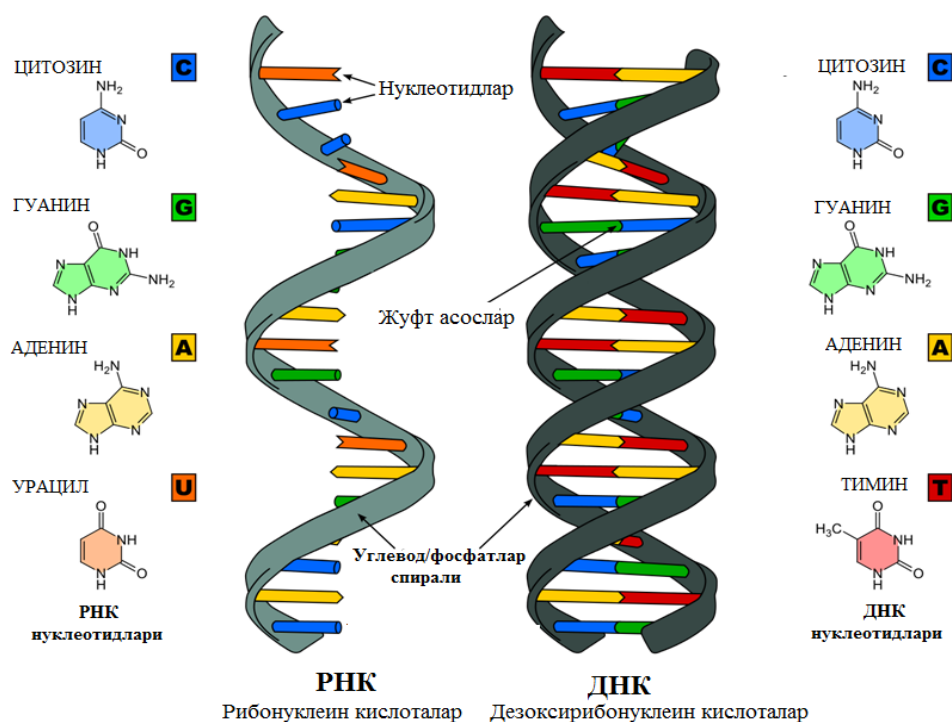
ДНК молекуласини схематик кўринишини изоҳловчи хар -хил усуллари мавжуд (24-расм).



24-расм. ДНК ни икки занжирли молекуласининг тузилиши.

Занжирларни йўналиши, шакар қолдиғини фосфатлар билан қандай боғланганлиги билан аниқланади: 5' ёки 3' – боғлар билан ДНК занжири узайишида нуклеозидтрифосфат, ўзидан олдинги нуклеотидни 3' – гидроксил дезоксирибозасига уланади, бунда 2-та фосфат группа келиб тушади.

РНК занжири ДНК молекуласидан моносахарид дезоксирибоза ўрнига рибоза ва азотли асос - тимин ўрнига урацилдан тузилганлиги ва бир занжирли бўлиши билан фарқ қилади (25-расм).



25-расм. ДНК ва РНК молекулаларининг тузилиши.

РНК молекуласи ўзининг функционал хусусиятларига кўра, уч хил типга ажратилади – и РНК (м РНК) , р РНК, т РНК. Улар ўлчамлари билан бир биридан фарқ қилади. т-РНК -70-100; р РНК – 100- 3100, и РНК -25 000 – 1 000 000 нуклеотид. тРНК оксил синтези жараёнида фаоллашган аминокислотани аминоацил учига бириктириб олиб, уни рибосомадаги махсус жойга етказди ва ўзи рибосома юзаси бўйлаб тортилган иРНК нинг аниқ кичик қисмига комплементарлик асосида боғланади. Мазкур жараёнда т РНК айни аминокислотани синтезлайдиган оксил молекуласининг маълум жойига ўрнашишини мРНК даги код асосида амалга оширади, яъни адапторлик ролини ўйнайди.

и РНК нинг вазифаси ДНК занжиридаги ирсий ахборотдан нусха олиб, кўчириб олинган ахборотни сақлаш ва оксил синтези жараёнида матрица сифатида қатнашишдан иборат. иРНК даги нуклетидлар қаторини оксил молекуласидаги аминокислоталар қаторига ўтиши, яъни нуклеин кислотасидаги маълумотни тегишли аминокислоталар қатори шаклида ифода этилиши информациянинг ўқилиши деб аталади. Эукариот ҳужайраларда

РНК ядро, цитоплазмада ва цитоплазма органеллалари (рибосома, митохондрия, хлоропластлар)да бўлади.

Ядро РНК синтезланадиган асосий жойдир. Барча РНК типларининг функцияси тирик ҳужайрада ДНК да ёзилган генетик информацияни маълум ўзгаришлар билан кўчириб олиб (дезоксирибоза ўрнига рибоза, тимин ўрнига урацил алмаштириб) оқсил синтез қилинадиган жой (рибосомалар)га етказиш ва оқсил синтези жараёнида шу информацияни амалга ошириш т р а н с л я ц и я (таржима қилиш) га қаратилган.

р РНК 50 дан ортиқ оқсил молекулалари билан бириккан ҳолда рибосоманинг структурасини ҳосил қилишда иштирок этади.

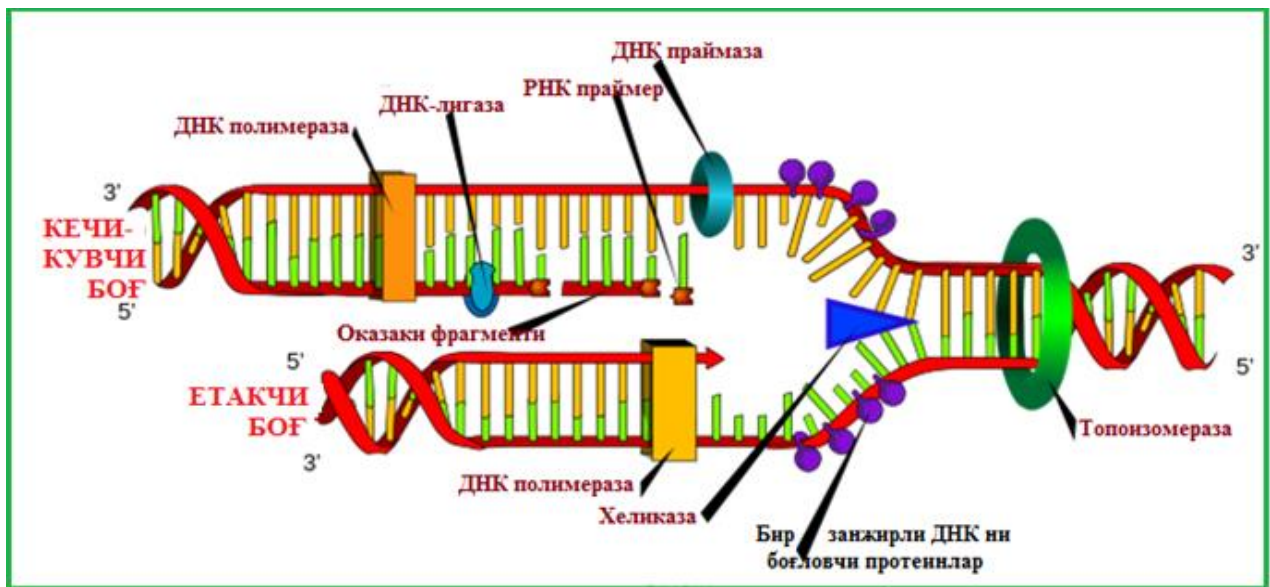
Рибосомал РНК лар — рибосомалар мультимолекуляр агрегатлар бўлиб оқсил (35 %) ва РНК (65 %) молекулаларидан ташкил топган. Рибосомалар таркибидаги РНК лар рибосомал РНК лар деб аталади ва интакт (яхлит, ажралмаган) рибосоманинг ҳар иккала суббирликлари таркибида бўлади. Оқсил биосинтези жараёнида рибосомалар бир бутун структура (бактериал ҳужайра 70S интакт комплекс) ва иккита суббирликлар (30S, 50S) шаклида иштирок этади. Интакт комплекс суббирликларга диссоциаланади, суббирликларнинг ўзи эса РНК ва оқсил молекулаларига ажралади.

Рибосомалар таркибига кирадиган барча оқсил ва рибосома молекулаларининг бирламчи структураси тўла ўрганилган 5S рРНК 120 мононуклеотид, 16S рРНК 1542 ва 23S рРНК 2904 нуклеотид тутади. Улар рибосома тузилмаси каркаси (синч, скелет) ни тузишдан ташқари, оқсил молекулалари билан специфик муносабатда бўладилар. Рибосома таркибидаги бу компонентлар, шу жумладан, оқсил молекулалари ҳам фақат биттадан нусхада мавжуддир. Рибосомалар реконструкцияси ҳужайрада кечадиган табиий жараён, шунинг учун уни «тўплаш, йиғиштириш» ҳам дейилади. Агар тўла диссоциациядан сўнг компонентлар қайтадан йиғиштирилса, улар ўз-ўзидан саранжомлаб интакт суббирликларни ва сўнгга бутун рибосомани ҳосил қилади (Тўрақулов, 1996).

ДНК, РНК оқсил биосинтези

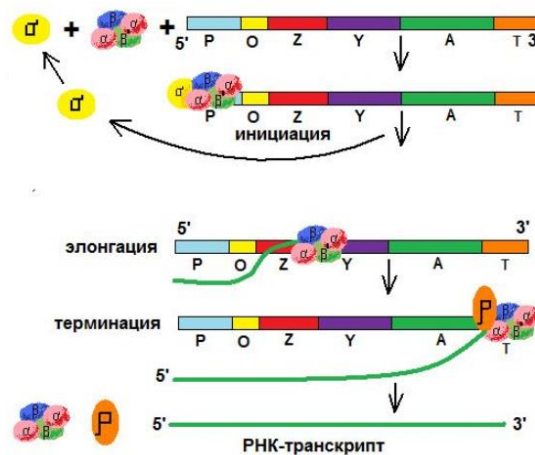
Тирик организмда олдиндан мавжуд қолип асосида янги ДНК молекуласининг яратилиши нуклеин кислоталарнинг синтезланиш йўлидир. Мавжуд ДНК молекуласидан нусха олиш репликация деб аталади. Репликация жараёни ДНК полимераза I, II, III, ДНК лигаза ва ревертаза ферментлари ёрдамида амалга ошади. гер-оксил⁶ ёрдамида ДНК қўш занжири ажралади ва ДНК га боғланадиган оксил молекулалари ёрдамида ДНК нинг ажралган занжирлари стабил ҳолатда сақланиб турилади. ДНК полимераза III ферменти ДНК нинг 3' учидан 5' учигача ДНК нинг битта занжирини тўла синтез қилиш қобилиятига эга. ДНК нинг синтези фақат ДНК нинг 3' учидан 5' учига қараб бориши туфайли ДНК нинг иккинчи занжири праймаза, ДНК полимераза I ва ДНК-лигаза ферментлари ёрдамида амалга ошади. Праймаза (ревертаза ферменти ёрдамида ДНК нинг иккинчи занжири синтези учун праймер синтез қилинади ва ДНК полимераза III ферменти ёрдамида праймер нуклеотидлар кетма-кетлигидан ДНК синтези бошланади ва ДНК полимераза I ферменти ёрдамида бу нуклеотидлар кетма-кетлиги биров узайтирилади. Ҳосил бўлган кўплаб ДНК фрагментлари ДНК лигаза ёрдамида уланади. Бу жараён ДНК нинг иккинчи занжири тўла синтез бўлгунча давом этади. Янги ДНК занжири ДНК нинг матрицасига қараб тузилади. Бу жараёнда матрица вазифасини ДНК нинг қўш занжирининг бир ипи бажаради (1.4-расм).

⁶ Virusli ssDNA ning replikatsiyasi uchun zarur. Yopiq dumaloq ssDNA genomi avval superhelical dsDNA ga aylanadi. Rep va / yoki Rep 'replikatsiyaning genomiga qarab ma'lum bir zanjirini bog'laydi. Genomning intergenik mintaqasida konservalangan 5'-AGTATTAC-3 'ketma-ketligi ichida endonukleolitik nikni kiritadi va shu bilan dumaloq doira replikatsiyasini (RCR) boshlaydi. Parchalanishdan so'ng, tirozil efiri sifatida DNKning 5'-fosfatiga kovalent ravishda bog'lanadi. Bo'linish hujayradan DNK polimeraza uchun primer bo'lib xizmat qiladigan erkin 3'-OH ni keltirib chiqaradi. Polimeraza (+) zanjirli DNKni aylanma aylana mexanizmi yordamida sintez qiladi. Replikatsiyaning bir turidan so'ng, Rep-katalizlangan nukleotidil o'tkazish reaksiyasi dumaloq bitta simli virus genomini chiqaradi va shu bilan replikatsiyani tugatadi. DNKning kelib chiqishiga xos parchalanishini ko'rsatadi

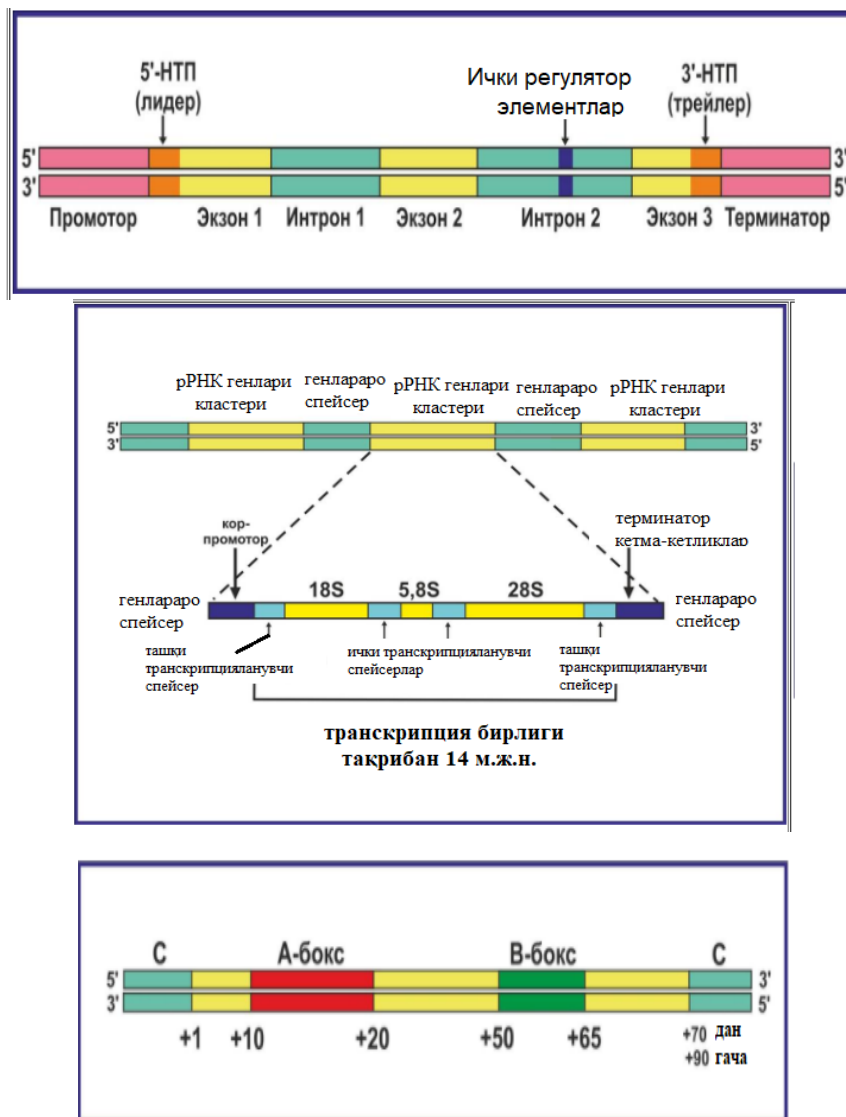


1.4-расм. ДНК репликацияси схемаси.

РНК синтези жараёни транскрипция деб аталади (1.5 ва 1.6-расмлар). Ҳар учала типдаги РНК синтези турли типдаги РНК полимераза (РНК полимераза I, II, III) ферментлари ёрдамида амалга оширилади. р РНК синтези РНК-полимераза I ферменти, и РНК РНК-полимераза II ферменти ва т РНК ҳамда кичик ўлчамли ядро РНК си молекулалари РНК полимераза III ферменти ёрдамида амалга оширилади. Ҳамма РНК молекулалари синтези учун ДНК нинг битта ипи матрица вазифасини ўтайди.



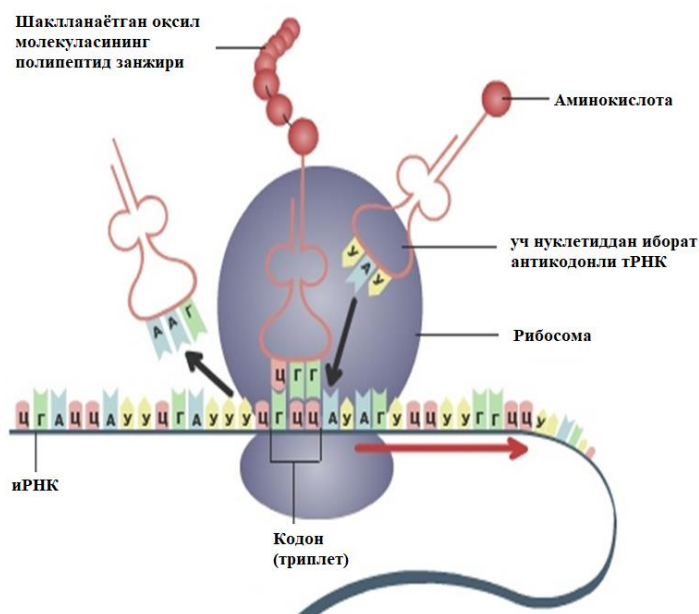
1.5-расм. Прокариот хужайраларда матрица ДНК да транскрипция (РНК синтези жараёни)



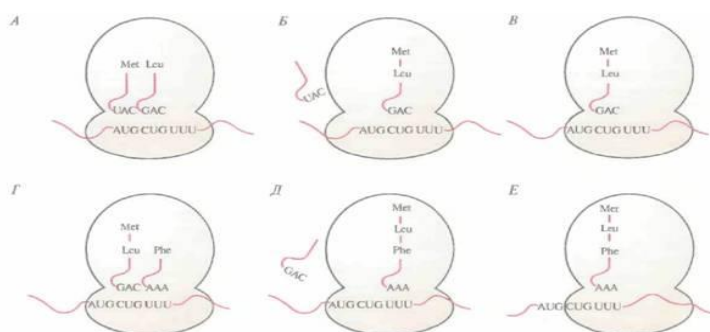
1.6-расм. Эукариот хужайраларда матрица ДНК да транскрипция (РНК синтези жараёни).

Оқсил синтези рибосомаларда ўтади (1.7- ва 1.8-расмлар). Рибосома хужайра метаболизми учун зарур бўлган оқсиллар синтезини ДНК дан олинган маълумот асосида кодлаш механизмига мувофиқ амалга оширади. ДНК занжиридан олинган иРНК нуклеотидлар тартиби шаклидаги информацияни аминокислоталар тартибига кўчиради. Оқсил синтези жараёни трансляция (таржима қилиш) деб аталади. Нуклеин кислоталарда ҳар бир аминокислотани танийдиган ва танлаб бириктириб олиб ташишда воситачилик қиладиган бирин-кетин учта нуклеотидлар комбинацияси мавжудки, бу ўз навбатида аминокислота коди, оқсил коди, кодон, кенг маънода генетик код деб юритилади. Оқсил молекуласига кирадиган

аминокислоталар 20 та бўлганлигидан кодонлар сони ҳам 20 дан кам бўлиши мумкин эмас. Бунда ҳосил бўладиган комбинациялар сони $64 \cdot 4^3$ кодланадиган аминокислоталар сонидан анча кўп, лекин маълум бўладики, 20 та аминокислотадан 18 таси биттадан ортиқ 2,3,4 ва 6 кодон билан кодлана олар экан. Бундан ташқари учта кодон УАА, УАГ и УГА (UAA, UAG, UGA). аминокислоталарни кодламайди ва нопролипептид занжирининг тугаганидан дарак беради, улар терминаторлар, тугатувчилар деб аталади.



1.7-расм. Трансляция (оқсил синтези жараёни таржима қилиш)



1.8-расм. Полипептид занжири элонгацияси

Полирибосомаларда оқсил синтези и РНК нинг 5' учидан бошланиб 3'учида тугайди. Оқсил синтези тугагач, и РНК рибосомадан ажралиб чиқади ва рибосома иккита суббирликка диссоциаланади.

Хулоса. ДНК молекуласи ирсий ахборотни сақлаб наслдан наслга ўтказди. ДНК молекуласининг структурасини ўзгариши наслнинг

ўзгаришига олиб келади. Уч хил типдаги РНК мавжуд. ДНК синтези жараёни репликация, РНК синтези жараёни транскрипция ва оқсил синтези жараёни трансляция деб аталади.

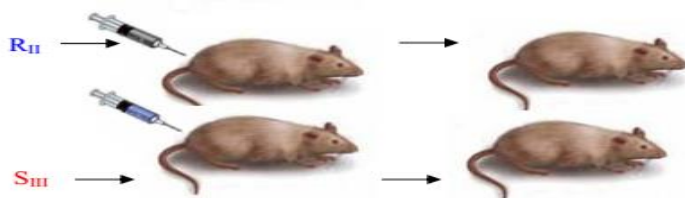
Трансформация ҳодисаси

Трансформация ҳодисаси бактерия ва фаглар ўртасида содир бўлади. Уни қуйидагича таърифлаш мумкин. Маълум шароитда бир организм ирсий молекулсининг ҳар қандай бўлагини иккинчи организм ирсий молекуласига бирикиш ҳодисасига **трансформация** деб аталади. Ген муҳандислиги усули билан организмнинг ирсиятини ўзгартиришда трансформация кенг қўлланила бошланган. Ушбу ҳодисани 1928 йилда Гриффит кашф этган. Уни қуйидагича изоҳлаш мумкин. Патоген пневмококк бактерияси (S штамм) билан зарарланган сичқон ўлади (1.9-расм).



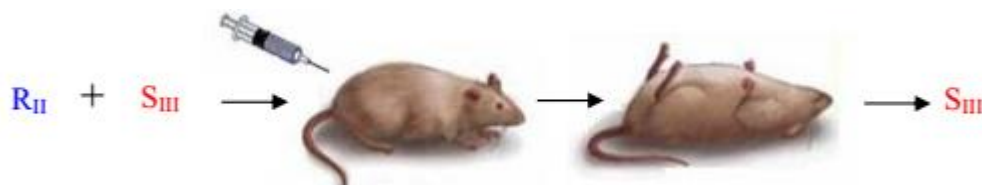
1.9-расм. Пневмококк бактериясининг патоген S штамм билан зарарлантирилган сичқон.

Шу бактериянинг патоген бўлмаган штамми (R штамм) ва қиздириш йўли билан ўлдирилган бактериянинг патоген штамми (S штамм) билан зарарлантирилган сичқон тирик қолади (1.10-расм).



1.10-расм. Пневмококк бактериясининг патоген бўлмаган R штамм ва қиздириш йўли билан ўлдирилган бактериянинг патоген штамми S штамм билан зарарлантирилган сичқон.

Ўлдирилган S штамм тирик R штамм билан аралаштирилиб сичқонга юборилганда сичқон нобуд бўлади. Унинг қонида S штамм топилади. Бундан кўриниб турибдики, ўлдирилган S штамми ирсий молекуласидаги касаллик чақирувчи ген тирик R штамм ирсиятига ўтган ва унинг ирсиятини S штаммга хос ўзгартирган, яъни трансформация қилган (1.11-расм).



1.11-расм. тирик R штамми ва қиздирилган S штамми билан зарарлантирилган сичқоннинг нобуд бўлиши (трансформация).

Ген муҳандислиги усули билан организмнинг ирсиятини ўзгартиришда трансформация кенг қўлланилади.

Бактерия культурасининг капсула сақловчи алоҳида культуралар билан тасодифий зарарланишини келиб чиқмаганлигини исботлаш мақсадида пневмококк ҳужайраларига махсус нишонланган соматик оқсил антигени ва дорига чидамлилиқ маркерлари билан ишлов бериб, тажриба ўтказилган. Маълумки, бактерияларнинг ушбу хусусиятлари полисахарид капсулага боғлиқ бўлмаган равишда ўзгаради. Шундай қилиб, қобиксиз (капсуласиз) ҳужайраларнинг тасодифан қобикли ҳужайралар билан зарарланмаганлиги ўз тасдиғини топган (1.12-расм).



1.12-расм. Махсус нишонланган соматик оқсил антигени ва дорига чидамлилиқ маркерлари билан ишлов берилган R штамми ва қиздирилган S штамми билан ишлов бериш натижалари.

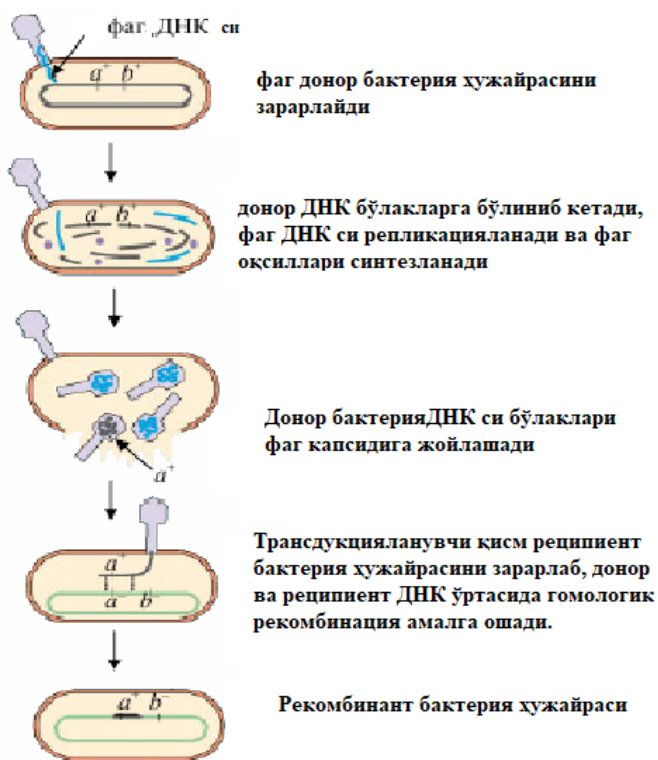
Трансдукция ходисаси

Махсус тузилишга эга бўлган ДНК бўлагининг хромосомага бирикиши ва ундан ажралиб чиқиши жараёнига **трансдукция** деб айтилади.

Трансдукция ҳодисаси АҚШ олими Львов томонидан 1953 йилда кашф этилган. Бу кашфиётга қадар бактерия хужайрасига фаглар (вирусларнинг бактерия хужайрасида кўпаядиган хили) кирганда, уларнинг хужайрада кўпайиши оқибатида бактерия ёрилиб нобуд бўлиши маълум эди. Фаг билан зарарланган бактерия колонияси йўқолади, яъни лизис бўлади. Шу сабабли бу жараён, яъни фаг билан зарарланган бактериянинг колониясининг йўқолиши, лизисга учраши **фагларнинг литик** реакцияси дейилади. Айни пайтда фаг билан зарарланган бактерия хужайраларининг айримлари тирик қолади. Бундай хужайра ичига тушган фагнинг ирсий молекуласи бактерия хромосомасининг махсус нуклеотидлари изчиллигини кесиб бирикиши натижасида фаол ҳолатдан кўпая олмайдиган, яъни бактерияни лизис қила олмайдиган нофаол профаг ҳолатига ўтади. Бунинг натижасида бактерия офатдан кутилади. Офатдан кутулган бактерия **лизоген бактерия**, бу жараён эса **лизоген реакция** дейилади. Лизоген бактериялардан спонтан равишда, яъни ўз-ўзидан ёки физик-кимёвий таъсирлар натижасида фаг ирсий молекуласи ажралиб чиқиб, муҳитдаги бошқа бактерияларни зарарлантиради, ниҳоят, уларни ўлдиради ёки айрим ҳолларда бактерия хромосомаси билан бирикиб профаг ҳолатига ўтади.

Трансдукция жараёнида *E.coli* бактерия хромосомасига λ фаг ирсий молекулалари ўзаро боғланиши ёки рекомбинацияланиши молекуляр жиҳатдан қуйидагича кечади. λ фагнинг трансдукцияси ҳар доим ҳам аниқ амалга ошмайди. Профаг ҳолатидаги λ фаг бактерия геномидан айрим генларни, ҳатто 3 та структуравий ген ва промотордан иборат лактоза оперонини (оперон-ўзаро боғлиқ ҳолатда транскрипцияланувчи ва регулятор элемент воситасида идора қилинувчи генлар изчиллиги) бириктирган ҳолда ажралиши кузатилган. Бундай рекомбинант λ фаг билан *E.coli* бактериясининг *lac⁻* штамми, яъни лактозани парчаловчи ген мутация натижасида ишламайдиган штамми фаг билан зарарлантирилса, трансдукция натижасида *lac⁻* штамми лизоген *lac⁺* штаммига айланади. Демак, фаг *lac⁺* штаммидан лактоза парчаловчи оперон *lac⁻* штаммга трансдукция қилинади.

Фаг ирсий молекуласида бактерия хромосомасини нуклеотид кетма-кетлигини аниқ таниб, ёпишқоқ учлар ҳосил қилиб қирқувчи интеграза ферменти генлари мавжуд. Ушбу фермент ёрдамида фаг ирсий молекуласи бактерия хромосомасига ўрнашади ва ДНК лигаза ферменти ёрдамида унинг таркибий қисми сифатида тўла бирикади (1.13- расм).



1.13-расм. Трансдукция ҳодисасининг умумий чизмаси.

Вектор сифатида плазмидалар, бактериофаглар, мобил элементлар (транспозонлар) ва ҳайвонларнинг вирусларидан фойдаланиш мумкин.

Ген муҳандислиги усуллари биргаликда қўллаш орқали кўпчилик генларни, уларнинг маҳсулотлари – оксилларини ажратиш мумкин. Ажратиб олинган генлар *ген банкида* сақланади ва келажақда улар ген муҳандислиги ишлари учун объект бўлиб хизмат қилиши мумкин.

VI БОБ. *IN VITRO* ШАРОИТИДАГИ ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ

Ген муҳандислиги ферментлари

Ген муҳандислиги ферментлари ДНК молекулалари билан турли хил муолажаларни ўтказишга ёрдам бериб, уларни тегишли жойидан қирқиш, турли хил бўлақларини улаш, табиатда мавжуд бўлмаган янги хилдаги кетма-

кетликларни синтез қилишда қўлланилади. Қуйида ген муҳандислигида фойдаланиладиган асосий ферментларни кўриб чиқамиз.

ДНК полимеразалар. Ген муҳандислигида кенг қўлланиладиган ферментлардан бири *E.coli* нинг Т4 фагидан ажратиб олинган ДНК полимераза I ҳисобланади. ДНК полимераза I комплементар нуклеотидларни бириктириш йўли билан ДНК занжирининг 5' -3' йўналишида узайтириш хусусиятига эга. ДНК полимеразанинг бу хусусияти ген муҳандислигида иккинчи комплементар занжирни ҳосил қилиш: бир занжирли матрица –ДНК сига қўшилганда праймер ⁷иштирокида икки ҳисса ортишида кузатилади. Бу хусусият кДНК⁸-библиотекаларини тузишда қўлланилади. ДНК полимеразадан ДНК занжиридаги “бўшлиқ” ларни тўлдиришда ҳам фойдаланилади, масалан, 5' - учли бўлақларни тегишли тартибда уланишида ҳам иштирок этади. ДНК полимеразанинг экзонуклеаза фаоллигидан ДНК бўлагига радиоактив нишон киритишда қўлланилади.

Махсус термостабил ДНК полимеразалар Tth ва Taq - полимеразалар иссиқ гейзерларда яшовчи бактериялардан ажратиб олинган бўлиб, полимераза занжир реакцияси (ПЗР) усули ёрдамида ДНКнинг исталган бўлаги устида кўплаб ишлар - амплификацияни амалга ошириш имконини берди. ПЗР усули асосида Taq - полимераза ётади, у ген муҳандислигининг эски усулларини нафақат соддалаштириш, балки, алоҳида генларни ва яхлит геномни ҳам молекуляр нишонлашни амалга оширишга шароит яратди.

Баъзи вируслардан РНК га боғлиқ ДНК полимераза, яъни тескари транскриптаза ёки *ревертаза* деб номланувчи махсус ДНК полимераза ажратиб олинган. Ревертазалар ДНК нинг комплементар занжирини матрица РНК сида ҳам синтезлай олади. Ревертазалар ёрдамида кДНК-мРНК нинг

⁷ **Primer** ([inglizcha Primer](#)) - qisqa nuklein kislota bo'lagi ([oligonukleotid](#)) qo'shimcha [DNK](#) - yoki [RNK](#) , erishiladi; [DNK-polimeraza](#) yordamida ([DNK replikatsiyasi](#) paytida) bir-birini to'ldiruvchi zanjir sintezi uchun urug 'bo'lib xizmat qiladi . Primer [DNK polimerazalari](#) uchun 3'-uchidan (gidroksil guruhi) yangi zanjirning sintezini boshlashi uchun talab qilinadi . [DNK polimeraza](#) ketma-ket shablon ipiga [\[1\]\[2\]](#) qo'shimcha ravishda nukleotidlarni primerning 3'-uchiga qo'shib beradi .

⁸ **кДНК** (cDNA [Engl. SDNA](#)) - bu [teskari transkriptaza bilan katalizlangan](#) reaksiyada yetuk [mRNK](#) matritsasida sintez qilingan [DNK](#) . cDNA [eukaryotik genlarni prokaryotlarga .](#) clonlashda ko'p ishlatiladi

ДНК нусхаларини олиш мумкин. кДНК генларининг тузилишини ўрганиш бу генларнинг геномдаги тўлиқ нусхаларини аниқлаш имконини беради.

ДНК лигаза кўшни нуклеотидлар орасидаги фосфодиэфир боғларини тиклаш орқали ДНК бўлақларини боғлаш каби битта асосий вазифани бажаради. Бу жараён лигирлаш деб аталади. Ген муҳандислигида кўпинча лигирлаш учун Т4 фагининг ДНК-лигазасидан фойдаланилади. Т4 лигаза ёрдамида ДНК нинг ҳар қандай бўлаги “ёпишқоқ учли” ёки “тўмтоқ учли” қисмлари бириктирилади. Бу энг кўп қўлланиладиган ферментлардан биридир.

Нуклеазалар-нуклеин кислотлар молекулалари гидролизи реакцияларини катализловчи ферментларнинг йирик гуруҳи. ДНК ёки РНК молекулалари нуклеазалар таъсирида бўлақларга ёки алоҳида нуклеотидларга парчаланиб кетади. Нуклеазаларнинг ҳужайрадаги дастлабки вазифаси – ҳаётий жараённинг айни вақти учун кераксиз бўлган молекулалари (масалан, мРНК ни трансляциядан сўнг) деградациясини ва нуклеин кислоталарни бегона молекулалардан ҳимоя қилиш (бактерия фаг билан зарарланганда фаг ДНК сини бактерия нуклеазалари томонидан парчалаб юборилиши) дан иборат.

Нуклеазаларни уларнинг таъсирига кўра, гуруҳларга ажратиш мумкин. Нуклеазалар нафақат ДНК молекулалари (ДНКазалар) ёки РНК (РНКазалар) молекулаларига, ёки ДНК ва РНК га бир вақтнинг ўзида (олтин ранг ловия нуклеазаси) бир хилда таъсир этиши мумкин. Нуклеазалар бир занжирли (S1 нуклеазаси) ёки қўш занжирли (экзонуклеаза III) ДНК молекулалари, ёки гибрид ДНК-РНК молекуласи (рибонуклеаза H) га таъсир этиши мумкин.

Бундан ташқари нуклеазаларни икки типга: экзонуклеазалар ва эндонуклеазаларга бўлиш мумкин. Экзонуклеазалар, одатда, молекулаларни 5' ёки 3' эркин учларидан бошлаб гидролизласа, эндонуклеазалар ДНК молекуласи бўлаги ёки халқасимон ДНК молекуласининг ички кетма-кетликларидан бошлаб парчалайди.

Рестриктазалар. Ген муҳандислигида фойдалилиги нуқтаи назаридан махсус эндонуклеазалар алоҳида гуруҳни ташкил этади.

Генлар устида бевосита муолажалар ўтказиш усуллариининг такомиллаштирилиши рестрикция эндонуклеазалар (рестриктазалар)нинг очилиши билан боғлиқдир. 1953 йилдаёқ *E.coli* нинг алоҳида штамми ДНК си бошқа штамми хужайраси (масалан, В штамми ДНКси С штамми хужайраси) га киритилганда, одатда, генетик фаоллик кўрсата олмайди. Чунки у махсус ферментлар-рестриктазалар билан тезда бўлакларга бўлиб юборилади. Ҳозирги вақтда турли хил микроорганизмлардан мингдан ортиқ ҳар хил рестриктазалар ажратиб олинган. Ген муҳандислигида 200 дан ортиқ тури кенг қўлланилмоқда.

Рестриктазалар эндонуклеазаларнинг ДНКни муайян махсус кетма-кетликлари *рестрикция сайтлари* (нуқталари)ни ҳосил қилиб гидролиз қиладиган гуруҳи ҳисобланади. Ҳар бир рестриктаза ўзининг рестрикция сайтини танийди ва ДНКни рестрикция сайти изчилликлари ичидан ёки унинг атрофидан бошлаб қирқади (1.1-жадвал).

1.1-жадвал

Баъзи рестриктазалар ва улар таниб кесадиган изчилликлар

Микроорганизм	Қисқа номи	Изчиллик 5'→3' 3'→5'
<i>Bacillus amyloliquefaciens H</i>	Bam HI	G [↓] GATCC
<i>Brevibacterium albidum</i>	Bal I	CCT [↓] AG [↑] G
<i>Escherichia coli RY13</i>	Eco RI	TGGCCA ACC [↑] GGT G [↓] ATTC
<i>Haemophilus aegyptius</i>	Hae II	CTTAA [↓] G PuGCGC [↓] Py
<i>Haemophilus aegyptius</i>	Hae III	Py [↑] CGCGPu
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	Hha I	GG [↓] CC CC [↑] GG GCG [↓] C
<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	Hind II	C [↑] GCG GTPy [↓] PuAC
<i>Haemophilus influenzae Rd</i>	Hind III	CAPu [↑] PyTG A [↓] AGC TT
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Hpa I	TTCGA [↑] A CTT [↓] AAC
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Hpa II	CAA [↑] TTG C [↓] CGG
<i>Providencia stuarti 164</i>	Pst I	GGC [↑] C CTGCA [↓] G
<i>Streptomyces albus G</i>	Sal I	G [↓] ACG TC G [↑] TCG AC
<i>Xanthomonas arzyae</i>	Xor II	CAGCTG CGATC [↓] G G [↑] CTAGC

Шундай қилиб, муайян бир рестриктаза таъсирида битта ва айнан ўша ДНК кетма-кетлиги ҳар доим ҳам бир хилдаги бўлақлар йиғиндисини ҳосил қилади. Рестриктазаларни номлашда фермент ажратиб олинган бактерия турининг лотинча номини бош ҳарфлари ва қўшимча белгиларидан фойдаланилади. Чунки бир турдаги бактериялардан бир неча хил рестриктазалар ажратиб олинган бўлиши мумкин. *Escherichia coli*-EcoR I, EcoR V, *Haemophilus influenzae* –Hinf I, *Streptomyces albus* – Sal I, *Thermus aquaticus* – Taq I.

Рестриктазалар нуклеотид кетма-кетликларини қирқишига кўра, бир неча типга бўлинади. I-типдаги рестриктазалар рестрикция сайтларини танийди, лекин таниб олган сайтдан ихтиёрий масофада (бир неча ўндан то бир неча юз минг нуклеотид жуфтларга қадар) қирқади. Бундай рестриктазаларни ген муҳандислиги муаммоларини ҳал этишда қўллаб бўлмайди. III-типдаги рестриктазалар ҳам I-типдаги рестриктазаларга ўхшайди, улар ДНКни таниб олинган сайтдан 20-35 н.ж. масофада гидролиз қилади, шунинг учун ҳам амалий мақсадларда кам фойдаланилади.

Рекомбинант молекулалар олиш учун асосан II-типдаги рестриктазалар қўлланилади. Бундай рестриктазаларнинг асосий тавсифи шундаки, уларнинг таниш сайти ва қирқиш жойи бир-бирига мос келади.

II-типдаги рестриктазалар муайян нуклеотид кетма-кетликларни ДНК дан таниб олади ва уни рестрикция сайти изчиллиги ичидан бошлаб гидролизлайди. II-типидаги рестриктазаларнинг рестрикция сайтлари 180° айланишдаги симметрик кетма-кетликлар - палиндромлардан иборат.

5' GAATTC 3'

3' CTTAAG 5' EcoR I рестриктазаси рестрикция сайти.

5' TAGA 3'

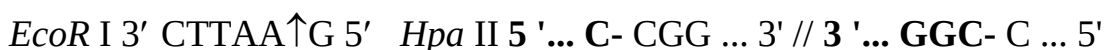
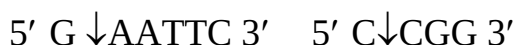
3' ATCT 5' Taq I рестриктазаси рестрикция сайти

II-типдаги рестриктазалар рестрикция сайтлари ўлчами ва олинадиган ДНК бўлақлари узунлигига кўра, бир неча синфга бўлинади:

- 1) майда бўлакка бўлувчилар – рестрикция сайтлари тўртта нуклеотид жуфтликлардан иборат;
- 2) ўрта бўлакка бўлувчилар – 6-8 н.ж. рестрикция сайтлари;
- 3) йирик бўлакка бўлувчилар - 10-14 н.ж. рестрикция сайтлари

II-типтаги рестриктазаларни ДНК кетма-кетликларини бўлакларга бўлишига қараб икки гуруҳга киритиш мумкин, Уларнинг бири танилган кетма-кетликнинг симметрия ўқи бўйлаб, бошқаси эса силжиб, «поғоналар» ҳосил қилади. Биринчи ҳолатда «тўмтоқ» учлар ҳосил бўлса, иккинчисида «ёпишқоқ» учлар ҳосил бўлади; яъни бўлаклар ўз учларида бир занжирли ўзаро комплементар қисмларга эга бўлади.

Рестриктазалар билан қирқилган «ёпишқоқ» учли бўлакларнинг ҳосил бўлиши:



Рестриктазалар билан қирқилганда «тўмтоқ» учли бўлакларнинг ҳосил бўлиши:



Бир хил «ёпишқоқ» учларга эга ДНК бўлаклари бир-бири билан ДНК лигазалар ёрдамида бириктирилиши мумкин, бунда рестрикция нуқталари қайта тикланади. “Тўмтоқ учли” бўлаклар қандай рестриктаза билан ҳосил бўлган бўлишига қарамасдан бир-бири билан бирика олади. “Ёпишқоқ учли” бўлаклар рекомбинант ДНКлар яратишда жуда қулайдир, чунки ДНК лигаза бўлакларни ҳеч қандай истисносиз бир-бирига бирикишини таъминлайди.

Рестриктазаларнинг фермент фаоллиги фаоллик бирликларида ўлчанади. Бу оптимал шароитда λ фаг ДНК сини 1мкг миқдорини 1 соат ичида тўлиқ гидролизланиши учун сарф бўладиган фермент миқдorigа тенгдир. Рестрикциянинг оптимал шароити ҳар бир рестриктаза учун алоҳида бўлиб, у рН, ион кучи, тегишли ионлар мавжуд бўлиши, реакцияни амалга ошириш

хароратига боғлиқ бўлади. Рестриктазалар ген муҳандислигида кўлланиладиган асосий ферментлар ҳисобланади.

ДНК бўлақларини қирқиш ва рестрикция хариталарни тузиш (физикавий хариталаш)

Рестрикция ферментлари тадқиқотлар учун асосий қуролга айланди. Улар жуда йирик ДНК бўлақлари (10^6 - 10^{11} н.ж.) ни бир неча юздан бир неча минг нуклеотид жуфтларга қадар ўлчамдаги бўлақларга бўлади. Агарозали гелда *ДНК электрофорези усули* билан бир-биридан ўлчами бўйича фарқ қиладиган ДНК бўлақларини осон ажратиш олиш ва ҳар бир бўлақни алоҳида тадқиқ этиш мумкин. Электрофорез усули электр майдонида турли хил тезликда ҳаракат қиляётган ДНК молекулалари (бўлақларини) ажратилишига асосланган. ДНК эритмада анион шаклида учраб, унинг эритмаси электр майдонида мусбат зарядланган кутб (катод)га томон ҳаракат қилади.

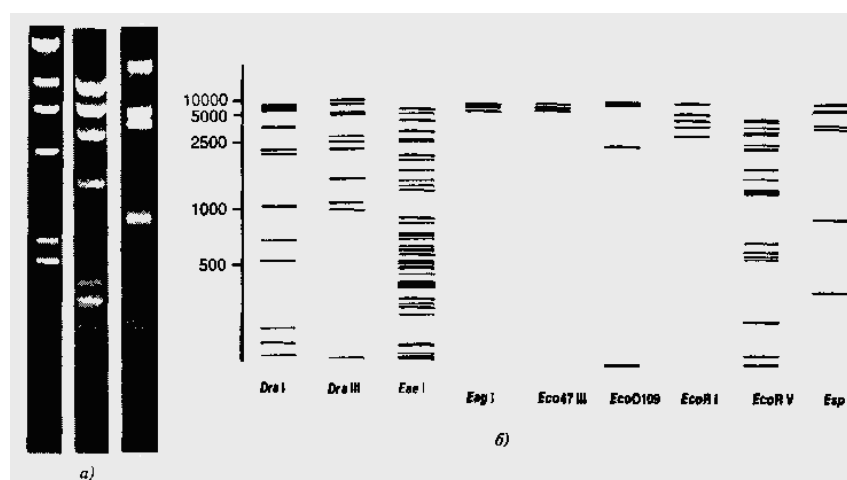
ДНК бўлақларининг ажралиши агароза полимери эритмаси ҳисобланган ташувчида амалга ошади. Усулнинг номи ҳам шундан келиб чиққан. Агарозали гел уч ўлчамли полимер ячейкали тузилмани ҳосил қилади. У электронейтрал ва ДНК га нисбатан кимёвий инерт, шунинг учун ҳар доим ДНК нинг зарур бўлагини гелдан биологик фаоллигини сақлаб қолган ҳолда ажратиш олиш (эллюция қилиш) мумкин.

Гелдан электрофорез муҳит сифатида фойдаланиб, ДНКни бўлақларга бўлиш ва ундан муайян бўлақни ажратиш олиш мумкин. (1.14-расм)

Агарозали гелда майда бўлақлар йирикларига нисбатан тез ҳаракат қилади, бунда ДНК бўлақларининг ҳаракати ушбу бўлақнинг оғирлиги (заряди) логарифмига нисбатан тескари пропорционал бўлади. Гелни бўёқлар (масалан, этидий бромид) билан бўялганда улар бўёқ билан бирикиб чизиқчалар тўпламини ҳосил қилади, уларнинг ҳар бири рестрикция бўлагига мос келади. Ферментнинг молекуляр оғирлиги илгари аниқланган ДНК бўлақларига нисбатан калибровка қилиш асосида аниқланади.

Электрофорездан рестрикция фрагментларни бўлиш мақсадида фойдаланиш *рестрикция хариталар* – турли рестриктазалар учун қирқиш

нуқталари киритилган ДНК кетма-кетликлари йиғиндисини олиш имконини беради (1.15- расм). Бундай харита биринчи марта 5423 жуфт асосга эга SV40 вируси учун олинган. Бунда вируснинг халқасимон ДНКсини 11 та бўлакка бўлувчи Hind III рестриктазаси қўлланилган. Уларнинг жойлашиш тартиби ҳосил бўлган бўлаklar йиғиндисини текшириш орқали ўрнатилган. Биринчи қирқиш молекулани халқасимон шаклдан чизиқли шаклга ўтказиб, кейин яна майда бўлаklarга бўлган. Дастлаб бир-бирини қопловчи бўлаklar йиғиндисини ўрганилган бўлса, кейин тўлиқ парчаланиш маҳсулотлари ўрганилган. Шундай қилиб, вируснинг халқасимон ДНКси рестрикция харитаси олинган бўлиб, унга Hind III рестриктазаси билан қирқиш нуқталари киритилган. Бундай тажрибаларни бошқа рестриктазалар иштирокида амалга ошириш бир неча хил рестриктазалар учун белгиланган рестрикция сайтларидан иборат тўлиқ харитани олиш имконини беради. Хариталаш учун қанча кўп рестриктаза қўлланилса, харита шунча тўлиқ бўлади

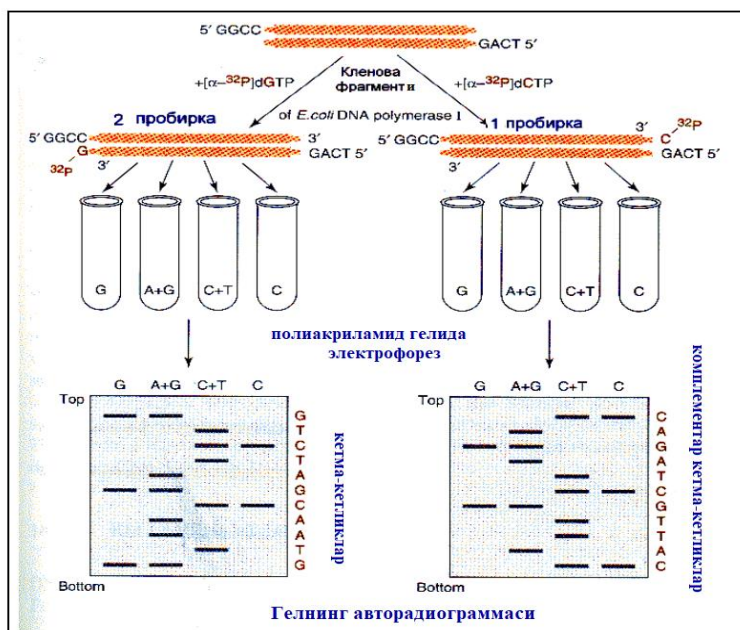


(1.14- расм). Электорофорез ёрдамида рестриктазалар иштирокида ҳосил бўлган ДНК бўлаklarининг ажралиши. а-λ/HindIII фаги бўлаklари, фХ 174/HaeIII фаги ДНКси, рBR322/BstnI плазмидаси (/-белгидан сўнг рестриктаза ферменти номи келтирилган). б- λ фаги ДНКсининг турли хил рестриктазалар таъсирида бўлаklarга бўлинишининг схемаси. Шкала бўйича бўлинган бўлаklarнинг ўлчами келтирилган.

кислотасини кўшиш пурин асослари (А+Г) ни, диметилсулфат фақат гуанин асосларини; тоза гидразин эса пиримидин асослари (Т+Ц) ни парчалайди,

1,5 М NaCl эритмасида эса фақат цитозинли асослар парчаланadi. Ҳар бир ДНК молекуласига бир неча жойидан шикастлантириш тўғри келиши учун реакцияни амалга ошириш шароитини танлаб олиш муҳимдир. Шикастланган молекулаларга пиперидин билан ишлов берилганда ДНК да узилиш ҳосил бўлади, у айнан азотли асос шикастланган жойда ҳосил бўлади (1.16-расм).

Натижада нишонланган бўлақлар тўплами олиниб, уларнинг узунлиги шикастланган асосдан то молекуланинг охиригача бўлган масофада аниқланади. Тўрттала реакция натижасида ҳосил бўлган бўлақларни денатурацияловчи шароитда акриламид гелида тўртта кўшни йўлакчаларга қуйиб чиқилади. Шундан сўнг радиоавтография амалга оширилади, натижада радиоактив нишонга эга бўлақлар рентген пленкасида из қолдиради. Уларнинг жойлашувига кўра, нишонланган қисмдан шикастланган асос қандай масофада жойлашганини, буни ўрганиш орқали уларнинг ҳолатини аниқлаш мумкин. Рентген пленкасидаги чизиқлар йиғиндисига кўра, таҳлил қилинадиган ДНК бўлагининг нуклеотид кетма-кетлиги аниқланади.



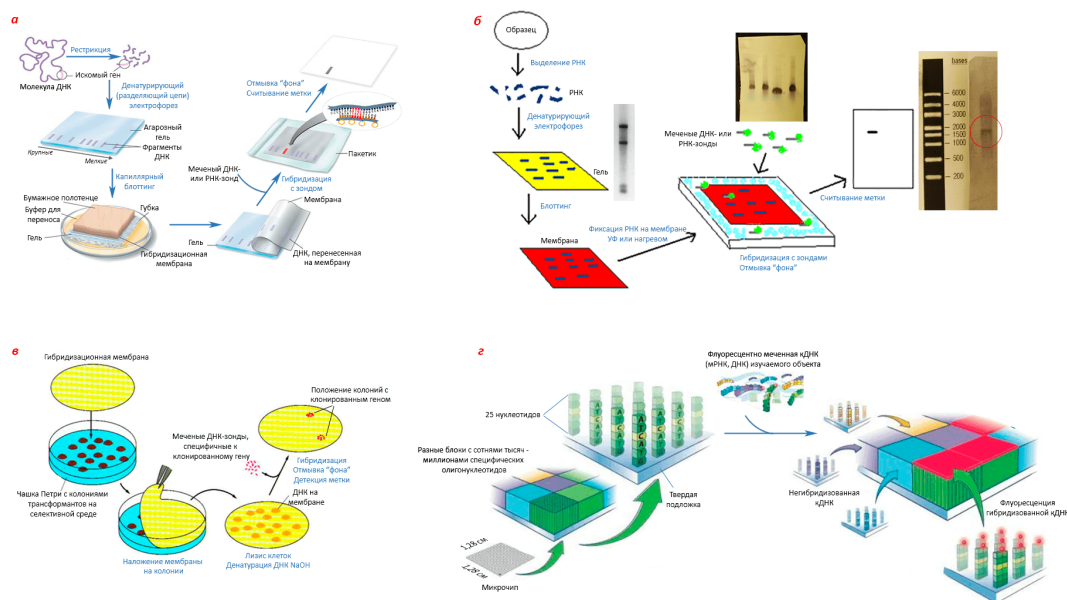
1.16 – расм. ДНК ни кимёвий секвенирлаш усули.

Ушбу усул ёрдамида қисқа муддат ичида SV40 вируси нуклеотид кетма-кетлиги, pBR322 плазмидаси ва бошқа кўплаб ДНК кетма-кетликларини тўлиқ аниқлашга муваффақ бўлинган. Бироқ Максам-Гилберт усули муолажаларининг сезиларли даражада қийинлиги ва узоқ давом этиши билан боғлиқ бир қатор камчиликларга эга. Ҳозирги вақтда кимёвий деградация ёрдамида секвенирлаш асосида нуклеотид кетма-кетликларни тез ва мукамал аниқлаш усуллари ишлаб чиқилган, қаттиқ фазали секвенирлаш ва айланма фазали хромотографиядан фойдаланиш орқали секвенирлаш шулар жумласидандир.

Ҳозирда *ферментатив секвенирлаш* ёки Сэнгер томонидан 1977 йилда таклиф этилган (1.17- расм) Занжир терминацияси (синтезни тўхтатиб қўйиш) йўли билан секвенирлаш усули кенг қўлланилади. Сэнгер усули негизида (комплементар) ДНК занжирининг репликацияси тамойили ётади. У ДНК кетма-кетлиги синтези узилган, яъни занжир ўсиши терминацияга учраган турли қисмларида амалга ошади. Ферментатив секвенирлашнинг асосий хоссаси тузилаётган занжир синтезининг терминациясига асосланади.

Репликацияни тўхтатишга сабаб бўладиган терминация агентлари 2', 3' – дидезокситрифосфатлар (ддАТФ, ддГТФ, ддТТФ, ддЦТФ) ҳисобланади. Мазкур модификация қилинган азотли асослар кейинги дезоксирибонуклеотид билан фосфодиэфир боғларни ҳосил қила олмайди.

Сэнгер бўйича секвенирлаш негизида ДНК нинг репликацияси ётади, бунда асосий фермент ДНК полимераза (асосан, ДНК–полимераза I) ҳисобланади. Бир занжирли ДНК-матрица калта нуклеотид праймер ва комплементар нуклеотидлар иштирокида ДНКнинг иккинчи занжири синтези амалга ошади. Бунда занжир узайиши токи дезоксинуклеотидга бирикишига қадар давом этади, натижада охиргисининг бирикиши синтезни тўхтатилишига олиб келади.



1.16. - расм. **Gibridlanish yuzlari.** **a** – *Саузерн (гибридизация) duragaylash*. DNK sinovdan o'tkazildi. Jarayon oldidan u qismlarga bo'linadi. **Blotting** - bu molekulalarning geldan membranaga o'tishi. Bu mayda, elektr, vakuum bo'lishi mumkin. Саузерн blotting - DNKning uzatilishi, *Нозерн-гибридизация* - RNK. Agar zond aminokislotalar ketma-ketligi yoki turdosh organizmlar ketma-ketligi asosida tanlangan bo'lsa, ular yumshoqroq sharoitda duragaylashadi: zondning kutilgan mosligi maqsadga qanchalik past bo'lsa, ular yuqori haroratda juftlashish imkoniyati shunchalik kam bo'ladi. **b** - *Нозерн-гибридизация*. RNK sinovdan o'tkaziladi. U kesilmaydi - transkriptlar juda qisqa. Usul inijq, ammo o'ziga xos (*qarang*). (4-bobga *qarang*). Suratda: agarozli gel tarkibidagi Rodokok hujayralaridan umumiy RNK; Digoksigenin bilan etiketlangan va neylon membranada [unga antikorlar](#) bilan ishlab chiqilgan RNK zondlari; gibridlanish mahsuloti bo'lgan membrana (zondlardan biri ikkita Rodokokk genining bitta transkriptini "chiqarib tashlagan"). **v** - *koloniyalar bilan gibridlanish (in situ gibridlash analogi)*. Bu erda replikatoridan foydalanish qulay: uning quduqlaridagi har xil koloniyalarni eritib (qayta tiklang) va ularni plastinkaga bosib chiqaring (odatda koloniyalar bir xil "rasm" ni saqlagan holda bir nechta selektiv muhitga o'tkaziladi). **d** - *mikrochipda gibridlanish*. Namunada har xil DNK yoki RNKni aniqlash uchun qimmat va mantiqiy (*pastga qarang*) (4-bobga *qarang*). Namunaning umumiy RNK / DNK / cDNKsi etiketlanadi va chipga tushadi. Qo'llab-quvvatlashga bog'langan oligonukleotidlar sinovdan o'tgan NA massivining qiziqish doiralarini to'ldiradi. Xuddi shu oligonukleotidlarni birlashtirgan bloklar turli miqdordagi nishon molekulalarini bog'lashda har xil signal intensivligini beradi, bu ma'lum sharoitlarda namunadagi nishon mavjudligini bildiradi (ya'ni, masalan, gen ekspressionining kuchi). (<https://biomolecula.ru/articles/12-metodov-v-kartinkakh-gennaia-inzheneriia-chast-ii-instrumenty-i-tekhniki>)

Пробиркаларга тўртта бир хил таркиб: нуклеотид кетма-кетлиги олдиндан аниқлаб олинган ДНК матрицанинг денатурланган бўлаги, тўртта дезоксинуклеотид, ДНК-матрицага комплементар бўлган ва ундан ДНК полимераза I синтезини давом эттирадиган, ҳамда ДНК полимераза I ферментининг ўзи, радиоактив нишонланаган қисқа праймер (16-24 н.ж) дан

иборат реакцион аралашма солинади. Шундан сўнг ҳар бир пробиркага дидезоксинуклеотидлардан бири қўшилади. Ҳар бир пробиркада синтезланадиган занжир ДНК полимераза I дидезоксинуклеотидни бириктириб оладиган жойда терминацияланади. Дидезоксинуклеотид реакция аралашмасига қўшилган бўлиб, битта пробиркадаги синтез комплементар занжирнинг ддАТФ билан боғланиши ҳисобига, иккинчисига ддГТФ ҳисобига узилади ва ҳ.к. Занжир узилиши тасодифий нуқталарда амалга ошиши ҳисобга олинadиган бўлса, праймердан бошлаб секвенирланадиган бўлак охирига қадар узунликдаги фрагментлар йиғиндисини ҳосил бўлади.

Олинган ДНК фрагментлари полиакриламидли гелда (битта нуклеотидга қадар аниқликда) ажратилади, радиоавтография қилинади ва тўртта пробиркадаги бўлақларнинг ажралишини кўринишига асосан ДНКнинг нуклеотид изчиллигини аниқланади.

Бундай ахборотга эга бўлгач, ДНК га биологик муҳим қисмларни жойлаштириш мумкин. Масалан, SV40 вируси репликацияси битта махсус Hind III нуқтадан бошланади ва иккала йўналишда давом этади. Рестрикцион хариталар ва рестрикцион бўлақлар вирус оқсиллари учун мРНК синтезланадиган ДНК бўлақларини хариталашда фойдаланилган.

Ҳозирги вақтда исталган ДНК бўлагининг нуклеотид кетма-кетлигини тўлиқ аниқлаш ечими топилган масала ҳисобланади. Бугунги кунда про- ва эукариотларнинг бир неча минглаб генлари кетма-кетлиги ўрганилган. Кўплаб прокариот организмлар геномининг кетма-кетлиги аниқланган. Эукариотлардан ачитқилар (*Sacharomyces cerevisiae*), нематодалар (*C.elegans*), арабидопсис, дрозифилла пашшаси ва одам геномини тўлиқ секвенирлашга муваффақ бўлинган. Шоли ва сичқон геномининг нуклеотид кетма-кетликлари аниқланмоқда. Бундай ҳажмдаги тадқиқотларнинг олиб борилиши секвенирлаш усуллариини автоматлаштириш ва замонавийлаштиришни талаб қилади. Юқорида номлари келтирилган иккала усулни ҳам автоматлаштириш тўлиқ йўлга қўйилган, бу эса секвенирлашни

соддалаштиради, сарф-ҳаражатларни камайтиради. Айниқа, нуклеотид кетма-кетликларини аниқлашнинг автоматлаштирилган ферментатив усулидан кенг фойдаланилмоқда. Терминацияловчи нуклеотидлар билан боғланган флуоресцент бўёқлардан фойдаланиш барча реакцияларни битта пробиркада олиб бориш имконини беради. Бундан ташқари секвенирлашнинг мутлақо янги усуллари, масалан, фиксация қилинган олигонуклеотид чиплари билан гибридизация орқали, экзонуклеазалардан фойдаланиш ва бошқа усуллар ёрдамида секвенирлаш ишлаб чиқилган. Мазкур усулларнинг барчаси ДНК нинг йирик қисмлари, шунингдек, исталган геномнинг секвенирлаш муаммосини тезда ҳал этиш имконини беради. Олинган натижалар маълумотлар базаси - генлар банкига киритилади. Энг йирик генлар банки Genbank (АҚШ), EMBL(OE), DDBJ (Япония) ҳисобланиб, ягона INSD тармоғига уланган. Ушбу маълумотлар банкига киритилган нуклеотид кетма-кетликлари тўғрисида ИНТЕРНЕТдаги қуйидаги манзиллар: www.ddbj.nig.ac.jp, www.ebi.ac.uk, www.ncbi.nlm.gov да танишиш мумкин.

DNA DATABASE CONTROVERSIES



**International
DNA DataBase**
...to change the world ...to find your family

Banner - International DNA Bank. By INTERDIPCO. (Own work.) [CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>)], via Wikimedia Commons

Геннинг нуклеотид кетма-кетлиги ва генетик кодини билган ҳолда, у кодирлайдиган оқсил аминокислоталари кетма-кетлигини аниқлаш мумкин. Илгари оқсил таркибини аниқлаш учун ажратиб олинган ва тозаланган оқсилни ўта мураккаб ва кўп меҳнат сарфланадиган таҳлилини ўтказиш талаб этилар эди. Кўпинча нуклеотид кетма-кетликларини аниқлаш орқали оқсилнинг структурасини аниқлаш, оқсилнинг ўзини тўғридан-тўғри секвенирлашга нисбатан осон кечади.

Ҳозирги кунда секвенирлаш йўли билан олинган нуклеотид кетма-кетликларнинг компьютер таҳлилини амалга ошириш илгари аниқланган кетма-кетликлар билан таққослаш, гомология (ўхшашлик) даражасини аниқлаш, махсус (масалан, регулятор-бошқарувчи) изчилликларни ажратиб кўрсатиш, РНКнинг иккиламчи тузилмасини моделлаштириш имконини берадиган компьютер дастурларининг кўплаб турлари мавжуд.

Секвенирлашнинг тезкор усуллари ишлаб чиқилгач, олдиндан белгиланган муайян кетма-кетликларга эга, нисбатан узун олигонуклеотидларни синтез қилишнинг оддий, тезкор усуллари йўлга қўйилди. Ҳозирда 100 нуклеотидга қадар кетма-кетликларни осон синтез қилиш мумкин. Бу жараёни автоматлаштириш эса синтезни янада тезлаштиради.

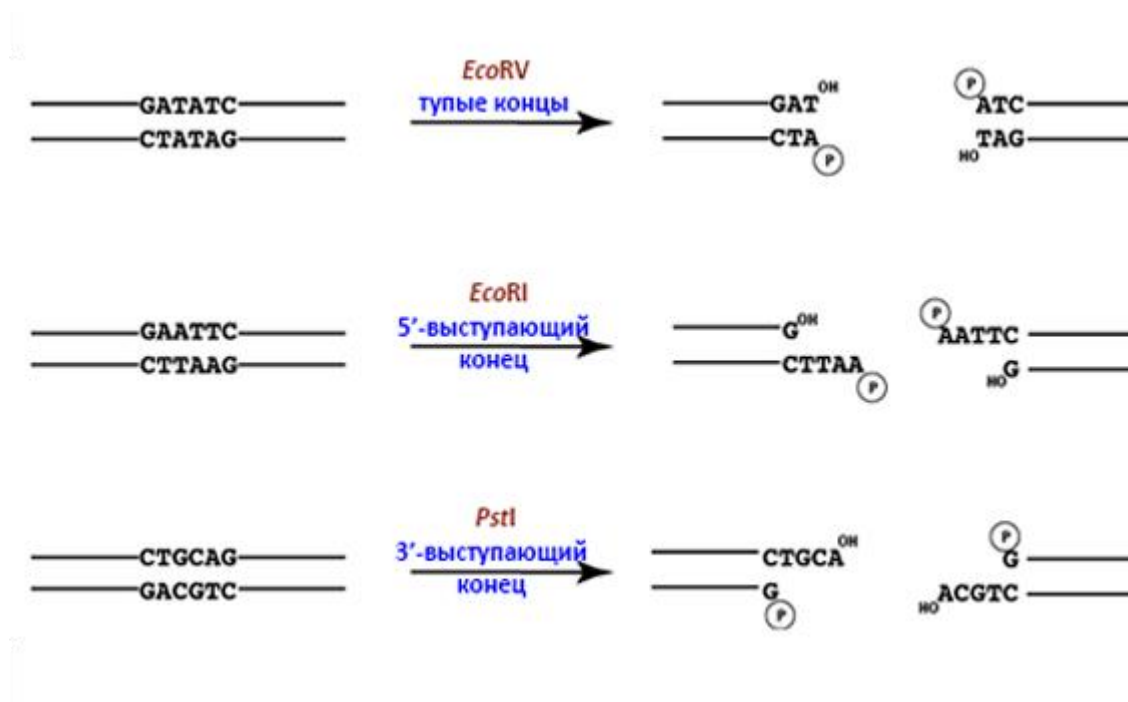
Рекомбинант ДНК конструкциясини яратиш

Турли биологик манбалардан ажратилган икки ёки ундан кўп ДНК фрагментларининг бирикишидан ҳосил бўлган ДНК молекуласи рекомбинант ДНК дейилади. ДНКнинг муайян фрагментлари, шунингдек зарур генни тутувчи фрагментлар рестриктазалар ёрдамида олинади. Рестриктазалар «тўмтоқ» учли ва «ёпишқоқ» учли фрагментлар ҳосил қилади. ДНК фрагментларини битта молекулага бирлаштириш бу фрагментларнинг қандай учга эга эканлигига боғлиқ ҳолда, турли усуллар ёрдамида амалга оширилади.

Бир хил изчилликка эга «ёпишқоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули. Баъзи рестриктазалар, масалан EcoRI, ДНК занжирида таниб кесадиган сайт марказидан бир хил масофада зина ҳосил қилиб, симметрик узиш пайдо қилади. Бу бир-бирига комплементар участкалар асосини жуфтлашиши ҳисобига ёки «ёпишқоқ» учлари орқали бирлашиш тенденциясига эга бўлади. (1.18- ва 1.19- расмлар).

Асосларнинг жуфтлашиши фақатгина комплементар изчилликлар ўртасида содир бўлади, шунинг учун EcoRI таъсирида пайдо бўлган

ААТТ-учлар масалан Hind III томонидан ҳосил қилинган АГЦТ-учлар билан қовушмайди. Лекин бир рестриктаза таъсирида ҳосил қилинган ҳар қандай ДНК бўлаклари (келиб чиқишидан қатъий назар) комплементар нуклеотидларнинг бир занжирли участкалари орасида водород боғлари ҳосил қилиш ҳисобига бирикиши мумкин.

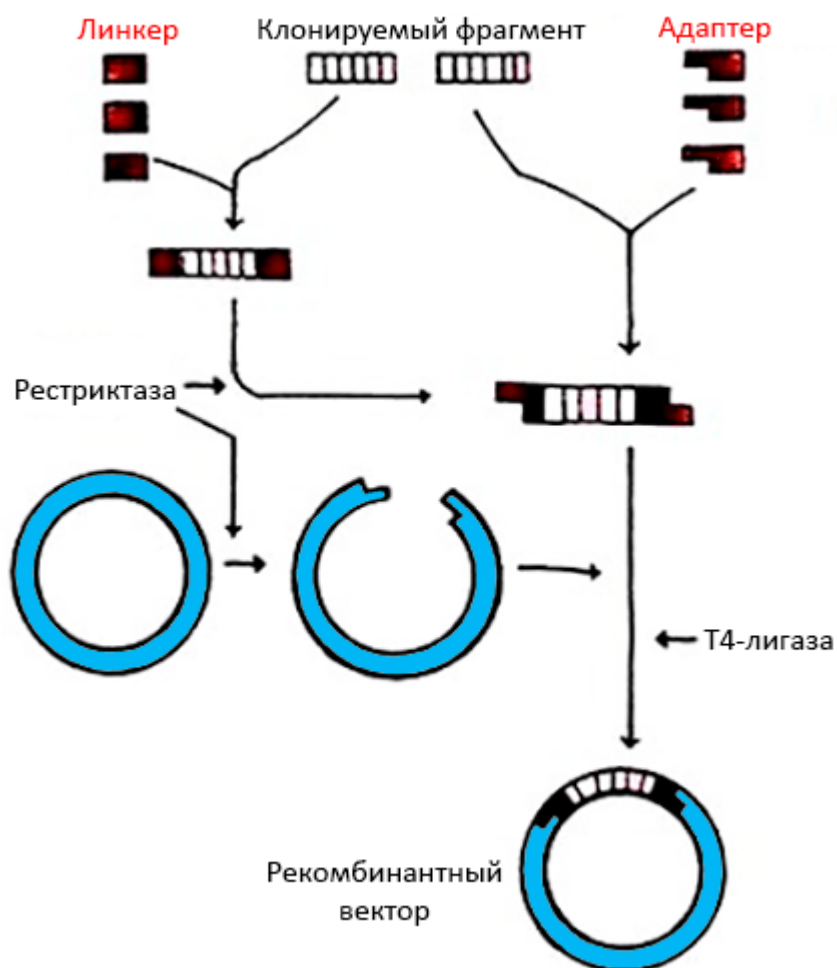


1.18-расм. Бир хил изчилликга эга ДНК фрагментларини .

«тўмтоқ» ва «ёпишқоқ» учлари орқали бирлаштириш.

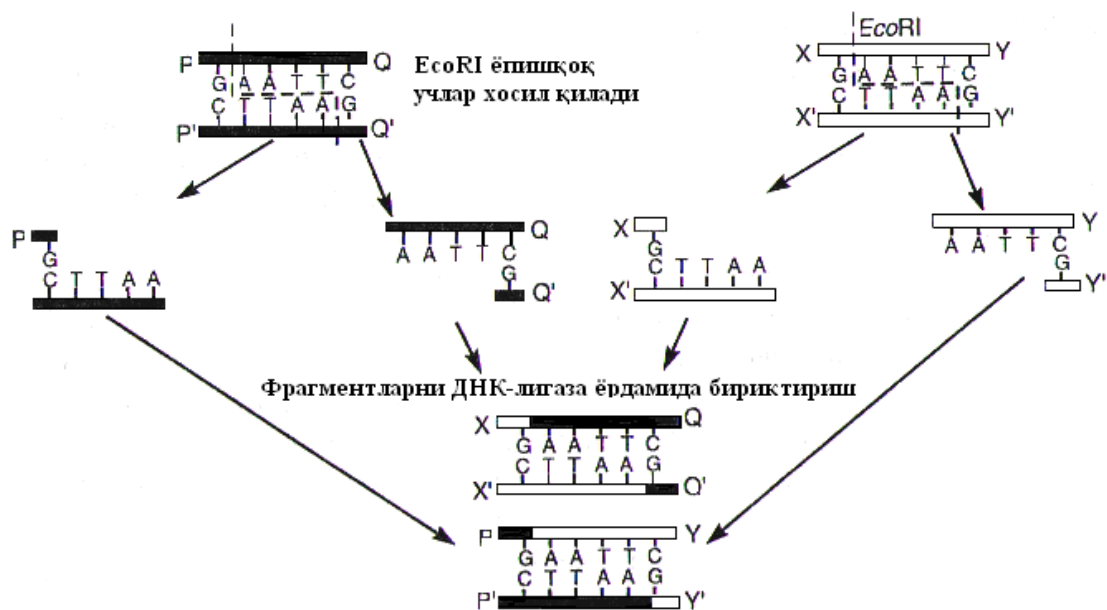
Лекин бундай жуфтлашишдан сўнг ҳам ДНК қўш занжирининг бутунлиги тўлиғича тикланмайди ва фосфодиэфир боғида иккита узилиш қолади. Уларни тиклаш, яъни тикиш ёки лигирлаш учун ДНК лигазадан фойдаланилади. Рекомбинант молекулалар ҳосил қилиш ишларини лигаза ферменти якунлайди. Бундай тажрибалар биринчи марта 1972 йилда (П.Берг. АҚШ) бажарилган ва «ёпишқоқ» учлар ҳосил қилувчи рестриктазалар билан ДНК лигазадан биргаликда фойдаланиш рекомбинант ДНК молекуласи олишнинг умумий усулларини яратишда асос бўлиб хизмат қилиши кўрсатилган. Шу лабораторияда биринчи марта SV40 вируси ва E.coli нинг галактоза оперонини тутувчи λ бактериофаги рекомбинант ДНКга

бириктирилган. «Тўмтоқ» учли фрагментларни бирлаштириш усули. Рестрикция сайти ичида тўғри узиш (қайчи сингари шартта икки бўлакка бўлади) ҳосил қилувчи рестриктазалар таъсирида «тўмтоқ» учли ДНК фрагментлари пайдо бўлади, уларни ҳам ДНК-лигаза ферменти ёрдамида бириктириш мумкин.



1.9-расм. Рестриктаза лигаза усулининг чизмаси.

Бундай ҳолларда лигирлаш реакцияси ўзига хос бўлиб, унинг самара даражаси «ёпишқоқ» учларни бириктиришга нисбатан бир оз пастроқ. Аммо «тўмтоқ» учли фрагментлар бириктиришининг «ёпишқоқ» учли фрагментларни бириктиришга нисбатан афзаллиги шундаки, «тўмтоқ» учли бу фрагментлар қайси рестриктаза таъсирида пайдо бўлишидан қатъий назар, турли рестриктазалар томонидан ҳосил бўлган фрагментлар осон бирикади.(1.20-расм)



1.20-расм. Бир хил изчилликка эга «тўмтоқ» учли ДНК фрагментларини бирлаштириш.

«Ёпишқоқ» ва «тўмтоқ» учли ДНК фрагментларни бириктириш усули. ДНКнинг «ёпишқоқ» учли фрагментларини ферментатив йўл билан «тўмтоқ» учли ДНК молекуласига бириктириш мумкин. Бунинг учун «ёпишқоқ» учлар «тўмтоқ» учларга айлантирилади яъни ДНКнинг фақат бир занжирли участкаларини гидролизловчи S1 нуклеаза ферменти ёрдамида «ёпишқоқ» учлардаги нуклеотидлар кесилади ёки ДНК полимераза I ёрдамида бир занжирли «ёпишқоқ» учларидан иккинчи занжир синтезланади яъни қўшимча нуклеотидлар қўшилади.

Шундай усулда «ёпишқоқ» учли ДНК фрагментларидан «тўмтоқ» учли фрагментлар ҳосил қилинади ва у бошқа «тўмтоқ» учли ДНК фрагментларига ДНК лигаза ферменти ёрдамида бирикади.

ДНК фрагментлари пробиркада бирлаштирилганидан сўнг, уларни тирик ҳужайраларга киритиш керак. Бунинг учун махсус вектор молекулалардан фойдаланилади.

Вектор молекулалар. Трансформация. Таркибида қўшимча ирсий ахборотлар тутувчи рекомбинант ДНК молекулаларини ҳужайраларга киритиш ва унинг барқарорлигини сақлаш ген

мухандислигининг асосий калит операцияси ҳисобланади. Буни амалга ошириш учун вектор молекулалардан фойдаланилади. Агар, ДНК шундайлигича хужайрага киритилса, Масалан бактерия хужайраларида ферментлари уларни нуклеотидларга парчалаб ташлайди. Баъзи ҳолларда ДНК хужайрага кириб ўрнашиши мумкин, лекин хужайранинг бўлиниш жараёнида у наслдан–наслга берилмай йўқолиб кетади. Рекомбинант ДНК хужайранинг генетик аппаратининг ташкил қилувчи қисмига айланиши учун, у геномга бирикиши (хромосомага интеграцияси) ва шунинг ҳисобига репликацияланиши ёки автоном репликацияланиш хусусиятига эга бўлиши керак.

Бегона ДНКнинг репликацияси, экспрессияси ва трансформациясини (бошқа организмга кўчишини) таъминловчи ДНК молекуласи *вектор* деб аталади. Вектор хужайрага кўшимча ирсий ахборот киритилишини амалга оширади. Вектор сифатида плазмидалар, бактериофаглар, мобил элементлар ва ҳайвонларнинг вирусларидан фойдаланиш мумкин. Ҳозирги вақтда жуда кўп векторлар яратилган бўлиб, уларни бир нечта типга бўлиш мумкин:

1. Клонлаш учун векторлар. Бундай векторларга бириктирилган ДНК фрагментларни репликациялаш орқали сонинини (амплификацияси) кўпайтириш учун фойдаланилади. Бундай мақсадлар учун бактерия плазмидалари ва фаглар қўлланилади. Геномнинг катта ўлчамдаги фрагментларини клонлаш учун эса бактерия ва ачитқи хромосомалари асосида яратилган (*BAC* ва *YAC*) сунъий векторларидан фойдаланилади.

2. Экспрессион векторлар. Улардан генларнинг муайян кетма-кетлиги аниқлаш ва уларнинг оқсил маҳсулотларини таҳлил қилиш, муайян оқсилни ишлаб чиқишда фойдаланилади. Кўп сонли экспрессион тизимлар, айниқса прокариот организмлар учун мавжуд. Шунингдек сут эмизувчилар, ўсимликлар ва ачитқилар хужайраларида генлар экспрессиясини амалга оширувчи векторлар ҳам яратилган.

Эукариот организмлар учун яратилган экспрессион векторлар полиаденилланиш сайти ва мазкур организмда ишлаш қобилиятига эга промотордан иборат экспрессион кассета тутди.

3. Трансформация учун векторлар. Реципиент геномига бегона ДНК фрагментларини киритиш учун фойдаланилади. Бундай векторлар одатда геномга интеграцияланишига ёрдам берувчи махсус изчилликлар тутди. Замонавий вектор тизимлар полифункционал бўлиб, бир нечта функцияни битта векторга жамлайди. Биринчи табиий векторлар бактериялардан ажратилган бўлиб, кўпчилиги тажриба мақсадидан келиб чиққан холда (экспрессион векторлар, клонлаш учун векторлар, трансформация учун векторлар) ген муҳандислиги усуллари ёрдамида қайта яратилган.

Вектор молекулаларнинг таркибида маркер ген бўлиши, бу ген ҳужайрада вектор иштирок этаётгани ҳақида маълум қилувчи фенотип бериши яъни вектор селектив ирсий белгига эга бўлиши керак. Кўпинча селектив белги сифатида табиатда кенг тарқалган антибиотикка чидамлилик генидан фойдаланилади. Бу генларнинг оксил маҳсулоти-ферментлар антибиотикларни модификациялайди ва уларнинг таъсирини инактивациялайди (кучсизлантиради). Масалан, *nptII* гени канамицин антибиотигини инактивацияловчи неомицинфосфотрансфераза генини кодирлайди. Бактерия ҳужайраси *nptII* гени иштирокида канамицинга нисбатан чидамлилик ҳосил қилади ва шу антибиотик иштирок этуви озиқа муҳитларида ўсиб, клон ва ҳужайралар колонияси ҳосил қилади. Одатда таркибида *nptII* гени бўлмаган ҳужайралар бундай озиқа муҳитларда ўса олмайди ва нобуд бўлади. Демак, вектор конструкция таркибида *nptII* генини тутиши вектор иштирок этаётган ҳужайраларни аниқлаш ва уларни танлаб олиш имконини беради.

E.coli ҳужайраларига вектор конструкциялар трансформацияси
Таркибида бегона ДНК фрагментлари тутувчи вектор конструкциялар

*E.coli*нинг махсус штаммлари ҳужайраларига трансформация қилиш учун фойдаланилади. Вектор плазмидаларнинг бактерияларга трансформацияси ҳужайраларнинг ДНК молекулаларини қабул қилиш қобилиятига асосланган (компетентлигига). *E.coli* ҳужайраларига трансформациялаш асосан кальций шоки ёки электропорация усулларида бирини қўллаш орқали амалга оширилади. Иккала ҳолатда ҳам бактерия мембранасининг ДНК молекулалари учун ўтказувчанлиги ошади.

Вектор молекуласи учун қуйидаги асосий талаблар қўйилади:

1) вектор бегона ДНК фрагментларини ўзига бириктириши учун бир нечта рестриктазалар учун ягона рестрикция сайтлари тутиши зарур.

2) вектор репликация бошланиш нуқтаси изчиллигини тутиши ҳисобига муайян ҳужайраларда репликацияланиши шарт.

3) вектор маркер ген изчиллигини тутиши зарур. Бу генлар вектор конструкцияни тутувчи ҳужайралар селекциясини енгиллаштиради.

1.2-жадвал

Векторларнинг хусусиятлари

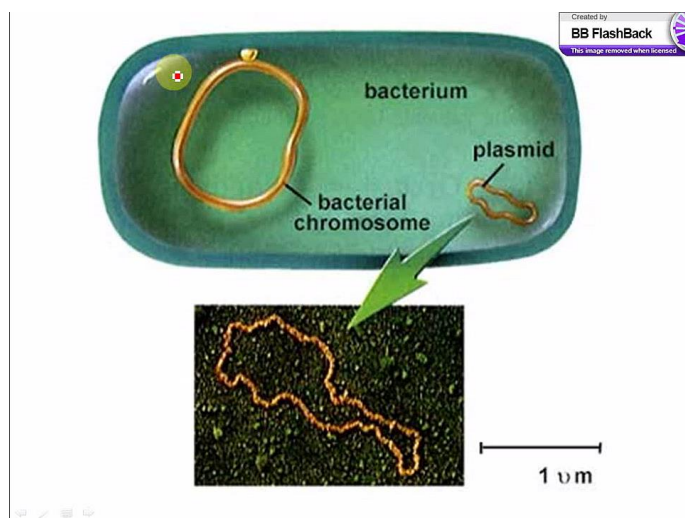
Векторлар	Ҳўжайин	Структураси	Вставка (қўшимча) нинг ўлчами(м.ж.н)
Плазмидалар	<i>E.coli</i>	Халқасимон	0,1-10
λфаг хромосомаси	<i>E.coli</i>	Чизиқли	5-25
Космидлар	<i>E.coli</i>	Халқасимон	35-45
ВАС	<i>E.coli</i>	Халқасимон	300 гача
РАС	<i>E.coli</i>	Халқасимон	100-300
ҲАС	<i>S.cerevisae</i>	Чизиқли	100-2000

МАС	Ҳайвон хужайралари	Чизиқли ёки халқасимон	41 000 (?)

Бактерия плазмидаларидан клонлашда фойдаланиш. Бактерия хужайрасида хромосома ДНКсидан ташқари, кўп нусхада халқасимон ДНК молекулалари ҳам мавжуд. (1-25 м.н.ж.). Бундай халқасимон молекулалар *плазмидалар* деб аталади (1.21-расм). Баъзи плазмидалар таркибида антибиотикга чидамлилиқ генларини тутади. Хужайрада плазмидаларнинг кўп нусхада ҳосил бўлиши натижасида антибиотикларни биокимёвий нейтралловчи ферментларнинг синтези ошади ва хужайранинг антибиотикка чидамлилиги ортади.

Уларнинг икки тури мавжуд бўлиб, биринчиси - транспозон ёки бактериофаг ирсий молекуласи каби хужайра асосий хромосомасининг махсус ДНК изчиллигини кесиб, рекомбинация бўла оладиган плазмидалар. Бундай рекомбинацияланувчи плазмидалар *трансмиссибл*, яъни наслдан-наслга ўтувчи плазмидалар деб аталади. Трансмиссибл плазмида асосий хромосомага бириккандан кейин ўз мустақиллигини йўқотади. Асосий хромосомадан мустақил равишда ўз-ўзини репликация қила олмайди. Айни пайтда бундай плазмидаларда жойлашган генлар асосий хромосомада ўз фаолиятини бажаради. Хужайра бўлинганда рекомбинацияланувчи плазмида генлари асосий хромосома генларига бириккан ҳолда наслдан-наслга ўтади.

Иккинчи - тоифа плазмидалар *автоном ҳолда репликацияланувчи плазмидалар* деб аталади. Бундай плазмидалар асосий хромосомага бирика олмайди, асосий хромосомалардан мустақил равишда ўз-ўзини репликация йўли билан ўнлаб ва ҳатто юзлаб марта кўпайтира олади. Автоном плазмидалар бактерия ёки замбуруғ бўлинганда қиз хужайралар орасида тасодиқий равишда тақсимланади. Шу билан бирга автоном плазмида бир хужайрадан иккинчисига хужайра қобиғи ва мембранасининг тешикларидан ўта олади.



1.21-расм. Бактерия хужайрасида автоном репликацияланувчи плазмиданинг кўриниши.

Рекомбинант ДНК нинг автоном репликация бўлиши учун жавоб берадиган ДНК бўлаги - **вектор** молекулалари дейилади. Вектор молекулалар ўз вазифасига кўра икки типга бўлинади:

Биринчиси - **автоном репликация бўлувчи векторлар**.

Иккинчиси - **хромосомага интеграция бўлувчи векторлар**.

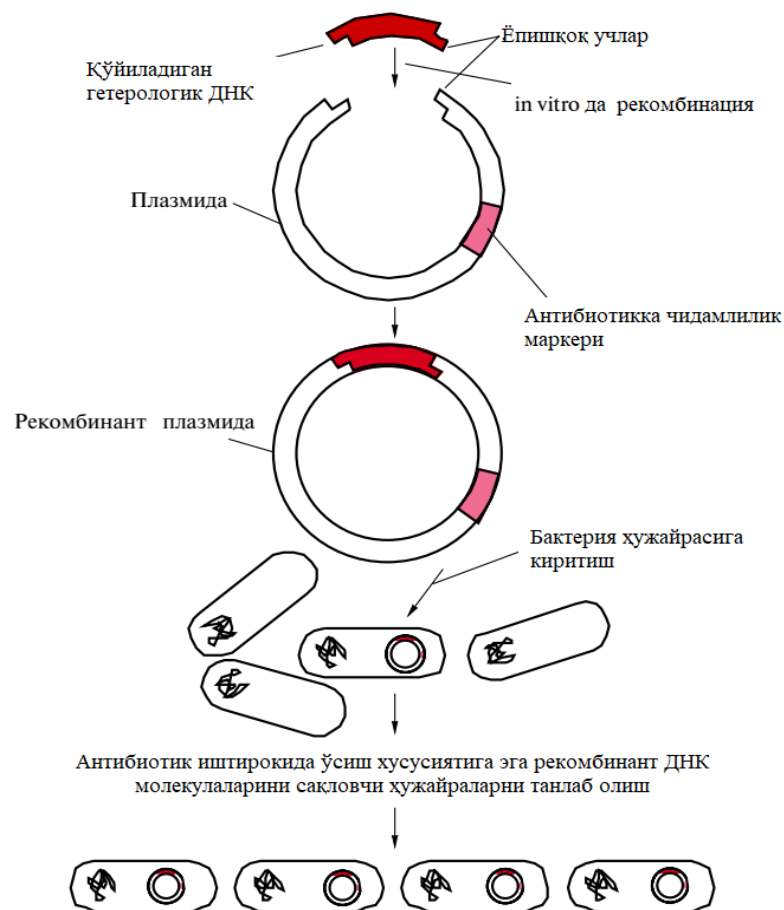
Вектор молекулалар ген муҳандислиги биотехнологиясида генларни клонлашда ва трансформация қилишда асосий иш қуроли бўлиб хизмат қилади.

Вектор молекулалари вазифасини фаг ДНК лари, плазмидалар ва ўсимликларни хлоропласт ҳамда митохондриял ДНК лари ўташи мумкин.

Хужайрадаги плазмидалар нусхасининг сони ўзгариб туради. Бу хужайранинг ва плазмидаларнинг ирсий хусусиятларига боғлиқ. Баъзи турдаги плазмидалар хужайрадаги сони 10-200 нусха бўлгунига қадар кўпайишни давом эттиради. Бошқа турлари эса бактерия хромосомасининг кўпайиш тезлигида репликацияланади. Бундай типдаги плазмидалар хужайрада бир дона ёки бир нечта бўлиши мумкин. Клонлаш учун фақат биринчи типдаги плазмидалар асосидаги векторлардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир.

Кальций ионлари иштирокида таркибида плазмидаси йўқ бактериялар томонидан плазмидалар осон ютилади. Бактериялар ҳужайрасида фақат бир типдаги плазмидалар иштирок этиши мумкин.

Плазмидалардан вектор сифатида биринчи марта 1973 йилда П.Берг лабораториясида фойдаланилган. Тажрибалар унча катта бўлмаган (~9 м.н.ж.), тетрациклинга чидамлилиқ гени тутувчи *E.coli* плазмидаси *pSC 101* да олиб борилган. Плазмида таркибида фақат бир донa EcoRI рестриктаза ферменти таниб кесадиган сайт (махсус нуклеотидлар изчиллиги) бўлганлиги сабабли, фермент плазмиданинг халқасимон қўш занжирини фақат бир жойидан кесиб «ёпишқоқ» учли очиқ халқа ҳолатига ўтказди. Плазмида *pSC 101*нинг ДНКси ичак таёқчаси учун бегона ДНКнинг EcoRI–фрагментлари билан аралаштирилади. ДНК-лигаза ферментлари ёрдамида бегона ДНК фрагментлари ва *pSC 101* плазмида ягона рекомбинант молекулага бирлаштирилади. Сўнгра бу рекомбинант плазмидани *E.coli*нинг компитент ҳужайраларига қўшилганда у бактерия ҳужайрасига киради. Рекомбинант плазмидани тутувчи ҳужайралар тетрациклинли селектив муҳитда ажратилади. (1.22-расм)

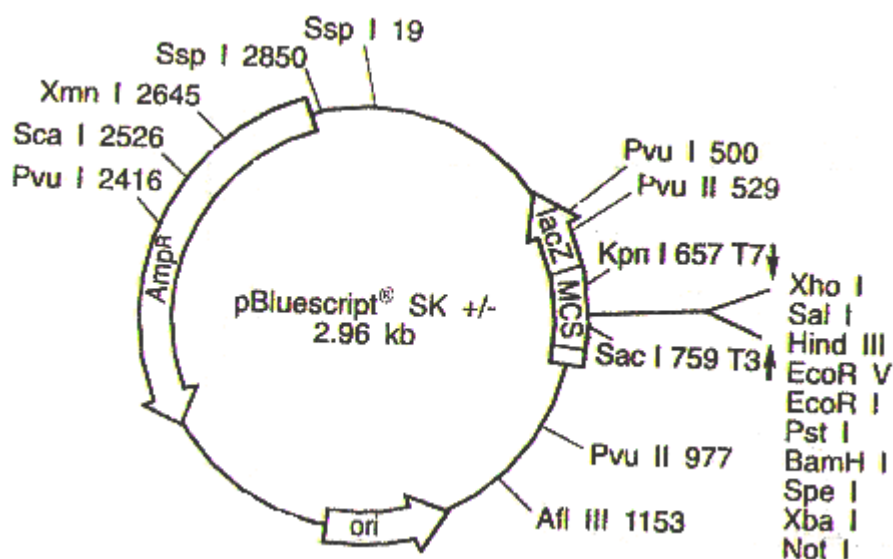


1.22-расм. ДНК фрагментларини плазмидалар ёрдамида клонлаш бўйича тажриба схемаси

Бу тарихий тажриба ген муҳандислиги ишларини бошланишига асос бўлди. Про- ва эукариот хужайраларига турли ДНК фрагментларни киритиш ва янги хусусиятли хужайралар олиш бўйича тажрибалар ўтказиш мумкин бўлди.

Ҳозирги вақтда табиий векторлар асосида фойдаланиш қулай бўлган вектор конструкциялари яратилган. Улардан *pUC* типи векторлари ва уларнинг ҳосилалари (*pBluescript*, *pGEM*) кенг тарқалган бўлиб, улардан клонлаш учун ҳам, шунингдек экспрессиялаш учун ҳам фойдаланиш мумкин. Унча катта бўлмаган *pUC* векторлари (~2,7 м.н.ж.) таркибида репликация бошланиш нуқтаси изчиллигини (*ori*-сайт) тутиб, бу уларга бактерия хужайрасида мустақил репликацияланиш имконини беради. *pUC* векторида клонлашни

осонлаштириш учун кўп фойдаланиладиган рестриктазалар учун такрорланмас рестрикция сайтларини акс эттирувчи сунъий синтезланган *полилинкер* изчиллиги мавжуд. (1.23-расм).



1.23-расм. Клонлаш учун pBluescript SK вектори

(MCS –полилинкер изчиллиги; Amp^R-ампицилинга чидамлик гени (селектив маркер).

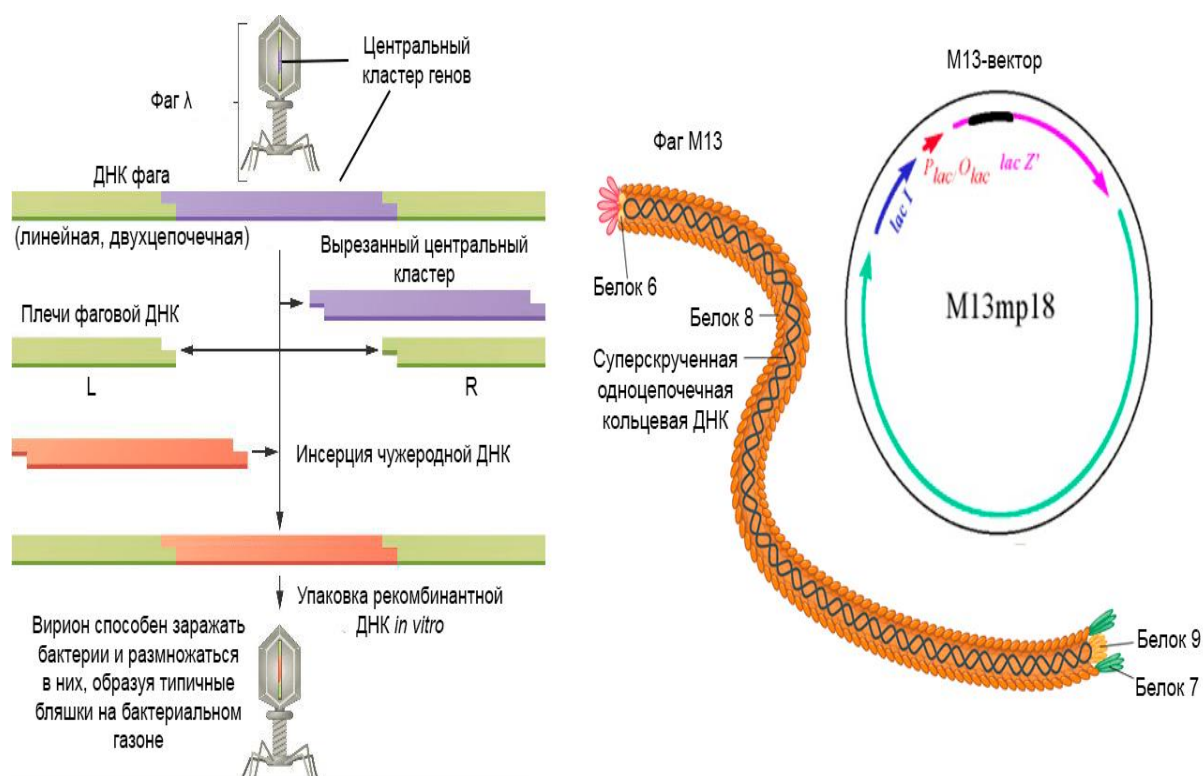
Полилинкер вектордаги бегона ген иштирокининг қулай маркери ҳисобланган *lac Z* генига ўрнатилган. *lac Z* гени X-gal субстратни парчалаш хусусиятига эга (β -галактозидаза ҳосилалари) β -галактозидаза генини кодирлайди. Бунда бактерия ҳужайралари ранги оқ рангдан мовий ранггача ўзгаради. Полилинкернинг унча катта бўлмаган изчиллиги (100-20 н.ж.) β -галактозидаза оқили синтезига таъсир этмайди. Бегона ДНК фрагментини клонлаш учун *lac Z* гени экспрессиясини барбод қилувчи *pUC*-вектори полилинкерига бириктирилади. ДНК уланган вектор тутувчи ҳужайралар X-gal субстратни парчалайди ва бундай бактерия ҳужайралари бошқа ген уланмаган бўш плазмида вектори тутувчи мовий ранг ҳужайралардан фарқли оқ рангда қолади. *pUC* векторлар ва уларнинг ҳосилаларининг оқ-мовий ранг селекцияси клонлаш жараёнини анча осонлаштиради, чунки вектор плазмидага бегона генларни улаш жуда кам ҳолларда муваффақиятли чиқади. Аксарият ҳолларда 10-30та лигирланган

молекулалардан фақат биттаси рекомбинант бўлади, яъни ўзининг таркибида бегона фрагмент тутади ва фақат мовий ранг селекция ёрдамидагина рекомбинант ДНК тутувчи бактерия клонларини аниқлаш мумкин.

pUC векторлар таркибида клонланган генларнинг транскрипциясини таъминловчи регулятор изчилликдан иборат махсус экспрессион кассеталар тутади.

Фаглар асосидаги векторлар. Космидлар. ВАС- ва YAC-векторлар. Бактерия плазмидалари асосидаги векторлар клонлаш учун кенг қўлланилади, лекин уларнинг битта муҳим камчилиги бор, бу унинг сигимининг кичиклигидир. Бундай векторларда ўртача 7-8 м.ж.н. узунликдаги фрагментларни клонлаш мумкин, эукариот генлари изчиллиги эса (~10-25 м.ж.н.) узунроқ бўлади. Бундан ташқари генларнинг кодирловчи қисми атрофида жойлашган регулятор изчилликларни ўрганиш учун геномни кенгроқ клонлаш зарур. Бундай катта фрагментларни клонлаш учун эса плазмида векторлари тўғри келмайди. Чунки катта ўлчамдаги хромосома ДНКси (~9 м.н.ж.дан ортиқ) уланган плазмидалар барқарор бўлмайди ва репликация жараёнида аста секин ўлчами камайиб боради. λ бактериофаги асосида таркибига 22 м.ж.н. узунликдаги бегона ДНК фрагментларини тутувчи вектор конструкция яратилган. λ бактериофаг асосида клонлаш учун бундай векторларни яратишда фаг ДНК молекуласининг марказий қисми фагнинг E.coli да кўпайиши учун зарур эмаслиги эътиборга олинган ҳолда рестриктазалар ёрдамида фаг геномидан кесиб олинганда репликация учун зарур бўлган фагнинг ўнг ва чап елкаси ўзгармасдан қолиши керак. Фаг елкалари бошқа фрагментлардан алоҳида ажратилиб, клонлаш учун вектор сифатида қўлланилади. Кесилган фаг ДНКси ўрнига ўлчами 9-21 м.ж.н. бўлган бегона ДНК уланади. Бактерияларда фақат фагнинг иккала елкаси ва бегона ДНК тутувчи фаглар кўпаяди

(1.24- расм). Бунда олинган фаг рекомбинант ДНКси 30 м.ж.н. дан кам бўлмаслиги керак.



1.24-расм. Бактериофаглар асосидаги векторда ДНКни клонлаш.

Fag vektorlari. Chap tomonda λ -almashtirish vektori joylashgan. Fag DNKning chap yelkasi (L) bosh va jarayonning sintezi uchun, o'ng (R) litik tsikl uchun, markaziy mintqa esa lizogen uchun (xromosomaning bir qismi sifatida) javobgardir. Ikkinchisini og'riqsiz ravishda ma'lum hajmdagi DNK bilan almashtirish mumkin va hattoki tanlab olinadigan markerlarsiz ham bo'lishi mumkin, chunki faqat qo'shimchali vektorlar yuqumli zarralarni hosil qilishi mumkin. Ko'pgina vektorlarni allaqachon ikkita qo'l shaklida sotib olish mumkin. O'ng tomonda *M13mp18*, M13 fagiga asoslangan bitta zanjirli vektor (ikkita zanjirli vektor ham mavjud - M13mp18 RF). Green faj DNK, anglatadi qora ko'milgan klonlash uchun polylinker, - *lacZa* (pushti), qolgan elementlar rekombinat DNKni *lacZ* (ko'k-oq test) yordamida aniqlashni ta'minlaydi.

1- Фагнинг репликацияси учун зарур бўлмаган ДНК фрагменти;
2-фагнинг бактерия хужайраларида репликацияланиши ва фагнинг кейинги тахланиши учун жавобгар генларни тутувчи ДНК фрагментлари; 3-бегона ДНК фрагментларини тутувчи бактериофаг.

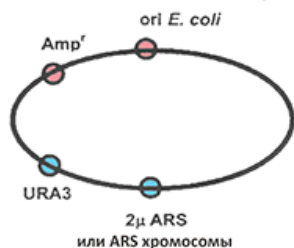
Янада узунроқ генларни ёки ёнма-ён генлар гуруҳини ажратиш ва ўрганиш учун катта ўлчамдаги (~30-45 м.н.ж.) ДНК фрагментларини клонлаш зарур. Бундай фрагментларни клонлаш учун катта сиғимга эга махсус вектор конструкциялар яратилган бўлиб, улар *космидлар* деб

аталади. Космидлар дурагай молекулалар бўлиб, фаг геномининг махсус *cot*-участкасини тутати, шунинг ҳисобига улар λ фагининг бош қисмига жойлаша олади. Уларнинг плазмидалар каби репликацияланиши учун имкон яратади. Космидларнинг ўлчами фаг векторлариникига нисбатан кичкина, ҳаммаси бўлиб 5 м.ж.н., космидларга 30-45 м.ж.н. узунликдаги генларни улаш мумкин. Бундай рекомбинант ДНК тутувчи фагнинг бошчалари фаглар каби кўпая олмайди. Улар билан *E.coli* хужайралари трансформацияланади. Эукариот ДНКсини тутувчи *cot*-сайт ўрнатилган дурагай молекула *E.coli*да плазмидалар сингари кўпаяди ва ҳар бир фаг заррачалари индивидуал бактериал трансформант колониясини ҳосил қилади.

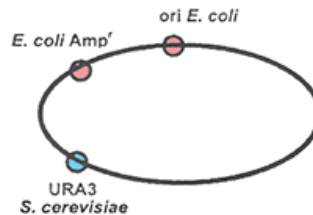
100 м.ж.н.дан ортиқ узунликдаги ДНК фрагментларини клонлаш махсус яратилган *BAC* ва *YAC* векторларида амалга оширилади. *BAC*-векторлар бактериянинг F-плазмидаси асосида олинган бўлиб, бу плазмидаларнинг бактерия хужайраларидаги репликацияси ва нусхасининг кўпайишига жавобгар генларни ва клонлашни осонлаштирувчи қатор қўшимча нуклеотид кетма-кетликларни тутати. *BAC* –векторлар сиғими ўзининг унча катта бўлмаган ўлчамида (~7 м.ж.н) жуда катта -100-300 м.ж.н. Унинг сиғими геном библиотекасини яратишда клонлар сонини кўп марта камайтириш имконини беради.

YAC-векторлар ҳам катта ўлчамдаги ДНК фрагментларини клонлашда фойдаланилади, ачитқининг сунъий минихромосомасини намоён қилади. *YAC*-вектор центромер, теломер ва репликация бошланиш нуқтасига эга. Бундай векторга бегона ДНКнинг 100 м.ж.н., дан ортиқ узунликдаги фрагментларни ҳам улаш мумкин. Бундай минихромосома ачитқи хужайрасига киритилганда репликацияланади ва митоз бўлинишда ўзини бошқа ачитқи хромосомалари каби тутати.

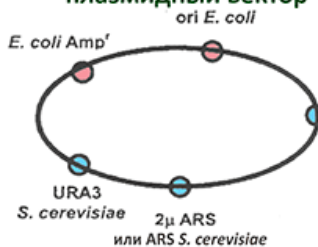
Высококопийный репликативный плазмидный вектор



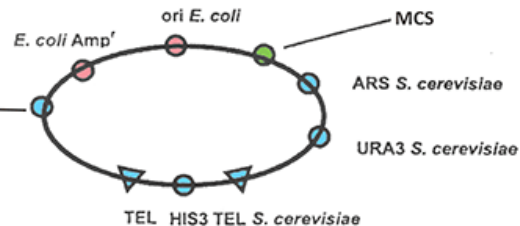
Интегративный плазмидный вектор



Низкокопийный репликативный плазмидный вектор



Искусственная хромосома, YAC



Расм. *S. cerevisiae*-dagi asosiy vektor turlari konstruksiyasini taqqoslash. YAC'lar ham shattllar ekanligini unutmang: agar ular halqada yopilsa, ularni *E. coli*-da ham qo'llab-quvvatlash mumkin. *Push*ti bakteriyalarda, ko'k esa xamirturushda ishlaydigan elementlarni bildiradi. *Amp^r* - ampitsillinga qarshilik (selektiv markerga misol), *TEL* - telomerlar. Qisqartmalarning qolgan qismi maqola matnida keltirilgan.

Геном библиотекаси (генлар банки) - мазкур организмнинг ДНК изчилликлари тўлиқ тўпламининг вектор таркибида клонланишидир. Бутун геномни алоҳида қисмларга ажратиш (фрагментациялаш) ген муҳандислиги ишларини енгиллаштиради, алоҳида изчилликларни, турли геномларнинг муайян қисмларини қиёсий таҳлил қилиш ва асосийси индивидуал генларни ажратиш ҳамда улар билан ишлаш имконини беради.

Геном ДНКси фрагментлари юқори молекуляр хромосома ДНКсини рестриктазалар ёрдамида гидролизлаш йўли билан олинади. ДНК гидролизи учун рестриктазалар шундай танланиши керакки, олинган фрагментлар бир-бирини ёпиши ва уларнинг узунлиги вектор ўлчамига мос келиши лозим. Олинган фрагментлар фаг елкалари билан лигирланади ва фаг заррачаларининг олдиндан тайёрланган тайёр бошчаларига жойлаштирилади. Генлар банки шундай усулда олинади. Генлар банки фаг банки кўринишида 70 °C ҳароратда хлороформ тагида сақланади. Шундай усулда генлар банкини ўн йиллаб сақлаш мумкин.

Олинган геном клонларини кўпайтириш, шунингдек керакли клонни қидириб топиш ишларини амалга ошириш учун фаг библиотекаси билан бактерия хужайралари зарарланади ва зарарланган хужайралар Петри ликобчасидаги агарли муҳитга экилади. Сут эмизувчилар хужайрасининг тўлиқ гаплоид тўплами $3 \cdot 10^9$ жуфт асос тутади. 15 минг жуфт нуклеотид сиғимдаги векторда библиотека 1млн. атрофида фаг заррачалари тутади. Миллионлаб фаг бляшкаларини текшириш, бутун геномдан зарур ген иштирокини текшириш имконини беради. Айнан шундай тарзда қидирилаётган ген изчиллигини тутувчи фаг заррачаларини аниқлаш, фақат шу изчиллик ДНКсини кўпайтириш ва кейинги изланишларни амалга ошириш мумкин.

Генлар изчиллигини идентификация қилиш ва ажратиш

Генларни ажратиш ген мухандислигининг асосий босқичларидан биридир. Рекомбинант ДНК олишнинг бу босқичидаги муваффақияти авваломбор бу геннинг қанчалик даражада ўрганилгани ва унинг донор геномидаги жойлашиш ҳолатига, мазкур ген мРНКсини ажратиш усуллари ва шу ген маҳсулотларининг функционал фаоллигини аниқлаш усуллариининг яратилиши; мазкур ген кўп миқдорда мавжуд бўлган (амплификацияланган) ёки фаол бўлган объектларнинг мавжудлиги, кейинчалик тескари транскрипция йўли билан шу геннинг ДНКсини олишда фойдаланиб, унинг мРНКсини етарли миқдорда ажратишга боғлиқ.

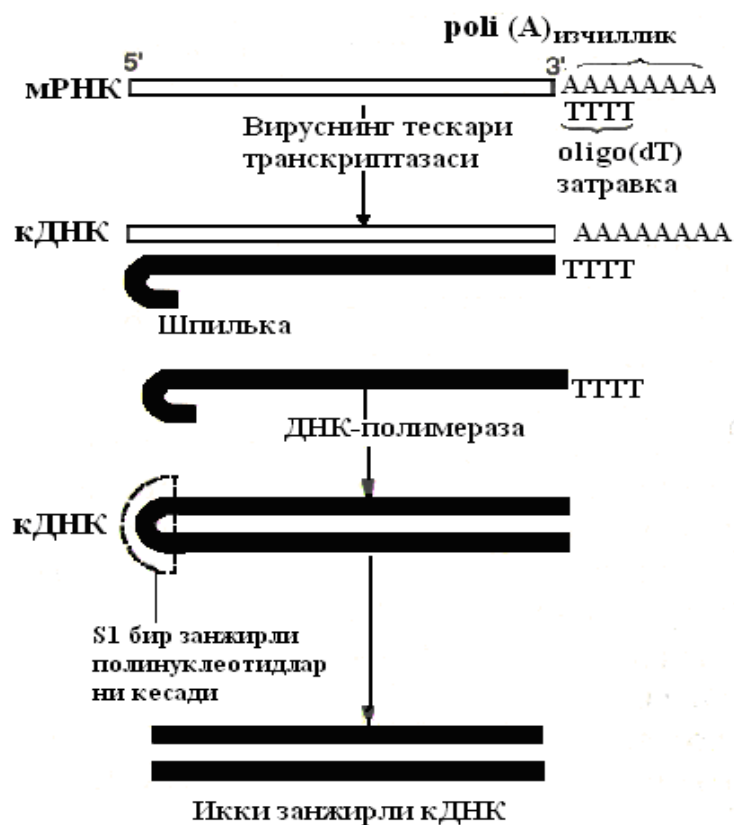
Генларни ажратишнинг иккита асосий усули мавжуд: ген сунъий равишда синтезланади ёки клонотекадан зарур генни тутувчи клон танлаб олинади.

Комплементар ДНК синтези (кДНК). *Тескари транскриптаза ёки ревертаза* ферменти аниқланганидан сўнг, генни сунъий равишда синтезлаш орқали генларни ажратиш имконияти пайдо бўлди. Бу фермент РНК тутувчи онкоген вируслардан ажратиб олинган. Фермент специфик ДНК-полимеразани акс эттиради ва РНК бошқарувчи ДНК

синтезини РНКдан матрица сифатида фойдаланиб амалга оширади. Натижада комплементар ДНК занжири синтезланади. Фермент ген экспрессиясининг биринчи босқичига—транскрипцияга тескари реакцияни катализлайди, унинг номи ҳам шундан олинган.

Деярли барча эукариот мРНКлари ўзининг 3' учида аденин қолдиқларидан иборат поли (А)- изчиллик тутади. Бу изчиллик процессинг натижасида мРНКга бирлашади.

ДНКнинг синтез реакцияси бошланиши учун ДНК ревертазага бошқа барча ДНК-полимеразалардаги каби унча узун бўлмаган икки занжирли праймер керак бўлади. Агар реакцияга 18-20та тимин қолдиқларидан иборат (поли дТ) бир занжирли қисқа олигонуклеотидлар қўшилса, улар мРНКнинг поли(А)-изчиллиги билан бирлашади (комплементарлик принципи асосида ДНК- РНК фрагментлар ҳосил қилади) ва бундай дуплекс ферментатив реакциянинг бошланиши учун затравка бўлиб хизмат қилади (1.9. расм). Натижада дурагай РНК-ДНК молекула ҳосил бўлади, унинг учида фермент икки занжирли ДНКнинг қисқа бўлаги-шпилкани синтез қилади. Шпилка ДНКнинг иккинчи комплементар занжири синтези учун затравка бўлиб хизмат қилади. Буни ДНК полимераза I амалга оширади. мРНК занжири РНК-аза ферменти томонидан гидролизланади. ДНКнинг бир занжирли участкаларини гидролизловчи S_1 эндонуклеаза ёрдамида шпилкани кесиб ташлаш мумкин. Натижада занжирларидан бири мРНК га комплементар бўлган икки занжирли ДНК молекуласи ҳосил бўлади. Бундай ДНК *кДНК* деб аталади ва у мРНКнинг дастлабки молекуласи транскрипцияланган структура генига мос келади (1.25-расм).



1.25-расм. мРНКда кДНК синтези схемаси.

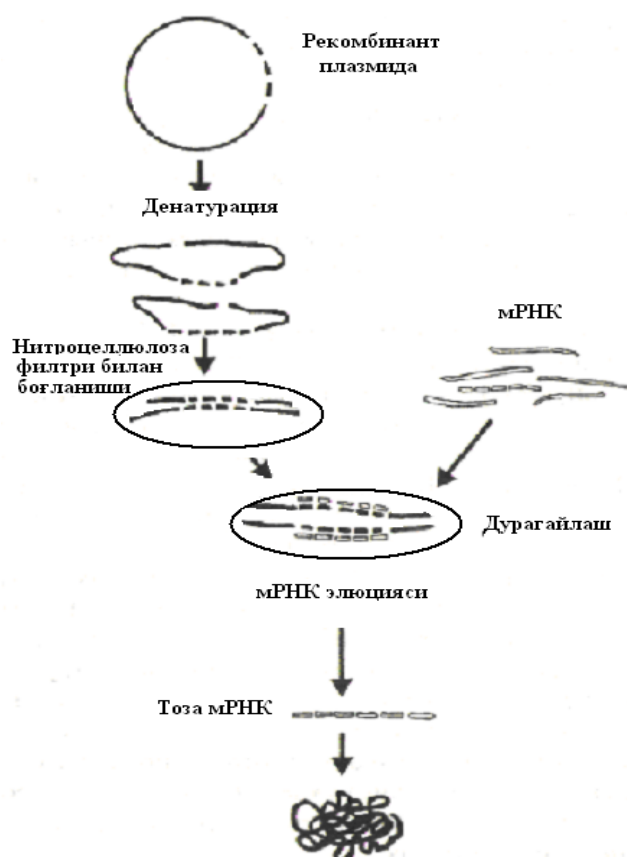
Олинган кДНКга «ёпишқоқ» учлар бирлаштирилади ва плазмидага, масалан, *pUC 19* плазмидасига уланади. кДНК фрагментларини кўпайтириш учун рекомбинант ДНК *E.coli*га киритилади. Шу каби схемалар ишлаб чиқарилиши саноат асосига қўйилган. Инсулин, ўсиш гормони, интерферон, альбумин, иммуноглобулинлар, қатор бошқа оқсиллар генларини олишда фойдаланилади.

Мазкур оқсилни кодирловчи айнан шу ген олингани хақида ишонч хосил қилишнинг бир нечта усуллари мавжуд. Агар ген томонидан кодирланган оқсилнинг аминокислоталар тартиби маълум бўлса, унда клонланган ДНКнинг нуклеотид изчиллигини аниқлаб, унинг айнан шу оқсилни кодирлашига ишонч хосил қилиш мумкин.

Баъзи холларда ДНК-РНК дурагайлаш усули ҳам қўлланилади. буни амалга ошириш учун индивидуал мРНК ажратилган бўлиши керак (1.26-расм). кДНК молекулалари денатурацияланади (ДНК иплари бир-

бирларидан ажралади) ва радиоактив нишонланган мРНК билан аралаштирилади. Ренатурация шароитида (қўш спиралнинг қайта тикланиш жараёни, ДНК ва унга комплементар РНК занжири орасида ҳам ҳосил бўлиши мумкин) ДНК-РНК дурагай молекулалари ҳосил бўлади. S_1 нуклеазадан фойдаланиб, уларнинг тўлиқ комплементарлигига ишонч ҳосил қилиш мумкин. Агар кДНК РНКга тўлиқ комплементар бўлмаса, унда дурагай молекулада жуфтлашмаган бир занжирли участкалари бўлади, уларни S_1 нуклеаза ферменти ёрдамида гидролизлаш орқали йўқотиш мумкин.

Агар кДНК вектор молекула таркибида экспрессияланишга қодир бўлса, унда мРНК синтези амалга ошади, сўнгра мРНКдан оқсил синтез бўлади, генни унинг маҳсулоти бўйича оқсилни аниқлаш иммунохимий усул ёрдамида идентификация қилиш мумкин. Шундай тарзда бу усулларнинг бирини қўллаб айнан зарур ген олинганини исботлаш мумкин.



1.26-расм. Филтрларда ДНК-РНК дурагайлаш ёрдамида кДНКни тутувчи плазмидалар идентификацияси

кДНК библиотекасини яратиш. Биз юқорида индивидуал мРНК ажратиш имкониятини юқорида кўриб чиқдик. Демак бу амалга ошиши учун ген муайян хужайра ва тўқималарда танлаб фаол бўлиши керак. Бундай ҳолларда мРНК нинг аралаш популяцияларида тескари транскрипция реакцияси ўтказилади ва натижада барча типдаги мРНКлар тескари транскриптлари аралашмасини акс эттирувчи кДНК олинади. Сўнгра одатда кДНК банкини яратиш усулига ўтилади. Бунинг учун кДНК молекулалари вектор молекулалар билан бирлаштирилади ва улар бактерия хужайраларига трансформацияланади. Лекин тажрибалар шундай ўтказилиши керакки, ҳар бир бактерия хужайраси бир дона рекомбинант плазмидага эга бўлиши ва шунга асосан фақат бир хил турдаги кДНК тутиши зарур. Ҳар бири ўзининг таркибида кДНК тутувчи вектор плазмидалар йиғиндиси *кДНК библиотекаси* деб аталади. Демак, кДНК библиотекаси геном библиотекасидан фаркли, геномнинг бутун изчилликлари ва генларини ўзида тутмайди, фақат бу организмда экспрессияланувчи қисминигина намоён қилади. Бундай ҳолларда кДНК геннинг промотор ва интрон қисмларисиз фақат структура қисмини акс эттиради.

Фақат баргдан ёки илдиздан мРНК ажратиб, илдиз ёки барг тўқимасининг муайян тўқималарда баргда ёки илдизда экспрессияланувчи генларга хос бўлган специфик кДНКсини олиш мумкин. Шу йўл билан ўсимлик ёки ҳайвонлар кДНК библиотекаси билан бирга алоҳида органлар ва тўқималар кДНК библиотекаси (орган ёки тўқимага хос кДНК библиотекаси) ёки онтогенезнинг турли жараёнларига характерли кДНК библиотекасини яратиш мумкин.

Бундай библиотекаларни олиш ва таҳлил қилиш- тўқимага хос генларни ажратиш ва хужайра ҳамда тўқималарнинг дифференцияланиш жараёнларини ўрганиш, тўқима ва органларга хос метаболизмни, бу жараёнларда иштирок этувчи генларни аниқлаш имконини беради.

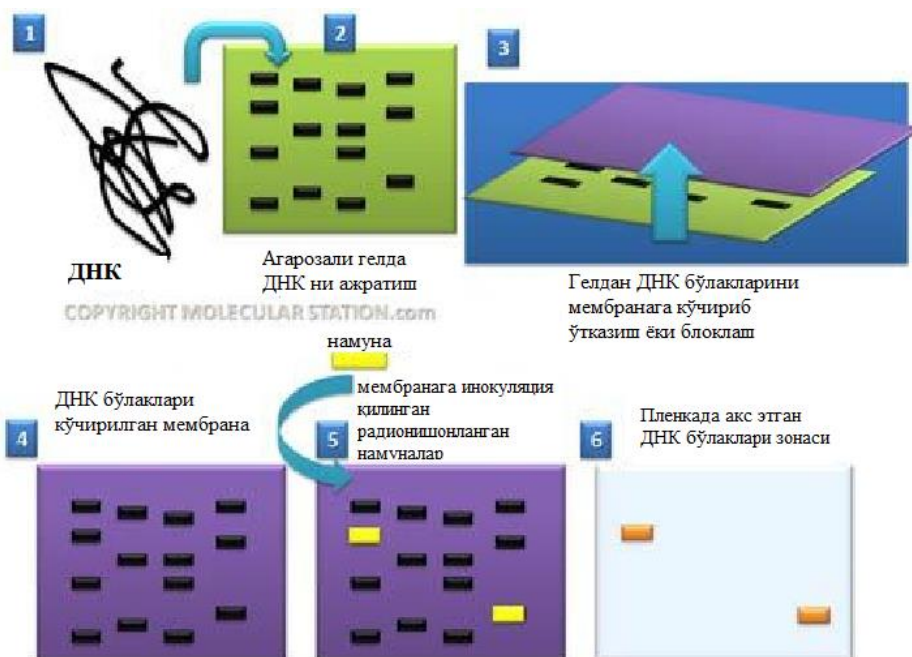
Клонотекадан зарур генни идентификация қилиш. Бундай ҳолларда тадқиқотчиларнинг олдида минглаб клонлар орасидан уни қизиқтирувчи генни тутувчи ДНК фрагменти мавжуд бўлган клонни излаб топиш вазифаси туради. Ҳозирги вақтда бундай муаммони ҳал қилиш учун молекуляр зондлардан фойдаланилади. Зонд- геннинг изчиллигига гомологик бўлган нуклеин кислотанинг нишонланган молекуласини ўзида акс эттиради. Қидирилаётган генни тутувчи бактерия колониясини аниқлаш учун радиоактив нишонланган индивидуал мРНК яхши зонд бўлиб хизмат қилади. Аммо индивидуал мРНКни ҳар доим ҳам ажратишга муваффақ бўлиш қийин. Баъзида хужайрада қидирилаётган ген маҳсулоти (демак мРНКси ҳам) жуда кам миқдорда бўлади, ёки мРНК жуда тез деградацияланади (парчаланади), шунинг учун мРНКни ажратиш мумкин эмас. Барқарор оқсил иштирокида унинг баъзи қисмининг унча кўп бўлмаган миқдорини ажратиш ва амнокислоталар тартибини аниқлаш мумкин (бунинг учун узунлиги 5-10 аминокислота қолдиғидан иборат оқсил қисмини билиш етарли). Аминокислоталарнинг маълум изчиллиги бўйича мРНКнинг шу участкасидаги аминокислоталар изчиллигини кодирловчи қандай нуклеотидлар изчиллиги бўлиши мумкинлигини аниқлаш мумкин. Сўнг радиоактив нишонланган алоҳида нуклеотидлардан 30 жуфт нуклеотидан кам бўлмаган узунликдаги олигонуклеотидлар кимёвий синтезланади, улардан биттаси қидирилаётган ген участкасига тўлиқ комплементар бўлади. Бундай нуклеотидлар кДНКга, сўнг геном библиотекасидаги клонларга мос келувчи зонд- намуна ҳисобланади.

Библиотекалар скрининги. Радиоактив нишонланган зонд олинганидан сўнг, зондга комплементар ва таҳлил қилинаётган оксилга мос изчилликга эга плазмида тутувчи бактерия колонияларини идентификация қилиш учун, геном библиотекаси ёки кДНК библиотекаси кўриб чиқилади.

Бактерия колониялари ўсаётган Петри ликобчаси устига махсус нейлон филтр ёпилади; ҳар бир колония хужайраларининг бир қисми филтрга ўтади, қолган қисми ликобчада қолади. Натижада реплика ҳосил бўлади: ликобчада ва филтрда колониялар бир хил тақсимланади. Нейлон филтрга ДНК мустаҳкам ўрнашади. Нейлон филтрдаги бактерияларни лизис қилиш ва клонларнинг ДНКсини денатурациялаш учун ишқор билан ишлов берилади. Сўнг филтр нишонланган зонд (кДНК ёки мРНК ёки сунъий олигонуклеотид) солинган эритмага жойлаштирилади. Дурагайланишда зонд нишонланган зондга комплементар изчилликлар тутувчи колониялар билан боғланади; филтр зонд молекулалари билан боғланмаган хужайралардан ювиш орқали тозаланади ва радиоактив нишон тутувчи колонияларни аниқлаш учун радиоавтография қилинади. Бу колониялар Петри ликобчасида идентификацияланганидан сўнг, алоҳида олиб кўпайтирилади. Шундай қилиб, геном библиотекаси ёки кДНКнинг кўп сонли клонлари орасидан таҳлил қилинаётган ген изчиллигини тутувчи клон аниқланади ва кейинги ишлар бутун геном билан эмас, фақат битта ген (ДНК фрагменти) билан олиб борилади.

ДНК таҳлилининг блот-дурагайлаш усули нафақат кДНК ва геном библиотекалари скринингида, шунингдек геном ДНКсини таҳлил қилишда ҳам фойдаланилади. Шу усул ёрдамида геномда муайян ДНК изчиллиги иштирокини аниқлаш мумкин (масалан, трансген ўсимликлар геномида бегона ген иштироки, ген нусхаларининг кўпайиши, геннинг нуклеотид изчиллигидаги ўзгаришларни таҳлил қилиш мумкин). Блот-дурагайлаш усули билан ДНКни таҳлил қилиш муайян ДНК

фрагментларининг уларни специфик нишонланган зондлар билан дурагайлаш йўли орқали аниқлашга асосланган. У қуйидаги босқичлардан иборат: 1) ДНК рестрикцияси; 2) рестрикцияланган ДНК фрагментларини гелдан нейлон филтрга кўчириш ва уларни иммобилизациялаш; 3) нишонланган зонд билан дурагайлаш. Юқори молекуляр хромосома ДНКси битта ёки бир нечта рестриктазалар билан кесилади. Хосил бўлган фрагментлар агарозали гелда электрофорез қилиш орқали ажратилади ва олдиндан денатурацияланган (0,4 М NaOH) гелнинг устига нейлон филтр, унинг устидан филтр қоғозлар қўйилади. Капилляр кучлар таъсирида ДНК фрагментлари перпендикуляр равишда филтрга ўтиб, у билан боғланади (иммобилизацияланади). Бундай кўчириш блоттинг (blot –сўриш) деб аталади. Бунда филтрда гелнинг репликаси хосил бўлади. Сўнг филтр радиоактив нишонланган бир занжирли зонд солинган эритмага жойлаштирилганда филтрга бириккан хромосома ДНКси фрагментлари билан қўшилиб дурагайланади. Зонд фақат ўзига гомологик ДНК изчиллиги тутувчи фрагментлар билан дурагайланади. Нишон билан боғланган фрагментлар радиоавтография орқали аниқланади. 1.27-расмда Саузерн (Southern blotting) бўйича блот-дурагайлашнинг схемаси берилган.



1.27-расм. Саузерн бўйича блот-дурагайлаш усули принципи.

Радиоавтографияда ҳосил бўлган чизиқчалар орқали геномда таҳлил қилинаётган фрагментлар мавжудлигини, бу изчилликлардаги ўзгаришларни (делеция, инсерция), чизиқчаларнинг оч ёки тўқ ранги орқали геннинг геномдаги нусхалари сонини аниқлаш мумкин. Демак, бу усул бутун геном ва алоҳида генларни таҳлил қилиш учун ҳам қўлланилади.

Шундай усулда мРНК ни (Northern blotting усулида) ҳам иммобилизация қилиб, таҳлил қилиш мумкин.

Демак, усулларни биргаликда қўллаш орқали кўпчилик генларни, уларнинг маҳсулотлари оқсилларини жуда кам миқдорда бўлса ҳам ажратиш мумкин. Бу генлар келажакда ген муҳандислиги ишлари учун объект бўлиб хизмат қилиши мумкин.

Полимераза занжир реакцияси

Полимераза занжир реакцияси (ПЗР) экспериментал усул бўлиб, биологик материал намунасидаги нуклеин кислоталар (ДНК) нинг муайян фрагментларини оз концентрацияларидан ҳам кўпайтириш имконини беради.

ПЗР ДНК ни амплификация ⁹қилишдан ташқари нуклеин кислоталар билан кўплаб бошқа муолажалар (мутация киритиш, ДНК бўлакларини узайтириш) имконини бериб, генларни клонлаш, янги генларни ажратиш, касалликларга ташхис қўйишда қўлланилади.

1970 йилда норвег олими Хьел Клеппе бир занжирли ДНК қисқа жуфтликлари ёрдамида - праймерлар ёрдамида ДНК амплификацияси усулини таклиф этган. Лекин бу вақтда ушбу ғоя амалга ошмасдан ПЗР ни 1983 йилда америкалик олим Кэри Муллис кашф этган. Унинг мақсади ДНК полимераза ферменти ёрдамида ДНК нинг дастлабки молекуласини кўп босқичли иккилантириш жараёнида ДНК ни амплификация қилиш усулини топишдан иборат бўлган. 1993 йилда Кэри Муллис ушбу кашфиёт учун Нобель мукофотиغا сазовор бўлган. Дастлабки даврда ДНК полимеразани реакцион аралашмага ҳар бир циклда мунтазам қўшиб туриш талаб этилган, чунки бу фермент иссиқ ҳароратда, яъни ДНК занжирини узиш учун бериладиган ҳарорат таъсирида инактивацияга (нофаолликка) учраган. Кейинчалик 1986 йилдан бошлаб термофил бактериялардан ажратиб олинган ДНК полимеразадан фойдаланиш вақт ва ферментни тежаш имконини бериб, ушбу усул такомиллаштирилган. ДНК полимераза *Thermmus aquatias* бактериясидан ажратиб олинганлиги учун Тақ полимераза деб номланган. Ушбу полимеразанинг камчилиги шундаки, хато нуклеотидни киритиб қўйиш эҳтимоли катта бўлиб, бу ферментда хатоларни тўғирлаш механизми (3^1-5^1 экзонуклеаза фаоллиги) мавжуд эмас. Архейлардан ажратиб олинган *Pfu* ва *Pwo* полимеразалари бундай механизмга эга, улардан фойдаланиш ДНК даги мутациялар сонини қисқартиради. Лекин уларнинг иш унуми (процессивлиги) Тақ

⁹ **Amplifikatsiya** ([lotincha](#) *amplificatio* - ko'payish, ko'payish), [molekulyar biologiyada](#) - xromosoma [DNK](#) qismlarining qo'shimcha nusxalarini hosil qilish jarayoni, odatda tarkibida ba'zi [genlar](#) yoki tarkibiy [heteroxromatin](#) segmentlari mavjud. Kuchaytirish hujayralarning selektiv stimulyatsiyaga javobi bo'lishi mumkin (masalan, [metotreksat](#) ta'siriga). Amplifikatsiya - bu o'smaning rivojlanishi paytida onkogenlarning faollashish mexanizmlaridan biri, masalan, neyroblastoma rivojlanishi paytida N-myc onkogen. Shuningdek, amplifikatsiya - PCR - [polimeraza zanjiri reaksiyasi](#) paytida ma'lum bir nukleotid ketma-ketligi nusxalarining ko'paytirilishi

полимеразага нисбатан паст. Шунинг учун ҳозирги вақтда *Taq* ва *Pfu* полимераза аралашмасидан бир вақтнинг ўзида полимеризация жараёнининг тезлиги ва нусха олишнинг юқори аниқлигига эришиш мақсадида фойдаланилади. ПЗР ўтказиш усули сунъий (*in vitro*) шароитда бир неча каррали равишда ДНК нинг муайян участкаларини танлаб нусха олдирилишига асосланади. Бунда берилган шароитни кониктирадиган айти бирор участканигина нусхасини кўпайтириш амалга ошади ва айти вақтда у тадқиқ этилаётган намунада учрасагина юз беради. ДНК нинг тирик организмлардан амплификацияси, яъни репликациясидан фарқли равишда ПЗР да ДНК нинг нисбатан қисқа участкалари амплификацияси юз беради. Одатдаги ПЗР жараёнида ДНК нинг нусха олинадиган участкалари ўлчами 3000 жуфт асос (3 минг ж.н.) дан ошмайди. Турли полимеразалар аралашмаси ёрдамида кўшимчалар кўшиб ва муайян шароитларда ПЗР фрагментлари узунлиги 20-40 минг жуфт нуклетидларга қадар орттирилиши мумкин. Лекин бу эукариот ҳужайранинг хромосомаси узунлигидан анча кичик бўлади.

ПЗР реакциясининг компонентлари. ПЗР ни ўтказиш учун энг оддий ҳолатда қуйидаги компонентлар талаб этилади:

- ✓ ДНК матрица, амплификация қилиш талаб этиладиган ДНК нинг муайян участкасини сақлайди;
- ✓ иккита праймер-талаб этиладиган ДНК фрагментларининг турли қарама-қарши учларига комплементар бўлади;
- ✓ термостабил ДНК полимераза - ДНК нинг полимеризациясини катализловчи фермент. ПЗР да қўлланиладиган полимераза ферменти юқори ҳароратда узоқ вақтгача фаоллигини йўқотмаслиги лозим бўлиб, бунинг учун термофил микроорганизмлардан ажратиб олинган – *Thermus aquaticus*, (*Taq*- полимераза), *Pyrococcus furiosus* (*Pfu*-полимераза), *Pyrococcus woesei* (*Pwo*- полимераза), *Thermus thermophiles* (*Tht*- полимераза) ва бошқалар ишлатилади;

✓ Mg^{2+} ионлари, полимераза ферментининг ишлаши учун зарур бўлади;

✓ Буфер эритмаси, реакция шароитларини pH, эритманинг ион кучини таъминлайди, таркибида тузлар, қорамол зардоби -албумин сақлайди. Реагин эритманинг буғланишини олдини олиш учун пробиркаларга юқори ҳароратда қайнайдиган, масалан, вазелин мойи қуйилади;

✓ Пирофосфатаза, уни қўшиш ПЗР реакция унумини оширади. Ушбу фермент нуклеотидфосфатларни ўсиб боровчи ДНК занжирига бирикишининг ножўя маҳсулоти бўлган пирофосфатларни ортофосфатга қадар гидролизини катализлайди. Пирофосфат ПЗР ни ингибирлаб (тўхтатиб) қўйиши мумкин.

Праймерлар. ПЗР нинг ўзига хослиги унинг матрица ва праймерлар - қисқа, узунлиги 18-30 асосдан иборат синтетик олигонуклеотидлар орасида комплементар комплекс ҳосил қилишига асосланган. Ҳар бир праймер икки занжирли матрицанинг битта занжирига комплементар ва амплификация қилинадиган участканинг боши ва охирини чегаралайди.

Матрицанинг праймер билан гибридизацияси (отжиг) тугагач, праймер ДНК полимераза учун матрицанинг комплементар занжири синтезида затравка (пилинг) бўлиб хизмат қилади. Праймерларнинг асосий тавсифи праймер матрица комплексининг эриш зичлиги (T_m) билан ифодаланади. T_m ДНК матрицанинг ярми олигонуклеотид праймерлар билан комплекс ҳосил қиладиган ҳарорат. Қисқа (ва узун ДНК фрагментлари учун) олигонуклеотидлар учун K^+ ва DMSO ¹⁰ионлари инобатга олинган T_m ни ҳисоблашнинг ўртача формуласи мавжуд.

¹⁰ **Dimetilsülfoksid (DMSO)** - - (CH_3)₂SO formulali kimyoviy modda . O'ziga xos shirin ta'mga ega rangsiz, hidsiz suyuqlik (etarlicha toza mahsulot [dimetil sulfidning](#) o'ziga xos hidiga ega). Muhim bipolyar [aprotik erituvchi](#) . U [tibbiyot](#) bilan bir qatorda [kimyoning](#) turli sohalarida keng qo'llaniladi .

Агар праймернинг узунлиги ва нуклеотид таркиби ҳамда отжиг ҳарорати нотўғри танланса, матрица ДНК сининг бошқа қисмлари билан қисман комплементар бўлган комплекслар ҳосил бўлиб, носпецифик маҳсулотларнинг ҳосил бўлишига олиб келади. Эриш ҳароратининг юқори чегараси полимеразанинг таъсир этиш ҳарорати оптимуми билан чегараланган бўлиб, 80⁰ дан юқори бўлганда фаоллиги пасаяди.

Праймерларни танлаб олишда қуйидаги мезонларга аҳамият бериш лозим:

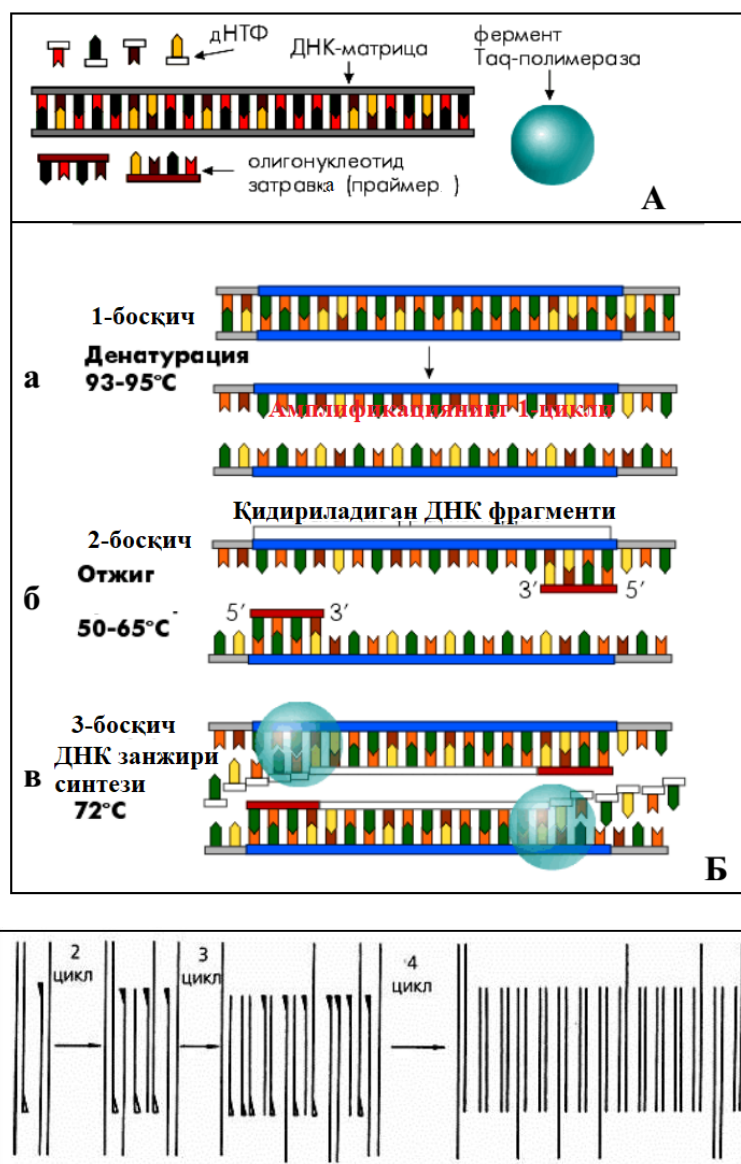
G+C –таркиби 40-60% бўлиши.

Tm фарқи 5⁰ дан ошмаслиги

Носпецифик иккиламчи структуралар -шпилкалар учрамаслиги

-3¹ учиди гуанин ёки цитозин бўлиши мақсадга мувофиқ бўлиб, у матрица молекуласи билан водород боғларни ҳосил қилиб, гибридизациянинг турғун бўлишини таъминлайди.

ПЦР ни амалга ошириш учун 20 нуклеотидга яқин ўлчамдаги сунъий нуклеотид праймерларни ортиқчаси билан таҳлил қилинаётган намунага қўшилади. Уларнинг ҳар бири ДНК бўлагининг 3¹-учининг биттасига комплементар бўлади. ДНК нинг қўш занжирини узиш учун ДНК ни қиздирилади, кейин совитилади, бунда праймерларнинг ДНК бўлагига комплементар қисмларининг гибридизацияси рўй беради.



1.28-расм. Полимераза занжир реакцияси схемаси.

А) ПЗР реакциясининг дастлабки компонентлари

В) биринчи босқичда қўш занжирли ДНК ни 93-95⁰ гача занжирларни узиш ва бир занжирли ДНК олиш учун қиздирилади (а). Кейин праймерлар билан гибридизация (отжиг) ни амалга ошириш учун аралашмани совитилади (б), ДНК нинг комплементар занжирлари праймерлардан бошлаб иккала йўналишда синтезланади (в).

Натижада эритмада қисқа занжирли участкалар затравка (праймерлар) билан бирга ДНК нинг бир занжири тузилмалари ҳосил бўлади. Реакция тугагач, ДНК ни яна қиздириш йўли билан денатурацияга учратилади. Совитиш жараёнида ортиқча праймерлар яна

самарали равишда гибридизацияга учрайди. Лекин бунда нафақат дастлабки ДНК занжири билангина эмас, балки янги синтезлангани билан ҳам бирлашади. Тизимга ДНК полимеразани қўшиш полимераза занжир реакциясининг иккинчи циклини бошлаб беради (1.28-расм).

Ушбу муолажани кўп марта такрорлаш праймерларнинг 30 ва ундан кўп циклдаги ферментатив узайишини таъминлайди. Бунда ишлатиладиган праймерлар билан иккала учидан чегараланган ДНК сигментлари ҳар бир ПЗР циклида экспоненциал равишда узайиб (2^n боғлиқликка яқинлашади, бунда n цикллари сони) боради. Реакциянинг барча бошқа маҳсулотлари чиқиши чизикли боғлиқликда ошади.

Шундай қилиб, ушбу реакцияда, нафақат, праймерлар билан чегараланган ДНК кетма-кетликлари амплификацияси самарали амалга ошади.

ГЕН МУҲАНДИСЛИГИДА ЗАМОНАВИЙ ТЕХНОЛОГИЯЛАР

Янги генларни ажратиш ва экспрессияловчи векторлар

Маркер генлар. Вектор –иккита компонентдан иборат ДНК молекуласидан тузилган бўлиб, у вектор қисм (ташувчи) ва клонланадиган бегона гендан иборат. Векторнинг вазифаси танлаб олинган ДНК ни реципиент-хужайрага олиб ўтиш, уни геномга жойлаштириш, трансформант хужайраларни аниқлаш (идентификация қилиш) га имкон яратиб бериш, киритилган геннинг турғун экспрессияни таъминлашдан иборат. Шундай қилиб, вектор кичик ўлчамли, хўжайин хужайрада репликация бўлиш хусусиятига эга бўлиши, кўп нусхага кўпайиши (амплификацияланиши) тегишли генни экспрессиясини таъминлаши (тегишли регулятор кетма-кетликларни сақлаши), шунингдек маркер генга эга бўлиши ҳам зарур бўлиб, танлаш (селекция) самарадор кечишида гибрид хужайраларни фарқлашга имкон бериши; муайян организм хужайрасига кўчиб ўта олиши зарур.

Маркер генларни 2 гуруҳга бўлиш мумкин: трансформант хужайраларни фарқлашга ёрдам берадиган антибиотиклар (канамицин, тетрациклин, неомицин ва бошқалар) га ва гербицидларга (ўсимликларда) чидамлилиқ

белгиларига жавобгар бўлган селектив генлар. Бу генлар қайсидир субстрат учун ва бошқаларга нисбатан ауксотроф¹¹лик генлари бўлиши мумкин. Бундай маркерларнинг асосий ишлаш принципи –трансформант хужайраларнинг селектив озуқа муҳитида ўса олиш қобилятига асосланиб, бундай муҳитга муайян моддалар қўшиш, нормал, нотрансформант хужайраларнинг ўсиши ва бўлинишининг тўхтатилиши (ингибирланишига) сабаб бўлади.

Репортер генлар хужайра учун нейтрал оксилларни кодирлайди, уларнинг тўқималарда мавжудлигини осон синаш (тест қилиб кўриш) мумкин. Бундай репортер генлар сифатида β -глюконуруонидаза (*GUS*), яшил флюоресцент оксил (*GFP*), люцифераза (*LUC*), хлорамфенилацетилтрансфераза (*CAT*) кабилар қўлланилади. Ҳозирги вақтда бу генлар арсеналидан кўпроқ *GUS* ва *GFP* генларидан ва *LUC* ва *CAT* генларидан эса камроқ фойдаланилади.

Ҳозирги вақтда репортер ген сифатида қўлланиладиган *GUS* гени *E.coli* дан олиб, модификация қилинган, β -глюконуруонидаза кодирлайдиган молекуляр оғирлиги 8 кД бўлган ген ҳисобланади. *GUS* гени муҳитнинг кенг диапазондаги оптимуми рН (5-8) ва 37⁰С бўлганда фаол ҳисобланади. У табиий ва синтетик глюконуруонидларнинг кенг спектрини гидролизлай олгани учун, спектрофотометрик ёки флюориметрик усуллар ёрдамида фермент фаоллигини аниқлашда тегишли субстратлар танлаб олиш имконини бера олади. Шунингдек тўқималарни *in siti* шароитида гистокимёвий (масалан, кўк рангга) бўйлишига олиб келади. Фермент етарлича турғун бўлиб, қиздириш (55⁰С да ярим яшовчанлик даври 2 соатга яқин) ва детергентларнинг таъсирига чидамли. Музлатиш-эритиш

¹¹ **Auksotroflar** bu organizmning o'sishi uchun zarur bo'lgan ma'lum bir [organik birikmani](#) sintez qila olmaydigan organizmlardir. Auksotrofiya bunday organizmlarga xos xususiyatdir; bu atama prototrofiyaga qarama-qarshi.

[genetika](#)da shtamm mutatsiyaga ega bo'lsa, auksotroph deb ataladi. [mutatsiya](#) bir yoki bir necha muhim birikmalar sintez qilishga qobiliyatsiz qiladi. Masalan, DNK zanjiridagi [uratsil](#) sintezi inaktivlangan [gen](#) tutuvchi [achitqi](#) mutant uratsil auksotrofidir. Bunday shtamm uratsilni sintez qila olmaydi va atrof muhitga uratsil qo'shilsagina o'sishi mumkin. Bu ayni holda uratsil bo'lganda o'sishi mumkin bo'lgan [yovvoyi turdagi](#) shtamm - uratsil prototrofiga qarama-qarshi,

жараёнларида *GUS* нинг фаоллигини йўқолиши кузатилмайди. Ген инженерлиги усуллари ердамида олинган химер оксиллар ичида *GUS*, одатда, ўзининг функционал фаоллигини йўқотмасдан сақлаб қолади. Тирик хужайраларда *GUS* оксили бир неча соатдан токи бир неча суткагача турғун сақлаб туриши билан алоҳида амалий аҳамият касб этади.

GFP (green fluorescent protein-яшил флюоресценция оксили) Shimura ва ҳаммуаллифлари томонидан 1992 йилда люминесцент хусусиятга эга медуза *Aequore Victoria* дан ажратиб олинган. *GFP* гени 1992 йилда Prasher ва ҳаммуаллифлари томонидан клонланган ва бир неча йил ўтгач ушбу генни репортер сифатида турли хил прокариот ва эукариот организмларда қўлланила бошланган. Ҳозирги вақтда *GFP* гени бутун дунёда олиб бориладиган юзлаб тажрибаларда қўлланилади ва уларнинг сони тобора ортиб бормоқда. Бундай тадқиқотлар қўллашнинг ортиши *GFP* генларининг ўзига хос хусусияти, яъни айнан унинг узун тўлқинли УБ нурлар билан нурлантирилганда кўринадиган (яшил) қисми флюоресцентлаши билан боғлиқдир. Бу флюоресценция бевосита оксилга боғлиқ бўлиб, унинг рўёбга чиқиши учун субстрат ёки кофакторларга эҳтиёж қолмайди. Айни хусусияти учун *GFP* истиқболли репортер ген ҳисобланиб, трансген организмларда турли хил ҳаётӣ (нодеструктив) тадқиқотларни ўтказиш имконини беради.

GFP нинг кўплаб ҳосилалари умумий ном билан *AFP* (autofluorescent proteins –автофлюоресцент оксиллар) деб аталади. Денгиз анемонаси *Discoccosoma sp.* дан яна бир янги *DsRed* оксили ажратиб олинган бўлиб, қизил ёруғликда флюоресценция беради. Масалан, сўнгги йилларда Россия Фанлар Академияси олимлари томонидан коралл полиплари *Anthozoa* тартиби вакилларида бир неча флюоресцент оксиллар ажратиб олинган бўлиб, уни ўта юқори ҳарорат, pH кўрсаткичининг энг юқори чегаралари ёки Na_2SO_4 каби қайтарувчилар билан денатурация қилиш мумкин. *GFP* оксиллари физиологик шароитларга қайтганда маълум даражада флюоресценция хусусиятини қайта тиклайди. Ген инженерлиги асосида олинган химер оксиллар таркибида *GFP* оксиллари, одатда, ўзининг

функционал фаоллигини сақлаб қолади. Тирик хужайраларда ҳам *GFP* жуда турғундир.

CAT генлари хлорамфеникол ацетилтрансфераза (*E.coli* дан ажратиб олинган) синтези учун жавобгар ҳисобланади. Бу фермент ацетил КоА гуруҳидан ацетил гуруҳини хлорамфениколга кўчириб ўтказилиши реакциясини катализлайди. Уни гистокимёвий усулда, яъни, тегишли субстрат қўшилганда тўқиманинг рангини ўзгаришига қараб аниқланади.

LUC-гени люцифераза ферментини кодирлайди (бактерия ва нурланувчи қўнғиздан клонланган). У трансформант хужайраларнинг нурланишига сабаб бўлади. Мазкур бактериал фермент икки хил суббирликдан ташкил топган. Унинг фаоллигини аниқлаш учун махсус ускуна-флуорометр ва ёруғлик сигналини амплификатори билан жиҳозланган рақамли фотокамера зарур бўлади. Фермент детергентлар таъсирида ва юқори ҳароратда фаоллигини йўқотади.

Селектив генларни репортерларга алмаштириш трансген ўсимликларни танлаб олишда жуда қўл келади, чунки улар қўлланилганда одам саломатлиги ва теварак атрофга бўладиган потенциал хавфдан батамом ҳоли бўлишига эришилади. Бироқ репортер генларни қўллаш кўлами, трансгенозни оддийгина назорат қилишга нисбатан анча кенгдир. Бошқа томондан ушбу ген хусусий ёки бегона бўлишидан қатъи назар, репортер генларнинг энг муҳим аҳамияти шундаки, муайян геннинг экспрессиясининг фазовий хусусиятларига вақтинчалик таъсир этиш мумкинлигидадир. Репортер генни фақат битта, промотр қисмига бириктириш ўрганилаётган генни экспрессиясини транскрипция даражасида регуляция қилинишида унинг “тоза ҳолда” ги ролини аниқлаш имконини беради. мРНК нинг трансляция қилинмайдиган 5’ –учини кодирлайдиган қисмини сақлаб қолиб, геннинг оксил кодирламайдиган қисмини репортер генга алмаштирилиши бу кетма-кетликни ядродан м РНКнинг транспорти ва трансляциясининг инициациясидаги ролини баҳолаш имконини беради.

Геннинг энг асосий хусусиятларидан бири-экспрессия бўлиш хусусиятидир. Бу хусусиятга кўплаб генетик элементлар жавобгар бўлиб, уларни ген ташувчи векторга жойлаштириш лозим бўлади.

Прокариот ва эукариотлада генлар экспрессиясининг бошқарилиши

Ген тармоқларининг прокариот ва эукариотлардаги мураккаблиги. Ген тармоғи –бу умумий функцияни бажарадиган (мувофиқлашган) экспрессияланувчи генлар гуруҳи. Яъни ген тармоғи –бу генларнинг функционал бирикишидир. Ген тармоқларининг функцияси ва улар графаларининг топологиясини кўриб чиқиб, уларнинг мураккаблиги билан боғлиқ биотизимларнинг инвариант тизимларни ажратиш мумкин. Бу (1) биотизимлардаги элементлар сонининг ортиши, (2) элементлар орасидаги боғлар сонининг ортиши, (3) иерархиялар даражаси сонининг ортиши, (4) биотизимлардаги боғлар ва элементлар сонининг ортиши.

Генларни ажратиш усуллари

“Қопқон” микро РНК нинг нишон-генларини аниқлашга ёрдам берадиган янги усул. Мазкур усул Сэнфорд-Бернем тиббиёт илмий-текшириш институти олимлари томонидан ишлаб чиқилган бўлиб, микро РНК нинг нишон белгиларини тирик ҳужайраларда аниқлашга ёрдам беради.

Одам ҳужайраларида турли хилдаги минглаб микроРНК (microRNA) синтезланиб, улар генетик материалнинг катта бўлмаган қисмларидан иборат бўлиб, олимларга муайян вақтда қайси генлар “ёқилиб” “ўчирилиб турилганлигини” ни аниқлашга ёрдам беради. Микро РНК лар ҳужайранинг нормал фаолияти давомида муҳим рол ўйнаши билан бирга, баъзи бир касалликларнинг ривожланишига ҳам ёрдам бериши мумкинки, буни шиш ҳужайралари мисолида уларнинг яшовчанлигини оширишга сабаб бўлиши билан боғлиқ равишда микдорининг ортиши билан изоҳланади.

Микро РНК саломатлик ва касалликнинг кечишида қандай рол ўйнашини яхши тушуниб олиш учун, муайян микро РНК ларнинг айнан қандай генларга таъсир этишини билиш, мутахассислар олдида турган жиддий муаммолардан бири бўлиб, уларнинг микдорини кўплиги ва ҳар бир микро

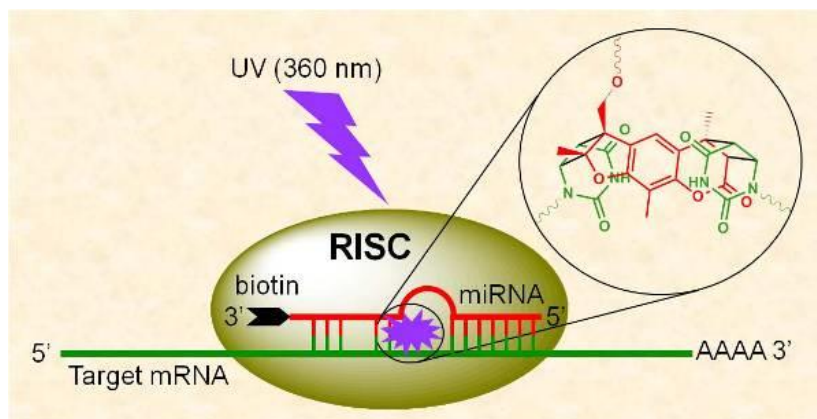
РНК юзлаб нишон-генлар фаоллигини бошқариши омилини ҳам инобатга олиш зарур бўлади. Бу усулнинг моҳияти Тарик Рана (Tariq Rana) ва унинг ҳамкасблари томонидан *Angewandte Chemie International Edition* журналича биринчи марта чоп этилган бўлиб, уни miR-TRAP (miRNA target RNA affinity purification) деб номланган. TRAP инглиз тилидан таржима қилинганда “қопқон” маъносини билдиради.

Микро РНК молекулалари генлар экспрессиясини ДНК занжири билан бевосита боғланиш ҳосил қилиш йўли билан эмас, балки матрица РНК си (мРНК), яъни ДНК дан инструкцияни хужайра ядросидан ўтиб цитоплазмага ташувчи ва у ерда оқсил тилига таржима (трансляция) қилинишига олиб келадиган ташувчи рибонуклеин кислотаси типи билан боғланиши ҳисобига генлар экспрессиясини блоқирайди. Микро РНК нинг (*RNA-induced silencing complex*) комплекси билан боғланиши айна матрица ДНК си кодирлайдиган оқсил синтезини кодирлаб, хужайра учун оқибати ёмон бўлган жиддий оқибатларга олиб келадиган таъсиридир.

miR-TRAP усули 3 асосий босқични ўз ичига олади. Биринчиси, бунда и ёруғлик ёрдамида фаоллаштириш мумкин бўлган ўсимлик моддаси псораленни микро РНК нинг зарурий молекуласи билан боғланишидан фотореактив зондлар олинади. Кейин узун тўлқинли ультрабинафша нурда (360 нм узунликда) фотополимеризация, яъни микромолекулалардаги кўндаланг боғларнинг ҳосил бўлиши реакциясини инициацияланади. Кейин РНК молекуласини ажратиб олинади ва тескари транскрипцияга асосланган (RT-qPCR) полимераза занжир реакцияси (ПЗР) усули ёрдамида уни аниқланади. Бошқача қилиб айтганда, олимлар миРНК/мРНК комплексини фиксация қилиш учун УБ нурлар ёрдамида хужайрани нобуд қиладилар. Кейин ДНК ни хужайрадан ажратиб олгач, матрица РНК си билан боғланган кетма-кетликни диққат билан ўрганиб, ушбу микро- РНК учун нишон-генни аниқланади.

Микро РНК ни аниқлашдаги бошқа хил нишонларга қараганда, miR-TRAP генлари учун “қопқон” оддий ва аниқ бўлиб, бу усул билан микро РНК

нишонларини бевосита тирик хужайраларда нормал шароитларда ёки патологик ҳолатларда аниқлаш имконини беради. Бундан ташқари miR-TRAP маълумотларни интерпритация (тушунтириш) да носпецифик фонга эга сигналлар ҳосил бўлишига олиб келадиган антителоларга боғлиқ эмас.

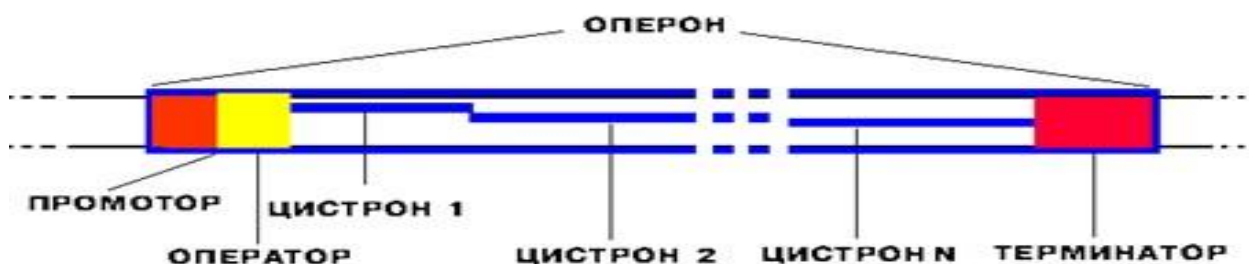


1.29- Генларни ажратишнинг miR-TRAP “қопқон” усули.

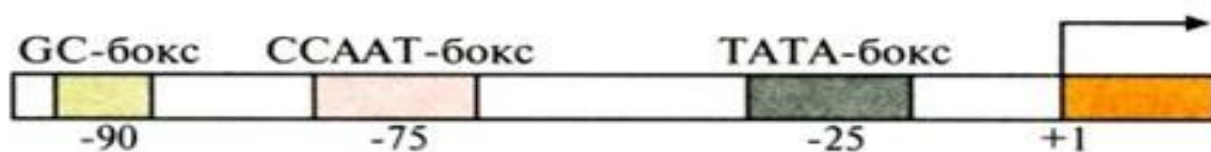
Профессор Рана ва унинг ҳамкасблари синовлар давомида иккита муҳим микро РНК учун тахмин қилинган 13 та нишон белгини аниқлаганлар. Ушбу усул нафақат шу 13 та генни нишон эканлигини тасдиқлабгина қолмай, яна иккита янги геннинг кашф этилишига сабаб бўлган. Микро-РНК нишонларни идентификацияси учун қўлланиладиган ушбу усуллар, кўплаб касалликларнинг модели учун хизмат қилади.

Промотор ва энхансерлар

Промотор ДНК нинг информатив бўлмаган қисми бўлиб, старт кодондан олдинги РНК полимераз ферменти билан боғланувчи жойидир.



У қуйидаги қисмлардан иборат бўлади:



TATA бокс ёки *Hogues* бокси 8 та нуклеотиддан иборат бўлиб, РНК полимеразани инициацияловчи омиллар бирикувчи локусдир.

CAT ёки CCAAT бокс *Enhanser* қисмлар бўлиб, трансляция жараёнининг бошланиши ёки тугашини белгилайди.

GC бокси *saylencer* репрессор оқсил билан боғланиб, трансляцияни тўхтатиб турувчи локус ҳисобланади.

Ген нокаут усули (ингл. *gene knockout*) —молекуляр генетик усулларида бири, унда муайян генларни организмдан чиқариб ташланади ёки яроқсиз ҳолга келтирилади. Шундай қилиб, муайян гени ишламайдиган "нокаут" организм олинади. Нокаут организмлар нуклеотид кетма-кетликлари маълум бўлган генларнинг функциясини аниқлашга ёрдам беради. Нокаут ва нормал организм ўртасидаги фарқ ўчирилган геннинг функциясини аниқлашга ёрдам беради.

knock-in усули *gene knockout* га ўхшаб кетсада, муайян ген организмдан чиқариб ташланмасдан бошқасига алмаштирилиши билан фарқ қилади.

Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси «Геномика ва биоинформатика» марказида ғўзанинг шўрланиш ва қурғоқчиликка чидамли навларини яратиш, қишлоқ хўжалигига кенг жорий этиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда. 2013 йилда маҳаллий иқлим шароитига мослаштирилган «Меҳнат», «АН-16», «Бешқаҳрамон», «Гулбаҳор-2» каби навлар экилган майдонлар кенгайтирилди. Айни кунда истиқболли навлардан «Келажак», «АН-419», «ЎзФА-705», «ЎзФА-709», «Нарпай», «Миришкор» навлари бирламчи элита уруғчилик хўжаликларида кўпайтирилмоқда.

Фойдаланилган адабиётлар:

1. Абрамова З.И. Введение в генетическую инженерию: Учебное пособие для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по курсу «Генная инженерия» /З.И.Абрамова. - Казань: Казанский университет, 2008.- 169 с.
2. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство /Под ред. Дж. Драйпера и др. – М.: Мир, 1991.

3. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. – М. : Мир, 2002. – 589 с.
4. Лещинская И.Б. Генетическая инженерия // Соревновательный образовательный журнал. 1996. С.32-39.
5. Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений. / М.: Наука, 1986.
6. Рыбчин В.Н. Основы генной инженерии – СПб.: Изд-во СПбГТУ, 2002.
7. Сельскохозяйственная биотехнология. Сб. работ/Под ред. В.С.Щевелухи. Т.1. М: Воскресенье, 1998
8. Сельскохозяйственная биотехнология. Сб. работ/Под ред. В.С.Щевелухи. Т.2-М: Воскресенье. 2003
9. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. //Т. 1-2. М.: Мир 1998
- 10.Тўрақулов Е. Х. Биохимия.—Т.: Ўзбекистон, 1995.— 480 б.
- 11.Уотсон Д., Туз Дж, Курц Д. Рекомбинантные ДНК: Краткий курс М.: Мир, 1986
- 12.Чемирис А.В., Ахунов Э.Д., Вахитов В.А. Секвенирование ДНК // М.: Наука 1999.
- 13.Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. // Ч.1. Новосибирск: изд-во Новосибирского университета. 1994.
- 14.Gilad Y, Rifkin SA, Pritchard JK (August 2008). «Revealing the architecture of gene regulation: the promise of eQTL studies». *Trends Genet.* **24** (8): 408–15. [DOI:10.1016/j.tig.2008.06.001](https://doi.org/10.1016/j.tig.2008.06.001)
- 15.Gompel *et al.* (2005). «Chance caught on the wing: *cis* regulation evolution and the origin of pigmentation patterns in *Drosophila*». *Nature* **433** (7025): 481–487. [DOI:10.1038/nature03235](https://doi.org/10.1038/nature03235). [PMID 15690032](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15690032/).
- 16.Prud'homme *et al.* (2006). «Repeated morphological evolution through *cis* regulatory changes in a pleiotropic gene». *Nature* **440** (7087): 1050–1053. [DOI:10.1038/nature04597](https://doi.org/10.1038/nature04597). [PMID 16625197](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16625197/).

17. Stern D.L. (2000). «Perspective: Evolutionary developmental biology and the problem of variation». *Evolution* **54** (4): 1079–1091. [PMID 11005278](#).
18. Weatherbee, Scott D.; Carroll, Sean B.; Grenier, Jennifer K. *From DNA to Diversity: Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design*. — Cambridge, MA: Blackwell Publishers, 2004. — [ISBN 1-4051-1950-0](#)
19. Wray G. A. (2007). «The evolutionary significance of cis-regulatory mutations». *Nature Reviews Genetics* **8** (3): 206–216. [DOI:10.1038/nrg2063](#). [PMID 17304246](#).

I боб учун саволлар:

1. Ген муҳандислиги қандай моддий асослари мавжуд?
2. Ҳозирги вақтда ген муҳандислиги қандай имкониятларга эга?
3. Ген муҳандислигида фойдаланиладиган асосий ферментларга нималар киради?
4. Рестриктаза ферментларининг фаолият механизми қандай кечади?
5. Рестриктазалар билан қирқилган “ёпишқоқ” учли бўлақларнинг ҳосил бўлиши қандай амалга ошади?
6. Рестрикция хариталарни қандай мақсадларда тузилади?
7. Секвенирлаш нима ва унинг қандай усуллари мавжуд?
8. Генлар банкига қандай маълумотлар киритилади?
9. Рекомбинант ДНК конструкциялари қандай тузилади?
10. Вектор нима? Векторларнинг қандай турлари мавжуд?
11. Бактериал плазмидалар нима? Улардан қандай мақсадларда фойдаланилади?
12. кДНК нима? кДНК библиотекалари нима учун яратилади?

I боб учун тест саволлари:

1. Ген муҳандислиги нимани ўрганади?
- А) генларни ва уларнинг тузилишини

- В) генларни қирқиш ва улашни, генлар устида ишлашни
- С) реципиентга янги белгиларни киритиш ва организмларнинг янги шакллари олиш

Д) ҳужайрада кечадиган биокимёвий жараёнларни

Е) генларни кўчириб ўтказишни

2. Ген муҳандислигида ўсимлик ҳужайраларининг қайси хусусиятлари уларнинг ҳайвон ҳужайраларига нисбатан афзал ҳисобланади?

А) тез кўпайиши

В) йирик ҳажми ва бўлиниш тезлиги

С) битта ҳужайрасидан яхлит ўсимлик олиш мумкинлиги

Д) биологик ва морфологик белгилари

Е) репродуктив хусусияти

3. Қуйида берилган қайси ўсимликлардан етук ўсимликлар регенерацияси осон кечади?

А) тамаки картошка, карам

В) лавлаги, соя, сабзи

С) рапс, беда, помидор

Д) шоли, буғдой, сули

Е) А,В ва С

4. Ген муҳандислигида фойдаланиладиган ферментларга нималар киради?

А) ревертаза, лигаза, рестриктаза

В) амилаза, редуктаза, лигаза

С) транскриптаза, лиаза, изомераза

Д) оксидоредуктаза, трансфераза

Е) топоизомераза, пектиназа

5. Нима учун рекомбинант молекулалар олиш учун асосан II типдаги рестриктазалар қўлланилади?

А) чунки улардан фойдаланиш осон

- В) муайян изчилликда қира олади
- С) улар танийдиган сайт ва қирқиш жойи бир-бирига мос келмайди
- Д) ДНК ни рестрикция сайти изчиллиги ичидан бошлаб гидролизлайди
- Е) бу типдаги рестриктазалар танийдиган сайт ва қирқиш жойи бир-бирига мос келади.

6. Рестриктазаларнинг фермент фаоллиги нима билан ўлчанади?

- А) Т 4 фаги ДНК сини 1 мкг миқдорини 1 соат ичида тўлиқ гидролизланиши учун сарф бўладиган фермент миқдорига нисбатан
- В) λ фаг ДНК сини 1мкг миқдорини 1 соат ичида тўлиқ гидролизланиши учун сарф бўладиган фермент миқдорига нисбатан
- С) реакциянинг оптимал шароитига нисбатан рестриктазалар учун рН, ион кучи, тегишли ионлар мавжудлиги
- Д) рестриктазаларнинг фермент фаоллигини шлчаб бщлмайди
- Е) электрофорезда юриш тезлиги ва молекуляр оғирлигига кўра

7. Рестриксион хариталар қандай имкониятларни беради?

- А) ДНК ни кетма-кетликлари йиғиндисини олиш
 - В) бўлақларни текшириш
 - С) ДНК молекулаларини халқасимон шаклдан чизиқли шаклга ўтказиш
 - Д) ДНК ни майда бўлақлараг бўлиш
 - Е) вирусларнинг халқасимон ДНК сини таҳлил қилиш
- 8. Секвенирлашнинг қандай тамойиллари мавжуд?**
- А) кимёвий
 - В) физикавий
 - С) ферментатив
 - Д) биологик
 - Е) А ва С жавоблар тўғри

9. Оқсил аминокислоталари кетма-кетлигини қандай аниқлаш мумкин?

- А) нуклени кислоталар кетма-кетлигини аниқлаш йўли билан
- В) генетик кодни билиш орқали
- С) оқсилнинг ўзини тўғридан тўғри секвенирлаш
- Д) А,В ва С жавоблар тўғри
- Е) аниқлаш ўта мураккаб ва кўп меҳнат талаб қилади.

10. Генетик трансформация самарадорлигини оширишда қандай қийинчиликлар мавжуд?

- А) генларни идентификация қилиш ва клонлаш қийинлиги
- В) белги ва хусусиятларнинг полиген детерминацияси
- С) ишончли вектор тизимларининг йўқлиги
- Д) бундай қийинчиликларни бартараф этилган
- Е) А,В ва С жавоблар тўғри

IV БОБ. ЎСИМЛИКШУНОСЛИҚДА ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ

Жинсий гибридизация ва танлашга асосланган анъанавий селекция усуллари ўсимликларнинг янги генотипларини олиш имкониятини беради. Улар йирик ҳажмдаги қишлоқ хўжалик экинларининг гибрид ва навлари, шунингдек, селекциянинг нодир нусхаларини олишни таъминлайди. Россиянинг машҳур селекционерлари (П.П.Лукьяненко, В.С.Пустовойт, В.С.Ремесло, П.В.Гаркавий, Кириченко, Калинин ва бошқалар), бу борада республикамизнинг йирик селекционер олимлари (Р.Р.Шредер, Я.Л.Навроцкий, Г.С.Зайцев, С.С.Канаш, А.И. Автономов, А.Дадабоев, Н.Н.Назирова, С.Мирахмедов, А.П. Ибрагимов, Ш.Ибрагимов, Ризамат ота Мусамухаммедов, О.Жалилов, А.Абдукаримов ва бошқалар) селекция ривожига муносиб ҳисса қўшганлар. Янги навларни олишда анъанавий (классик), селекция усуллари бундан кейин ҳам асосий усуллардан бўлиб хизмат қилади. Ген муҳандислиги манипуляциялари қишлоқ хўжалик экинларининг патогенларга чидамли янги нав, шакл, линия ва гибридларини

олиш ва янги навларни жорий этиш муддатларини қисқартириш каби қатор муҳим муаммоларни ечиш имкониятини беради.

Рекомбинант ДНК лар технологияси прокариот, шунингдек эукариот келиб чиқишга эга генларни ажратиш, бу ген (ёки бир неча генлар) реципиент ўсимлик хромосомасига кўчириб ўтказиш ва унинг экспрессиясини таъминлашга шароит яратади. Бу технологияни қўллаш изланишни бирмунча аниқ мақсадли қилади ва генетик аппарат билан манипуляция қилиш имкониятларини кенгайтиради.

Ўсимликларнинг битта хужайрасидан яхлит ўсимлик олиш мумкинлиги, яъни тотипотентлик хусусияти хайвонлар хужайраларига нисбатан уларнинг энг муҳим афзаллиги ҳисобланади. Ўсимликлар ген муҳандислигидаги натижалар ўсимлик тўқималари култураси усуллари, айниқса, турли хил ўсимликларни регенерация қилиш услубларини ишлаб чиқишга боғлиқ бўлади.

Ген муҳандислиги технологияси трансген ўсимлик олишнинг қуйидаги босқичларини ўз ичига олади: 1) генни танлаш ва уни клонлаш; 2) реципиент - ўсимлик генотипини танлаш; 3) генни киритиш ва унинг реципиент – ўсимлик геномига экспрессияси; 4) трансформант хужайралар регенерацияси ва трансген ўсимликларни танлаш.

Генни танлаш ва уни клонлаш. Генни танлаш, ўсимликка ҳўжалик аҳамияти қимматли маълум бир белгини ўтказиш заруриятдан келиб чиқади. Ҳозирги вақтда, асосан, ўсимликлар трансформацияси учун моноген белгилар, яъни, пестицидларга чидамлилиқ, ёки бошқа хил стресс омилларга чидамлилиқни белгиловчи генлар кенг қўлланилади. Бу белгиларга жавобгар генларнинг кўпчилиги бактерия геномларидан ажратиб олинган. Кейинги вақтларда чидамлилиқ белгиларига жавобгар донор сифатида ёввойи ўсимлик турлари геномлари танланмоқда. Турли хил тур, авлод ва ҳатто оилаларга мансуб ўсимликларнинг биологик жиҳатдан бир-бирига мос келмаслиги сабабли бундай генларни реципиент ўсимликлар геномига жинсий гибридизация усули орқалигина киритиш мумкин эмас. Ҳал этилиши

янада мураккаб муаммо бир гуруҳ сифат белгилари: уруғ сифати, курғоқчилик, юқори ва паст ҳароратга чидамлилиқ белгиларини ажратиб олиш ҳисобланади.

Реципиент ўсимлик генотипини танлаш. Реципиент сифатида ишлаб чиқариш амалиёти талабларига ҳосилдорлиги, уруғ - меваси сифати, биотик ва абиотик стрессларга чидамлилиги билан жавоб бера оладиган, лекин фақат биргина салбий белги, масалан, зараркунанда ҳашаротга чидамсиз нав ёки линиялар танлаб олинади. Бундай ўсимликлар геномига ҳашаротларни nobud қилувчи прототоксин оқсили экспрессиясини таъминловчи *bt2* бактерия генини киритиш танлаб олинган навда ҳосилдорликни сезиларли ошишига сабаб бўлади. Шунингдек, реципиент ўсимлик генотипини танлашда ҳужайраларнинг яхлит (фертил) етук ўсимликка қадар регенерация қилиш хусусияти ҳам инобатга олинади, чунки бу белги генотипга ҳам бир қадар боғлиқдир.

Генни киритиш ва унинг реципиент ўсимлик геномидаги экспрессияси. Ўсимликлар геномига бегона генларни кўчириб ўтказиш муаммоси бегона генларни икки паллали ва баъзи бир паллали ўсимликлар геномига кўчириб ўтказиш имконини берувчи тупроқ агробактериялари *Agrobacterium tumefaciens* таркибидаги *Ti* – плазмидларининг аниқланиши билан бирмунча енгиллашди. Сўнгги вақтларда ўсимлик ҳужайралари трансформациясида биобаллистик трансформация усули, айниқса, бир паллали ўсимликлар учун кенг қўлланилмоқда. Бегона генни реципиент ўсимлик геномига экспрессиясини амалга ошириш ва авлодларда белгининг наслдан – наслга турғун ўтишини таъминлаш муҳим масала ҳисобланади. Киритилган генни экспрессия бўлиши бир қатор сабаблар: генни ўсимлик геномига интеграция бўлган жойи, промотор қисмининг метилланиш изчиллиги, киритилган геннинг хусусиятлари ва ҳ.к. ларга боғлиқ.

Трансформант ҳужайралар регенерацияси ва трансген ўсимликларни танлаш. Трансформант ҳужайралардан етук ўсимликни регенерация бўлиши ҳужайралар тотипотентлигига боғлиқ, аммо бу ҳар доим

ҳам амалга ошавермайди. Тотипотентлик белгиси икки паллали ўсимликлар: тамаки, картошка, лавлаги, соя, рапс, беда, помидор, сабзи, карам ва баъзи мевали дарахтларда яққол ифодаланган. Бир паллалилар, айниқса, бошоқдошларда бу белги кучсиз ифодаланган бўлиб, уларда хужайрадан етук ўсимликни регенерацияси жараёни жуда қийинчиликлар билан кечади. Ҳозирги вақтда ғалла экинларига мансуб баъзи ўсимликлар маккажўхори, шоли, буғдой, сули кабиларни регенерация қилиш усуллари ишлаб чиқилган.

Шуни қайд этиш лозимки, кўплаб ўсимликларни регенерация қилиш бўйича йилдан йилга бир қатор такомиллаштирилган усуллар ишлаб чиқилмоқда ва ривожлантирилмоқда.

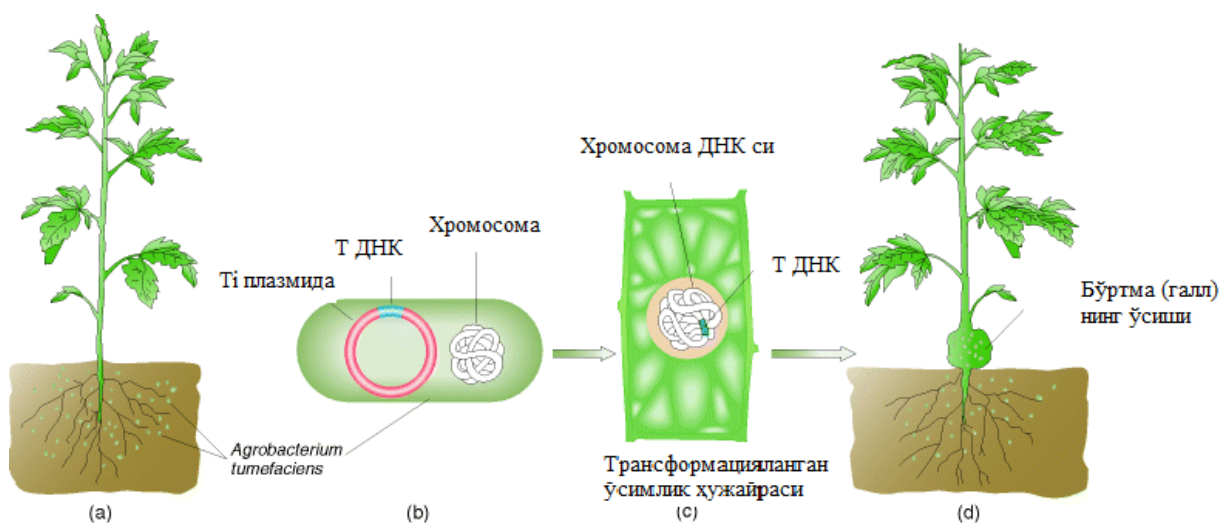
Агробактериялар асосида ўсимликлар трансформацияси

Трансген ўсимликлар олишдаги асосий муаммолардан бири ўсимликлар хромосомасига бегона генларни киритиш яъни, ўсимлик хужайралари трансформацияси ҳисобланди. Бу борада тупроқ агробактериялари *Ti* – плазмидаларидан ўсимликлар трансформацияси табиий тизимида фойдаланиш имкониятининг кашф этилиши муҳим туртки бўлди.

Баъзи тупроқ бактериялари турлари (*Agrobacteria*) нинг икки паллали ўсимликларни зарарлаши ва бунда ўзига хос шиш – гардишсимон бўртма ҳосил қилиши олдиндан маълум эди. Бу шишлар зарарланган жойда мунтазам равишда бўлиниб ўсадиган дедифференциаллашган хужайралардан ташкил топган. *In vitro* шароитида ўстирилганда шиш хужайралари нормал ўсимлик хужайралари ўсиши учун зарур гормонлар учрамайдиган муҳитда ҳам ўса оладилар. Агар зарарлантирилгандан сўнг барча агробактерияларни антибиотиклар қўшиб инактивация қилинса ҳам шиш хужайралари тартибсиз (назорат қилинмайдиган) бўлиниш хусусиятини сақлаб қоладилар. Шундай қилиб, агробактериялар фақат шиш ҳосил бўлишини индуцирлаш учунгина зарурдир. Шиш хужайралари ўсимликка хос бўлмаган аминокислоталар – опинлар (аргинин ҳосилалари)ни синтезлай бошлайди, улар агробактериялар томонидан азот ва углевод манбаи сифатида фойдаланилади.

Агробактериялар билан зарарланган ўсимликда, трансформант ўсимлик ҳужайралари метаболизми қайта қурилади ва улар фақат бактериялар учун зарур бўлган бирикмалар синтезини бошлайди.

Шиш ҳосил қилувчи кучли индукторлардан бири *Agrobacterium tumefaciens* мисолида шиш чакирувчи восита *Ti* – плазмида деб номланган (инглиз тилидан *Tumor inducing* – шиш чакирувчи) махсус плазмида бўлиб, унинг бир қисми ўсимлик ҳужайраси хромосомасига ўрнашиб олиши аниқланган (2.1- расм).

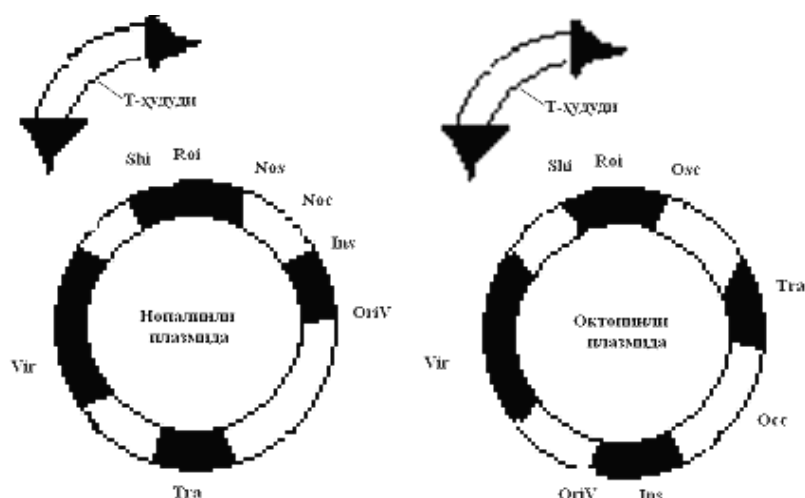


2.1-расм. Т-ДНК нинг ўсимлик хромосомасига интеграцияси ва (гардишсимон) шиш ҳосил бўлиши.

Ti – плазмида узунлиги 200 м.н.ж (минг нуклеотид жуфт) дан иборат ҳалқасимон ДНК дан ташкил топган. У бактерия ҳужайраларида автоном репликация бўла олиш хусусиятига эга. *Ti* – плазмидаларни улар синтезлайдиган опинлар типига кўра 4 та гуруҳга бўлиши мумкин. Кўпинча нопалин ёки октопин аминокислоталарини кодирлайдиган *Ti* – плазмидалар учрайди. Агробактерия ҳужайраси плазмидаларнинг фақат бири октопин ёки нопалин кодирлайдиган типини сақлаши мумкин.

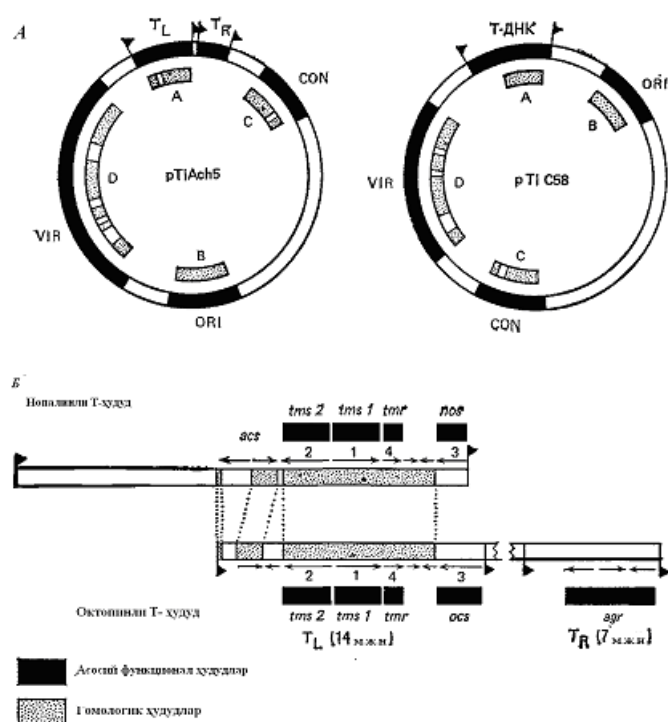
Генетик тадқиқотларнинг кўрсатишича, барча *Ti* – плазмидалар ўхшаш тузилишга ва икки хил: 1) агробактериянинг ўзини метаболизми учун зарур

(опинлар катаболизми генлари, плазмидалар репликацияси бошланғич нуқтаси ва ҳ.к.); 2) ўсимлик хужайралари трансформацияси учун зарур бўлган гуруҳга мансуб кетма-кетликларга эга гуруҳларга бўлиш мумкин.



2.2.- расм. *Ti*-плазмиданинг тузилиши.

Бунда шуни алоҳида қайд этиш лозимки, биринчи гуруҳ генлари промоторининг прокариот типига эга ва фақат бактерия хужайрасидагина фаолият юрита олади, иккинчи гуруҳ генлари эса ўсимлик хужайрасида ҳам ишлай олади. Иккинчи гуруҳга шиш ҳосил бўлиши ва опинлар синтези учун жавобгар генлар киради (2.2-расм).



2.2. (б)- расм. Октопинли ва нопалинли типдаги *Ti* плазмиданинг тузилиши ва экспрессияси.

А – *Ti*-плазмиданинг асосий функционал ҳудудларнинг жойлашуви ва ўлчамини кўрсатувчи октопин (*pTiAch5*) ва нопалин (*pTic58*) типдаги харитаси. Иккала плазмиданинг ўта ўхшаш ҳудудлари қора рангда берилган. Байроқчалар билан тўғри кетма-кетликлар (25 м.ж.н) белгиланган. CON-конъюгация вазифасини кодирловчи ҳудудлар, ORI-репликация ва репликациянинг бошланиши (ориджин), VIR-вирулентлик ҳудуди; т-ДНК, T_L T_R - Т-ДНК тутувчи ҳудудлар (ингл.тилидан *transferred*).

Б. Октопин ва нопалин типдаги плазмидаларнинг Т-ДНК хариталари; асосий функционал доменлар, гомология ва транскриптлар ҳудудлари кўрсатилган. Транскрипция маҳсулотлари 3 (*nos*)-нопалинсинтетаза, 3(*osc*)-октопинсинтетаза, *acs*-агроцинопинсинтетаза, 1(*tms1*) триптофанмоноксигеназа, 2 (*tms2*)-индол-3-ацетамидгидролаза, 4 (*tmr*)-диметилаллил (ДМА)-трансфераза, *arg*-агропин синтези учун зарур учта транскрипт.

Ўсимликни агробактериялар билан зарарланиши натижасидаги трансформацияси қуйидагича кечади. Аниқланишича, агробактерия ҳам, *Ti* – плазмида ҳам ўсимлик хужайраси ичига кирмайди, лекин *Ti* – плазмиданинг бир қисми ўсимлик хужайраси ядросига ўтиб, ўсимлик геномига жойлашиб олиши мумкин *Ti* – плазмиданинг бу фрагменти Т-ДНК (инглиз тилидан *transforming DNA* – трансформацияланувчи ДНК) деб номланади. Т-ДНК нинг узунлиги 25 м.н.ж. Т-ДНК охирларида уни плазмида таркибидан қирқиш ва ўсимлик геномига интеграцияси учун зарур тўғри кетма-кетликлар (25 м.н.ж) жойлашган. Т-ДНК еттита ген: опинлардан бирини кодирлайдиган *nos* гени (нопалинсинтетаза) ёки *osc* (онтопинсинтетаза)], шунингдек, шиш ҳосил бўлиш белгиларини кодирлайдиган олтита ген, улардан иккитаси ауксин синтези, биттаси цитокинин синтезини кодирлайдиган генларни тутати. Бу генлар экспрессияси натижасида

хужайраларнинг гормонал статуси ўзгаради, бу эса уларнинг дедифференциаллашуви ва шиш ҳосил бўлишига олиб келади.

T – ДНК нинг мавжуд бўлиши зарурий бўлса-да, трансформация жараёни учун етарли эмас. T-ДНК ни T_i – плазмидадан қирқиш ва уни ўсимлик ҳужайрасига ўтказишда T_i – плазмиданинг бошқа, яъни, T-ДНК дан ташқаридаги *vir* –худуди (вирулентлик худуди) жавобгардир. *Vir* худуди еттита локус – *virA*, *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virG*, *virF* дан иборат бўлиб, 40 м.ж.н. дан иборат районни ташкил этади.

Бажарадиган вазифасига кўра *vir* генларни 2 та синфга бўлиш мумкин:

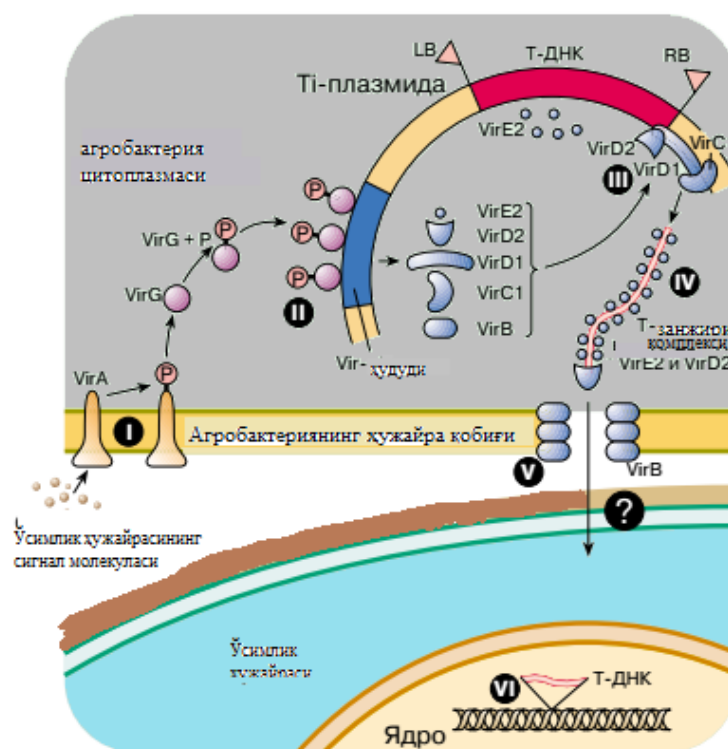
1. *virA* ва *virG* регулятор генлари, оз миқдорда бўлса ҳам агробактерия ҳужайраларида доимий экспрессия бўлиб туради;
2. *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virF* генлари T-ДНК ни ўсимликка бевосита кўчириб ўтказилишини таъминлайдиган оқсилларни кодирлайди ва улар фақат промоторлари бевосита фаоллашганидан сўнг экспрессия бўлади.

Агробактериялар ёрдамида ўсимликлар трансформацияси амалга оширилиши учун учта шарт бажарилиши лозим:

- бактерия ҳужайраси юзасида бактериянинг ўсимлик ҳужайраси билан бирикиши учун зарур махсус полисахаридлар синтезини амалга оширувчи тўртта генни агробактериялар хромосомасидаги фаоллашуви;
- T_i – плазмиданинг *vir* –худуди, яъни ДНК нинг ўсимлик ҳужайраси ядросига кўчириб ўтказилиши инициацияси учун зарур қисмининг фаоллашуви;
- T-ДНК нинг мавжуд бўлиши.

Ўсимликлар трансформацияси жараёни агробактериянинг ўсимлик ҳужайрасига жароҳатланган қисм орқали кириб бориб бирикишидан бошланади. Жароҳатланганда ўсимлик ҳужайраси ташқи муҳитга махсус фенолли бирикма – ацетосиренгон ажратиб чиқаради.

Юқорида таъкидлаб ўтилгандек, *virA* гени агробактерия хужайрасига мунтазам равишда экспрессия бўлиб туради ва VirA оксили ацетосиренгоннинг мембрана рецептори ҳисобланади. Ўсимликлардан ажратиб чиқариладиган ацетосиренгон *VirA* оксили орқали танилади, у эса ўз навбатида, агробактерия хужайрасига доимо экспрессия бўлиб турадиган бошқа оксил VirG нинг фаоллашувига олиб келади. *VirG* оксили бошқа *vir* генлари - *virC*, *virD*, *virB*, *virE*, *virF* – генлари транскрипциясини фаоллаштиради ва мазкур генларнинг промотор қисмлари билан боғланиб, уларнинг экспрессиясига сабаб бўлади (2.3 – расм).



2.3 - расм. Агробактерияларнинг ўсимлик ҳужайраси билан таъсирланиш ва Т-ДНКни кўчириб ўтказилиши схемаси.

vir C, *virD*, *virB*, *virE*, *virF* генларининг оксил маҳсулотлари Т-ДНК билан боғланиб, унинг *Ti* – плазмида таркибидан қирқилиши ва ўсимлик геномига уланишини таъминлайди. *VirD* оксили бир занжирли қирқишни аввал ўнг томондаги Т-ДНКнинг 25 м.ж.н кетма-кетлигида бошлаб, кейин чап томонидаги кетма-кетликда давом эттиради. Олинган Т-ДНК нинг бир занжирли ипи у билан боғланадиган *VirE* оксили билан ҳимояланади. Т-ДНК

нинг ўнг чегараси (overdrive деб номланувчи қисми) атрофида жойлашган маълум кетма-кетлик билан боғланади. *VirC* оқсил билан бирга, *VirE* ва *VirF* оқсиллари Т-ДНК нинг кўчиб ўтиши ва ўсимлик хужайраси ядросига интеграциясини таъминлайди. 11 та *VirB* оқсил *VirD* билан махсус кўприк ҳосил қилади, Т-ДНК агробактериялардан ўсимлик хужайрасига у орқали ўтади. Т-ДНК ўзининг қўш занжирли структурасини тиклайди ва ўсимлик геномига жойлашади.

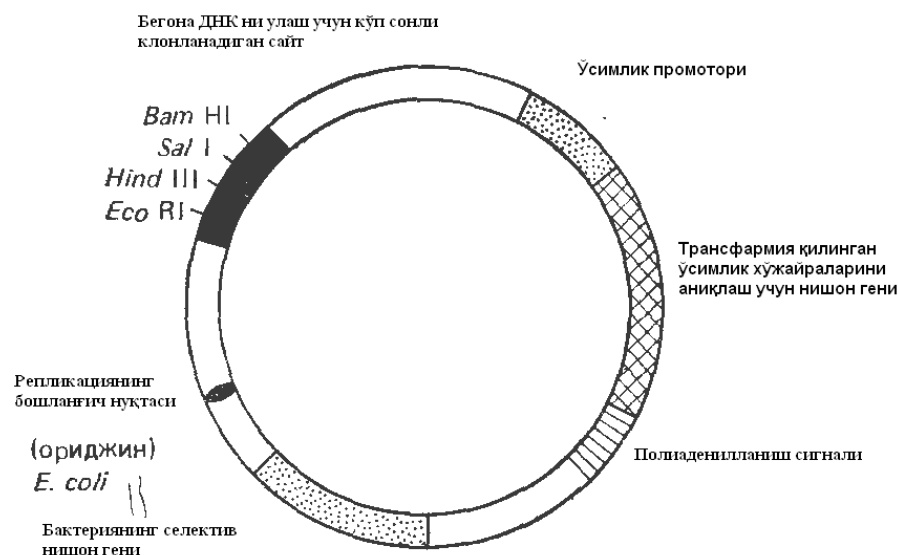
Шундай қилиб, ўсимлик хужайраси трансформацияси амалга ошади. Ҳозирги вақтда Т-ДНК нинг кўчириб ўтказилишида иштирок этадиган барча оқсиллар ва механизмлар охиригача тўлиқ ўрганилмаган.

***Ti* – плазмидалар асосида трансформация қилиш учун векторлар.**

Ti – плазмиданинг нодир биологик хусусиятлари уни генларни кўчириб ўтказишдаги идеал табиий векторга айлантиради. *Ti* – плазмидаси хўжайинларнинг кенг спектрига эга, у Т-ДНК ни ўсимлик хромосомасига ўтказиши, у ерда Т-ДНК репликацияси амалга ошади ва унинг генлари оқсил ҳосил қилиш билан трансляция бўлади. Т-ДНК чегаралари узунлиги 25 на нуклеотид жуфтликлардан иборат такрорланувчи тўғри кетма-кетликлардан иборат бўлиб, бу кетма-кетликлар оралиғига уланган ҳар қандай бегона ДНК бўлаги ўсимлик хужайрасига ўта олади. Бироқ *Ti* – плазмидаси билан ишлаш унинг катта ўлчамдалиги сабабли қийинчилик туғдиради, анъанавий усулларни қўллаб, генни плазмидага улаб бўлмайди. Шунинг учун *Ti* – плазмида ген муҳандислиги усуллари ёрдамида модификация қилиниб, унинг асосида ўсимликлар трансформацияси учун векторлар олинган (2.4 - расм).

Бундан ташқари, шуни қайд этиш лозимки, ўсимликларни табиий *Ti* – плазмидаси билан трансформацияси натижасида, трансформант хужайралар регенерация бўла олмайди, чунки уларда шиш ҳосил бўлиш белгиларини кодирлайдиган Т-ДНК ҳудудининг олти гени фаоллиги сабабли дифференциалланиш хусусияти тўхтатилган бўлади. Агар дифференциаллашувни блоктирлайдиган генлар кетма-кетлигини Т-ДНК дан қирқиб олиб ташланса, трансформант хужайралар регенерация қилиш

хусусиятини тиклайди. Шунинг учун *Ti* – плазмидаларидан фойдаланишда шиш ҳосил қилиш ва опинлар синтези учун жавобгар генлар кетма-кетлиги қирқиб олиб ташланади, Т-ДНК нинг фақат ўсимлик геномига кўчириб ўтказиш учун зарур фрагменти (энг аввало чап ва ўнг чегара такрорий кетма-кетликлари) ни қолдирилади. Кейин Т-ДНК худудига ўсимлик геномига киритилиши лозим бўлган бегона генлар жойлаштирилади.



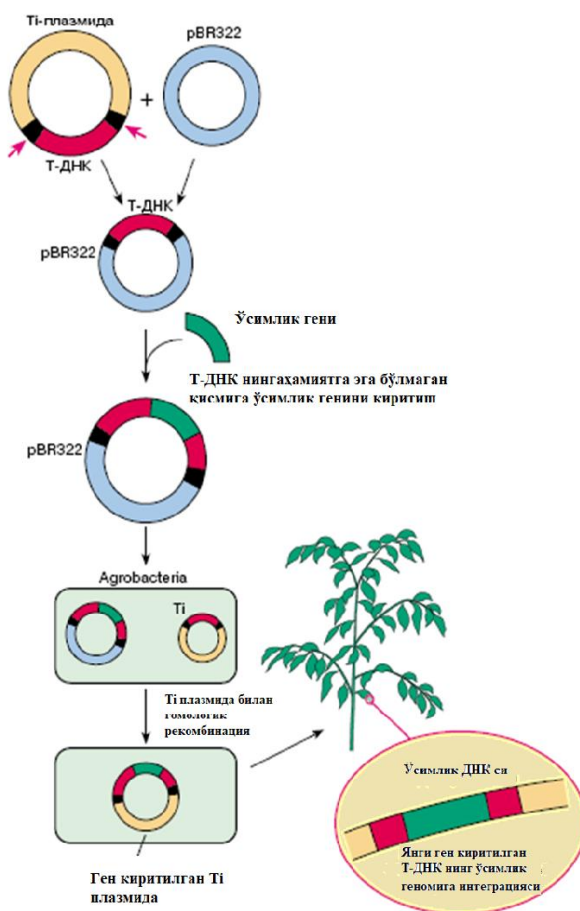
Расм. 2.4. ДНК орқали генларни кўчириб ўтказиш учун фойдаланиладиган вектор тузилишининг умумий схемаси.

Коинтегратив векторлар. Бегона ДНК ни ўсимлик геномига киритилишни осонлаштирувчи усуллардан бири коинтегратив векторлардан фойдаланиш бўлиб ҳисобланади. Бу йўналишнинг моҳияти қуйидагича (2.5 а- расм). Бегона генни ўсимлик геномига кўчириб ўтказишдаги барча жараёнларни 2 босқичга бўлинади: ўсимлик геномига киритилиши лозим генни клонлаш ва ўсимлик хужайраси геноми трансформациясини амалга ошириш. Бу иккала босқич турли хил векторлар ёрдамида амалга оширилади.

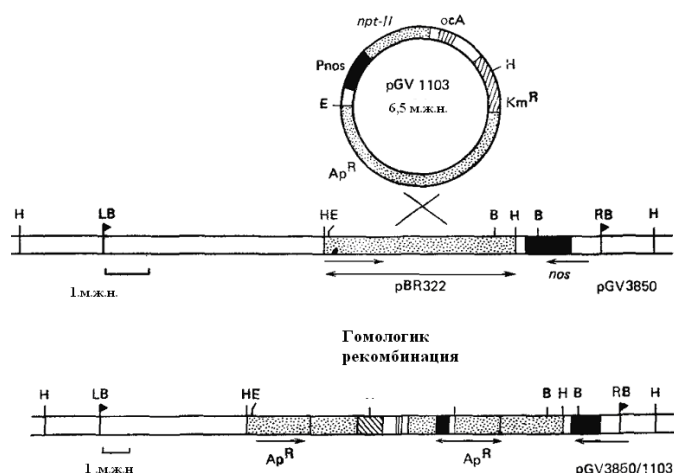
Керакли генни клонлаш учун ёрдамчи (оралик) вектор сифатида *E. coli* асосидаги плазмидалардан фойдаланилади. Уларга Т-ДНК нинг чегараланган Т-ДНК кетма-кетликлари фрагменти ва селектив (одатда, антибиотиклар канамицин, гигромицин ёки гербицидга) чидамлилиқ белгисини кодирлайдиган гени жойлаштирилади, бу эса келгусида трансген ўсимликларни танлашни амалга ошириш имконини беради. Бундай вектор

кичик хажмга эга, ундан Т-ДНК худудига керакли ген кетма – кетлигини улаб, клонлаш мақсадида фойдаланилади.

Конъюгация йўли билан бундай оралик векторни ўсимлик геномига Т-ДНК қисмининг интеграцияси учун зарур бўлган генларни сақлайдиган бошқа векторга эга махсус *Agrobacterium tumefaciens* штамми хужайраларига кўчириб ўтказилади. Бу вектор муайян ўлчамга эга ва у Ti – плазмиданинг *vir*-худуди, Т-ДНК нинг чегараланган кетма-кетликларига эга ва оралик векторларга аналогик *pBR322* плазмидаси фрагментларидан ташкил топган. Конъюгациядан сўнг иккала векторнинг гомологик қисмлари ўртасида рекомбинация амалга ошади, бунинг натижасида оралик векторнинг керакли ген ва селектив маркер тутувчи қисми *vir*- худуди ва Т-ДНК нинг чегаланган кетма-кетликлари билан бирга иккинчи векторга кўчириб ўтказилади. Шундай қилиб, иккита плазида ўртасидаги рекомбинация натижасида коинтегратив вектор олинади (2.5. б-расм).



2.5 а-рasm. Тi-плазмидадан ўсимлик хужайраларига генларни кўчириб ўтказишда вектор сифатида фойдаланиш.

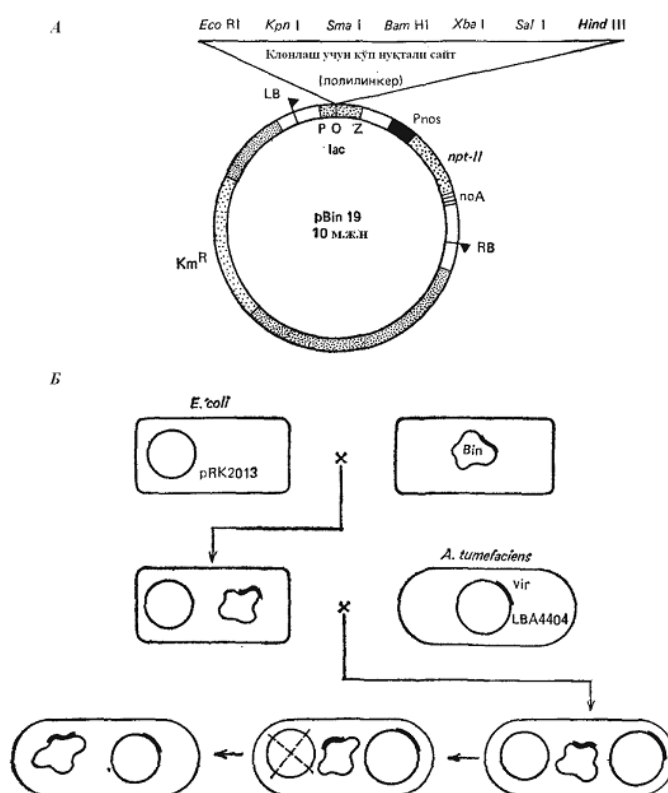


2.5.б- рasm. Коинтегратив векторнинг тузилиши ва қўлланилиши.

Бундай коинтегратив векторга эга агробактерия хужайралари селектив озиқа муҳитларида танлаб олинади ва келгусида ўсимликлар трансформацияси учун қўлланилади.

Бинар векторлар. Бегона ДНК ни кўчириб ўтказишнинг бошқа хил бирмунча содда, кенг қўлланиладиган услубларидан бири бинар векторлардан фойдаланиш ҳисобланади. Илгари қайд этилганидек, агробактериялар билан ўсимлик хужайрасини зарарлантириш ва жавобгар *vir* –худуди трансформацияни амалга ошириш учун ДНК ни кўчириб ўтказиш ва Т-ДНК районини чегараловчи тўғри такрорий кетма-кетликлар зарурдир. Бундан ташқари *vir* худуди ва ДНК нинг чегараловчи такрорий кетма-кетликлари битта плазмида таркибида жойлашган бўлиши муҳимдир. Бинар векторлар тизими шунга асосланганки, ўсимликлар трансформацияси учун фойдаланиладиган агробактерия хужайрасида бир вақтнинг ўзида иккита плазмида жойлашган бўлади. Улардан бири Т-ДНК нинг чегараланган қисмлар кетма-кетликларига эга бўлса, иккинчиси *vir* худудига эга бўлади. Иккала плазмида ҳам мустақил репликация бўла олади, лекин алоҳида ҳолда ўсимликлар трансформациясига сабаб бўла олмайди. Бунда Т-ДНК тутувчи

плазмида ўз таркибида *E.coli* плазмидаси фрагментлари (жумладан, репликациянинг бошланғич нуқтасини) тутати, бу эса *E. coli* хужайраларида клонлаш бўйича барча манипуляцияларни амалга ошириш ва барча жараёнлар (соддалаштириш) ни осонлаштириш имконини беради. Коинтегратив векторга аналогик ҳолда керакли (мақсадли) ген ва селектив маркер гени Т-ДНК ҳудудига уланади, шундан сўнг бундай рекомбинант плазмида *vir*-ҳудудига эга бошқа плазмида сақловчи агробактериялар хужайрасига киритилади. Коинтегратив векторлардан фарқли ўларок, иккала плазмидалар ўртасида гомологик рекомбинация рўй бермайди ва улар ягона вектор молекуласига айланмайди. Битта плазмиданинг *vir*- генлари билан экспрессияланувчи оқсилларни қирқиб, бошқа плазмиданинг бегона генлар билан бирга Т-ДНК ҳудудини ўсимлик геномига жойлаштирилади. Ҳозирги вақтда бундай бинар векторлар ўсимлик хужайралари трансформацияси учун энг кўп қўлланилади (2.6 - 2.7 - расмлар).

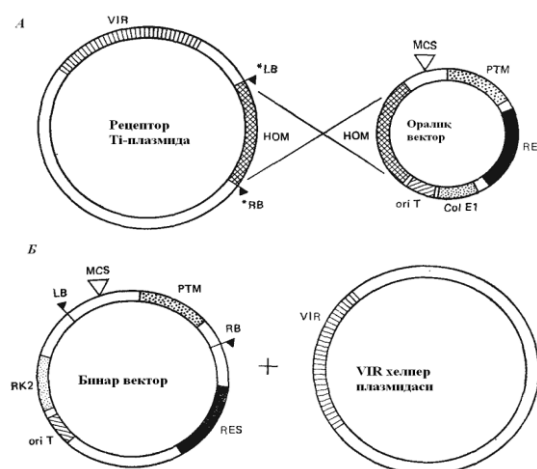


2.6. расм. pBin19 бинар векторининг тузилиши ва қўлланилиши.

А. pBin19 бинар векторининг харитаси. LB, RB-чап ва ўнг чегаралар, lac- lac –опероннинг α-комплементар ҳудуди, P pos-нопалинсинтетаза гени

промотори, *hptII* - Tn5нинг неомицинтрансфераза кетма-кетлигини кодловчи қисми, по А -нопалинсинтетаза генининг полиаденилланиш нуқтаси, нуқталар билан *pRK252* плазмидасининг *RK* кенг спектрли *RK 2* плазмидаси репликацияси бошланғичини сақловчи кетма-кетликлари кўрсатилган.

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



2.7.-расм.- Коинтегратив (А) ва бинар (Б) вектор тизимларини бириктилишининг схематик диаграммаси.

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

ДНК сақловчи вируслар асосидаги ўсимлик векторлари. Кўпчилик фитовируслар генетик ахборот ташувчи сифатида РНК тутадилар. Ўсимликларни зарарловчи вирусларнинг фақат 1-2 % игина ДНК сақловчи бўлади. Айнан улар рекомбинант ДНК олиш технологиясида қўллаш учун жуда қулай ва ўсимликларга генларни кўчириб ўтказувчи векторлар учун асосий воситалар ҳисобланади. Бу борада карамгулдошлар оиласига мансуб ўсимликларни зарарлайдиган гулкарамнинг *CaMV* (*cauliflower mosaic virus*) мозаика вируси энг истиқболли бўлиб ҳисобланади. Бу вирус қисмлари диаметри 50 нм атрофида бўлиб, 8000 ж.н. узунликдаги ҳалқасимон ДНК тутади. *CaMV* геномининг катта бўлмаган ҳажми билан худди бактерия плазмидаси сингари вирус ДНК си билан *in vitro* шароитида ишлаш имкони мавжуд ва уни ўсимлик баргига ишқалаш орқали киритиш мумкин. Оз миқдордаги хужайраларни зарарлантириш яхлит ўсимликни зарарланишига олиб келади, чунки вирус хужайрадан – хужайрага ўтиб тез тарқалади. Битта ўсимликни зарарлаш учун 1- 5 мкг ДНК қўлланилганда, агробактериялар билан зарарлантиришга нисбатан бир мунча юқори, деярли 100 % га етадиган самарадорликка эришилади.

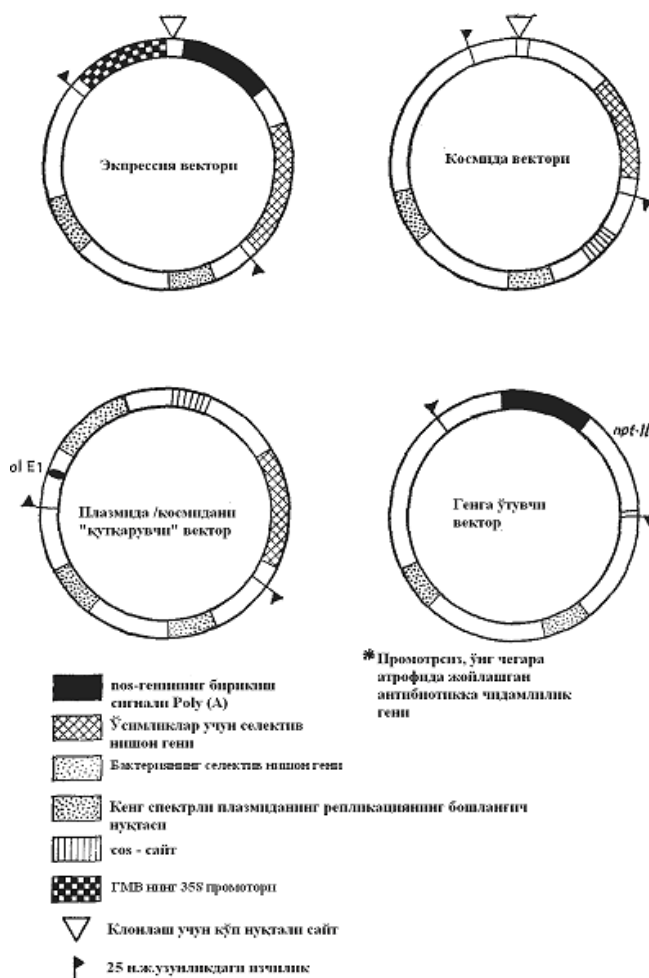
Инфекциядан сўнг *CaMV* ДНК сининг хўжайин ўсимлик геномига тўғридан - тўғри интеграция бўлиш йўли ҳали аниқланмаган. Инокуляциядан сўнг вирус ДНК сини тўғридан – тўғри геномга жойлашишини амалга ошириш учун махсус усул агроинфекция ишлаб чиқилган. Бунинг учун Т-ДНКга *CaMV* геноми жойлаштирилади ва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

Вируслар асосидаги вектор тизимларнинг афзалликларига қуйидагилар: геномининг кичик ўлчами (бу вирус ДНКси билан осон ишлашни таъминлайди); зарарланган ўсимлик хужайраларида вирус ДНК си нусхаларининг кўплиги (бир хужайрага 50000 гача); бегона генлар

экспрессияси самарадорлигини таъминлайдиган кучли промоторларнинг мавжудлигини киритиш мумкин.

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

Хулоса қилиб шуни айтиш мумкинки, ўсимликлар трансформациясида вируслар асосидаги векторлар кам қўлланилса-да, вирус промоторлари, айниқса, *CAMV 35S* РНК промотори бегона генларни бошқа вектор тизимларига экспрессия қилишда кенг фойдаланилади (2.8 - расм). Гулкарам мозаикаси вирусининг 35S РНК промотори кучли промотор ҳисобланади, бундан ташқари у нафақат карамгулдошлар оиласи вакилларида, балки кўплаб оила вакиллари ҳисобланган ўсимлик ҳужайраларида ҳам фаолдир. У тўқима спецификлигига эга эмас ва трансформант ўсимликларнинг барча ҳужайраларига экспрессия бўла олади.



2.8-расм. Ti-плазмидаси асосидаги ўсимликлар трансформацияси учун қўлланиладиган махсус векторларнинг схемали диаграммаси. (ГМВ-гул карам мозаикаси вируси).

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

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

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

Аниқланишича, *Ac*–элементи маккажўхори ўсимлигидан ташқари бошқа хил ўсимликлар: арабидопсис, сабзи, картошка, помидор, шоли ва ҳ.к. геномларида ҳам фаол бўлиши мумкин экан. Арабидопсис ўсимлиги геномида *Ac*–элементи транспозицияси қонуниятларини тадқиқ қилиш

бўйича тажриба натижаларининг кўрсатишича, Ас- кўчиб юрувчи элементи асосидаги конструкциялардан *нишонланган транспозициялар тизимини* олишда фойдаланиш мумкин, шунингдек, *қопқон (enhances trap lines)* номли генлар линияларини яратиш янги генлар, жумладан тўқимага хос экспрессия, яъни, маълум бир тўқималарда транскрипция ва трансляцияга учрайдиган генлар гуруҳини идентификация қилиш имконини беради. Шундай қилиб, муайян тўқималарга хос бўлган, масалан, илдиз, муртак халтаси ва ҳ.к. тўқималарига хос генлар ва оксилларни идентификация қилиш (ва келгусида амалиётда қўллаш) мумкин. Бундай векторларда репортер генларни қўллаш транспозонли конструкциялардаги интеграциянинг янги сайтларни белгилаш ва инсерция жойларини аниқлаш имконини беради. Улар функционал генларнинг кетма-кетлиги атрофи ёки бевосита ўзига ўтиб олиб, унинг кейинги клонланиши ва секвенс қилинишига шароит яратади, шунинг учун бундай типдаги плазмида- векторларни - ген тутгич (қопқон) деб аталади.

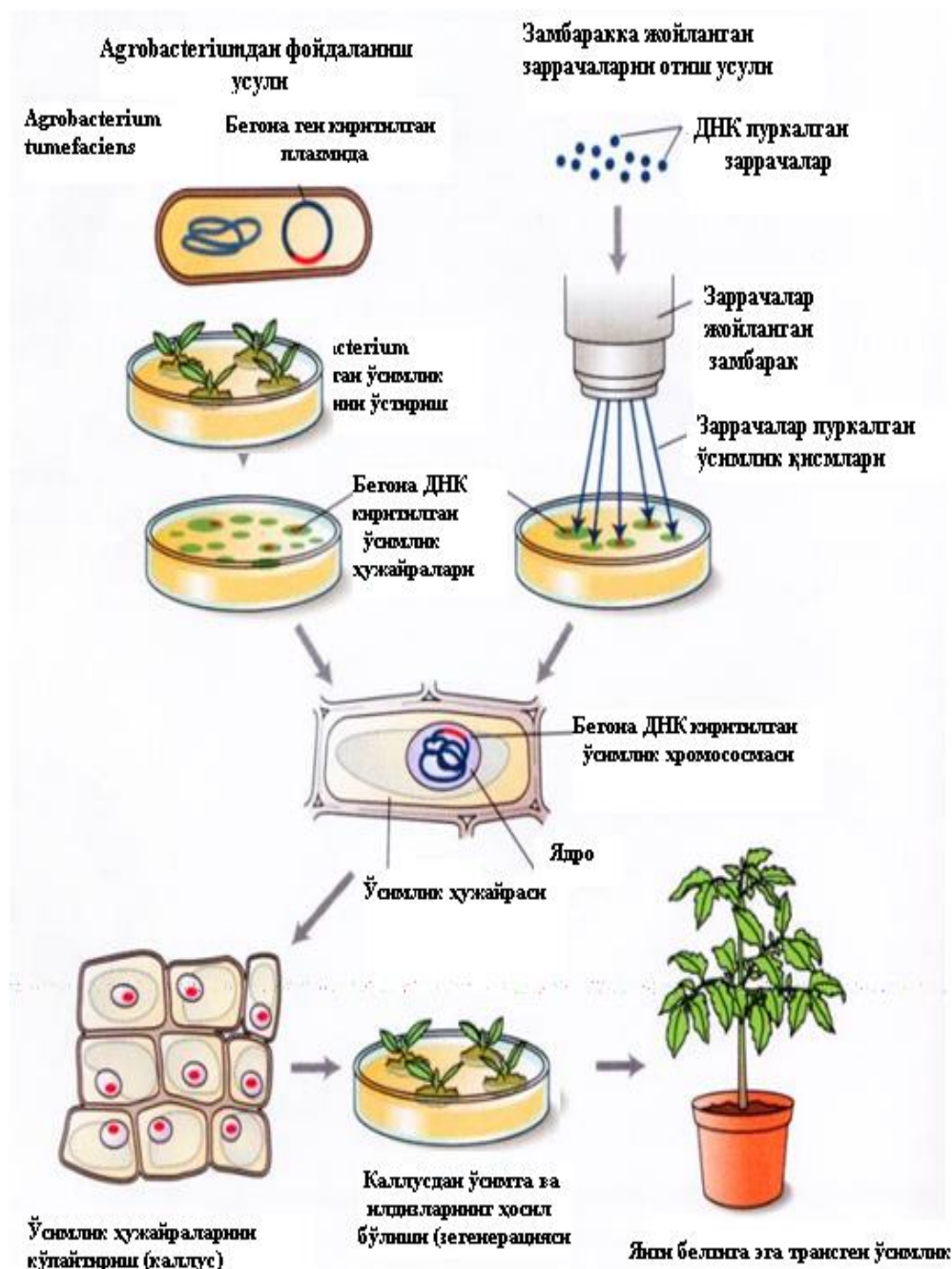
Ўсимлик ҳужайралари трансформацияси усуллари

Икки паллали трансген ўсимликлар олишда энг кенг тарқалган усуллардан бири агробактериялар билан кокультивация қилиш усули ҳисобланади (2.9. - расм). У ўсимлик эксплантларини Т-ДНК ҳудудига бегона ген жойлаштирилган вектор конструкцияга эга агробактериялар билан трансформация қилишга асосланган. Унинг кенг тарқалганлигининг сабаби, трансформацияни амалга оширишнинг бирмунча соддалиги трансген ўсимликларни ажратиб олишда юқори (ўсимлик турига қараб, 10-60 %) самарадорлиги билан изоҳланади.

Дастлабки материал учун вектор (бинар, коинтегротив ёки муайян трансформация тури учун яроқли бошқа бирор) конструкцияга эга бўлган агробактерия штамми бўлиши лозим. Вектор ўсимлик геномига киритилиши лозим бўлган ген кетма-кетлигига эга бўлиши керак. Геннинг келиб чиқиши (прокариот ёки эукариот) трансформация учун аҳамиятсиздир, лекин у ўсимлик ҳужайрасига экспрессия бўла оладиган промотор назорати остида бўлиши лозим. Функционал гендан ташқари, вектор, албатта,

трансформациянинг селектив нишон белгисини сақлаши шарт. Бундай нишон белги сифатида антибиотиклар: канамицин (*npt*-гени), гигромицин (*npt*-гени) ва ёки гербицидлар хлорсульфурон (*ALS*-гени), фосфинотрицин (*bar*- гени) (*BASTA*) га чидамлилиқ белгисини юзага чиқарадиган генлар ишлатилади. Бундан ташқари, реципиент – ўсимлик навларини танлаб олиш лозим. Трансформация учун эксплант сифатида стерил ўсимлик барг пластинкалари олинади. Бироқ бунинг учун ёш илдизлар (арабидопсисда), гипокотил (помидорда), уруғпалла (помидор, бақлажонда), бўғим оралиғи (картошкада) ҳам ишлатилиши мумкин.

Эксплантларни вектор конструкцияли агробактериялар сақловчи суюқ муҳитида инокуляция қилинади. Инокуляция қилиш муддати ҳар бир тур ўсимлик учун алоҳида танлаб олинади. Бунда эксплантнинг жароҳатланган юзасида хужайраларнинг зарарланиши бошланиб, кокультивациядан сўнг 24 – 48 соат ўтгач, Т-ДНК бўлагини бегона (танлаб олинган) ген билан бирга ўсимлик геномига жойлашиши содир бўлади. Шундан сўнг, эксплантларни антибиотиклар (карбенициллин ёки цефотаксим) сақловчи озиқа муҳитига ўтказилади, бу агробактерия хужайраларнинг танлаб нобуд бўлишига сабаб бўлади. Бундан ташқари, озиқа муҳитига керакли (тўғридан-тўғри регенерация ёки каллус ҳосил бўлиши учун) фитогормонлар ва трансформант хужайраларни селектив танлаб олиш учун антибиотиклар, гербицид қўшилади.



2.9- расм – Трансген ўсимликларни олиш схемаси.

а)-агробактериялар билан кокультивация б)-биобаллистикалар усули.

Антибиотик ёки гербицидга чидамлилик генларининг экспрессиясини амалга оширувчи трансген ўсимликлар селектив агент қўшилган муҳитда ўса олса, трансген бўлмаган ўсимликлар бундай муҳитда nobуд бўлади. 2-5 haftaдан сўнг трансформант эксплантлардан поялар ўсиб чиқа бошлайди, уларни ажратиб олинади ёки кейинги қўшимча молекуляр таҳлиллар учун тупроққа кўчириб ўтказилади (2.9. а – расм).

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

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

Ўсимликларга генларни тўғридан - тўғри кўчириб ўтказиш. Ўсимлик хужайраларига генларни тўғридан-тўғри кўчириб ўтказишда ўсимлик протопластларининг трансформацияси кенг қўлланилади. Ўсимлик хужайра деворига ферментлар (целлюлаза, пектиназа) билан ишлов берилганда хужайра девори емирилиб, фақат протопласт қолади. ДНК иштирокида протопластларни тўғридан - тўғри трансформациялаш усули ишлаб чиқилган. Трансформациянинг бирмунча юқори самарадорлигига (10^{-2}) электропорация ва полиэтиленгликол¹² қўшиш усули орқали эришиш мумкин. Агробактериялар билан трансформация қилишга нисбатан, тўғридан - тўғри кўчириб ўтказиш усулининг частотаси кам бўлса-да, бирмунча афзалликларга эга. Вектор махсус биологик сигналлар ва трансформация функциялари (Т-ДНК худуди билан чегараланган ва *vir*-худуди) га эга бўлмаслиги ҳам мумкин. Трансформация учун деярли ҳар қандай бегона ген тутувчи ДНК вектори қўлланилиши мумкин. Бунда гибрид ген (фақат тегишли регулятор худудлар мавжуд бўлганида) хужайра рекомбинацияси механизмларидан фойдаланиб, айниқса, протопласт ядросига тўғридан - тўғри инъекция қилишда ўсимлик ядро ДНКсига интеграция бўлади ва экспрессияланади.

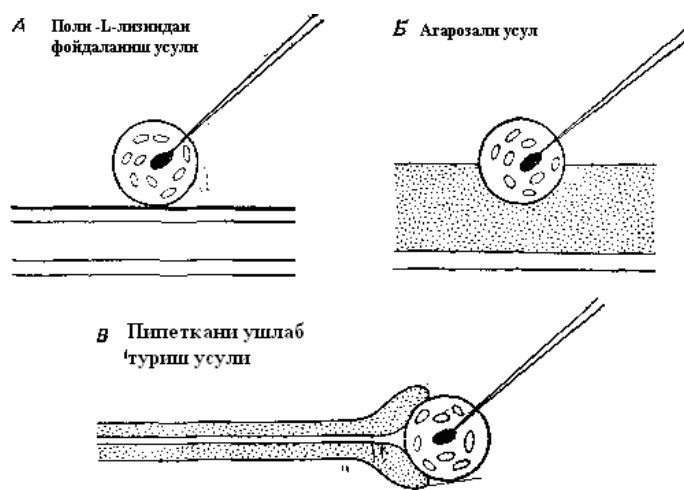
¹² Suvda eruvchan ionli bo'lmagan polimer, etilen oksidini halqali ochish polimerizatsiyasi natijasida olinadi. **O'rtacha molekulyar og'irligiga qarab [polimer](#)** quyuq yoki suyuq, gel yoki qattiq shakldagi modda. Strukturaviy formula quyidagicha:

HO- (CH₂ -CH₂ Opsiya -O) _n -H

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

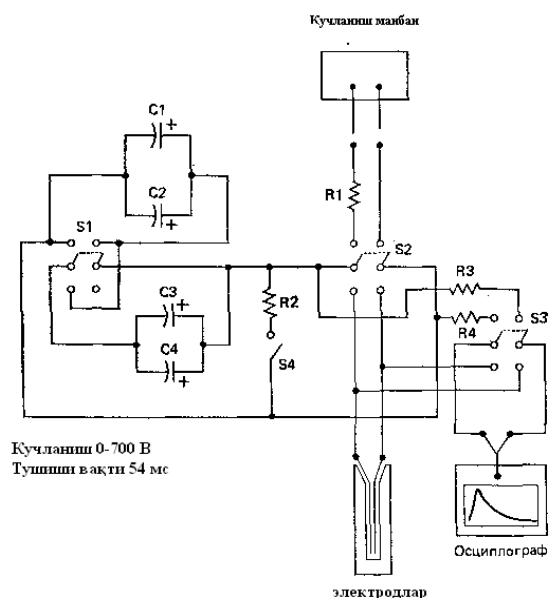
ДНК микроинъекцияси. Бир қатор тажрибаларнинг кўрсатишича, ўсимлик хужайралари трансформацияси учун хайвон хужайраларидаги микроинъекциялар сингари микроинъекциялари усулини қўллаш мумкин. Бунда инъекция учун протопластлар олишда уларни полилизинли шишаларга ёпиштириш усуллари ишлаб чиқилганлиги қатор техник қийинчиликларни бартараф этиш имкониятини берди (2.10-расм).

Вектор типига боғлиқ бўлмаган ҳолда ўсимлик протопластлари трансформацияси самарадорлиги 10-15 % дан ошмайди, у икки паллали ўсимликлар учун ҳам бир паллалилар учун ҳам бир хилда мувофиқ келади.



2.10 – расм. Микроинъекцияни амалга ошириш учун протопластларни иммобилизация қилиш усули

Электропорация. Бу усул юқори импульсли кучланишларнинг биомембраналар ўтказувчанлигини қайтар даражада оширишга асосланган. Ўсимлик протопластлари учун электропорация муолажалари жуда самарали ҳисобланади. Усулнинг моҳияти қуйидагича: ДНК- векторини сақловчи юқори концентрацияли эритмадаги ўсимлик протопластларига юқори вольтли импульс (кучланиш 200-350 В, импульс давомийлиги 54 мс) билан таъсир этилади (2.11-расм).



2.11 - расм. Электропорацияни амалга ошириш учун паст кучланишли курилманинг тузилиши. Elektroporatsiya uchun ishlatiladigan alyuminiy [elektrodlari bo'lgan](#) plastik kyuvetalar

Натижада ДНК молекулалари хужайра мембранасидаги поралар (тешикчалар) орқали ютилади. Эритма аралаштирилгандан сўнг протопластларни регенерация бўлиши учун етарли муҳитга экилади. Кўчириб ўтказишнинг самараси электр шокидан сўнг 24-28 соат ўтгач аниқланади.

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

Липосомалар қобиғи фосфолипидлардан ташкил топган сферик шакллар ҳисобланади. Уларни фосфолипидларни сувли эмулсияларига ультратовушлар билан ишлов бериш ёки қаттиқ чайқатиш натижасида олиш мумкин. Липосомалар ёрдамида ўсимлик протопластларига тамаки мозаикаси вируси РНК си, *A.tumefaciens* бактерияси *Ti* – плазмидаси ДНК си, шунингдек, бутун метафаза даври хромосомалари киритилган. Липосомалар ёрдамида кўчириб ўтказиш тизимларнинг афзалликлари сифатида уларнинг хужайраларга нисбатан заҳарлилигининг камлиги,

липосомаларни парчалаш хусусиятига эга хужайралари бўлган кўплаб ўсимликларда ишлатиш мумкинлигини кўрсатиш мумкин. Ҳозирги вақтга келиб, мазкур усул техник жиҳатдан қийинлиги ва трансформациялаш фаоллигининг нисбатан кам (0,5-1 %) лиги учун тобора кам фойдаланилмоқда.

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

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

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

Биобаллистик замбараклар ёрдамида бир паллали маккажўхори, шоли, буғдой, арпа ўсимликлари трансформация қилиниб, турғун трансген ўсимликлар олинган. Бундан ташқари биобаллистик трансформация ДНК ни

эмбриоген чангчига тўғридан-тўғри кўчириб ўтказиш, трансген дигаплоид ўсимликлар олиш учун қўлланилади ва у селекция ишларида муҳим босқич ҳисобланади. Бу усул билан тамаки ўсимлигининг трансформацияси амалга оширилиб, гаплоид ўсимликлар регенерациясидан сўнг турғун трансформантлар олинган.

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

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

Ўсимлик геномига бегона генларнинг экспрессияси

Бегона генларнинг ўсимлик геномига экспрессияси натижасида бир қатор муаммолар келиб чиқади. Биринчи марта ўсимликлар трансформацияси учун фойдаланиладиган генлар бактериялардан ажратиб

олинган бўлиб, уларни ўсимлик хужайралари трансформацияси учун тўғридан –тўғри ишлатиб бўлмасди.

Бактерия генлари эукариот хужайраларда транскрипция бўлиши учун уларнинг промотор кетма-кетликларини ўсимлик генлари промоторлари ёки бошқа ўсимлик хужайрасида транскрипцияни иницация қила оладиган промоторларига алмаштириш лозим бўлади. Бундан ташқари, бактериал геннинг 3 - қисмига полиаденилланиш сигналинини сақловчи фрагментни улаш лозим. Бундай модификациялар эукариот РНК – полимеразанинг бактериал кетма-кетликни транскрипциялаши ва ундан сўнг мРНК ўсимлик хужайрасида бактериал оксилни трансляция қилиш учун керак бўлади.

Бактериал генларнинг экспрессияси учун промотор сифатида кўпинча гулкарамнинг мозаика вируси (*CaMV*) нинг 35S – РНК промоторидан фойдаланилади. Бундай танлов бир вақтнинг ўзида икки хил муаммони ҳал этиш имконини беради: биринчидан, икки паллали ўсимликлар промоторлари бир паллалилар геномида кўп ҳолларда фаолият юритолмайди, аксинча, 35S *CaMV* промотори ҳар қандай ўсимлик геномида транскрипцияни таъминлайди. Иккинчидан, кўпгина эукариот промоторлари анча кучсиз бўлиб, *CaMV* нинг 35S промотори унинг назоратидаги геннинг юқори даражаги экспрессиясини таъминлайди. Кўпгина ҳолларда ўсимлик хужайрасига ўсимлик генини трансформация қилишда оксил маҳсулоти ажралиб чиқишини ошириш учун унинг промоторини жуда кучли бўлган *CaMV* нинг 35S промотори билан алмаштирилади. *CaMV* 35S-промотори конститутив бўлиб, трансген ўсимликнинг барча тўқималарида унинг назоратидаги геннинг кучли экспрессиясини таъминлайди. Айнан шунинг учун *CaMV* 35S-промотори ўсимликлар трансформациясида қўлланиладиган вектор конструкциялар ичида энг кўп қўлланилади. Кейинги йилларда баъзан *CaMV* 35S кетма-кетлигини икки карра кўпайтирилган нусхаси, сунъий олинган МАС - промоторидан ҳам фойдаланилмоқда.

Сўнгги пайтларда ўсимлик генларининг тўқимага хос промоторлари катта аҳамият касб этмоқда. Бу промоторларнинг *CaMV* 35S промоторидан

афзаллиги шундаки, бундай промоторлар назоратидаги генлар маълум бир тўқималардагина экспрессия бўлади. Масалан, пататин промотори назоратидаги ҳар қандай ген фақат картошка ўсимлиги туганагига экспрессия бўлади, чунки пататин оксили – картошка туганаклари захира оксили бўлиб, унинг генлари фақат туганаклардагина экспрессияланади. Тўқимага хос промоторлар бегона оксил ўсимликнинг маълум бир аъзолари учун зарур бўлган ҳолларда қўлланилади. Масалан, ўсимликлар илдизини баъзи бир тупроқ патогенларидан ҳимоя қилишда илдизга хос промоторлардан фойдаланиш қулай, чунки улар ўсимликларнинг патогенлар билан муносабатга киришувчи фақат ер ости қисмидагина ҳимоя оксили синтезланишига олиб келади. Ўсимликлар учун бундай промоторлардан фойдаланиш бирмунча қулайдир.

Шунингдек индуцибел промоторлардан ҳам фойдаланилади. Конститутив *CaMV 35S* промоторидан фарқли равишда бундай промоторлар назоратидаги генлар ҳар доим ҳам экспрессия бўлавермасдан, фақат маълум шароитлардагина экспрессия бўлади. Масалан, жароҳатланишда индуцирланадиган промоторлар, металл ионлари (мис, темир, ва ҳ.к.) иштирокида юзага чиқадиган металл-индуцибелларини келтириш мумкин. Шундай қилиб, бундай промоторлар назоратидаги генларнинг «киритилиши ва ўчирилиши» осон бошқарилади. Индуцибел промоторлар нафақат ўсимликларда, балки, умуман, ген муҳандислигида кенг қўлланилади. Тўқимага хос ва индуцибел промоторларнинг камчилиги уларнинг фаоллигининг пастлигидадир.

Промоторлардан ташқари трансгеннинг экспрессияланишга унинг ўсимлик геномига интеграция бўлиш жойи ҳам таъсир кўрсатади. Т-ДНК кетма-кетлиги геномнинг исталган қисмига ўрнаша олади деб ҳисобланса-да, кўплаб тадқиқотларда бу ҳодиса тасодифан амалга ошмаслиги исботланган. Кўпинча Т-ДНК ген экспрессияси амалга ошмайдиган гетерохроматин участкаларига ўрнашади ва трансген ҳар қандай кучли промотор таъсирида

хам транскрибирланмайди. Буни такрорий трансформациялар орқали ҳам англаб олиш мумкин.

Трансген ўсимликлар олишнинг илк босқичларида бегона генлар экспрессиясининг нишон белгилари – репортер генлардан фойдаланилади. Одатда, репортер генларнинг маҳсулотлари оддий усуллар билан осон аниқланади. *GUS* деб номланувчи репортер генидан кенг фойдаланилади, у β- глюкуроназа ферментини кодирлайди ва субстратга қўшилганда уни оч ҳаво рангли бирикмага қадар парчалайди. Бундан ташқари *gfp* рецептор гени экспрессия бўлганда осон аниқланадиган флуоресцент оқсилни ҳосил қилади. Одатда, рецептор геннинг экспрессияси трансген ўсимликда функционал генинг экспрессияланиш даражаси билан ўзаро мос келади.

Биотехнологияда ген муҳандислиги усуллари ёрдамида ўсимликларнинг сифат кўрсаткичларини яхшилаш ва ҳосилдорлигини

ошириш

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

Бошоқли ўсимликларда эндоспермнинг заҳира оқсиллари алоҳида ўрин тутади. Заҳира оқсиллар, асосан структураси, нуклеотид таркиби билан бири-бирига ўхшаш, мультигенлар оиласига бирлаштирилган бир неча генлар томонидан кодирланади. Одатда, бу генларнинг экспрессияси қатъий тўқима спецификлигига эга ва уруғ ривожланишининг маълум бир босқичида амалга ошади. Кўпинча ўсимликларнинг заҳира оқсиллари таркиби инсон ва ҳайвонлар озиқаси учун мувозанатланмаган аминокислоталар таркибига эга бўлади. Чунки, дуккаклиларнинг заҳира оқсили – легуминлар метионин аминокислотаси, бошоқлилар оқсили – проламинлар – лизин, триптофан ва треонин аминокислоталарининг миқдори камлиги билан характерланади. Бу аминокислоталарнинг танқислиги уруғнинг озиқавий қийматини пасайтиради.

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

Шунинг учун ген-муҳандислик усуллари қўлланилиши геномига фақат фойдали генлар киритилган янги навларни яратишда муҳим аҳамият касб этади. Масалан, проламин генларига қўшимча лизин кодонларининг киритилиши лизинга бой оқсилларнинг синтез бўлишига ва оқсилнинг озиқлик қийматининг ошишига олиб келади.

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

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

Геннинг нуклеотид кетма-кетлиги унинг оқсил синтези бошқарувида иштирок этувчи элементларини аниқ ўрганишни ўз ичига олувчи тайёргарлик босқичисиз амалга ошмайди.

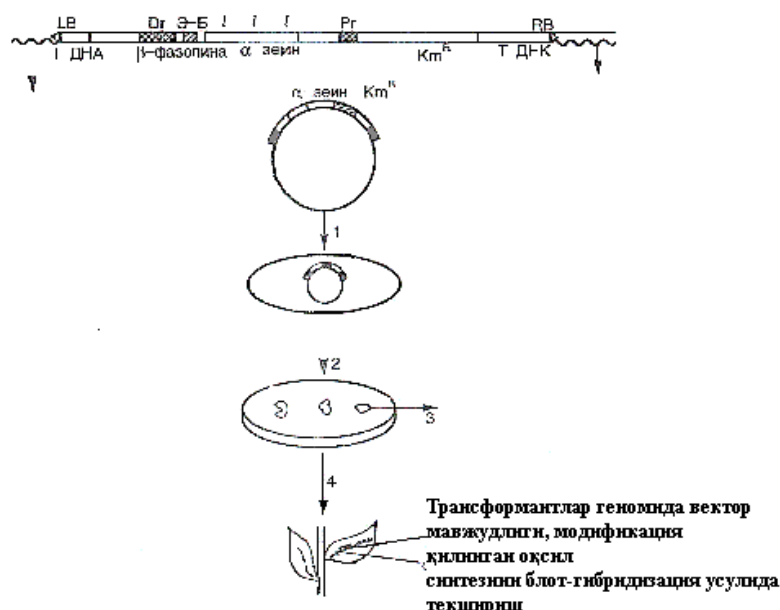
Дунё олимлари томонидан донли, бошоқли ва бошқа бир қатор ўсимликлар заҳира оқсилларининг ўнлаб генлари ўрганилган. Ҳозирги кунда тадқиқотчилар томонидан арпа гордеини, буғдой α ва β - глиадинлари ва глютенини, маккажўхори зеини, дуккаклилар легуминлари, картошка пататини ва бошқа оқсилларнинг 10 га яқин генлари клонланган. Баъзи генларнинг нуклеотид кетма-кетликлари аниқланган. Заҳира оқсилларни ажратишнинг умумий режаси қуйидагиларни ўз ичига олади: 1) мос м РНК ни олиш ва қисман тозалаш; 2) комплементар кДНК синтезлаш ва клонлаш; 3) генлар банкидан заҳира оқсиллар генини нуклеотид кетма-кетлигини ажратиш.

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

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

Аминокислоталар таркиби яхшиланган оқсилли трансген ўсимликлар олишнинг кейинги босқичини такомиллаштирилган α -зеини мисолида кўриш мумкин. Маккажўхорининг α -зеин оқсили лизиннинг миқдори камлиги билан характерланади. Бу эса оқсилнинг озиқлик қийматини

пасайтиради. α -зеин гени кетма-кетлигига йўналтирилган – олигонуклеотид мутагенези усули орқали лизиннинг қўшимча кодонлари киритилади. Олинган α -зеиннинг модификация қилинган гени лизин тутувчи оқсил экспрессиясини амалга оширади. Бундай тадқиқот биринчи марта α -зеин кетма-кетлигига янги кодонлар киритилиши бўйича амалга оширилган (2.12 –расм). Ҳозирда бундай янги триплетларни киритилиб, оқсилларнинг аминокислоталар таркибини ўзгартириш (яхшилаш) одатий ҳол бўлиб қолмоқда.



2.12 - расм. Лизинли кодонлар билан бойитилган α -зеини гени кўчириб ўтказилган трансген тамаки ўсимлигини олиш схемаси.

1-агробактериялар трансформацияси; 2-ўсимлик ҳужайралари трансформацияси; 3-канамицин антиотиғи қўшилган озиқа муҳитида танлаш; 4-регенерация.

Такомиллаштирилган α -зеин гени трансформация учун қўлланиладиган векторнинг Т-ДНК қисмига клонланган. Шунингдек, вектор конструкция таркибида эндосперм-бокс ҳам бўлиб, у α -зеиннинг уруғда

тўқимага хос экспрессиясини юзага келтиради. Ўтказилган тадқиқотларда такомиллаштирилган α -зеини гени билан трансформацияланиб, лизин билан бойитилган маккажўхори ўсимликлари олинган. Модификация қилинган оқсил трансген маккажўхори ўсимлиги уруғларида фаол синтезланади. Натижада донининг сифати яхшиланган маккажўхори тизимларини олишга муваффақ бўлинди. Кейинчалик бу трансген тизимлар анъанавий селекция усуллари ёрдамида янги нав ва дургайлар олишда қўлланилиши мумкин.

Трансген буғдой ўсимликлари ҳам шу каби усуллар ёрдамида олинган. Ўсимлик геномига глютенин оқсили юқори молекуляр суббирлигининг нуклеотид изчиллиги ўзгартирилиб модификация қилинган гени киритилганда, модификацияланган оқсиллар синтезини фаоллаштиради ва тегишли заҳира оқсиллар таркиби ва даражасига таъсир этиб, бу буғдойнинг дон сифатини яхшилашга олиб келади.

Оқсиллар таркибини яхшилашнинг яна бир усули бу бир паллали ва икки паллалиларнинг заҳира оқсиллари генлари изчиллиги асосида химер генларни конструкциялашдир. Бунда дастлабки материал сифатида арпа гордеини *b1* ва дуккаклилар легумини *b4* генларидан фойдаланилди. Бундай химер генга эга конструкция (қурилма) билан тамаки ўсимлиги трансформация қилиниб, трансген ўсимликлар тизими олинган.

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

Шунингдек заҳира оқсиллари ўзгартирилган ўсимликларни олиш билан бирга трансген ўсимликлардан “озуқабоп” вакциналар ишлаб чиқарувчилар сифатида ҳам фойдаланиш мумкин. Масалан А-Г иммуноглобулини, энтеротоксин, вабонинг *b*-токсини, В-гепатитнинг юза оқсили антигенини синтезловчи тамаки, картошка ўсимликлари олинган. Трансген ўсимликлардан олинган оқсиллар, ҳайвон ҳужайраларидан олинган оқсиллар каби антигенлик ва физиологик хусусиятларга эга бўлади. Ҳозирги вақтда трансген ўсимликлар ёрдамида одамда учрайдиган В гепатитига қарши

вакциналаш (эмлаш) синовдан ўтказилмоқда. Бундан келиб чиқиб, трансген ўсимликлардан фойдаланиб, келажакда арзон ва биологик фаол вакциналар олиш мумкин, деган хулосага келиш мумкин.

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

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

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

Фотосинтетик фаолликни оширишда ўсимликлар фотосинтезининг C_3 генига C_4 генини киритиш йўналиши бўйича изланиш амалга оширилмоқда. Маккажўхори фотосинтез тизими мезофилл барглари ҳужайрасида атмосфера CO_2 фиксациясида иштирок этувчи

фосфоенолпируваткарбоксилазанинг C4 гени клонланди ва агробактерия трансформацияси тизими (PEPS) орқали шоли ўсимлигининг C₃ генига ўтказилди. Олинган трансген ўсимликларнинг таҳлили шуни кўрсатдики, шоли хужайрасида ферментлар фаоллиги маккажўхориникига нисбатан 2-3 барабар юқори бўлиши, фотосинтез фаоллигини тезлаштириб, ҳосилдорликни оширишга олиб келган.

Фотосинтез жараёнида иштирок этувчи генларни клонлаш ва улардан фойдаланишидан ташқари, хужайрада хлоропласт миқдорини назорат қилувчи генлар ҳам ажратиб олинган. Бундай генлардан фойдаланиш фотосинтез даражасини ўзгартиришга олиб келади. Бошқача ёндошиш орқали эса ҳар бир хлоропластдаги хлорофилларнинг миқдорини оширишга эришилган. Яна *a/b* хлорофилларни специфик тарзда бириктирувчи модификацияланган оқсиллар олинган. Трансген ўсимликларда бу оқсиллар экспрессиясининг амалга оширилиши биомасса миқдорини сезиларли даражада кўпайишига олиб келади.

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

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

Ўсимликлар ҳосилдорлиги ва сифатини оширувчи генларни трансформация қилиш билан бирга 1998-2001 йилларда тижоратбоп трансген гулларнинг дастлабки тўртта нави олинган бўлиб, уларга АСС- синтетаза

гени киритилиши натижасида гуллаш жараёни тезлаштирилган чиннигул нави ва антоциан биосинтези ўзгартирилган генли учта (иккита чиннигул ва битта хризантема) гуллари гулкўрғонидаги тожибаргларининг ноанъанавий рангларини олишга муваффақ бўлишган.

Стресс таъсирларга бардошли трансген ўсимликлар олиш

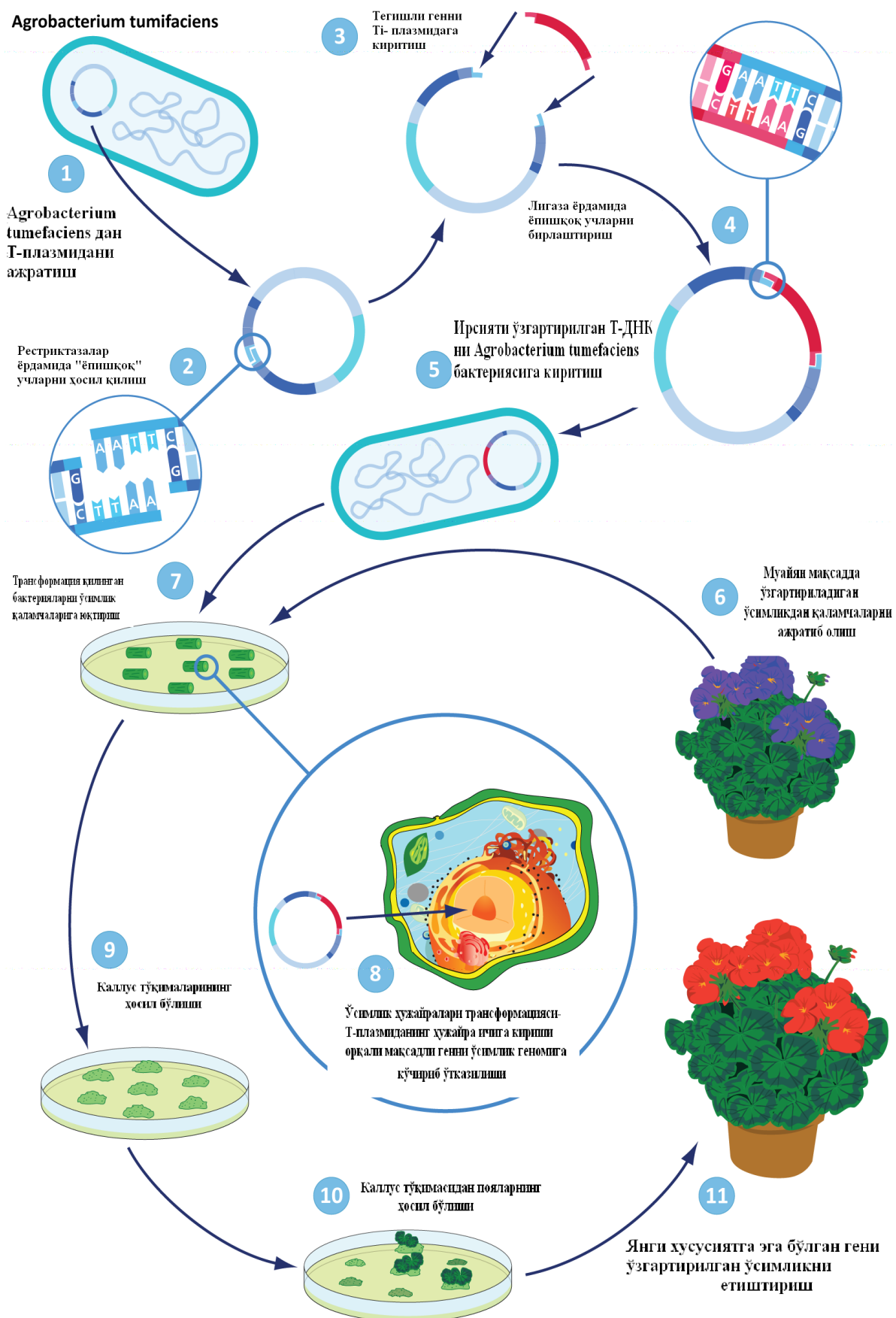
Атроф-муҳитнинг курғоқчилик, ортиқча намлик, юқори ёки паст харорат каби таъсирлари, тупроқ шўрланиши, кислоталилик даражасининг ошиши сингарилар қишлоқ хўжалик маҳсулотларининг маълум қисмининг nobud бўлишига сабаб бўлади. Шунинг учун стресс таъсирларга бардошли ўсимликлар навларидан фойдаланиш катта иқтисодий самарадорликка эга бўлиб ҳисобланади.

Ўсимликларнинг кўпгина стресс ҳолатларга кўникиш реакцияси – бир қанча генларнинг биргаликдаги ўзаро мослашувчан (синхрон) таъсирига боғлиқдир. Шу боисдан ген муҳандислиги изланишлари учун стресс омиллар томонидан кўзғаладиган биокимёвий жараёнлардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир. Маълумки, узоқ вақт сувли стресс таъсирига учраган ўсимликларда бир қатор содда органик молекуляр бирикмалар-пролин, глицинбетаин ва бошқа моддалар тўпланиб, улар осморегулятор ҳамда осмопротекторлар ҳисобланади.

Ўсимликлар ва бактерияларнинг стресс таъсирларга жавоби ўхшашлиги аниқланган: иккала ҳолатда ҳам хужайрада осмопротектор молекулалари синтез бўлиб, унинг таъсир механизми цитоплазма ва атроф-муҳит ўртасида осмотик тенгликни юзага келтириш, бундан ташқари, стресс таъсирлар шароитида оксилларни қисман мўтадиллаштиришдан иборатдир. Осмопротектор молекулалари синтезининг биокимёвий йўли ўхшашлиги стрессларга бардошли, трансген ўсимликлар олишда бактерия генларидан фойдаланиш имконини беради.

E. coli геномидан стрессга жавоб реакцияси сифатида юзага чиқадиган пролин биосинтези йўли бўлиб, уларнинг ферментларини кодирловчи,

иккита proBosm ва proA генлари ажратилган. Бу бактерия генларининг экспрессияси ўсимликлар геномида пролин синтезини оширишга олиб келган. Олинган трансген тамаки ўсимликларида назорат ўсимликларга нисбатан пролин синтезининг ошганлиги ва тўпланиб борганлиги қайд қилинган. Трансген ниҳолларнинг илдиз ҳосил қилиш ва 20 г/л (350 мМ) миқдордаги тузли муҳитда ҳам ўса олиш хусусияти сақланиб қолган.



2.15-расм. Стресс шароитида чидамли трансген ўсимлик олиш чизмаси.

Глицинбетаин синтезини катализловчи бетаинальдегиддегидрогеназа (BADH) гени ажратиб олинган. Бу генни экспрессияловчи трансген тамаки ўсимликлари тузнинг юқори миқдорига чидамлилиқ хусусиятига эга бўлган.

Юқори ҳароратга бардошлилик *fad7* гени билан боғлиқ бўлиб, у оксил мой кислоталари метаболизмига таъсир этади. Шолининг таранген навларида бу геннинг инактивацияси натижасида ўсимлик юқори ҳароратда ўса олиш ва икки соатгача +47⁰С га қадар чидамлилиқ белгисини намоён қилиши мумкин.

Ҳозирги кунда газон майсаларининг сув танқислиги ва шўрланишга чидамли трансген навлари дала синовларидан ўтказмоқда, уларни кейинчалик (характерли бундай белгили ноқулай шароит мавжуд абиотик фонга эга) шаҳарларда ўстириш кўзда тутилмоқда.

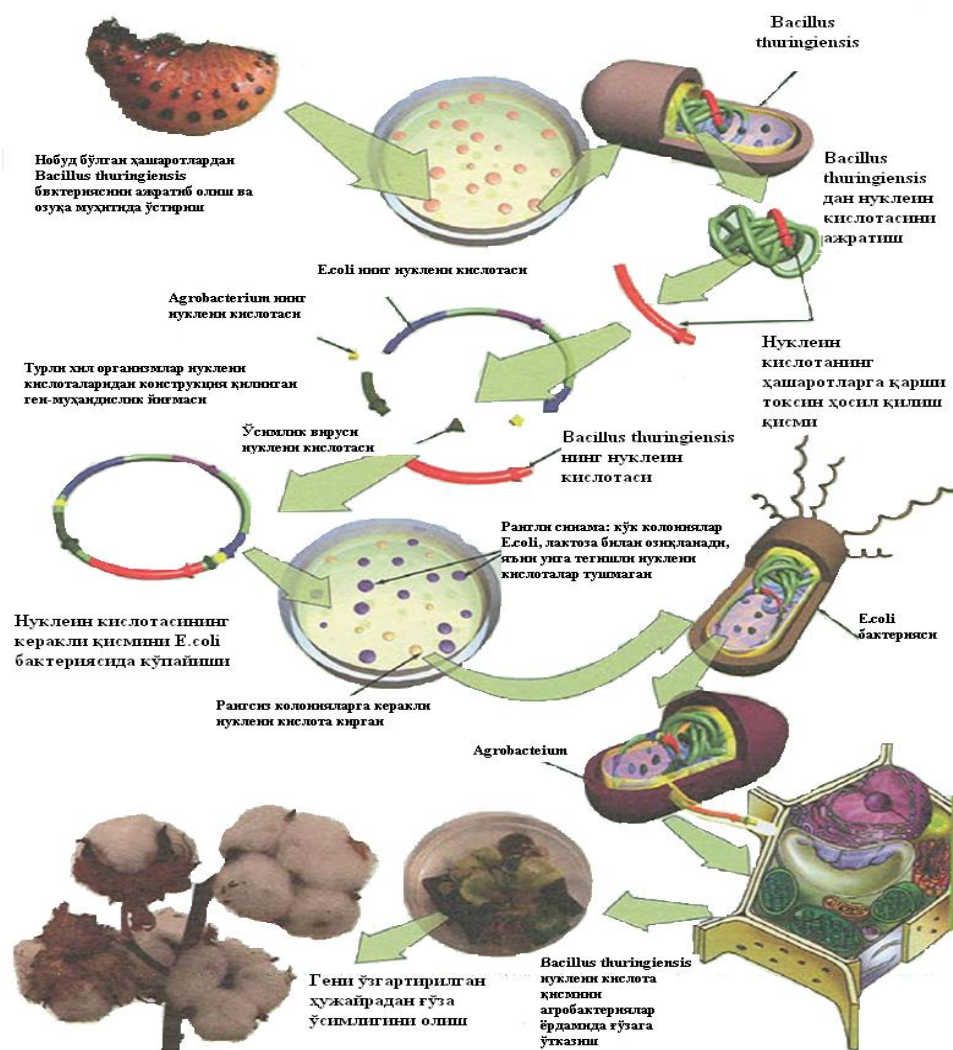
Зараркунанда ҳашаротларга бардошли трансген ўсимликлар яратиш

Ген муҳандислиги усуллари кўллаб, зараркунанда ҳашаротларга қарши курашда чидамлилиги юқори бўлган ўсимликларни конструкция қилиш мумкин. Маълумки, *Bacillus thuringiensis* бактерияси инсектицид оксил – протоктоксинни экспрессиялайди, бу оксил ҳашаротларнинг ичагига тушгандан сўнг протеаза ферменти таъсирида зараркунандаларни нобуд қилувчи фаол токсинга қадар парчаланади.

Ушбу токсин асосида олинган препаратлар далаларда ўсимликларга ишлов беришда фойдаланилади. Олинган препаратлар турғун бўлмасдан, ҳашаротларда мазкур инсектицидга чидамлилиқ пайдо бўлишига тўсқинлик қилади. Унинг камчилиги тез парчаланиб кетади, шу билан бир вақтда оксил маҳсулотлари ўсимлик ҳужайраларида ҳашаротларга нисбатан мўътадил чидамлилиқни ҳосил қилиши мумкин.

Юқорида кўрсатилган камчиликларни бартараф этиш учун *B. thuringiensis* геномидан *bt2* токсини гени ажратиб олиниб, гул қарам мозаикаси вируси *CAMV* 35 S промотори назорати остига қўйилган *bt*-гени

агробактериал трансформация усули ёрдамида тамаки ўсимлигига кўчириб ўтказилган. *bt2* генининг ўсимлик хужайрасидаги экспрессияси ўзига хос мРНК нинг иштироки ҳисобига транскрипция даражасида ҳам, трансляция даражасида ҳам токсин-оқсил синтезига кўра ҳам аниқланган. Олинган трансген тамаки ўсимликлари зараркунанда ҳашаротларга чидамли бўлиб чиққан. Бу усул билан қишлоқ хўжалик экинларини зараркунандалардан ҳимоя қилишнинг самарадорлигини эндотоксин генлари билан трансформацияланган помидор мисолида ҳам кўриш мумкин, ўсимлик хужайрасида синтезланган бактерия оқсили ўсимликни инсектицид препаратлар қўлланилгандаги каби самарали ҳимоя билан таъминлайди. Шунингдек, тамаки ва помидордан ташқари кўпгина қишлоқ хўжалик экинлари картошка, маккажўхори, ғўза, шоли, соя, брокколи ўсимликлари геномига ҳам *bt2* гени киритилган. Геномида *bt2* генини экспрессияловчи бир қанча ўсимликларнинг трансген навлари олинган. 1944 –1945 йиллар мобайнида помидор, картошка ва ғўзанинг (“Monsanto” фирмаси), маккажўхори (“Novartis” фирмаси), 1998 йилда эса картошканинг *bt2* генидан ташқари, баргларни буралиши вируслари ва глифосат гербицидига бардошлилик генлари киритилган янги навлари олинган ва дала синовларидан ўтказилган.



2.16-расм. *B. thuringiensis* геномидан ажратиб олинган *bt2* токсини генини ғўза ўсимлигига кўчириб ўтказиш чизмаси.

2000 йилда трансген ўсимликлар навларининг генетик модификацияланган маҳсулотларидан фойдаланиш рухсат этилган мамлакатларда зараркунанда ҳашаротларга бардошли экинлар 380 минг га. майдонга экилган бўлиб, бундан 230 минг гектарига трансген ғўза, 144 минг гектарига маккажўхори ва 5 минг гектарига трансген картошка экилган.

Трансген ўсимликлардан фойдаланиш натижасида инсектицидларни қўлланишини камайишига ва ўсимликларда ҳосилдорликни ошишига эришилди.

Замбуруғ, бактерия ва вирусли инфекцияларга чидамли трансген ўсимликлар олиш

Фитопатоген таъсирларга қарши ўсимликларда бир қанча ҳимоя реакциялари механизмлари кучга киради. Бунда ўсимликнинг фаол жавоб реакцияси икки асосий йўналишда бориши мумкин: биринчидан инфекцияга жавобан патогенларнинг ҳаёт фаолиятини чекловчи, улар учун захарли бўлган бирикмаларнинг синтези бошланади ва натижада уларнинг ҳалок бўлишига олиб келади. Иккинчидан, ҳимоя жавоби сифатида структуравий тўсиқлар яратилиб, бу тўсиқлар ўсимликларнинг зарарланиши, патогенларнинг тарқалишини олдини олади. Бу эса ҳужайра деворларининг лигнификацияланиши ёки гидроксипролинга бой гликопротеидлар ва бошқа бирикмалар ҳисобига мустаҳкамланиши орқали амалга ошади, улар экстенсинлар деб аталиб, тўқималарни фитопатогенлар томонидан шикастлашидан ҳимоя қилади.

Вирус, бактерия, замбуруғли инфекцияларга жавобан специфик *PR* (*pathogen related proteins*), шунингдек улар орасида ҳар томонлама мукаммал ўрганилган хитиназа ва β 1,3 глюконаза оксиллари индуцирланади.

Бу ферментлар замбуруғ ва баъзи бактерияларнинг ўсишини тўхтатади, уларнинг ҳужайра деворини қисман гидролизлайди.

Хитиназа ва глюконаза оксилларининг фунгицидларга таъсири, ҳамда ушбу оксилларнинг алоҳида генлар томонидан кодирланишига оид маълумотлар кўплаб тажрибаларда аниқланган. Шунинг учун хитиназа ва глюконаза генлари фитопатогенларга чидамли трансген ўсимликлар олиш бўйича ген муҳандислиги тадқиқотларида фойдаланилмоқда. Ҳозирги кунда кўпчилик ўсимликларнинг хитиназа гени тутувчи трансген ўсимликлари - тамаки, ғўза, маккажўхори, помидор, картошка, беда, шоли, турнепс, рапс ва бошқа ўсимликларнинг *CaMV 35S* промотори назоратида хитиназа генини экспрессияловчи трансген навлари олинган. Бу ўсимликларда замбуруғли инфекцияларга чидамлилиқни нафақат лаборатория шароитида, балки дала шароитида ҳам кузатилган. Бундан ташқари, хитиназанинг глюконаза билан биргаликдаги таъсири самарадорлиги юқори бўлади, шунинг учун иккала генни тутувчи трансген ўсимликлар жуда катта агрономик аҳамиятга эгадир.

Ҳозирги вақтда тамаки, рапс, помидор, картошканинг *Rhizoctonia* га, тамакининг *Cercospora nicotianaga* юқори даражада чидамли трансген ўсимликлари олинган.

Фунгицид таъсирга эга бўлган бошқа гуруҳ бирикмалари-гуруҳига паст молекуляр (40-50 к Да) оксиллардан иборат ўсимликларнинг цистеин оксиллари, галактуроноза ингибиторлари, ўсимлик дефенезлари, MF – оксил гуруҳлари. Бу оксилларнинг барчаси одатда ўсимликларнинг турли хил замбуруғли ва бактерия инфекцияларига чидамлилигини специфик бўлмаган ҳолатда оширади.

Мазкур оксилни экспрессияловчи трансген ўсимликлар замбуруғли инфекцияларга қандай даражада чидамли бўлса, вирусли инфекцияларга нисбатан ҳам худди шундай хусусиятга эга бўлади.

Вирус – ўсимлик муносабати жараёнини ўрганиш мобайнида жуда кўп усуллар қўлланилган. Фақатгина бир қанча усулларни биргаликда қўллаш орқалигина вирусли инфекцияларга чидамли ўсимликлар олишга эришилган. Сўнгги йилларда бу йўналишда сезиларли силжиш пайдо бўлди, бу геномнинг тузилишини ва ташкилланишини, вирус генларининг функцияланишининг тўлиқ ўрганиш билан боғлиқдир. Ҳозирги вақтда ген муҳандислиги технологияси асосида вирусли инфекцияларга чидамли трансген ўсимликлар олишнинг турли усуллари мавжуд, бу эса вирус қобиғи юза оксили гени билан трансформация қилинган трансген ўсимликлар олиш имконини беради, натижада инфекция ўтишининг камайишига ва вирус кўпайишини тўхтатишига олиб келади. Мазкур усул билан тамаки ва картошка ўсимликларига тамаки мозаика вируси оксил қобиғи генини трансформация қилиш, трансген ўсимликларда турғун антивируслик хусусияти пайдо бўлишига олиб келган.

Ҳозирги вақтда тамакининг нафақат ТМВ (тамаки мозаика вируси)га, балки қовоқ мозаика вирусига ҳам чидамли тизимлари ҳам олинган. Шунингдек, картошка ва маккажўхорининг барглариининг буралиши

вирусларига, арпанинг паканалик вирусига чидамли навлари ҳам олинган. Қовоқнинг учала вирусга ҳам чидамли нави олинган ва экилмоқда.

Патогенларга чидамли ўсимликлар олишнинг яна бир усули - замбуруф ва микробларга қарши таъсирига эга бўлган фитоалексинлар биосинтези (йўли) ферментларини кодирловчи генларининг ўсимлик хужайраларига трансформациясидир. Бу генларни картошка ва помидор ўсимликларига киритилганда, фитофтороз ва фузариозга, тамакида эса кулранг чириш касалликларига қарши чидамлилик сезиларли даражада ортган.

Ҳозирги кунда картошканинг Y вируси (PVY)га ва барг буралиши (PLRV)га вирусларига чидамли 4 та тижоратбоп трансген навлари, қовоқнинг учта вирусга ҳам бир вақтнинг ўзида чидамли нави, папаянинг айланасимон вируси (PVY) га чидамли навлари яратилган.

Гербицидларга чидамли трансген ўсимликлар олиш

Ўсимликлар биотехнологиясининг асосий йўналишларидан бири гербицидлар таъсирига чидамли маданий ўсимликлар олишдир. Гербицидлар кенг таъсир спектрига эга бўлиб, бегона ўтларни йўқотади, шу билан биргаликда экинларга ҳам салбий таъсир кўрсатади. Гербицидларга чидамли ўсимликлар олиш икки йўналишда олиб борилади: биринчидан, гербицидларга чидамли ўсимлик шакллариининг тўғридан-тўғри селекцияси (асосан, гербицидга чидамли ўсимликларни ёввойи турлари билан чатиштириш орқали), иккинчидан, экспрессияси гербицидга бардошлиликка олиб келувчи генларини кўчириб ўтказиш йўли билан трансген ўсимликлар олиш. Гербицидларга чидамли трансген ўсимликлар олишда гербицидларга чидамлиликни юзага келтиришнинг молекуляр механизмлари, шунингдек бу хусусиятни белгиловчи бактерия ва ўсимлик генларини ажратиб олиш тўғрисидаги маълумотлар назарий асос бўлиб хизмат қилади.

Гербицидларнинг таъсири ўсимлик хужайралари метаболизмини тўхтатиб қўйиш орқали намоён бўлади: биокимёвий жараёнларнинг ингибирланиши (тўхтатилиши) энг аввало, фотосинтезнинг (атразин, симазин, диурон) ва аминокислоталар (глифосат, сульфонилмочевина,

биалофос) синтезининг ингибирланишида ўз ифодасини топади. Гербицидга чидамлилик унинг фермент-нишон билан ўхшашлиги ёки гербицид молекуласини бевосита ингибирланиши натижасида келиб чиқади.

Хужайралар селекцияси усули орқали петунянинг мутант тизимлари яратилган, улар глифосат гербицидига 20 карра чидамлироқдир. Шунингдек, беданинг 600 мкМ L фосфинотрицин гербициди иштирокида ўсишга мослашган хужайра суспензияси билан селекция қилиниб, чидамли тизимлари яратилган.

Ген муҳандислиги усуллари ёрдамида гербицидлар таъсирига чидамли ўсимликлар яратишда толерантлик (юқори даражада чидамлилик) механизмларини ўрганишга асосланади ва қуйидаги босқичларни ўз ичига олади; ўсимликлар хужайрасида гербицидлар таъсир этадиган нишон аниқланади, баъзи гербицидлар таъсирига чидамли, резистентлик генлари манбаи бўлган ўсимликлар, бактериялар танланади, бу генлар идентификация қилиб олиниб, ажратилади, клонланади, трансген конструкциялар яратиш учун уларнинг экспрессияси ўрганилади.

Атразин гербицидининг таъсири *pbсA* гени томонидан кодирланадиган хлоропласт мембранаси оқсил (Q_h) билан бирикишига асосланади. *pbсA* гени баъзи бегона ўтлар геномидан ажратилган. Аниқланишича, гербицидга чидамлилик *pbсA* генида нуқтали мутация юзага келиши билан боғлиқ бўлиб, бу оқсил таркибидаги серин аминокислота қолдиғини глицин билан алмашинишига олиб келади. Бундай алмашиниш Q_h оқсилида гербицидни фермент – нишон билан боғланишининг кескин камайишига олиб келади. Натижада гербицидга чидамлилик пайдо бўлади. Ўсимликлар трансформацияси учун мутант *pbсA* гени вектор конструкцияга киритилиши натижасида атразинга чидамли трансген ўсимликлар олинган.

Айнан шу нарса, яъни, *E.coli*нинг *aroA* гени кодирлайдиган EPSP – синтетаза оқсилида аланиннинг аргининга алмашиниши туфайли глифосат гербициди таъсирига чидамлилик белгисини юзага келтириши аниқланган. Бу эса мутант *aroA* гени билан тамаки, помидор, қанд лавлаги, картошка

ўсимликлари хужайраларига трансформация қилиш ва гербицидга чидамли трансген ўсимликлар олиш учун фойдаланилган.

Ўсимлик геномига бактериянинг *bar* генини киритилганда BASTA гербицидига чидамлилик келиб чиқади ва бу ген кодирлайдиган – фосфинотрицинацетилтрансфераза оксили гербициднинг фаол компоненти фосфинотрицинни ацетиллаши ва натижада унинг инактивациясини юзага келтириши аниқланган.

Шу тарзда шоли (1995), маккажўхори (1995), буғдой (1994) ва бошқа ўсимликларнинг трансген навлари олинган. Сўнгги вақтларда *bar*- гени ген муҳандислик векторларида селектив маркер сифатида қўлланилмоқда.

Шоли геномига *B. subtilis* бактериясидан ажратилган протопорфириногенсинтетаза (Protox) ферментини кодирловчи ген киритилганида у трансген ўсимликнинг дифенилэфир қатори гербицидларига чидамлилигини оширган. Бунда антигербицид таъсири механизми кўрсатилган: *Protox* оксили экспрессиясининг ошиши гербицид таъсирини нейтраллайди, бу эса унда гербицидга чидамлиликни ортишига сабаб бўлади. Киритилган ген нусхалари сони ва бардошлилик даражаси ўртасида ўзаро тўғридан-тўғри боғлиқлик борлиги ҳам аниқланган.

Ҳозирги вақтда Шимолий Америка ва Европада гербицидларга чидамли, маккажўхори, ғўза, шоли, соя, буғдой, картошка ва помидор, зиғир каби қишлоқ хўжалиги учун асосий бўлган экинларнинг 20 га яқин трансген навларидан фойдаланишга рухсат этилган.

Кулупнай, қанд лавлаги ва баъзи гулли экинларнинг трансген навлари дала синовларидан ўтказилмоқда. Дунё бўйича гербицидларга бардошли трансген ўсимликларнинг нав ва дурагайлари 34 млн. гектар ерга экилади. Бу умумий экинлар экиладиган майдонларнинг 80 %и ни ташкил этади.

Умуман олганда, трансген ўсимликларни олиш биотехнологиянинг жадал ривожланаётган йўналишларидан биридир. Генетик модификацияланган ўсимликлардан фойдаланиш рухсат этилган мамлакатларда 2001 йилнинг феврал ойига келиб, 18 хилдаги экинларнинг

78 та трансген навлари дала синовларидан ўтказилди ва агротижорат мақсадларида фойдаланишга рухсат этилди.

Ўсимликлар ген муҳандислигининг ҳал этилмаган муаммолари

Ўсимликлар ген муҳандислиги тобора тараққий этиши билан бир каторда бир қанча муаммолар ҳал этилмай қолмоқда. Бундай муаммолардан бири - ўсимликлар геномига ўлчами катта бўлган генларни (10 м.н.ж.дан кўп) ёки бир нечта функционал генларни бир пайтнинг ўзида киритишнинг қийинлиги билан боғлиқдир. Бу трансформация учун қўлланиладиган векторларнинг ҳажми билан боғлиқдир. Сўнгги вақтларда ўсимликлар трансформацияси учун фойдаланиладиган кўпчилик генларнинг, айниқса, эукариот генлари катта ўлчамга эгаллиги (5–15 м.н.ж) билан ажралиб туради. Бундан ташқари вектор конструкциялар ўзининг таркибида танланган генлардан ташқари селектив генлар ҳам тутиши зарур. Баъзи ҳолатларда ўлчамларини қисқартириш мақсадида геннинг кДНК изчиллигидан фойдаланиш мумкин. Аммо, кДНК – нусхалари *in vivo*даги ўзига хос сплайсинг ёки одатда биринчи интронда специфик регулятор изчилликларининг иштироки сабабли ҳар доим ҳам қўлланермайди. Ўсимликлар трансформациясини чекловчи асосий омиллардан бири - зарур белги бир неча генлар томонидан кодирланади ва бундай хусусиятга эга бўлган трансген ўсимликларни олиш ҳозирча бир оз техник муаммоларга эга.

Бегона генларнинг экспрессияси масаласи алоҳида муаммо бўлиб кўпинча икки – бешта авлоддан сўнг актив транскрипцияланувчи ген экспрессияланишдан тўхтайтиди. Мантиқан бу тушунарли ҳолдир, ўсимлик хужайраси ўзининг метаболизми учун бегона бўлган, одатда бактериал келиб чиқишга эга оқсилни фаол (масалан, кучли конститутив 35 СаMV промотори туфайли) экспрессиялайди. Кўпинча, трансгеннинг инактивацияланиши регулятор изчилликларнинг метилланиши ёки қайсидир

оқсилнинг промотори билан ўзаро таъсири натижасида репрессияланиши туфайли юзага келади. Бундай инактивация қилинган трансгенни фаоллаштиришнинг иложи йўқ. Вақт ўтиши билан трансгеннинг бундай “индамаслиги”нинг ўтиб кетишини тахмин қилиш қийин, чунки бу бир канча омиллар, жумладан, оқсилнинг изчиллиги ва ўсимлик геномига бирикадиган аниқ жойи билан боғлиқ. Бу муаммони эҳтимол, бир неча марта трансформациялаш йўли билан ўсимлик геномида турли хил интеграция жойларига эга бир хил вектор конструкциялари тутувчи турли тизимлар олиш билан ҳал этиш мумкин.

Трансгенез бўйича олиб борилаётган ишларнинг секин ривожланишидаги асосий сабаб самарали генларни ажратиш, идентификация қилиш, генлар банкини яратиш бўйича олиб борилаётган изланишлар ривожланиш даражасининг пастлиги ва ген муҳандислиги илмий базасининг чекланганлиги билан боғлиқ бўлиб қолмоқда.

II бобга оид умумий назорат саволлари

1. Ген муҳандислигига асосланган селекциянинг пировард мақсади бўлган янги ўсимлик навлари олишнинг анъанавий селекция усулларида афзаллиги нимада?
2. Нима учун I ва III типдагирестриктазалардан ген муҳандислигида амалда фойдаланилмайди?
3. Қандай усуллар билан турли номдаги кетма-кетликлар учларининг фрагментларини бириктириш мумкин?
4. Вектор нима ва унинг қандай асосий типлари мавжуд?
5. Клонлаш учун қўлланиладиган векторни танлаб олишда қайси хусусият ҳал қилувчи аҳамиятга эга?
6. Фаглар орқали клонлашда қандай афзалликлар ва камчиликлар мавжуд?
7. Бинар векторларининг коинтегротив векторларга нисбатан афзаллиги нимада?

8. Клонлаш учун қўлланиладиган векторнинг трансформацияга ишлатиладиган вектордан асосий фарқлари нималардан иборат?
9. Ўсимлик хужайраларига генларни тўғридан-тўғри кўчириб ўтказишнинг афзалликлари нималардан иборат?
10. Трансген ўсимликларни ҳақиқийлигини текширишнинг қандай усуллари мавжуд?
11. Трансген ўсимликлар олишининг қайси босқичларида қийинчиликлар келиб чиқиши мумкин ва нима учун?
12. Селекция ва озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш мақсадида трансген ўсимликлардан фойдаланиш технологиялари.

II бобга оид тест саволлари:

1. Тотипотентлик белгиси қайси ўсимликларда яққол ифодаланган?
 - A) тамаки, ғўза, ялпиз, картошка
 - B) ёнғоқ, қарағай, қорақарағай
 - C) тамаки, пиёз, лола, соя, маккажўхори
 - D) шафтоли, арпа, буғдой
 - E) тамаки, картошка, лавлаги, рапс
2. Трансген ўсимликлар олишдаги асосий муаммолардан бири нима?
 - A) трансген ўсимликларнинг яшовчанлиги пастлиги
 - B) ўсимликларнинг қийин кўпайиши
 - C) ўсимликлардан керакли генни ажратиб олиш
 - D) ўсимликлар хромосомасига бегона генни киритиш
 - E) вектор конструкциялар билан ишлаш
3. Ўсимликнинг агробактериялар билан зарарланиши натижасида қайси қисми ўсимлик геномига ўтади?
 - A) T_i плазмиданинг барча қисми
 - B) агробактериянинг яхлит ўзи
 - C) T_i плазмиданинг бир қисми
 - D) агробактериянинг ҳеч қайси қисми ўсимлик геномига ўтмайди
 - E) B ва C жавоблар тўғри

4. Коинтегратив векторларни олиш нимага асосланади?

- A) генлар изчиллигини клонлашга
- B) иккита плазмида ўртасидаги рекомбинацияга
- C) векторлар сонини селектив шароитларда кўпайтиришга
- D) векторларни ҳар бирини алоҳида-алоҳида киритишга
- E) коинтегратив вектор деган тушунча мавжуд эмас

5. Ўсимликлар трансформациясида қандай векторлардан фойдаланилади?

- A) T_i плазмидаси, CaMV вируси, R_i плазмида
- B) Ас элементи, бинар векторлар
- C) коинтегратив векторлар, фитовируслар
- D) энтеробактерияларнинг плазмидалари, фаглар
- E) А,В ва с жавоблар тўғри

6. Қуйида кўрсатилган усуллардан қайси бири икки паллали ўсимликлардан трансген ўсимликлар олишда энг кенг тарқалган усул ҳисобланади?

- A) генларни тўғридан-тўғри кўчириб ўтказиш
- B) биобаллистик трансформация
- C) ДНК микроинъекцияси
- D) электропорация
- E) кокультивация

7. Трансген ўсимликда ТҒДНК кетма-кетликлари мавжудлигини тўлиқ исботлашда таҳлил қилишнинг қайси туридан фойдаланилади?

- A) полимераза занжир реакцияси (ПЗР таҳлили)
- B) ДНК блот-гибридизацияси
- C) селектив озуҳа муҳитига экиш
- D) антибиотиклар тутувчи озуҳа муҳитларида ўстириш
- E) А ва В жавоблар тўғри

8. Ўсимликлар геномига бегона генлар экспрессияси учун нимдан фойдаланилади?

А) CaMV 35S- РНК промотори

В)эукариот РНК полимераза

С)эукариот промоторлар

Д)думан промоторлардан фойдаланишнинг кераги йўқ

Е) барча жавоблар нотўғри

9. Ўсимликларда лизинга бўй оқсилларнинг синтез бўлиши ва озуқавийлик қийматининг оширилиши учун уларга қандай генларни киритилади?

А) проламин генларига қўшимча лизин кодонларини

В) проламин генларига қўшимча метионин кодонларини

С) лизин оқсилларини

Д) легуминларни

Е) тўғри жавоб берилмаган

10. Биотехнологик усуллар орқали буғдойнинг дон сифатини яхшилашга қандай эришиш мумкин?

А) такомиллаштирилган α -зеин генини киритиш

В) янги триплетлар киритиб оқилларнинг аминокислоталар таркибини ўзгартириш

С) юқори молекуляр глютенин оқсили суббирлигининг модификацияланган генини киритиш

Д) α -зеин гени кетмакетлигига лизиннинг қўшимча кодларини киритиш

Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

11. Фосфоенолпируваткарбоксилаза С4 генини клонлаш орқали қайси жараённинг фаоллигини ошириш мумкин?

А) заҳира оқиллари таркибини ўзгартириш

В) ёғ кислоталари таркибини яхшилаш

С) зараркунанда ҳашаротларга чидамлилиқни ошириш

Д) фотосинтетик фаоллиқни ошириш

Е) карбоксил гуруҳлар алмашинувини кучайтириш

12. Глицинбетаин синтезини катализловчи бетаинальдегиддигидрогеназа (BADH) гени ўсимликларнинг қайси хусусияти бўйича чидамлилигини оширади?
- А) юқори ҳарорат
 - В) қурғоқчилик
 - С) оғир металл тузлари
 - Д) тузнинг юқори концентрацияси
 - Е) паст ҳарорат
13. Фитопатогенларга чидамли тарнсген ўсимликлар олишда қандай генлардан фойдаланилади?
- А) хитиназа ва глюконазани кодирловчи генлар
 - В) пероксидаза, амилазани кодирловчи генлар
 - С) полимераза, лигаза генлари
 - Д) оксидоредуктаза, изомераза генлари
 - Е) бундай генлар мвжуд эмас
14. Гербицидларга чидамли ўсимликлар олиш қандай йўналишда олиб борилади?
- А) ўсимлик шакллари тўғридан-тўғри селекцияси
 - В) генларни кўчириб ўтказиш
 - С) генларни ажратиш олиш ва кўпайтириш
 - Д) молекуляр механизмини ўзгартириш
 - Е) А ва В жавоблар тўғри
15. Қайси генлар гербицидга чидамлиликини белгилайди?
- А) *pbcA*, *aroA*, *bar*
 - В) глифосат, сульфонилмочевина, биаллофос
 - С) атразин, симазин, диурон
 - Д) *nifA*, *nifD*, *nifE*
 - Е) А ва Д жавоблар тўғри

Фойдаланилган адабиётлар:

1. Рыбчин В.Н. Основы генной инженерии – СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999.
2. Пирузян Э.С. Основы генетической инженерии растений. / М.: Наука, 1986.
3. Сельскохозяйственная биотехнология. Сб. работ/Под ред. В.С.Щевелухи. Т.1. М: Воскресенье, 1998.
4. Сельскохозяйственная биотехнология. Сб. работ/Под ред. В.С.Щевелухи. Т.2-М: Воскресенье. 2003
5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. //Т. 1-2. М.: Мир 1998
6. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия. // Ч.1. Новосибирск: изд-во Новосибирского университета. 1994
7. Чемирис А.В., Ахунов Э.Д., Вахитов В.А. Секвенирование ДНК // М.: Наука 1999
8. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство /Под ред. Дж. Драйпера и др. – М.: Мир, 1991
9. Уотсон Д., Туз Дж, Курц Д. Рекомбинантные ДНК: Краткий курс М.: Мир, 1986.

V БОБ. ҲАЙВОНЛАРНИНГ ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ

Чорвачиликда биотехнология

Чорвачилик - наслчилиқ билан шуғулланадиган қишлоқ хўжалигининг бир тармоғи ҳисобланади. Чорвачилик аҳолини озиқ-овқат (сут, гўшт, чўққа ёғи, тухум ва бошқалар) билан таъминлайди; енгил саноат - хом ашё (жун, тери, туклар, гўшт, сут ва бошқалар); юк тортиш кучини беради (отлар, эшаклар, хачирлар, туялар, кийиклар); органик ўғит - гўнг; чорвачилик маҳсулотлари ва чиқиндиларидан озуқа (зардоб, гўшт ва суяк унлари, суяк унлари ва бошқалар), дорилар (доривор зардоблар, гормонал препаратлар ва бошқалар) олинади.

Чорвачилик биотехнологиясининг мақсади келажак мутахассисига чорвачиликни интенсивлаштириш, ноозиқ-овқат хомашёси ва ҳайвонларнинг чиқиндиларидан маҳсулот ишлаб чиқариш ва қайта ишлашнинг биотехнологик усуллари ва воситаларидан фойдаланиш ҳолати ва истикболлари тўғрисида ғоялар тўғрисида чуқур билимларни беришдан иборат.

Чорвачилик биотехнологиясининг вазифалари: 1) генетик трансформация; 2) бегона донор генларини ҳайвонларни қабул қилувчи хужайраларга ўтказиш; 3) янги ёки яхшиланган хусусиятлар ва хусусиятларга ега трансгенетик ҳайвонларни олиш; 4) ҳайвонларни клонлаш орқали кўпайтириш; 5) эмбрион трансплантацияси; 6) моноклонал антикорлар, интерферонлар, вакциналар ва бошқалар, шунингдек самарали озуқа дорилар ишлаб чиқариш; 7) ҳайвонларнинг чиқиндилари ва ёндош маҳсулотларини қайта ишлаш.

Микробиологик усулда озуқа оқсилли ишлаб чиқариш

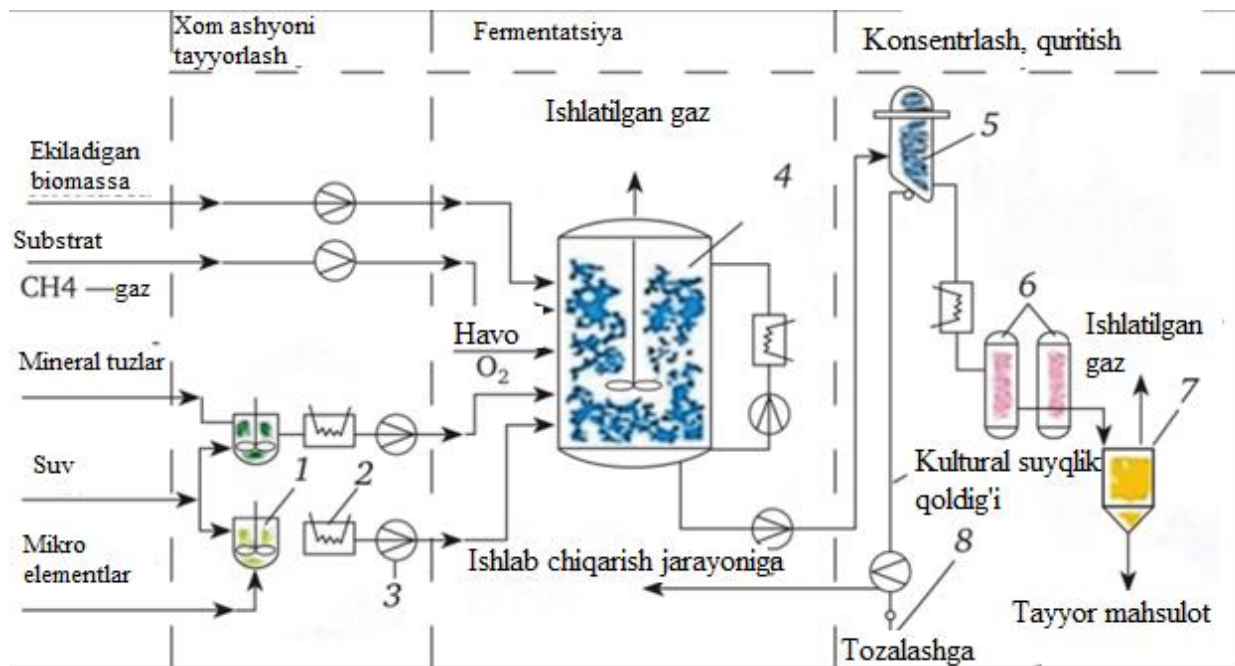
Рациондаги оқсил етишмовчилиги билан ҳайвонлар организмида чуқур салбий ўзгаришлар ривожланади: салбий азот баланси, гипопроteinемия, бузилишлари, коллоид-озмотик ва сув-туз алмашинуви, ҳар хил шаклдаги анемия, асаб, эндокрин ва юрак-қон томир тизимларининг бузилиши, метаболик ўзгаришлар, ўсишни тўхтатиш, чарчаш ва бошқалар. Айниқса оғир бузилишлар ёшлигида ривожланади. Бу нафақат озиқ-овқат таркибидаги оқсилнинг тўлиқ бўлмаслиги, балки шунингдек, уни танага етишмаслиги ёки паст сифатли оқсилни истеъмол қилиш билан боғлиқдир. Озуқа оқсилида барча аминокислоталар, айниқса, энг зарур бўлганлари бешта бўлиб, таркиби танадаги оқсилларнинг аминокислота таркибига яқин ва осон ошқозон-ичак тракти ҳазм қилинади.

БМТ ФАО маълумотларига кўра, глобал миқёсда озуқа оқсилининг етишмаслиги йилига тахминан 30 миллион тоннани ташкил этади. Ушбу вазиятни биотехнологик усулда тубдан ўзгартиртиришга эришиш мумкин.

Бундан ташқари, бактериялар, хамиртуруш, микроскопик сув ўтлари, микро ва макромицетлар оқсил ишлаб чиқарувчилар сифатида фойдаланиш мумкин. Микробиал синтез ёрдамида биомассани ишлаб чиқаришнинг (бошқа оқсил манбаларига қараганда) афзалликлари қуйидагилардан иборат:

- 1) биомасса юқори даражаси тўпланади, яъни унинг микдори ўсимликлар ёки ҳайвонларга қараганда 500 - 5000 баравар юқори бўлади;
- 2) микроб ҳужайралари кўп микдордаги оқсил (хамиртуруш - 60% гача, бактериялар - оғирлиги 75% гача) тўплай олади;
- 3) микробиал оқсилларни ишлаб чиқаришда кўп босқичлар талаб этилмайди;
- 4) биосинтез жараёни 30 - 45 ° С ҳароратда, pH 3 - 6 ва $\approx 0,1$ МПа босимдаги енгил шароитларда давом этади;
- 5) бу жараён қишлоқ хўжалиги маҳсулотларини олиш ва оқсилларни органик синтези билан таққослаганда кам меҳнат талаб қилади.

Микробиал оқсил синтези учун хомашё манбаларининг жуда хилма-хил турлари мавжуд. Микробиал оқсилни олиш учун углеводга бой, аммо арзон субстрат (нефт парафини, метанол, этанол, ўсимлик биомассаси, сут зардобини) ва бошқалар) ишлатилади.



Tabiiy gazdan oqsil ishlab chiqarishning odatiy sxemasi:

1 - аралаштиргич; 2 - issiqlik almashinuvchi; 3 - nasos; 4-bioreaktor;
5 - ajratkich; 6 - bug'lanishriш moslamasi; 7 - quritgich; 8 – biotozalash uchun
тайёр маҳсулот.

(https://studme.org/360794/tovarovedenie/biotehnologiya_polucheniya_mikrobiologicheskogo_belka_biogaza)

Озуқани силослашнинг биотехнологик жиҳатлари

*Силослаш (испанча silos – чуқур,ўра деган сўздан олинган) -
сут кислотасли бижгишга асосланган озуқани сақлашнинг
биологик усулидир.*

Ем-хашакни силослаш усуллари қуйидагича бўлади: 1) Совуқ усул - 25 - 35 ° С) ҳароратда амалга оширилади. (Бунда майдаланган силос қийиланган массани яхшилаб чуқур қазиб зич ҳолда жойлаштирилади ва ҳаво кирмаслиги учун изоляция қилинади. Силоснинг совуқ усули мамлакатимизда ҳамма жойида кенг тарқалган усул ҳисобланади.

.2) Иссиқ усул - 50 °С ҳароратда содир бўлади. Бундай ҳолда, озуқани зичлаштирмасдан боқичма-босқич жойлаштирилади, бу микробиологик жараёнларнинг тезроқ ривожланиши учун шароит яратади. Ушбу технология ёрдамида кўп қимматли озуқа моддаларининг катта миқдорда йўқотилиши юз беради.

Асосий консерваловчи восита сут кислотаси ҳисобланади. Микроорганизмларнинг углеводларни сут, сирка, пропион ва бошқа кислоталарга айлантириш қобилияти озуқага ўткир ўзига хос ҳидни беради. Ўсимликларда углеводлардан ташқари, моддалар алмашинуви жарёнларида ҳосил бўлган кислоталарни зарарсизлантирадиган ва боғлайдиган ва буфер вазифасини бажарадиган оксиллар, аминокислоталар, минерал тузлар учрайди.

Ўсимлик маҳсулотининг силосланиш даражаси **углеводнинг минимал миқдори билан белгиланади** - бу ўсимлик таркибидаги шакарнинг улуши

сут кислотасининг тўпланиши учун зарур бўлган миқдордаги, дастлабки хом ашёнинг муайн кислотали шароитда силоснинг рН қийматини 4.2 га алмаштиришни таъминлайди.

Ўсимликлар таркибида кўп миқдордаги углевод бўлса ҳам оксил етишмаслиги бўлса силос ҳаддан ташқари кислотали бўлиб чиқади ва ҳайвонлар уни яхши емайди. Силос массасидаги ортиқча намлик кўп миқдордаги суюқликнинг тўпланишига олиб келади ва майдаланган ўсимликлар ҳужайраларининг умри узаяди, бунинг учун уларда углерод, крахмалва оксил сарфланали. Ферментатик жараёнларнинг олдини олиш учун силос ем обориға тўшалади ва дарҳол ҳаво киришитан ҳимоя қилинади. Агар силослаш қоидаларига риоя қилинмаса, унга ёнма-ён микробиологик жараёнлар ривожлана бошлайди. Бу ҳароратнинг кўтарилишига олиб келади, оксиллар шакар билан ўзаро таъсир қилади; хидли моддалар ҳосил бўлади – изовалеоаниалдегид (жавдар нонининг хидига ўхшайди), фурфурал (олма хиди), оксиметилфурфурал (асал хид). Бундай овқатни ҳайвонлар тезда истеъмол қиладилар, чунки ароматик моддалар уларнинг иштаҳасини очади.

Аммо у ҳайвон танасининг нормал ишлаши учун зарур бўлган оксил, каротин ва бошқа озик моддаларига кам бўлади.

Фермент препаратлари ва ем-хашакни силослаш учун бактериал турушлар

Озуқани замонавий биотехнологик усуллари билан барқарорлаштириш ва биоконверсияси қилиш усули микроб ёки замбуруғлар асосидаги фермент препаратларидан фойдаланишга асосланади.

Ҳозирги вақтда кўплаб ферментлар, масалан, Пектафоедин ишлатилади. Ю10х, амилосубтилин Чўх. Тозаланган фермент препаратлари муайян меъёрга хом ашёнинг оғирлигига нисбатан 0,02 - 0,05%, тозаланмаганлари - 0,5 - 1% қўшилади. "Х" белгиси тозаланмаган ферментни англатади дастлабки тозалашсиз тайёргарлик. "Рақамлар" дастлабки нисбатан културага фермент фаоллиги даражасини тавсифлайди. "Ю" – юза ўстириш ҳосилини етиштириш ва "Ч" – чуқур ўстириш.

Силослаш жараёнини яшил массани сут кислотаси бактерияларининг махсус културалари (*Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. faecalis*, *Streptococcus lactis*, *L. brevis*) билан сунъий равишда бойитиш орқали бошқариш мумкин. Улар унда фаол равишда кўпаяди ва силоснинг пишиб етиш жараёнини тўғри йўналишда бошқаради. Шу мақсадда биомасса етиштирилади, кейинчалик у анабиотик ҳолатга ўтказилади. Якка културалардан ташқари, силослаш учун туруш сифатида култураларнинг аралшмаси – комплексидан ҳам фойдаланилади. Турушлар таркибига амилолитик ва целлюлоза фаоллиги бўлган бактериялар киритилиши керак. Кўпинча ферментлар ва бактериялар култураларини биргаликда қўлланилади.

Ўсимликларни сенажлашнинг биотехнологик жиҳатлари

Сенаж - бу олинган озуқанинг бир тури бўлиб, кўп йиллик ва бир йиллик ўтлар намлиги 40-55% гача қуришиб консервалан ҳисобланади.

Озуқанинг сақланиши кучсиз кислоталик туфайли эмас, балки анаэроб шароитда сақланиб қолган хомашёнинг физиологик қуруқлиги туфайли рўй беради. Сенажнинг рН - 4.4 -5.6 бўлади. Аминокислота таркиби жиҳатидан пичани яшил ўсимликларга яқин бўлади. Силос азот оксиди, олтингутурт диоксиди ва водород сулфидини ҳосил қилиши мумкин. Улар чириган ва бошқа бактерияларнинг ҳаётӣй фаолиятини тўхтатади ва шу билан силос сифатини яхшилаш, озуқавий моддаларни сақлашга ҳисса қўшади.

Чорвачиликда ҳужайра ва генетик муҳандислик

Эмбрионлар трансплантацияси

Биотехнология қорамолларни кўпайтириш ва селекциясида алоҳида аҳамиятга эга. Қорамоллар якка насли сутемизувчилардир. Битта сигирдан йилига энг яхши ҳолда битта бузоқ олиш мумкин. Бирок, унда тухумдонда

юз минглаб етилмаган жинсий хужайралар (ооцитлар) мавжуд. Улар улкан генетик захирани англатади.

Чорвачиликда махсулдорликни оширишда ноанъанавий усулларига ўтиш орқали тезлаштириш мумкин. Сўнги йилларда эмбрион трансплантацияси (кўчириб ўтказилиши) амалий аҳамиятга эга бўла бошлади. Ушбу усулдан фойдаланишда қорамол уруғни музлатилган ҳолатда узоқ муддат сақлаш билан биргаликда йилига битта ишлаб чиқарувчидан ўн минглаб наслларни олиш ва генетик жиҳатдан ноё урғочиларни ҳомила туғилиши ва наслни боқиш еҳтиёжидан озод қилиш мумкин. Усулнинг моҳияти шундаки, махсулдорликни ошириш учун урғочилар тухум хужайраларини ишлаб чиқариши учун стимуляция қилинади, кейинчалик улар эмбрионликнинг дастлабки босқичида йиғилиб, генетик жиҳатдан қимматли бўлган реципиентга кўчирилади.

Эмбрион трансплантацияси технологияси қуйидаги босқичларни ўз ичига олади:

Донорларни танлаш. Донор сигир сифатида потенциал насли буқаларнинг оналари танланади. Биринчи босқичда донорнинг наслчилик қиймати асосан, хусусияти сут йўналишидаги қорамолларнинг хусусиятлари - сут ишлаб чиқариш даражаси ва сут таркибидаги ёғнинг миқдорига қараб баҳоланади.

Иккинчи босқичда, танлов мақсадига қараб, (елин ва сўрғич шакли, сут оқими хусусиятлари, чидамлилиқ, суяк тизими бақувватлиги ва туёқлари ҳамда репродуктив қобилияти) хусусиятлари сони кенгайди. Бу учта болалаш даври учун барқарор репродуктив қобилиятини сақлаб қолган сигирларга эътибор берилади. Бундай сигирлар ҳар икки ойда мунтазам равишда эмбрионларни олиш мумкин. Барча донор сигирлар барча нохуш асоратлардан холи бўлиши керак (ўлик туғилиш, йўлдошнинг узоқ вақт сақланиб қолиши, туғруқдан кейинги жинсий аъзолар касалликлари).

Суперовуляцияни индукция қилиш-чақириш. Донорлар гуруҳига фақат гормонларни юборишга ижобий жавоб берган сигирлар ўтказилади. Кўп сонли овуляцияни рағбатлантириш (стимуляция қилиш) учун қуйидагиларни а) хомиладор байталларнинг зардобидан олинган гонадотропин(БЗГ) простагландинлар ва бошқа биологик фаол моддалар билан (БФА) биргаликда қўлланилади. Бир марта киритилиганда ушбу усул сигирларнинг тахминан 70 фоизда суперовуляцияни келтириб чиқаришга имкон беради; б) фолликулани стимуляция қилувчи гормон ФСГ ёки унинг лютеинловчи гормони (ЛГ) билан 5: 1 нисбатдаги аралашмаси. Бир неча марта юборилади.

Суперовуляциянинг оптимал натижаси тухумдондан 10 - 20 тухумнинг тухум йўлининг найига ажралиб чиқиши ҳисобланади. Эмбрионларни асл нусханинг танланган донор сигирларнинг потенциал ярмидан камидан олиш мумкин.

Энг яхши донорлар - бу такрорий суперовуляциядан сўнг, тухумдонларнинг яхши реакциясига эга бўлган ва бир ювишда кўчириш учун мос бўлган кўплаб эмбрионларни ишлаб чиқарадиган сигирлар.

Донорларни яхши физиологик ҳолатга келтирадиган тарзда боқилади. Донор сигирнинг рацион муҳим озиқ моддалар, айниқса аминокислоталар ва микроэлементлари таркиби билан мувозанатлашган бўлиши керак.

Донор сигирларни сунъий уруғлантириш. Бунинг учун фақат зурриёт сифати билан ишончли баҳоланган ажойиб насли буқалар спермаси ишлатилади.

Сигирлар икки марта уруғлантирилади: биринчи марта жинсий куюкиш пайдо бўлишининг бошида, иккинчиси - 12 - 24 соатдан кейин. Уруғлантириш кунидан бошлаб *in vitro* эмбрионларнинг ривожланишини ҳисоблаш бошланади.

Эмбрионларни ажратиб олишнинг учта усули мавжуд:

Донор сигирни сўйгандан кейин эмбрионни ажратиб олиш энг осон ва энг ишончли йўл бўлиб ҳисобланади. Ушбу усул фақат трансплантация усулини

ўзлаштиришнинг дастлабки босқичларида қўлланилган. Ҳозирги вақтда бу усулда генетик жиҳатдан қимматли донор сигирни йўқотиб қўйилиши сабабли ундан фойдаланилмайди.

Жарроҳлик усули - эмбрионлар биринчи сунъий уруғлантиришдан сўнг 7-8 кун ичида ажратиб олинади (юқори қин тешигини кесиб олиш, лапаротомия

кориннинг оқ чизиги ва оч чуқурча соҳасидаги лапаротомия). Ушбу усул кўп меҳнат талаб қиладиган, қиммат усул бўлиб, уни қайта-қайта ишлатиш мумкин эмас. Ҳозирги вақтда у камдан-кам ҳолларда, асосан илмий мақсадларда қўлланилади.

Ножарроҳлик усули. Афзаллиги манипуляциясининг қулайлиги. Бунинг учун махсус операция хонаси талаб этилайди. Эмбрионларни бевосита ишлаб чиқариш шароитида ажратиб олиш мумкин. Ушбу усулни тўғри қўллаш билан донорларнинг репродуктив қобиляти бузилмайди. Бу усулди донор сигирлардан бир нечта марта кўп сонли генетик жиҳатдан қимматли авлодлар олишда имкон беради.

Эмбрионлар маҳаллий анестезия усусли остида (5-8 марта) ювилиб олинади.

Манипуляция давомийлиги 20-50 минут бўлади. Эмбрионларни ювилгандан кейин бачадонга антибиотик эритмаси юборилади. Ўртача ювилган тухумларнинг 25% гача уруғланмаган ёки парчаланиб кетган бўлади.

Эмбрионларни қисқа муддатда ўстириш ва сақлаш.

Имплантациядан олдинги ривожланиш босқичларида эрта боқичдаги эмбрионлар билан манипуляция, яъни уни қабул қилувчи-реципиентнинг бачадон найларига киритилишидан олдин уларни ажратиб олиш ва реципиентга кўчириб ўтказиш вақти 1 соатдан 5 соатгача давом этади. Ушбу даврда уларнинг биологик хусусиятларининг сақлаб қолинишини таъминлаш учун мақбул шароитларни яратиш керак. Эмбрионларни қисқа муддатли сақлаш ҳам уларни бошқа фермер хўжаликларига етказиб бериш имконини беради.

Қорамол эмбрионларини бошқа урғочиларнинг куён каби сутемизувчи хайвонлар турлари тухум йўлларига ўтказиш орқали сақлаб қолиш мумкин. Ушбу усулнинг камчилиги зиготаларни ўтказиш пайтида кўп меҳнат талаб қилиши ва кўчириб ўтказиш босқичида мумкин бўлган йўқотилишлардир.

Ҳозирги вақтда эмбрионларни қисқа муддатли сақлашнинг кенг тарқалган усули *in vitro* ҳисобланади. Бундай ҳолда, ҳаётчан эмбрионлар ҳарорат 37 °C бўлган озуқа муҳитига ўтказилади. Озуқа муҳитга тузларнинг эритмалари, буфер воситаси сифатида бикарбонат иони билан боғланган аминокислоталар киради. Бу 7,2 - 7,6 оралиғида pH қиймати таъминлайди. Шу билан бирга, эмбрионларнинг биологик хусусиятлари 95 соатгача сақланиб қолади.

Эмбрионларни баҳолаш. У бир неча усул билан амалга оширилади: а) Морфологик усул - бу ҳолда асосий эътибор зигота шаклига, майдаланишнинг бир хиллигига ва бошқаларга қаратилади; б) мембраналар ва цитоплазманинг адсорбсион хусусиятларини ҳар бўёқлар (масалан, Еванс кўки) билан баҳолаш; с) Гистокимёвий усуллар - структуравий элементлар ва хужайра моддаларининг турли хил бўёқларига ўзига хос реакцияларига асосланган.

Трансплантация учун энг мос бўлган нарса, биринчи уруғлантиришдан 7-8 кун ўтгач, донор сигирнинг бачадонидан чиқариб олинган эмбрионлардир.

Эмбрионларни қабул қилувчил (реципиент) арга ўтказиш. Гинекологик жиҳатдан соғлом сигирлар одатдаги жинсий циклдан кейин олтитадан танланади; наслчилик учун самаралилиги ва насл-насаб хусусиятлари рол ўйнамайди. Эмбрионларни яхши ўстиришнинг асосий шарти - донорлар ва реципиентларда жинсий куюкиш намоён бўлишининг синхронизацияси.

Ҳозирги вақтда эмбрионни реципиентларга ўтказиш қуйидагича йўллар билан амалга оширилади

- Жарроҳлик усули - унинг самарадорлиги 60 - 70% ва битта донордан бузоқлар сони - 3 – 4 тагача. Ушбу усул асосан 70-йилларнинг ўрталарига қадар қўлланилган. Бироқ, бу юқори харажатлар талаб қилади ва уни ишлаб чиқариш шароитида қўллаш қийин бўлганлиги сабабли ҳамда жароҳатлар қолдирганлиги сабабли уни кўп марта ишлатиш мумкин эмас.
- Ножарроҳлик усули - оддий, тежамкор, реципиентдан кўп марта фойдаланиш мумкин. Эмбрионни жарроҳликсиз ўтказишнинг бир неча усуллари ишлаб чиқилган. Усул эмбрионни бачадон найига сервикс –бачайдон қини орқали киритишга асосланган. Эмбрионни қўллаш - 50 - 60% ни ташкид этади. Бачадон шохининг ҳар бирига биттадан иккита эмбрионни ўтказиш орқали трансплантация самарадорлиги оширилади. Бу икки марта болалашга имкон беради. Ҳар бир бачадон шохига эмбрионларни иккитасини кўчириб ўтказишда эгизакларнинг частотаси 55-60% ни ташкил қилади ва табиий йўл билан кўпинча у сигирларда - атиги 2% етади. Шунингдек, эмбрионни уруғланган сигирга ўтказиш ҳам мумкин. Бунда эмбрионнинг ёпишиши 50% ни ташкил қилади.

Эмбрионларни сақлаш.

Энг самарали усул (криоконсервация) суюқ азотда -196°C ҳароратда чуқур музлатишдир.

Узоқ муддатли сақлаш

Чуқур музлатилган эмбрионлар қуйидаги афзалликларга эга: а) трансплантация ҳар қандай вақтда, эмбрионни ажратиб олиш вақтидан қатъи назар, амалга оширилиши мумкин, шунинг учун катта реципиентларни сақлаб туришга ҳожат йўқ. Натижада трансплантация рентабеллиги оширилади; б) генетик жиҳатдан қимматли ҳайвонлардан эмбрибанкларни яратиш мумкин. Бу эмбрионларни ташиш пайтида ноёб ва йўқолиб кетиш хавфи остида бўлган наслларнинг генофондини сақлаб қолиш учун муҳимдир. Жарроҳлик бўлмаган трансплантацияда эмбрионнинг тирик қолиш даражаси 90% ни ташкил қилади, реципиент сигирларда эса ҳомиладорлик 50-55% ни ташкил қилади.

Эмбрионлар 50×6 мм найчаларда ёки 1 мл ампулаларда музлатилади. Уларга битта донордан 1 - 4 эмбрион ва 0,4 мл криопротектор эритмасидан қўйилади (масалан, 10% глицерин эритмаси). Кейин ампулалар газ горелкасида кавшарлаб қўйилади.

Иккита совутиш режими мавжуд: 1) Ампулалар ёки пробиркалар 20 дан -6°C гача дақиқасига 1°C тезликда совутиб, кристалланишни амалга оширилади дақиқадасига $0,3^{\circ}\text{C}$ тезликда совитилиб, суюқ азотга ботирилади.

2) Дақиқасига $0,3^{\circ}\text{C}$ бўлган тезликда -7 дан -35°C гача та совутиш ; дақиқасига $0,1^{\circ}\text{C}$ тезликда -35 дан -38°C гача совитилади ва суюқ азотга ботирилади

Эмбрионларни эритиш ҳарорати 25 ёки 37°C бўлган сув ҳаммомида 10 - 12 сония ичида амалга оширилади.

Ҳайвон танасидан ташқарида тухумларнинг уруғлантирилиши.

Уруғлантириш тизимининг ривожланиши ва сутэмизувчилар эмбрионларининг тирик организмдан ташқарида ривожланишининг дастлабки босқичларини таъминлаш (*in vitro*) насли ҳайвонлар самарадорликни ошириш учун бир қатор илмий муаммолар ва амалий масалаларни ҳал қилиш катта аҳамиятга эга.

Сутэмизувчи ооцитлар (тухум ҳужайралари) нинг экстракорпорал уруғлантирилиши қуйидагиларни босқичлар ўз ичига олади:

1. *in vitro* шароитида тухум ҳужайраларни етилтириш.
2. Сперматозоидлар каптацияси³.
3. *in vitro* витро уруғлантириш ва эмбрион ривожланишининг дастлабки босқичларини таъминлаш (КРС қорамолларга мисол).

Ооцитлар ҳайвонлар сўйилганидан кейин сигирлар тухумдонларидан олинади. Тухумдонлар 1,5 - 2 соат ичида лабораторияга термостатланган идишда етказиб берилади. У ерда улар янги фосфат буфери билан икки марта ювилади. Ооцитлар фолликулалардан сўриб олиш ёки тухумдонларни

пластинкаларга кесиб ташлаш йўли билан ажратиб олинади. Ооцитлар ТСМ 199 муҳитида йиғилиб, сигирнинг 10% қон зардоби қўшилади.

Сўнгги пайтларда ултратовуш аппарати ёки лапароскоп ёрдамида сигирларнинг тухумдонларидан ооцитларни *in vitro* учун тирик равишда чиқариш олиш усули ишлаб чиқилди. Бундай ҳолда, ооцитлар фолликуллардан сўриб олинади, уларнинг диаметри камида 2 мм, айна хайвондан ҳафтасига 1-2 марта олинади. Ҳар бир хайвондан ўртача 5-6 та ооцит бир марта олинади. *in vitro* да етиштириш учун ооцитларнинг 50% и мос келади.

Танланган ооцитлар 24 соат ичида 20% иссиқлик билан ишлов берилган қон зардоби, гранулоза хужайралари ва оз миқдордаги антибиотиклар (пенициллин, стрептомицин) қўшилган ТСМ 199 муҳитида етилади.

Сперматозоидларнинг капацитацияси.

Сперма уруғланишга қодир бўлишидан олдин, унда баъзи физиологик ўзгаришлар бўлиши керак. Ушбу жараён **капацитацияси** деб аталади.

Капацитация икки босқични ўз ичига олади: 1) сперма мембранасидаги ўзгаришлар (хусусий капацитация); 2) акросомал реакция.

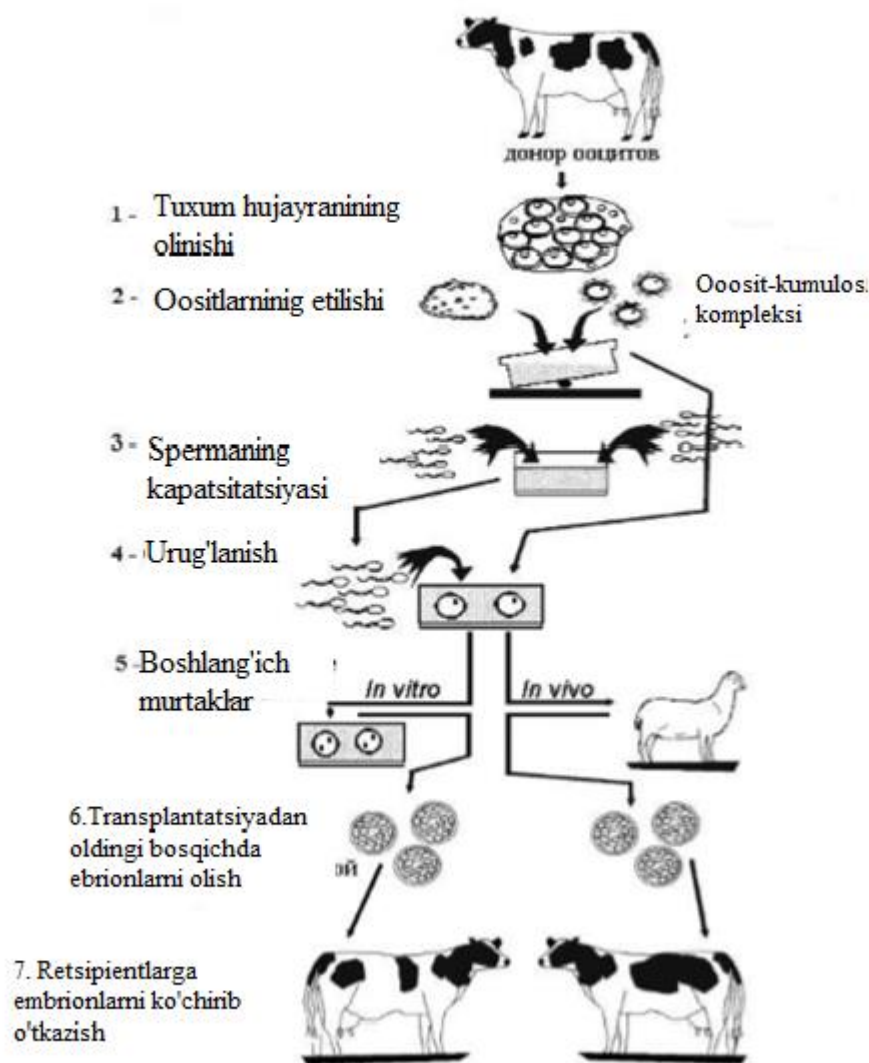
Сперматозоидларни капацитациялашнинг қуйидаги усуллари ишлаб чиқилган: юқори ион кучига эга муҳитлардан фойдаланиш; гликозаминогликан гепариндан фойдаланиш.

***in vitro* уруғлантириш ва эмбрион ривожланишининг дастлабки**

босқичларини таъминлаш

in vitro уруғлантириш модификацияланган Тироид озуқа муҳити томчисида амалга оширилади. *in vitro* етилган сўнг, ооцитлар атрофдаги кумулус хужайраларидан қисман тозаланади ва ҳар бири бешта ооцит бўлган микротомчи кўчириб ўтказилади. Сперматозоидларнинг 1,0 - 1,5 миллион / мл томчи сперма суспензияси концентрациясига эришиш учун ооцитлар бўлган муҳитга 2 - 5 мкл ҳажмдаги қўшилади. Уруғлантиришдан 44 - 48 соат ўтгач ооцитларининг майдаланишини аниқланади. Кейин эмбрионлар 5 кун

ичида кейинги ривожланиш учун эпителий хужайраларининг бир қатламига жойлаштирилади.



Ҳайвонларни клонлаш

Соматик хужайранинг ядроси организм тўғрисида тўлиқ генетик маълумотга эга бўлади. Агар ушбу маълумотни амалга ошириш учун шароит яратиладиган бўлса, унда маълум бир организмнинг чексиз кўп миқдордаги генетик нусхалари (клонларини олиш мумкин).

Бир хил эгизакларни олиш. Ушбу усул чорвачилик учун жуда муҳимдир.

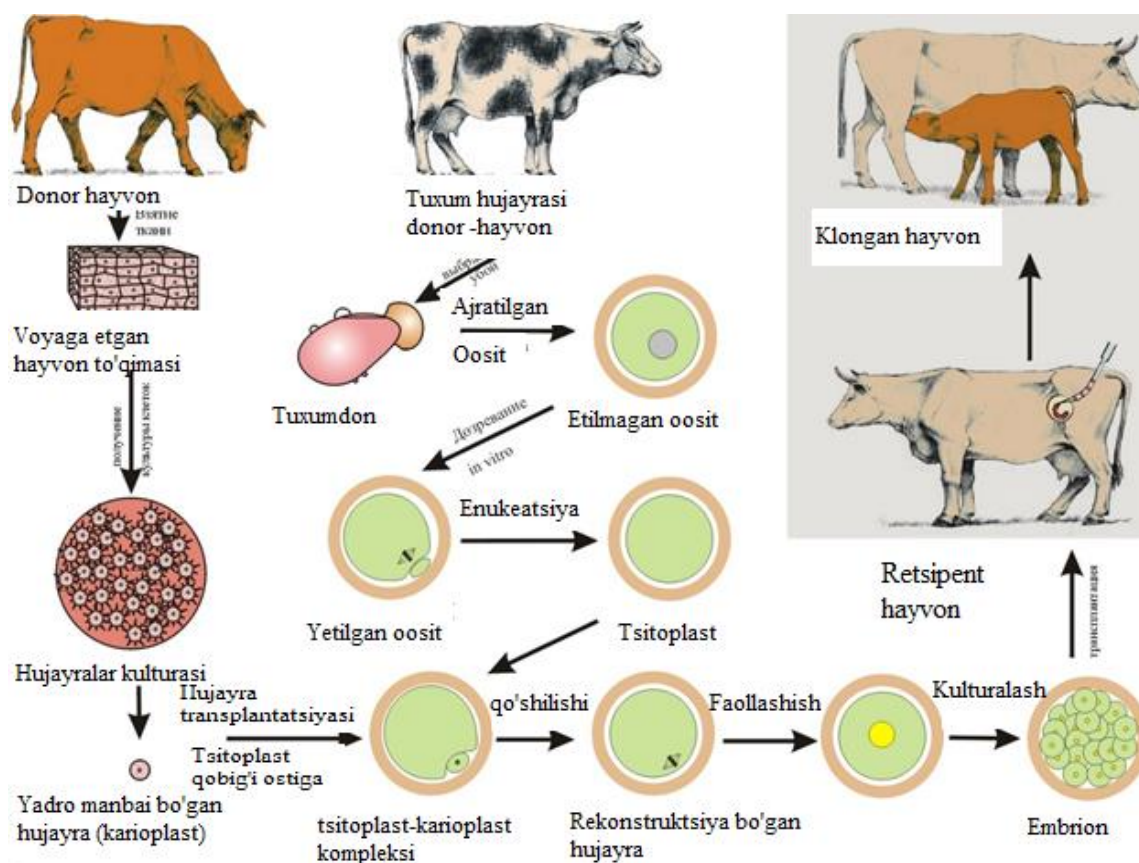
Шу билан бирга, битта донордан бузоқларнинг ҳосилдорлиги ошади ва генетик жиҳатдан бир хил эгизаклар пайдо бўлади. Бунинг учун ривожланишнинг дастлабки босқичида сутэмизувчилар эмбрионлари микрожарроҳлик йўли билан икки ёки ундан ортиқ қисмга бўлинади. Кейинчалик улар алоҳида организмга айланади. Ажратилган қорамол эмбрионларини музлатилган ҳолда сақлаш мумкин.

Эмбрион ҳужайраларининг ядроларини энуклеацияланган (ядросиз) тухум ҳужайраларга ўтказиш орқали эмбрионларни клонлаш. Қуйидаги босқичларни ўз ичига олади: бузилмаган донор ядросини ажратиш; ооцит энуклеацияси; ядроси энуклеацияланган тухум ҳужайрасига кўчириш; ооцитнинг фаоллашиши ва электр импулси таъсирида тухум ва ооцит мембраналарининг бирлашиши.

Ушбу технология битта эмбрион ҳужайрадан генетик жиҳатдан бир хил бўлган ҳайвонларнинг бир нечта нусхаларини (64 тагача) олишга имкон беради. Ушбу усул билан олинган эмбрионларни қайта клонлаш кўплаб клонларни ишлаб чиқаришдаги технологиянинг имкониятларини оширади.

Соматик ҳужайралар ядросини энуклеацияланган ооцитларга кўчириш орқали ҳайвонларни клонлаш - бу усул нафақат, бир хил ҳайвонларни балки донорлар соматик ҳужайралари генотип билан ҳам бир хил ҳайвонларни олишга имкон беради. Ушбу технология йўқолиб бораётган ҳайвонлар наслини сақлаб қолиш учун ишлатилиши мумкин

.



Расм. Кариопласт сифатида соматик ҳужайра ядроларидан фойдаланган ҳолда сутемизувчиларни клонлашнинг схематик диаграммаси. <https://cow-leech.ru/docs/index-3480.html>

Трансген ҳайвонларни олиш усуллари

Трансген ҳайвонлар - бу ўз танасининг барча ҳужайраларида хромосомалари билан бириккан қўшимча бегона ДНК (трансген) бўлган ўз ичига олган, тажрибалар асосида олинган ҳайвонлар.

"Трансгеноз" атамаси 1973 йилда баъзи организмлар генларининг бошқа турлар организмлари ҳужайраларига, шу жумладан эволюцияда олис бўлган ҳужайраларга ўтишини билдириш учун таклиф қилинган. Трансген ҳайвонларни ишлаб чиқариш клонланган генларни (ДНК) уруғланган тухум (зиготалар) ёки эмбрион муртаги (плюрипотент) ҳужайралари ядроларига ўтказиш йўли билан амалга оширилади. Сўнгра, ўзгартирилган зиготалар ёки тухумлар қабул қилувчи (реципиент) урғочининг репродуктив органларига

кўчирилади, уларда ўз ядроси ўзгартирилган эмбрион ўзак хужайралари ядроси ёки эмбрион ўзак хужайраларининг бегона ДНКси бўлган бластоцисталар (эмбрионлар) билан алмаштирилади.

Биринчи трансген ҳайвонлар 1974 йилда Кембрижда (АҚШ) Rudolph Jaenisch томонидан SV40.40 маймун вирусини ДНК сичқон эмбрионига кўчириб ўтказилиши натижасида олинган. 1980 йилда америкалик олим Жорж Гордон ва бошқалар трансген ҳайвонларни яратиш учун зиготанинг пронуклеусига (тухум хужайрасидаги ядро) ДНК микроинъекциясидан фойдаланишни таклиф қилишди. Айнан шу ёндашув трансген ҳайвонларни олиш технологиясидан кенг фойдаланишга асос яратади. Россияда биринчи трансген ҳайвонлар 1982 йилда пайдо бўлган. 1985 йилда зигота пронуклеусига микроинъекция ёрдамида АҚШда биринчи трансген фермер ҳайвонлар (куён, қўй, чўчка) олинган.

*Демак, ирсияти ўзгартирилган ҳайвонлар **трансген ҳайвонлар** деб аталади, уларни қуйидаги генетик муҳандислик усуллари ёрдамида геномига бегона генларни киритилиши натижасида олинади:*

Ген микроинъекцияси. Ҳайвонларда олдиндан гормонал билан инъекция қилиб, суперовуляцияни (кўп миқдорда тухум хужайраларни ишлаб чиқаришни стимуллаш) келтириб чиқарилади ва кейин уруғлантириш амалга оширилади. Кейин эмбрионлар пронуклеус боскичида жарроҳлик йўли билан ёки донорларни сўйиб бўлингандан кейин ажратиб олинади. Эмбрионларни микроинъекция қилиш учун барқарор иш столига микроскоп, ушлаб туриладиган ва бошқариладиган иккита микроманипулятор, инъекция пипеткалари ва инъекция босимини тартибга солиш учун мослама ўрнатилади.

Микроскоп столи устида парафин билан қопланган озуқа муҳити бўлган инъекция камераси ўрнатилади. Эмбрионларни озуқа муҳитда солинади. Эмбрионлар инъекцияси учун эҳтиёжга кўра паст босим остида уларни пипеткада шундай ушлаб туриладики, инъекция қилинадиган

пронуклеус аниқ билиниб турадиган бўлиши керак. Инъекция пипетки учини (ички диаметри тахминан 1 мм) ДНК эритмаси билан тўлдирилади. Операциянинг аниқлиги пронуклеуснинг бўртиши билан баҳоланади. Инъекциядан кейин ушлаб турувчи пипеткадан эмбрионлар бўшатилади ва реципиентга ўтказилгунга қадар (трансплантациягача) ўстирилади (култивация қилинади).

Сичқон ва қуёнларнинг уруғланган тухумларида пронуклеуслар аниқ кўринади ва уларни инъекция қилиш осон. Қишлоқ хўжалиги ҳайвонлари эмбрионлари цитоплазмасида тўқ рангда кўринадиган липидларни ўз ичига олган доначалар мавжуд. Улар пронуклеусларни кўришни қийинлаштиради. Шунинг учун олдиндан центрифугалаш амалга оширилади. Бундай ҳолда, гранулалар тухум хужайранинг бир қутбига ўтиб, пронуклеуслар кўринадиган бўлиб, микроинъекция учун яроқли. Кейин эмбрионлар *in vitro* да (бир неча соатгача) ўстирилади ва жарроҳлик йўли билан синхронланган қабул қилувчилар (реципиентлар) нинг тухум йўлларида кўчирилади.

Трансген ҳайвонлар линиясини олишда баъзи жинсий хужайраларида трансгенни бўлган трансген ҳайвонлар олиш муҳим роль ўйнайди. Баъзан мозаик кўринишдаги - икки ёки ундан ортиқ хужайра линиясидан иборат ҳайвонлар, битта зиготадан келиб чиққан, аммо турли хил генотипларга эга ҳайвонлар ҳам келиб чиқиш эҳтимоли бўлади. Мозаикаларнинг баъзилари шундай трансген линияларни келтириб чиқара олмайди, чунки уларда трансгенни ирсият бўйича берилиши имконияти мавжуд эмас. Геномига трансген киритилган битта трансген ҳайвонни олиш ва у трансген насл бериши учун эмбрионларнинг ҳайвонларга трансплантациясидан сўнг 100 дан кам ҳомиладорликни ўтказилиш лозим бўлади. Йирик уй ҳайвонларида микроинъекцияларнинг самарадорлиги жуда паст бўлади.

Трансфекция қилинган ядроларнинг трансплантацияси. Бундай ҳолда, трансген интеграция асосида танлаб олинган хужайра ядроларидан фойдаланилади, яъни фақат трансген эмбрионлар кўчирилади. Шунинг учун

хар қандай янги туғилган организм трансген бўлади. Трансген эмбрионларни кейинги танлаш талаб қилинмайди.

Экзоген ДНК учун вектор сифатида сперматозоидлардан фойдаланиш.

Бунда сперма битта эркакдан олиниб, айна ўша ёки бошқа тур эркак мойжларига кўчирилиши мумкин. Ўша ерда улар функционал бўлади.

Барча мавжуд генларни кўчириб ўтказиш усуллари (трансгенез) ҳали жуда самарали эмас. Битта трансген ҳайвонни олиш учун ўртача сичқонда 40 зигота, эчкида 90 зигота, чўчқанинг 100 зиготаси, қўйнинг 110 зигота ва сизирнинг 1600 зиготасини ДНК микроинъекция қилиш керак бўлади.

Трансгенез билан кутилмаган муаммолар пайдо бўлиши мумкин. Ҳайвонларнинг генетик трансформацияси бўйича биринчи ишлардан бири ўсиш гормони генларини киритиш орқали амалга оширилган. Сичқонча ўсиш гормони генини сичқонларга кўчириш сичқонларнинг ўсишини 2 баравар оширган. Сизирларнинг ўсиш гормони генларини қўёнларга трансгенези бўйича тажрибалар ҳам муваффақиятли якунланган. Аммо қорамолларни модификациялаш бўйича шунга ўхшаш тажрибалар уларнинг маҳсулдорлигини атиги 10-20% га оширишга олиб келди.

Трансген ҳайвонларни яратиш технологияси сўнгги 10 йил ичида энг жадал ривожланаётган биотехнологиялардан биридир. Трансген ҳайвонлар кўплаб назарий муаммоларни ҳал қилиш учун ҳам, биомедицина ва қишлоқ хўжалигида амалий мақсадларда ҳам кенг қўлланилади.

Ҳозиргача сутида одам лактоферрин оксилени сақловчи олган трансген сизирлар ва эчкиларни олишга эришилган.

Американинг Genzyme Transgenics.корпорацияси сут таркибида одам албуминини ўз ичига олган трансген қорамолларни яратиш бўйича тадқиқотлар олиб бормоқда. Албумин қонда озмотик босимни ушлаб туриш учун терапияда қўлланилади. Genzyme Transgenics одам ўсиш гормони ва β интерферонини ишлаб чиқариш каби тадқиқот усуллари ишлаб чиқиш борасида ҳам изланмоқда.

Англияда сутида қоннинг ивиш омилини сақловчи олган трансген кўйлар яратилган.

Россияда соматотропин гени бўйича трансген чўчқалар олинган. Улар оддий ҳайвонлардан ўсиш суръатлари билан фарқ қилмаган, аммо метаболизмнинг ўзгариши ёғ таркибига таъсир кўрсатган. Бундай трансген чўчқалар гормоннинг биокимёвий ўзгариши занжирини ўрганиш учун яратилган ва унинг ёндош таъсири иммунитет тизимини мустаҳкамлашга қаратилган.

Сўнгги вақтларда одамнинг турли касалликлари (саратон, атеросклероз, семириш ва бошқалар) моделлаштира оладиган кўплаб трансген ҳайвонлар олишга эришилган.

Амалий мақсадлар учун трансген ҳайвонлар турли хил хорижий компаниялар томонидан турли хил тиббий препаратлар (антибиотиклар, қон ивиш омиллари ва бошқаларни) ишлаб чиқаришни таъминлайдиган тижорат биореакторлари сифатида ишлатилади. Бундан ташқари, янги генларнинг кўчириб ўтказиш самарадорлиги ошганлиги (масалан, кўйларда жун ўсишининг кўпайиши, чўчқаларда ёғ тўқималарининг камайиши, сут хусусиятларининг ўзгариши) ёки турли касалликлар - вируслар ва бошқа патогенлар чидамлилиги билан ажралиб турадиган трансген ҳайвонларни олиш имконини беради.. Ҳозирги вақтда инсоният трансгеник ҳайвонлар ёрдамида олинган кўплаб маҳсулотлардан: дорилар, органлар, озиқ-овқат маҳсулотларидан аллақачон фойдаланиб келмоқда.

Ўз-ўзини назорат қилиш учун саволлар

- 1) Ҳайвонлар биотехнологиясининг мақсади ва вазифаларини нималардан иборат?
- 2) Ҳайвон рационидида оқсил етишмаслиги ёки умуман йўқлиги қандай оқибатларга олиб келади?
- 3) Микробиял синтез орқали биомасса ҳосил бўлишининг афзалликларини санаб ўтинг.
- 4) Оқсил продуцентларига нималар киради.

- 5) Протеин биомассасини ишлаб чиқариш учун хом ашё нимадан олинади?
- 6) Озуқа биомассасини олиш учун экиш материални ўстириш технологияси нималардан иборат?
- 7) Озуқа биомассасини ишлаб чиқариш технологик схемасининг асосий босқичи (ферментация босқичи) ва кейинги босқичларини айтиб беринг.
- 8) Силослаш нима?
- 9) Ем-хашакни силослаш усуллари қандай?
- 10) Силоснинг сифатига қандай омиллар таъсир қилади?
- 11) Силос микрофлорасини ташкил етувчи микроорганизмларнинг асосий гуруҳларини санаб беринг. Уларнинг вазифалари нимадан иборат?
- 12) Силос массасида микрофлоранинг ривожланишига қараб силослаш фазаларини тавсифланг.
- 13) Яшил массани силослаш жараёнида қандай кимёвий жараёнлар содир бўлади?
- 14) Сенаж нима?
- 15) Сенаж пайтида қандай микробиологик ва биокимёвий жараёнлар содир бўлади?
- 16) Сенаж пайтида озуқа хавфсизлигини белгиловчи асосий омиллар қандай
- 17) Силос ва сенаждаги рН қиймати қандай?
- 18) Эмбрион трансплантациясининг чорвачилик учун аҳамияти.
- 19) Эмбрион трансплантацияси технологиясининг асосий босқичларини санаб ўтинг.
- 20) Донор сигирларга ва реципиент сигирларга қўйиладиган талаблар нималардан иборат?.
- 21) Донор сигирларни суперовуляцияси ва сунъий уруғлантиришни қўзғатиш усуллариға нималар киради?.
- 22) Эмбрионларни ажратиб олиш усуллари қандай?
- 23) Эмбрионларни баҳолаш.
- 24) Эмбрионларни реципиентларга ўтказиш усуллари нималардан иборат?

- 25) Эмбрионларни сақлаш қандай?
- 26) Сутемизувчилар ооцитларини экстракорпорал уруғлантириш технологияси қандай амалга оширилади?.
- 27) Турлараро эмбрионларни кўчирилиши ва қандай амалга оширилади?
- 28) Ҳайвонларни клонлаш усуллари нималардан иборат?
- 29) Қайси ҳайвонлар трансген дейилади?
- 30) Трансген ҳайвонларни олиш усуллари вандай?

Адабиётлар

1. Биотехнология в животноводстве: учебно-методическое пособие для практических занятий для студентов I курса направления подготовки 36.04.02 зоотехния / Сост.: Е.А. Фауст // ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – Саратов, 2015. – 64 с.
2. Фаритов, Т.А. Корма и кормовые добавки для животных: учебное пособие / Т.А. Фаритов. – СПб.: Лань, 2010. – 304 с. – ISBN 978-5-8114-1026-2 13 2. Фасинин, В.И. Кормление сельскохозяйственной птицы: учебник / В.И. Фасинин, И.А. Егоров, И.Ф. Драганов. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2011. – 344 с. – ISBN 978-5-9704-1996-0
3. Мотовилов, К.Я. Экспертиза кормов и кормовых добавок: учебно-справочное пособие / К.Я. Мотовилов, А.П. Булато, В.М. Позняковский. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. – 336 с.
4. Современная биотехнология в ветеринарной медицине / Шишков В.Н. и др. – М., 1988. – 56 с.
5. Тутов, И.К. Основы биотехнологии ветеринарных препаратов: учебное пособие / И.К. Тутов, В.И. Ситьков. – Ставрополь, 1997. – 253 с.
6. Цыренов, В.Ж. Основы биотехнологии: культивирование клеток человека и животных. 63 Учебно-методическое пособие / В.Ж. Цыренов. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2005. – 48 с. 15.
7. Шевелуха, В.С. Сельскохозяйственная биотехнология / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашникова, Е.С. Воронин – М.: Высшая школа, 2003. – 469 с

VII боб. Ўсимликларнинг хужайра муҳандислиги

Хужайра муҳандислиги - бу хужайралар асосида янги турдаги хужайраларни яратиш дурагайлаш, реконструкция қилиш ва етиштириш. У турли хужайраларнинг алоҳида бўлақларини бирлаштириб янги турларга мансубяхли яшовчан хужайраларни реконструкция қилиш, хужайрани қайта қуришни ўз ичига олиб, ҳар, иккала хужайранинг генетик материалини ташувчи хужайраларни шаклланиши билан ва бошқа муолажаларни ўз ичига олган биотехнология муҳандислик бўлиб, ўсимликларнинг янги шакллари яратиш борасидаги назарий муаммоларни ҳал қилиш учун ишлатилаган асосий усулларида биридир.

Ўсимликлар хужайралари муҳандислиги ажратилган хужайралар, тўқималар, протопластлар културасидан фойдаланишга асосланган. Ўсимликшуносликда ушбу технологиялардан фойдаланишнинг бир неча йўналишлари мавжуд.

Ўсимлик хужайраларини *in vitro* да етиштириш муайян тизимли бошқариладиган селектив шароитларда равишда ўстирилган хужайраларни интенсив танлаш имконини яратади.

Хужайралар културасини ва хужайрани технологияларини қўллашнинг асосий йўналиши - хужайралар муҳандислиги биосунъий органлар ва тўқималарни ишлаб чиқаришга хизмат қилади. Ҳозирда тўпланган фундаментал билимларга асослаиб ўсимликларнинг хужайра култураси технологияси саноат кўламида қўллаш йўлга қўйилган.

Ўсимлик хужайралари ва ўсимлик тўқималарининг култураси протопластлар ва хужайралардан яхлит ўсимликни қайта тиклаш имкон беради. Ўсимликларнинг хужайра културасининг асосий хусусияти уларнинг **тотипотентлик** қобилиятидир, яъни, муйян бир муҳит ва маълум шароитларда битта хужайрадан яхлит ўсимликни қайта тиклашдир.

Ушбу технология нисбатан қисқа вақт ичида бошқариладиган шароитда хужайраларнинг кўп сонли популяциясини имконини таъминлайди олиш муддати ва юқори биологик фаолликка эга ўсимлик линияларини аниқлашга имкон беради.

Ҳаёт мавжудлигининг асосий шакли бу хужайра бўлиб, бир хужайрали ва кўп хужайрали орагизмлар барча физиологик жараёнлар унда кечади. Организмларнинг ўсиши ва кўпайиши янги пайдо бўлиши ҳам хужайралар билан боғлиқ. Хужайранинг ўсишни ва ривожланишини таъминлайдиган биокимёвий жараёнлар тўплами моддалар алмашинуви ёки метаболизм деб аталади. Ҳар бир хужайра маълум бир босқичда бўлинади ва иккита қиз хужайра туғилади. Хужайраларнинг шакли, ҳажми хилма-хилдир ва функциялари ҳамда ихтисослашиши (дифференцияцияси) даражаси жиҳатидан фарқланади.

Хужайра ҳаётнинг бошланғич бирлиги: метаболизм ва кўпайишни таъминлаш учун зарур у ҳамма нарсани ўз ичига олади

Хужайранинг бўлиниши иккита асосий босқичдан иборат: ядро бўлиниши – митоз (кариокинез) ва цитоплазманинг бўлиниши (цитокинез).

Ўсимликнинг барча паренхимал хужайралари, қайси тўқималарда жойлашган бўлмасин унда зигота (муртак)га хос генларнинг тўлиқ тўплами мавжуд. Аммо ҳар бир тўқимада фақат ушбу турдаги хужайралар дифференциацияси билан боғлиқ бўлган генларнинг бир қисми ишлайди. Баъзи генлар масалан, АТФ, нафас олиш, мембрана ўтказувчанлиги синтезини бошқарувчи генлар тананинг барча хужайраларида, бошқалари - фақат муайян бир ихтисослашган хужайраларда ишлайди. Ҳар ихтисослашган хужайра ўзига хос фаол генлар тўплами билан тавсифланади. Хужайра қанча ихтисолашган бўлса у шунчалик кам фаол генларга эга бўлади. Турли хил генлар нафақат турли хил хужайраларда, балки ҳар хил вақтда, организм ривожланишининг турли хил даврида ишлайди. Айни турдаги бир хил тўқималарнинг хужайраларида организм ривожланишининг турли босқичларида фаоллар генлар тўплами узлуксиз ўзгариб туради. Баъзи генлар баъзи оксиллар и-РНКларини синтез қилишга киришса, бошқалари бу вазифадан четлатилади. Бир хил эмбрион хужайралардан ривожланиш жараёнида морфологик хусусиятлари ва функциялари бўйича хужайраларнинг ҳар хил турлари ҳосил бўлиши тўқималар ва органлар **дифференциацияси** дейилади. Дифференциация марказида ген фаоллиги бўйича фарқ қиладиган тўқималарнинг дифференцияси ётади. Онтогенетиканинг асосий муаммоси - белгининг шаклланишида ген таъсирини таҳлил қилиш ва ген-белги занжирида оралиқ алоқаларни ўрнатишдир.

Тухум хужайра цитоплазма турли қисмларининг сифатидаги фарқни белгиловчи генлар назорати остида етилиб, биринчи бўлинишдаги маҳсулотларининг нотекис тақсимланиши ва кейинчалик хужайраларнинг кўпайиш билан - тўқималарнинг фарқланишига олиб келади. Кейин эмбрионал **индукция** жараёни келади - муртакнинг баъзи тўқималарининг бошқаларга таъсири. Бу таъсир янги генларнинг фаоллашувида ифодаланади. Тахмин қилинишиса, илгари ҳосил бўлган тўқима хужайралари бошқа тўқималарнинг дифференциялланишини учун зарур бўлган генларни фаоллаштира оладиган моддаларни чиқаради – **тўқималар индукцияси**.

Гормонал регуляция - генларнинг фаоллашиши энг яхши ўрганилган механизм. Гормонлар тўғридан-тўғри генларга таъсир қилиши мумкин ёки баъзи цитоплазмада баъзи бир ўзига хос моддаларнинг пайдо бўлишига олиб келиб, кейин генларни назорат қилиши мумкин. Баъзи гормонлар жуда мураккаб оксиллардир; бошқалари - қисқа занжирли полипептидлар; бошқалар аминокислоталарнинг оддий ҳосилалари. Гормонлар хужайрага кириб, гистон-ДНК комплексига таъсир қиладди ва индивидуал локусларни фаоллаштиради.

Гомеобокс генлари тўқималарни дифференциациялашда алоҳида рол ўйнаб, уларнинг гуруҳларида бир хил "гомеобокс" элементлари мавжуд. Улар гормонал тартибга солувчи моддалар учун манзил бўлиб хизмат қилиб, бир вақтнинг ўзида генларнинг бутун оиласини фаоллашиши ёки репрессиясини белгилайди. Шундай қилиб, ўсимлик хужайраси жуда микроскопик ва субмикроскопик ўзига хос хусусияти мураккаб тузилмадир, ўзига хос томони

юқори даражадаги **динамизми** - шароит таъсирида табиий равишда ўзгартириш қобилияти мавжудлигидир.

Ҳужайра биотехнологияси ҳужайраларнинг *in vitro* шароитида яшаши ва кўпайиш қобилиятига, уларнинг тотипотенсияси ва қайта тикланиши (регенерацияси) га асосланган. Ажратилган тўқималар културасини сунъий равишда стерил шароитда (*in vitro*) да озуқа муҳитида етиштириш усулини қимматли генотипларни сақлаш ва кўпайтириш учун ўсимликларни етиштириш, эмбриогенезда, экиш материални соғломлаштириш, иккиламчи метаболизм маҳсулотларини олиш учун, ўсимликларнинг абиотик ва биотик атроф-муҳит омилларига чидамли шакллари яратишда қўлланилади.

Йўналишлари ва босқичлари

Биотехнологияда н изоляция қилинган ҳужайралар ва тўқималар кўлтурасининг ўрни қуйидагича уч йўналишда кўриб чиқилади.

Биринчи йўналиш ажратилган ўсимлик ҳужайраларининг дори-дармон алкалоидлар, стероидлар, гликозидлар, парфюмерия учун косметика ва бошқа соҳаларда гормонлар, эфир мойлари ва бошқалар каби иккиламчи синтез моддалар ишлаб чиқариш қобилияти билан боғлиқ.

Одатда, иккиламчи моддалар қаттиқ (агар) ёки суюқ (културалар суспензияси) озуқа муҳитида ўстирилган каллус тўқимасидан олинади.

Ҳужайра технологиялари асосида асосида қуйидаги: диоскореа ҳужайраларидан диосгенин, рауолфия илон ҳужайраларидан аимолин, тиббиётда ишлатиладиган женшен ҳужайраларидан қувватни оширувчи моддалар ва парфюмерия маҳсулотлари ва дорилар олинади. Ҳужайралар културасини ўстириш асосида ҳосил олинган ҳўжайралар иккиламчи метаболитлар синтези жиҳатидан табиий ўсимликларга нисбатан маҳсулдорлиги билан ажралиб туради ва бутун йил давомида маҳсулот ажратиш олиш имконини беради.

Ажратилган тўқима култураларидан фойдаланишнинг иккинчи йўналиши экиш материални соғломлаштириш ва кўпайтириш бўлиб ҳисобланади. Уни ўсимликларни клонал микрокўпайтириш деб ҳам номланиб, битта меристема тўқимасидан бир йилда бир неча юз минглаб ўсимлик етиштириш имконини беради.

Учинчи йўналиш – ўсимликлар селекциясида ажратилган ҳужайралардан фойдаланиш йўли билан нисбатан тез ўсадиган, қурғоқчилик, шўрланиш даражаси, паст ва юқори ҳарорат, фитопатогенлар, оғир металллар ўсимликларни, атроф муҳитнинг турли хил салбий омилларига чидамли ўсимликларни олишга ва етиштириш имкон беради. Шу билан бирга, ушбу йўналиш ажратилган протопластларни қўшиш ва жинссиз бўлмаган (соматик) дурагайлар орқали янги ўсимликларни яратишга қаратилган. Ген муҳандислик усуллари ёрдамида бегона генларни ажратилган бегона протопластларга киритиш келажақда янги ирсий хусусиятларига эга бўлган. ўсимликларни олиш имконини беради. Сунъий озуқа воситаларида ажратилган чангчилар ва уруғмуртакларни ўстириш гаплоидлар ўсимликларни олиш, муртакларни ўстириш эса унувчанлиги паст (эндосперми яхши ривожланмаган) гибрид ўсимликларни олишга шароит

яратиб беради. Пробиркада уруғлантириш эса баъзи ўсимликларнинг чапишмаслигини енгил имконини беради.

Ўсимликларнинг изоляция қилинган хужайра култураси усулининг асосчиси Г. Хаберландт ҳисобланади (G. Haberlandt, 1902). У *in vitro* шароитида ўсимлик хужайралари културасини концепциясини таклиф қилган, унга кўра ўсимлик хужайраларини таркибида минерал тузлар ва органик қўшимчаларнинг эритмаси бўлган сунъий озуқа муҳитида узоқ вақт давомида ўстириш мумкин (Г. Хаберландт Кноп еритмаси, глюкоза ва пептондан фойдаланган).

У изоляция қилинган хужайралар културада бир неча ҳафта давомида яшаб, крахмални синтез қилиш иқобилиятига эга эканлигини кўрсатиб берди. Аммо у тажрибаларида хужайраларнинг бўлинишига эриша олмади ва уларнинг дифференциаллашган ҳолатини ўзгартира олмади. Ҳозирги вақтга келиб, бу Г. Хаберландтнинг муваффақиятсизликлари сабабларини тушунтириш осон. Асосийси тадқиқот учун материал танлашдир: меристематик фаоллиги минимал бўлган юқори даражада дифференциаллашган хужайраларни ҳатто оптимал концентрацияларда ўсиш регуляторлари билан бойитилган замонавий мураккаб озуқавий воситалардан фойдаланиб ҳам бўлинишга мажбур қилиш жуда қийин,

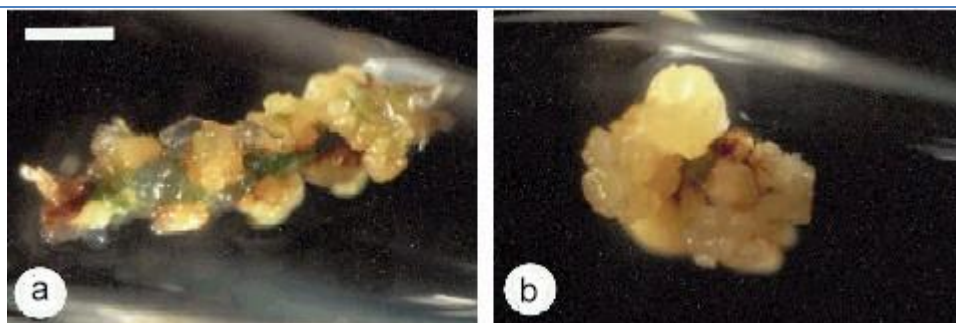
Е. Ханнигу (1904), тузлар ва сахароза эритмасида етилмаган турп (*Raphanus sativus*, *Raphanus landra*, *Raphanus caudatus*, *xpen Cochlearia donica*) муртакларини ўстириб, етук ҳолатгача келтиришга муваффақ бўлди. Кейинчалик Ф.Лайбах (F. Laibach, 1925., 1929) *in vitro* културалашнинг ўсимликларнинг генетик узоқ турларини дурагайлаш учун зигот давридаги эмбрионларнинг катта амалий аҳамиятини намоён этди.

1934 йилда PR WHITE (Rockefeller Institute, Princeton, NY) помидор илдизи учлари ва меристемаларини (*Lycopersicon esculentum*) сув сув остида етиштиришда эришди. Ажратилган илдизлар културасини ўстириш услубини такомиллаштиришга катта ҳисса қўшди. У минерал тузлар таркибини ўзгартириб, углеводлар манбаи сифатида ишлатиладиган сахароза, ачитки экстракти ўрнига у учта витамин аралашмасини таклиф қилди: тиамин, пиридоксин ва никотин кислотаси. Вақт ўтиши билан Уайт ақлф этган озуқа муҳити ўсимлик хужайралари културасини ўрганишнинг асосий объектларидан бирига айланди ва ҳозирги кунгача ишлатилади.

Р. Готре (1934), (R. Gautheret, 1934), Ф. Уайт (P. White, 1939) ва П. Нобекура (P. Nobecourt, 1939) тадқиқотлари ўсимликлар хужайраларини култураси усулларини такомиллаштиришнинг муҳим босқичлари бўлди. Готре томонидан каллус тўқимасини олишга муваффақ бўлинган. Готреннинг соҳага қўшган ҳиссаси яна шундан иборатки, у индолил сирка кислотаси фитогормонини қўшиш орқали каллус тўқимаси пролиферацияси¹³ ни қўллаб туриш мумкинлигини исботлаб берди.

¹³ **Proliferatsiya** ([lotincha](#) *proles* - nasl, nasl va *fero* - olib yuraman) - [bo'linish](#) yo'li bilan [hujayralarni ko'paytirish orqali tana to'qimalarining ko'payishi](#) .

Каллус – лотинча, “қадоқ” қўзидан олинган бўлиб, ўсимликларда табиий ҳолда жароҳатланган жойда ҳосил бўладиган фаол бўлинадиган нодифференциаллашган тартибсиз бўлинадиган ҳужайралар тўпламидан иборат, каллус ҳосил бўлиши жароҳатнинг битишига сабаб бўлди.



Cymbidium ensifolium илдиз қисмларидан олинган каллус тўқимаси экплантлари C. CHANG and W. C. CHANG, 1998 - Plant Cell Reports, **17**, 251-255 (1998) - © Springer-Verlag

		
Г. Габерландт	Ф. Уайт	Р. Готрэ

<https://lifelib.info/microbiology/biosafety/2.html>

Фитогормонларнинг яна бир муҳим гуруҳи цитокининларнинг кашф этилиши билан каллус културасида органогенез, яъни бир тотипотент ҳужайрадан етук ўсимли етиштириш имконияти пайдо бўди. АҚШ нинг Вискон университети Ботаника бўлими ходимлари Ф. Скуг и Ч. Цуи (F. Skoog, 1944; F. Skoog, C. Tsui, 1951) аденин ҳужайралар бўлинишини стимуллаб, ауксин берилган озуқа муҳитида тамаки ўсимлиги тўқималар културасида куртак ҳосил бўлишининг бошланиши (индуцирланиши) қайд этилган бўлиб, одатда ауксин куртак ҳосил бўлишининг ингибори-тўхтатиб кўйувчиси сифатидаги функцияга эга деб топилган эди.

1951 йилда К. Миллер тадқиқотларини Ф. Скуг лабораториясида бошлади. К. Миллер қизғин изланишлар давомида, аввал ачитқи экстрактидан, сўнгра Селд сперма ДНК си препаратлардан *in vitro* да тамаки поясида куртак шаклланиши рағбатлантирувчи фаол омилни ажратиб олишга муваффақ

бўлди. Висконсин университети биокимё кафедрасидаги ҳамкасблари билан ҳамкорликда кейинги тадқиқотлар давомида **кинетин** деб номланган мазкур факторнинг кимёвий формуласи (6-фурфуриламинопури) аниқланиб, унинг кимёвий синтезини амалга оширилди ((С. Miller и др., 1955, 1956).



Миллер ва унинг ҳамкасблари Ф. Стронг, Ф. Скуг, Ф. Окумура, М. фон Сальца	Т. Мурасиге

<https://lifelib.info/microbiology/biosafety/2.html>

Кейинчалик, биокимё кафедрасида аденин бошқа фаолроқ ҳосилалари олинган бўлиб, ботаника кафедрасида синаб кўрилган. Шулардан бири ўсимлик ҳужайралари културсини тажрибаларида жуда кенг тарқалган ва ҳозиргача кўп ишлатиладиган восита 6-бензиладенин (6-бензиламинопури) БАП ҳисобланди. 1961 йилда Миллер маккажўхори донидан (*Zea mays*) зеатинни ажратиш олишга муваффақ бўлди.

Шундай қилиб, ўтган асрнинг ўрталарига келиб, *in vitro* шароитида ўсимлик ҳужайралари ўстириш тамойиллари шакллантирилди агарли ва суяк озуқа муҳитида култураларни ўстириш, регенерант ўсимликларни олиш ва сақлаш усуллариининг методологик асослар ишлаб чиқилди.

Хусусан, ҳужайранинг бўлинишини тартибга солиш ва морфогенез жараёнларини индукция қилиш учун турли хил ўсиш регуляторларини кашф этилиши ва улардан фойдаланиш катта аҳамиятга эга еди. Озиқа моддаларининг таркиби сезиларли даражада яхшиланди: Т. Мурасиге ва Ф. Скуг (Т. Murashige, F. Skoog, 1962) томонидан таклиф қилинган озуқа муҳити,

20-аср бошларида ишлатилган Кноп муҳити билан таққослаганда ҳужайра културасини ўсишининг 5-7 марта ошишини таъминлади. Шу муносабат билан нафақат ўсимлик ҳужайраларини културалаш усулларида ҳужайра биологияси соҳасидаги асосий тадқиқотлар учун, шунингдек, аниқ амалий муаммоларни ҳал қилиш учун фойдаланиш мумкин бўлди.

Демак, ўсимликлар ҳужайраси култураси асосида фармацевтика ва парфюмерия саноати учун қимматли бирикмаларни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган бўлиб, уларни табиий хом ашёдан ажратиш олиш маълум

кийинчиликлар билан боғлиқ ва иқтисодий жиҳатдан қиммат туради. Бугунки кунга келиб, картошка, манзарали, мевали ва ўрмон экинларининг юқори сифатли кўчат материалларини ишлаб чиқариш саноати ривожланди.

Ўсимлик хужайра ва тўқималарини *in vitro* да культуралаш техникаси: стериллик ва стериллаш усуллари, озиқа муҳитлари, культуралаш шароити

in vitro хужайра култураси олиш учун ўсимлик тўқималари (эксплантат – ўсимликдан ажратиб олинган қисм) кичик бўлагини сунъий озуқа муҳити солинган култура ўстириладиган идишга (пробиркага, колбага ва бошқаларга) жойлаштирилади, унда эксплантат хужайралари бўлиниб, каллус ҳосил қилади.

Каллус култураси ***in vitro*** да ўсимлик хужайралари културасини ўстиришнинг энг кенг тарқалган шаклидир. Уни ярим қаттиқ (кўпинча агарли) озуқа муҳити юзасида ўстирилган эксплантлардан ажратиб олинади. Хужайраларни суюқ озиқа муҳитида ўстириш йўли билан ўсимлик **хужайраларининг суспензиялари** (суспензия култураси) олинади. Хужайра деворларини эритиб юборадиган фермент эритмалари фойдаланиб, **протопластлар** - целлюлоза мембранасидан маҳрум бўлган ўсимлик хужайраларини олинади. Протопластларни суюқ муҳитда ёки протопласт суспензиясини агарли озиқа муҳити юзасида ҳам ўстирилиши мумкин. Вақт ўтиши билан протопластлар хужайра деворини тиклайди ва каллус тўқимасини ҳосил қилиб бўлинишни бошлайди. Каллус култураси, хужайра суспензиялари маълум шароитларда морфогенез ва / ёки соматик эмбриогенез қобилятга эга бўлиб, регенерант (қайта тикланадиган) ўсимликларни олишга имкон беради. Регенерант ўсимликларни тўғридан-тўғри йўл билан эксплантлардан олиш мумкин. Улар узоқ вақт давомида ўстирилиши ва ***in vitro*** шароитида кўпайтирилиши мумкин.

О'симликлар хужайралари Култураси билан ишлаш учун лаборатория хоналари, jihozlar va asboblari

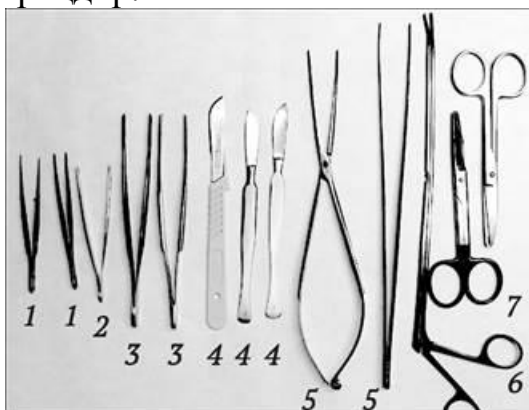
Ўсимлик хужайралари култураси билан ишлашни амалга оширишда: идиш- ва асбобларни ювиш ва стерилизация қилиш учун культуралаш воситаларни тайёрлаш ва стерилизация қилиш; ўсимлик хужайраларини ўстириш, улар устида цитологик тадқиқотларни ўтказиш; хужайра културасини ажратиб олиш, ва бошқа манипуляциялар учун ламинар бокс билан жиҳозланган лаборатория хоналари, шунингдек, сунъий ёруғлик билан ёритиладиган фитотрон ёки тупроқли иссиқхона талаб қилинади.

Расм ламинар бокс

Идиш ювиш хонасида одатда сув дистиллятор (сув дистиллятор) мавжуд бўлиши керак. Дистилланган сув озуқа муҳитини тайёрлаш, ювилган идишларни, эксплантларни стерилизация қилувчи воситалар билан ишлов берилгандан кейин ювиш учун зарурдир. Ювилган идишлар 80-100 ° С ҳароратда қуруқ ҳаво шкафида қурилади. Юқори ҳарорат унинг стерилизациясини ҳам таъминлайди.

Ўсимлик хужайралари култураси бўйича тажриба олиб бориш учун: озуқа воситаларини тайёрлаш ва захира эритмаларини сақлаш учун турли хил ва

ҳажмдаги шиша кимёвий идишлар, култураларни олиш ва улар билан манипуляция қилиш (эксплантларни ажратиш ва стерилизация қилиш, култураларни кўчириб ўтказиш, пробиркада ўсимликларни қаламчалаш ва бошқалар.); ўсимликларни ўстириш учун колбалар, стаканлар, Петри идишлари, пробиркалар, мензуркалар, ўлчов цилиндрлари, пипеткалар керак бўлади. Сўнгги пайтларда ўсимлик ҳужайраларини култураси учун бир марта ишлатиладиган турли хил пластмасса идишлар кенг қўлланила бошлади. Бироқ, кўп ҳолларда шиша идишлардан фойдаланиш қулайроқ ва арзонроқдир.



а



б

Ўсимлик ҳужайралари култураси билан ишлаш учун асбоблар тўплами: а - асбоблар тўплами: 1 - ўткир учлари билан 5-7 см кўз пинцет (офтальмологик); 2 - учлари тўмтоқ бўлган қисқа пинцет (5-7 см); 3 - 10-14 см узунликдаги пинцет; 4 - жарроҳлик скалпеллари; 5 - узун симбиз; 6 - уретрал пинцет; 7 - қайчи; б - ламинар боксда ишлаш жараёнида ишлатиладиган штатив ва стакан, Петри идишидаги асбоблар



а



б

ламинар бокс

Расм. Ёруғликда ўсимлик ҳужайраларининг етиштириш учун қурилма: а – люминесцент лампалар билан юқоридан ёруғлик бериладиган *in vitro* да култураларни ўстириш стеллажи; б - махсус спектрал таркибли люминесцент лампалар билан жиҳозланган *in vitro* да култураларни ён томонидан ёритишга мослашган иқлим камераси

2.2. Озуқа муҳитлари

Ўсимликлар ҳужайра култураларини ўстириш усуллари ишлаб чиқиш жараёнида озуқавий муҳит доимий равишда такомиллашиб борган. Ҳозирги вақтда турли ўсимлик ва эксплант турлари учун қстиришни вазифасидан келиб чиқиб, озуқа муҳитининг жуда кўп турлари мавжуд. Адабиёт маълумотларига асосланиб, мутахассис ҳар бир иш тури учун мақбул вариантни танлаб олиши мумкин. Баъзи ҳолларда озуқа муҳитини оптималлаштириш талаб этилади. Ушбу мақсадлар учун махсус ёндашувлар ишлаб чиқилган, шу жумладан математик экспериментларни режалаштириш усулларида фойдаланишга асосланган. Муайян схема бўйича озуқавий муҳитнинг алоҳида таркибий қисмлари (биринчи навбатда ўсиш регуляторлари) концентрациясини ўзгартириб, оптимал вариант топилади.

Озуқа муҳитларининг бир неча турлари мавжуд бўлиб, улар асос сифатида қабул қилинади ва агар керак бўлса оптималлаштирилади. Мурасиге ва Скуг (1962) энг кўп ишлатиладиган озуқа муҳити ҳисобланади. Унинг мувозанатлашган таркибий қисмлари кўплаб ўсимлик турларининг ҳужайраларини етиштиришда яхши натижалар беради (жадвалга қаранг). Б-5 Гамбург озуқа муҳити (1968) донли экинларга, Ницч (1969) муҳити – икки паллали ўсимликларнинг чангчиларни ўстириш учун кўпроқ мос келади. Бироқ, ўсимлик ҳужайралари култураси учун турли хил озуқа муҳитлари

жуда кўп умумий хусусиятларга эга. Улар ўсимликларнинг *in vivo* она организмда ўсиши ва ривожланиши учун зарур бўлган концентрацияларга имкон қадар яқин бўлган барча керакли минерал ва органик элементларни ўз ичига олиши керак.

In vitro шароитида ўсимлик ҳужайра културасини ўстириш учун озуқа баъзи муҳитлари таркиби

Komponentlar	Oziqlantiruvchi vositalar (tarkibiy qismlarning tarkibi, mg / l)			
	MS*	ER *	B-5 *	Nitcsh *
Makroelementlar				
NH ₄ NO ₃	1650	1200	-	720
KNO ₃	1900 yil	1900 yil	2500	950
CaCl ₂ • 2H ₂ O	440	440	150	-
CaCl ₂	-	-	-	166
MgSO ₄ • 7H ₂ O	370	370	250	185
KH ₂ PO ₄	170	340	-	68
(NH ₄) ₂ SO ₄	-	-	134	-
NaH ₂ PO ₄ • H ₂ O	-	-	150	-
Iz elementlari				
KI	0.83	-	0,75	-
H ₃ BO ₃	6.20	0.63	3.00	10
MnSO ₄ • 4H ₂ O	22.30	2.23	-	25
MnSO ₄ • H ₂ O	-	-	10.00	-
ZnSO ₄ • 4H ₂ O	6.80	-	-	-
ZnSO ₄ • 7H ₂ O	-	-	2.00	10
ZnNa ₂ EDTA	-	15.0	-	-
Na ₂ MoO ₄ • 2H ₂ O	0,25	0,025	0,25	0,25
CuSO ₄ • 5H ₂ O	0,025	0.0025	0,025	0,025
CoCl ₂ • 6H ₂ O	0,025	0.0025	0,025	-
Na ₂ EDTA • 2H ₂ O	37.30	37.30	37.30	37.30
FeSO ₄ • 7H ₂ O	27,80	27,80	27,80	27,80
Vitamin va gormonal qo'shimchalar **				
Miyoinozit	100	-	100	100
Nikotin kislotasi	0,5	0,5	1.0	5.0
Piridoksin HC l	0,5	0,5	1.0	0,5
Tiamin HCl	0,1	0,5	10.0	0,5
Foliy kislotasi				0,5
Biotin				0,05
Glitsin	2.0	2.0	-	2.0
β-indolil sirka kislotasi (IAA)	1.0-30.0	-	-	0,1
α-naftil sirka kislotasi (NAA)	-	1.0	-	-

2,4-diklorofenoksiasetik kislota (2,4 D)	-	-	0.1-1.0	-
Kinetin	0.04-10.0	0,02	0,1	-
Saxaroza	30,000	40,000	20000	20000
pH qiymati atrof-muhit	5.7	5.8	5.5	5.5
Agar-Agar	7000 ***	7000 ***	7000 ***	8000 ***

1. * MS: T. Murashige, F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol. Plant.* 1962. Vol. 15. P. 473–497. ER:
2. T. Eriksson. Studies on the growth requirements and growth measurements of cell culture of *Haplopappus gracilis*. *Physiol. Plant.* 1965. Vol. 18. P. 976–983. B-5:
3. O. L. Gamborg, R. A. Miller, K. Ojima. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells // *Exp. Cell Res.* 1968. Vol. 50. P. 151–158.
4. Nitsch: J. P. Nitsch, C. Nitsch. Haploid plants from pollen grains // *Science.* 1969. Vol. 163. P. 85–87.

** тажриба, ўсимлик турлари ва бошқа мақсадларига қараб витаминлар ва гормон ва бошқа қўшимчаларнинг таркиби ва миқдори фарқ қилиши мумкин (ушбу таркиб муаллифларнинг асл рецептларига мувофиқ тақдим етилган).

*** 6000 мг / л агар-агар нормал консистенцияли озуқа муҳитини олиш учун етарли.

Минерал элементлар. *in vitro* шароитида ҳужайра тўлиқ метаболизмини таъминлаш учун озуқа муҳитида органик ва ноорганик макро ва микроэлементларни бўлиши керак. Халқаро ўсимликлар физиологлар ассоциациясининг тавсияларига мувофиқ 0,5 мМ дан юқори концентрасияларда ўсимликларнинг талаб қилинадиган минерал элементларини макроэлементлар, пастроқ концентрацияларда зарур бўлганлар микроэлементлар деб аталади. Ўсимликлар ҳужайра култураси учун озуқа моддаларининг асосий макроэлементлари: азот, калий, фосфор, кальций, магний ва олтингугурт ҳисобланади. Баъзи ҳолларда аминокислоталар (аланин, глутамик кислота, глицин, аргинин, аспарагин кислота, пролин ва бошқалар) азотнинг қўшимча манбаи сифатида муҳитга қўшилади. Баъзида аминокислоталар аралашмаси казеин гидролизати билан алмаштирилади.

Озуқа моддаларнинг асосий микроэлементлари: темир (икки валентли), марганец, бор, мис, рух, ёд, молибден, кобалт. Енг муҳим микроэлементлар темир ва мис ҳисобланиб, чунки улар оксидланиш-қайтарилиш реакцияларини тартибга солиш жараёнларида ва трансформацияси катнашадиган коферментларнинг бир қисмидир. Темирни хелатлар шаклида ишлатилади [FeSO₄ + ЭДТА (этиленедиаминететрасирка кислота ёки унинг натрий тузи Na₂ ЭДТА, Трилон Б)].

Углеводлар ўсимлик ҳужайралар култураси учун зарур бўлган озуқа воситаларининг таркибий қисмидир, чунки кўп ҳолларда ҳужайралар

култураси автотроф озикланишга қодир бўлмайди. Эксплантларни хлорофилл сақловчи тўқималар таркибидан ажратиб олиниб, озуқа муҳитига жойлаштирилганда улар одатда хлорофиллини йўқотади. Ёруғликда ўстирилганда баъзи экинлар хлорофиллдан маҳрум бўлиб қолади, бошқалари яшил рангга киради, лекин фотосинтез йўли билан ўз-ўзларини углеводлар билан тўлиқ таъминлай олмайдилар. Бундан ташқари, озуқа муҳитидаги углеводлар осмотик функцияларни бажаради, айниқса протопласт култураси ҳолатида муҳимдир.

Кўпинча, ўсимлик ҳужайралари култураси учун озуқа муҳити таркибидаги 2-3% концентрацияли сахароза қўшилади. Чангчиларни ўстириш учун уни юқори концентрацияларда ишлатилади - 6-10%. Углерод билан озикланиш манбаи сифатида сахарозадан ташқари глюкоза, фруктоза, галактоза, малтоза ва бошқалар қўлланилади. Протопластлар култураси учун асосий осмотик маннитол (13% бўлиб, ушбу мақсадлар учун сорбитол, глюкоза, сахароза, турли хил углеводларнинг бирикмаси ҳам ишлатилади.

Таркиби аниқ бўлмаган органик қўшимчалар. Ўсимлик ҳужайралари микроорганизмларга қараганда бегона таркибий қисмларга нисбатан сезгирроқ, шунинг учун улар кимёвий тоза таркибий қисмларини талаб қилади. Шу билан бирга, баъзи озуқа воситаларда табиий биологик қўшимчалар мавжуд: суюқ кокос эндосперми (кокос сути), каштан эндосперми экстракти, казеин гидролизати, солод экстракти, помидор шарбати, ачитки экстракти, картошка қайнатмаси ва бошқалар. Бундай қўшимчалардан фойдаланиш амалиёти 30-йилларда кенг тарқалган эди.

Адсорбентлар. Баъзи эксплантлар каллус шаклланишига тўсқинлик қиладиган ва ўсишни тўхтатиш ва културанинг ўлимига олиб келадиган моддаларни озуқа муҳитига чиқаради. Уларнинг адсорбцияси учун фаол углерод ёки бошқа адсорбентлар, масалан, поливинилпирролидон озуқа муҳитига қўшилади.

Гел ҳосил қилувчи воситалар. *in vitro* ҳужайралар култураси, каллус културалари ва пробирка ўсимликлари учун озуқавий муҳитдан уларнинг таркибий қисмларига яхши киришни таъминлайдиган ва ҳаво билан таъминлаш учун култураларни доимий равишда аралаштиришни талаб қилмайдиган ярим қаттиқ (гелга ўхшаш) озуқа муҳитларида етиштирилади, Кўпинча гел ҳосил қилувчи восита сифатида қизил сув ўтларидан ажратилган агар-агар (агар), масалан, *Gelidium amansii* ишлатилади. Агар - бу полисахаридларнинг аралашмаси, галактоза ҳосилалари: нейтрал полимер фракцияси — гелнинг мустаҳкамлигини таъминлайдиган агароза ва зарядланган анионик полисахаридлар — агаропектинлар унинг ёпишқоқлигига таъсир қилади. Агарнинг сифати уни тозалаш даражасига боғлиқ ва ҳар бир ишлаб чиқарувчида фарқ қилиши мумкин. Шунинг учун юқори даражада тозаланган агардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир. Озиқа муҳитида агарнинг концентрацияси 0,6-1,0% ни ташкил қилади.

Агардан ташқари агароза (бир ҳужайралилар, протопластлар културасида), гелрит (полисахарид) ишлатилади, у *Pseudomonas elodea* дан микробиал синтез натижасида олинади.

Озуқа муҳитининг *pH qiymati* катта аҳамиятга эгадир. Унинг оптимал қиймати табиий шароитда ўсимликнинг қандай тупроқ шароити нейтрал, *in vitro* шароитида етиштирилаётган кислотали ёки ишқорий муҳитда ўсганлигига боғлиқ равишда танланади. Ўсимликлар учун кўпинча энг қулай pH 5.5-5.8 қиймати ҳисобланади.

Озуқа муҳитларини тайёрлаш

Ўсимлик хужайраларини ўстириш учун озуқа муҳитларни тайёрлаш учун керакли кимёвий компонентларни ҳар бир ўсимлик учун тавсия этилган рецептлар бўйича тайёрланади. Бунинг учун кимёвий тоза (кимёвий жиҳатдан тоза) ёки юқори даражадаги (ортиқча тоза) реагентлардан фойдаланиш тавсия этилади. *in vitro* шароитида ўсимликларни ўстириш учун мўлжалланган «Plant Cell Culture Tested» ёрлиёига эга (ўсимлик хужайраси култураси учун синовдан ўтказилган) реагентлардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир. Масалан, SIGMA, MERC,

SERVA, FLUKA каби кимёвий реактивлар ишлаб чиқарувчи компаниялар ўсимлик хужайралари културасини ўстириш учун тайёр озуқа муҳити компонентлари ва индивидуал компонентлар (катта, микроэлементлар, витаминлар ва бошқаларни ишлаб чиқариш йўлга қўйган). Бу каби тайёр аралашмалардан фойдаланиш озуқа муҳитларини тайёрлаш жараёнини сезиларли даражада соддалаштириш ва уларнинг сифатини яхшилашга имкон беради.

Ўсимликлар хужайралари култураси билан ишлашда асептикани таъминлаш

Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, асептика қоидаларига риоя қилинган тақдирдагина ўсимлик хужайралари културасини олиш ва муваффақиятли сақлаб турилиши мумкин. Бунга лаборатория хонаси, лаборатория ускуналри, идишлари, асбоблар, културалашнинг бошқа воситаларини стерилизация қилишнинг турли усуллари кўллаш орқали эришилади.

Хужайра културасини олиш учун мўлжалланган експлатларнинг юзаси айниқса эҳтиёткорлик билан стерилизация қилинади. Барча муолажаларни асептика қоидаларига риоя қилган ҳолда ламинар-боксдаги иш жойида стерил шароитда олиб борилади.

Барча идишлар (бир марта ишлатиладиган пластик идишларидан ташқари) ишлатишдан олдин автоклавлаш орқали стерилизация қилиниши керак, сўнгра печда ёки автоклавда мавжуд бўлса вакуумли қуритилиши керак. Автоклавлашдан олдин идишларни ташиш пайтида қайта ифлосланишни олдини олиш учун крафт қоғозга ўралган ёки биксларга солинади. Автоклавлаш режими: босим 1,5 атм, стерилизация вақти 40-60 минутни ташкил этади. Қуритишни печда тахминан 100 ° C ҳароратда 30-40 дақиқа давомида амалга оширилади.

Ишлатишдан олдин ламинар бокс бактерицид лампалари ёрдамида 40-60 дақиқа давомида стерилизация қилинади. Ламинар боксда ультрабинафша нурлар билан стериллаш тугашидан 10-15 дақиқа олдин стерил ҳаво билан фаол тозалаш қурилмаси қўшимча равишда ёқилади. Бунинг учун ламинар қутини ҳаво бериш режимини 80-100% қувват билан ишга туширилади.

Стерилизация тугандан сўнг бактерицид лампалар ўчирилади, ҳаво оқими қувватнинг 40-60% гача камйтирилади. Тадқиқотдан олдин дарҳол ламинар боксда ишланадиган юзалари 96% этанол билан артиради. Ламинали кутида иш олиб боровчи ходим иш бошида ва вақти-вақти билан қўлларини этил спирти билан артиб туриши талаб этилади.

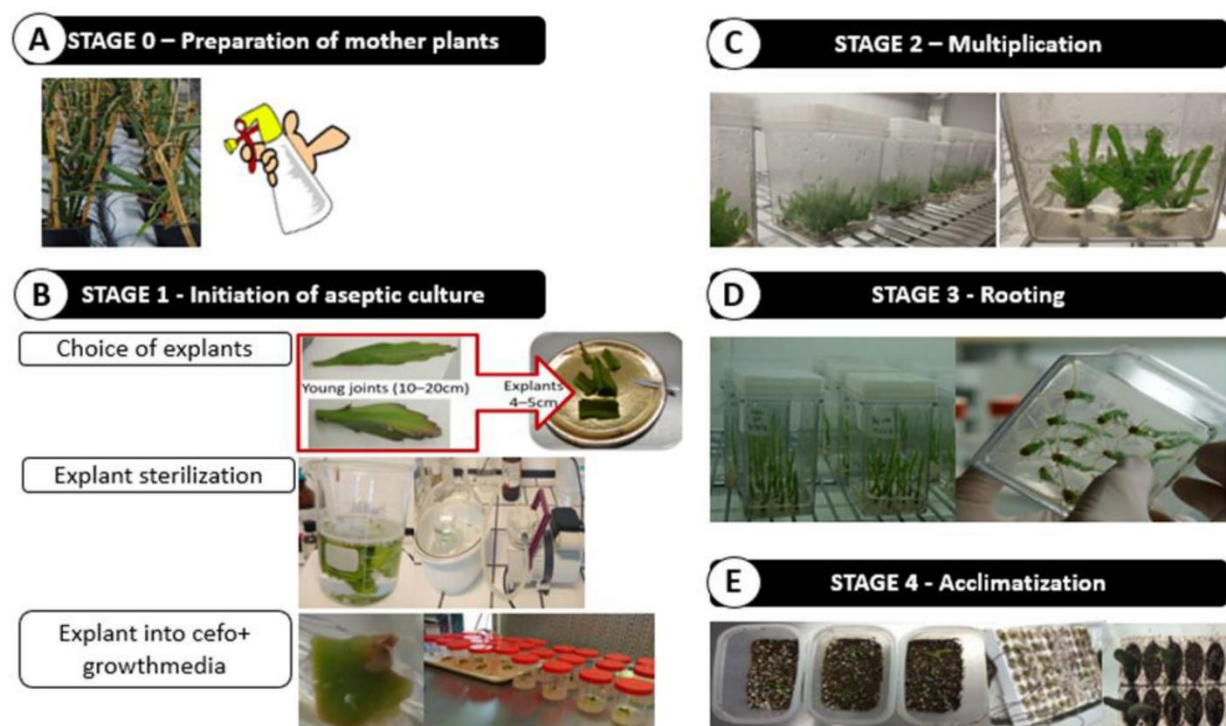
Эксплатларни ажратиш ва озучавий муҳитига ўтказишдан олдин ўсимлик тўқималарининг сиртини стерилизация қилиш ўсимлик хужайралари културасини олишнинг энг муҳим босқичларидан бири ҳисобланади, чунки кўп ҳолларда уларнинг тўлиқ стериллигига эришиш жуда қийин. Стерилизация муваффақияти бир қатор омилларга боғлиқ.

Одатда, ёпиқ жойларда етиштирилган ўсимликларнинг експлантациялари далада етиштирилган ўсимликларнинг експлантатларига қараганда анча тоза бўлади. Ўсимликлар ер ости органларининг ўсимлик моддалари (илдиз, пиёз ва бошқалар) жуда ифлосланган бўлади. Стерилизация қилишдан олдин улар совунли сувда яхшилаб ва дистилланган сув билан ювилиши керак. Ўсимликларнинг туклар билан зич қопланган тўқималарни стерилизация қилиш қийин, бу эса ҳаво пуфакчалари ҳосил бўлиши сабабли стерилизация қилувчи воситалар билан муносабатга киришини қийинлаштиради. Уларни стерилизация қилиш учун қуйида тавсифланган махсус усуллардан фойдаланилади. Стерилизация қилувчи воситаларни танлаш ҳал қилувчи рол ўйнайди. Ўсимлик материалларини сиртдан стерилизация қилиш учун калций ёки натрий гипохлорит эритмалари (5-10%), водород пероксид эритмаси (10-12%), бромли сув (1-2%), кумуш нитрат эритмалари (1%), симоб хлорид (0, 1% симоб хлорид) ва ўсимлик хужайралари културалари учун реактивлар ишлаб чиқарадиган компаниялар каталогларида мавжуд бўлган бошқа воситалар. Стериллаш қийин бўлган ҳолатларда озуча муҳитига антибиотиклар қўшилади.

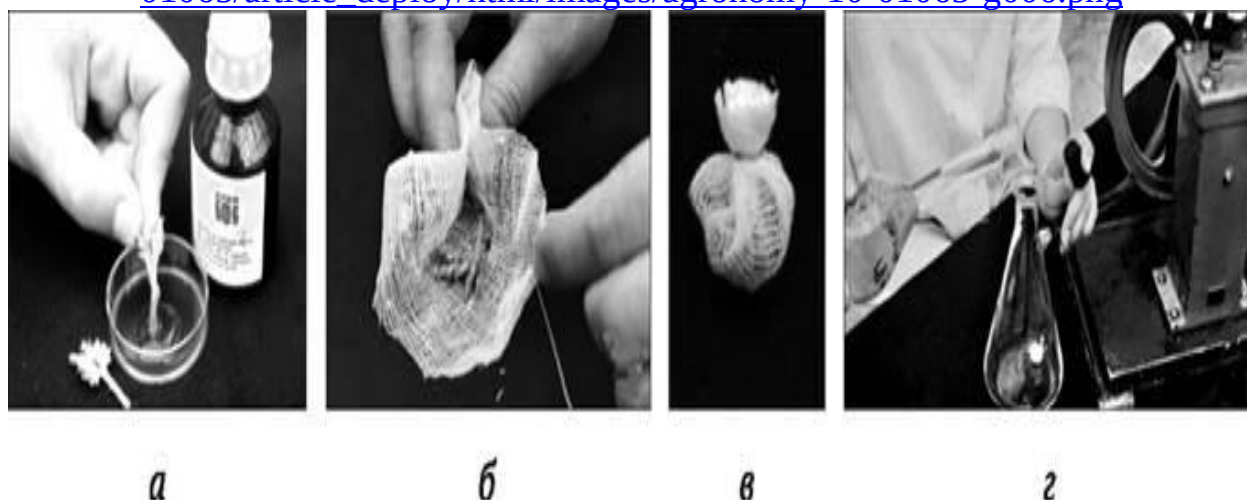
Эксплант стерилизациясининг юқори самарадорлигига 70% этанол ва диацид ёрдамида эришиш мумкин. Диацид -- 0,1% ли этанолмеркурихлорид

C_2H_5ClHg ва цетилпиридирилхлорид $C_{21}H_{38}NCl \cdot H_2O$ сувдаги эритмасидир. У кўп марта ишлатилиши агар тўғри сақланса мумкин, унинг самараси бир йил ёки ундан кўпроқ вақт давомида сақланиб қолади. Стерилизация қилинадиган ўсимлик моддаси аввал спирт (30-40 с), сўнгра диацид эритмасига (7-10 мин) ботирилади. Шундан сўнг, у 4-5 марта автоклавланган дистилланган сувда яхшилаб ювилади

Стерилизация қилинадиган тук билан қопланган експлантатларни юзаларини намланишини яхшилаш учун вакуум стерилизацияси деб аталадиган усулдан фойдаланалилалар. Уни амалга ошириш учун ўсимлик моддаси Бунзен колбасига жойлаштирилади, унга стерилловчи эритмаси қуйилади. Колбани бўйнига маҳкам ёпиладиган тиқин билан ёпилади, найча орқали вакуум насосига уланади ва унинг ёрдамида ҳаво ундан ҳайдалади (-rasm).



Pitayaning in vitro tarqalish protsedurasining sxematik tasviri. Ona o'simliklarini tayyorlash, 0 bosqich (A); Aseptik madaniyatni boshlash, 1 bosqich (B); Ko'paytirish, 2-bosqich (C); Ildiz olish, 3 bosqich (D); Iqlimlashtirish, 4-bosqich (E). https://www.mdpi.com/agronomy/agronomy-10-01065/article_deploy/html/images/agronomy-10-01065-g006.png



- расм. Камовский вакуум насоси ёрдамида ўсимлик материалларини стерилизация қилиш: а – вакуум шароитида стерилизация воситасининг поя кесмасига тушиб қолмаслигини олдини олиш мақсадида поя кесмасига БФ-6 елим билан ишлов бериш (чангчиларни ажратиб олиш мўлжалланган картошканинг генератив новдаси ғунчалари). ; б - стерилизация қилувчи воситани стерилизация қилинадиган материалга эркин кириб боришини таъминлайдиган, шунингдек стерилизация қилинганидан сўнг колбадан ўсимлик материаллини тезда ажратиб имкон берадиган куртакларни дока халтачага қадоқлаш; в - қадоқланган ўсимлик материаллари солинган халтача; д - ўсимлик материаллари бўлган халтача, ён найчаси орқали вакуум насосига уланган Бунзен колбасига жойлаштирилади, (тажриба ўтказувчи

шахс бир қўли билан колбага стерилизация қилувчи воситани қуяди, иккинчи қўлида колбани ёпиш учун тикин тутб туради). Расм Т.Никоновичники.

Ўстириш шартлари.

Култураларни янги озуқа муҳитига кўчириб ўтказиш. Эксплантат турига ва тажриба мақсадига қараб, хужайра културалаш учун турли хил идишлар (шиша ёки пластмасса пробиркалар, Петри ликобчасининг ҳар хил ўлчамдаги идишлари, колбалари ва идишлари) ва ўстириш шароитлари қўлланилади. Културалаш кондиционер билан жиҳозланган ўстириш хоналарида амалга оширилади. Кўплаб културалар термостатда қоронғида етиштирилади. Оптимал ҳарорат 24-26 ° С дир. Бироқ, ўсимлик турига қараб, у бироз юқорироқ ёки пастроқ бўлиши мумкин. Агар култураларни ўстиришда ёритиш зарур бўлса (пробиркадаги ўсимликлар културасини сақлаб қолиш, *in vitro* ўсимликларни клонли кўпайтириш ва бошқалар), энг оддий ҳолатда културалаш хонасига люминесцент ёритгичли токчалар ишлатилади. Ёритгичлар маълум бир вақтда автоматик равишда ёқилади ва ўчади. Одатда ёруғлик даврининг давомийлиги 14-18 соат, қоронғи - 6-10 соат ни ташкил этади. Ёруғлик даврида ҳарорат 22-26 ° С, қоронғида эса бироз пастроқ, 18-20 ° С бўлиши мумкин. Экинларнинг ёритилиши жуда кенг доирада (1 дан 10 минг люксгача) фарқ қилади.

Култивация қилишнинг ҳарорати ва ёруғлиги, ёруғликнинг спектрал хусусиятлари ўсимлик хужайралари културасида морфогенез индукциясига сезиларли таъсир кўрсатиши мумкин. Шунинг учун, турли хил етиштириш режимларини ўрнатиш учун иқлим камераларидан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир.

Културалаш хонасида хужайра суспензияларини етиштириш учун чайқаткичлар, ротацион (айланадиган мосламали) кўрилмалар ёки култураларни (биореакторлар) аралаштириш ва аэрация қилишни таъминловчи учун янада мураккаб бошқа мосламалар ўрнатилади.

Ўстириш даврида каллус хужайралари қарийди (каллус хужайраларининг дифференциацияси), бўлиниш қобилятини йўқотади ва аста-секин йўқ бўлиб кетади. Озиқа муҳитининг камайиши ҳам содир бўлади, унга хужайралар метаболитлари ажратиб чиқарилиши мумкин, бу эса култураларнинг ўсишига салбий таъсир кўрсатади. Културал ҳажмини сезиларли даражада ошиши мумкин, натижада културалаш идишининг ҳажми етарли бўлмайди. Буни бартараф қилиш учун маълум вақт оралиғида, каллуснинг кичик бир бўлаги ёки суспензиянинг муайн бир ҳажми (инокулянт) стерил шароитда янги озуқа муҳити солинган идишларга ўтказилади (**пассирлаш**-кўчириб ўтказиш, **субкултивация**).

Мунтазам пассирлаш йўли билан каллус хужайраларини ёки хужайралар суспензиядаги хужайраларнинг бўлиниш қобилятини ўнлаб йиллар давомида сақлаб турилиши мумкин. Култураларнинг бир муҳитдан иккинчисига кўчириши, улардаги морфогенез жараёнларини кўзғатиш учун, авваламбор регенерант ўсимликларни олиш учун ишлатилади. Бунинг сабаби, хужайра културалари кўпайиши ва морфогенези учун озуқа

муҳитлари, одатда, сезиларли даражада фарқ қилади. Пассирлаш билан бир вақтнинг ўзида етиштириш шароитлари (ёруғлик ва ҳарорат шароитлари) тез-тез ўзгартириб турилади.

Nazorat savollari

1. Ўсимлик ҳужайралари маданияти учун синтетик озуқа воситаларининг асосий элементлари номларини келтиринг.
2. Озиқа муҳитлари таркибий қисмларининг захира эритмалари қандай мақсадларда ишлатилади?
3. Ўсимликлар ҳужайра културасини олишда асептика шароитлари қандай таъминланади?
4. Нима учун ҳужайра културасини субкултуралаш керак?

VIII боб. Каллус тўқималар култураси

Ўсимликлар муртагининг ривожланаётган ҳужайралари ихтисолашмаган-дифференциаллашмаган бўлади. Улар интенсив равишда бўлинади ва турли ўсимлик тўқималари ва органларини (тотипотентлик) ҳосил қилиши мумкин. Дифференциация жараёнида ҳужайра уч босқичдан ўтади: 1) бўлиниш; 2) чўзиш; 3) ихтисослашиш. Ҳужайра ривожланишнинг сўнгги босқичининг ўзига хос хусусияти иккиламчи ҳужайра деворининг қалинлашиши ва бўлиниш қобилятини йўқотишдир. Муртакда меристемани ҳосил бўлади - бу тўқима ўсимликнинг бутун ҳаёти давомида бўлиниши ва янги ҳужайраларини ҳосил қилиш қобилятини сақлаб қолади.

Меристеманинг айрим ҳужайралари (бошланғич-инициал) нодифференциаллашган ҳолда сақланиб қолади ва бўлиниб, ўсимликнинг ўсиб боришини узлуксиз таъминлаб боради. Бошқа ҳужайралар аста-секин ихтисослашиб, доимий тўқималарни ҳосил қилади (қопловчи, ўтказувчи, механик ва бошқалар).

Меристемаларнинг иккита асосий тури мавжуд - апикал (апикал) ва ёндош (латерал). Апикал меристемалар куртаклар ва илдизларнинг тепасида жойлашган. Улар уларнинг бўйига ўсишини таъминлайди. Ушбу ўсиш бирламчи, меристемаларнинг ўзи эса бирламчилар деб номланади. Ёндош меристемалар (камбий ва феллоген) ўқ органларнинг латерал юзаларига параллел жойлашган бўлади. Ушбу меристемалар тегишли органларнинг энига ўсишини таъминлайди. Бундан ташқари, ўсиш жараёнида меристематик тўқима ўсимликнинг баъзи қисмлари: илдизларда (перицикл шаклида), поя бўғимлари, поянинг ўзак нурларида сақланиб қолади. Донли экинлари учун қўшимча (интеркаляр) деб аталадиган меристема хос бўлиб, у поянинг бўғим ораликларида ва барг қинларида жойлашади.

Ўсимликда янги, иккинчи даражали меристемалар ҳам ривожланиши мумкин. Бу, ўсимликлар шикастланганда содир бўлади. Жароҳатланган меристемалар каллусни келтириб чиқаради. Каллус бир хил паренхимал ҳужайралардан иборат махсус тўқима бўлиб, улар интенсив равишда бўлиниб, жароҳат жойини қоплайди. Уларнинг иккиламчи дифференциацияси жараёнида шикастланган тўқималар ва органлар

тикланади. Ўсимликларнинг каллус ҳосил қилишга хос жароҳатланган жойни қайта тиклаш хусусияти боғдорчиликда пайвандлашда (пайвандаг ва пайвандустнинг бирлашиб кетиши) ва ўсимликларнинг қаламчалар билан кўпайишида (қаламчаларнинг илдиз олиши) ишлатилади.

Шуни таъкидлаш керакки, ўсимликнинг ихтисослашган органлари (барг, пояси, илдизи, уруғпалла) ва тўқималари (меристема, қопловчи, ўтказувчи, асосий, ажратувчи, механик) хужайралари каллус ҳосил қобилятига эга. Ушбу жараённинг бошланғич шarti - бу дедифференциация: тўқима хужайраларининг ихтисослашувини йўқотиш ва уларнинг бўлиниш қобилятини тиклаш, яъни каллус шаклланиши пайтида ихтисослашган хужайралар меристематик ҳолатга қайтгандай туюлади. Хужайранинг дифференциацияси ва каллус шаклланиши маълум фитогормонлар таъсирида содир бўлиши аниқланган.

Ўсимликларнинг ихтисослашган тўқималари бир қисмини ажратиб олиб (эксплант) каллус ҳосил қилиши учун зарур фитогормонларни ўз ичига олган озиқа муҳитида жойлаштириладиган бўлса, унда *in vitro* каллус хужайра-лари културасини олиш мумкин бўлиб, у ўсимлик хужайраси културасининг асосий туридир. Ихтисослашмаган хужайраларнинг ҳосил бўлиш жараёни ауксинлар томонидан қўзғатилади. Аммо, дедифференциаланган хужайраларнинг бўлинишни бошлаши учун, цитокининлар керак бўлади. Ауксинлар ДНК, РНК ва оксиллар синтезини кучайтиради, улар хужайра циклининг ўтиши учун зарурдир ва хужайраларни бўлинишга тайёрларлик G1 босқичидаги синтез жараёнларини тезлаштиради

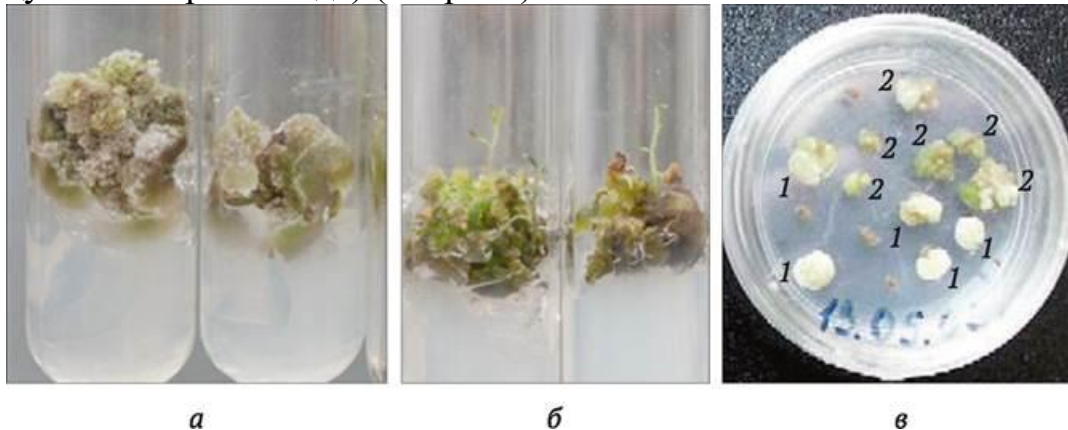
Хужайра циклининг G 2 фазаси. Ауксинлар хужайра ҳосил бўлишининг асосий протеинкиназа синтезини, цитокининлар еса циклинларни синтезини индуцирлайди. Шундай қилиб, дифференциация пайтида ушбу фитогормонларнинг таъсири кетма-кет ўзини намоён қилади: аввал ауксинлар "ишга тушади", сўнгра цитокининлар. Шунинг учун каллус културасини олиш учун озуқа муҳити таркибида ауксинлар ва цитокининлар бўлиши керак. Эксплантга қараб (эндоген фитогормонлар даражасига мувофиқ равишда), бу қонуният кузатилмаслиги мумкин. Масалан, буғдой ва арпанинг етук ва етилмаган муртаклари фақат ауксинлар (2,4-Д) бўлган озуқа муҳитида каллус ҳосил бўлишига лаёқатлидир. Эҳтимол, бу уларнинг таркибида етарли миқдордаги эндоген цитокининларнинг мавжудлиги билан боғлиқдир.

Агар ихтисослашган хужайраларнинг дедифференциацияси фитогормонлар таъсирида бўлинишнинг юзага келиши билан боғлиқ бўлса, бўлинадиган меристематик хужайраларда аксинча бўлинишдан тўхташи, уларнинг қайта ихтисослашиши ва шундан кейингина боғлиқ каллус шаклланиши билан кечади.

3.2. Каллус култураларининг цитоморфологик, физиологик ва биокимёвий хусусиятлари

in vitro каллус тўқимаси ўзига хос анатомик тузилишга эга бўлмайди. Эксплант ва етиштириш шароитларига қараб, у ҳар хил консистенцияда

бўлиши мумкин: зичлашмаган, мўл миқдорда сув сақловчи ҳужайралардан иборат бўлиб, майда агрегатларга бўлинади; ўртача зич ёки зич консистенциялисидада ўтказувчи тизим элементлари, меристематик ўчоқлари фарқланади. Қоронғида ўстирилганда тўқималарнинг ранги сарғиш, ёруғликда еса улар оч яшил рангга эга бўлиши мумкин (қаттиқ ёки алоҳида қўшимчалар шаклида) (3.1-расм).



3.1. Турли хил концентрациядаги каллуслар (эксплантлар картошка чангчидан олинган): а - майда агрегатларга бўлинадиган, зичлашмаган серсув каллус; б - меристематик ўчоқли каллус: 1 - этиоланган, юмшоқ консистенция;си 2 - юқори ва ўрта зичликдаги каллус

Каллус ҳужайралари *in vitro* шароитида эксплантатажратиб олинган ўсимликнинг физиологик ва биокимёвий хусусиятларини сақлаб қолиш мумкин. Масалан, иссиқсевар ўсимликларнинг каллус тўқималари мўътадил иқлимдаги экинларга нисбатан юқори ҳароратларда яхши ўсди. Каллус тўқималари муаян шароитларда эксплантат донорлари хос бўлган иккиламчи метаболитларни синтез қилиш қобилиятини сақлаб қолади (масалан, женьшен панаксазидлари). Каллус ҳужайралар, агар уларни бирор физиологик ёки патологик жараён натижасида бузилмаган - интакт ўсимликлардан олинган бўлса токсинларга, гербицидларга, антибиотикларга шўрланиш, совуққа ва иссиқликка ва бошқа чидамлили бўлади.

Юқори бир хиллик ва ирсий барқарорлик билан ажралиб турадиган меристема ҳужайраларидан фарқли ўлароқ, каллус ҳужайраларининг ўсиши ва уларнинг иккиламчи дифференциацияси тартибсиз ва асинхрон тарзда содир бўлади. Каллус тўқималарида паренхима ҳужайралари, меристематик, некротик ва шунингдек, ўтказувчи тизим элементлари бўлиши мумкин. Каллус тўқимасида митотик циклни турли босқичларида ҳужайралар мавжуд. Уларнинг ҳужайра цикли меристема ҳужайраларига қараганда узунроқ бўлади. Ўстириш жараёнида, одатда, полиплоид ҳужайралар улуши ортади. Каллус ҳужайралари култураси митоз бузилишининг юқори частотаси билан ажралиб туради, бу уларда кўплаб хромосома абберрацияларининг пайдо бўлишига олиб келади. Махсус генетик тадқиқотлар натижасида каллус ҳужайраларини етиштириш жараёнида нисбатан юқори частотада турли хил нуқтали мутациялар содир бўлиши кўрсатилган. Шунини таъкидлаш керакки, санаб ўтилган генетик ўзгаришларнинг аксарияти генетик жиҳатдан ўзгартирилган ҳужайралардан

регенерант ўсимликлар олиш орқали организм даражасига "ўтказилиши" мумкин. *in vitro* да (нафақат каллус културалари, балки хужайра суспензиялари, протопласт културасидан) олинган регенерант ўсимликларнинг хужайра култураси генетик ўзгарувчанлиги **сомаклонал ўзгарувчанлик** дейилади. Бу жуда катта амалий аҳамиятга эга ва ундан полиплоидлар, мутант генотипларни олиш учун фойдаланиш мумкин.

Ўсимлик хужайралар суспензион култураси

Микроорганизмлар каби, ўсимлик хужайралари културасини *in vitro* да нафақат ярим қаттиқ (агарли) озиқа муҳитида, балки суяқ озуқа муҳитидан фойдаланиб ўстириш мумкин - бир хужайрали суспензия шаклида. Бундай ўстиришда хужайраларни кислород билан таъминлаш чайқаладиган чайқаткичларда, роллерли аппаратлари ёки бошқа асбоблар ёрдамида муҳитни доимий аралаштириш орқали амалга оширилади.

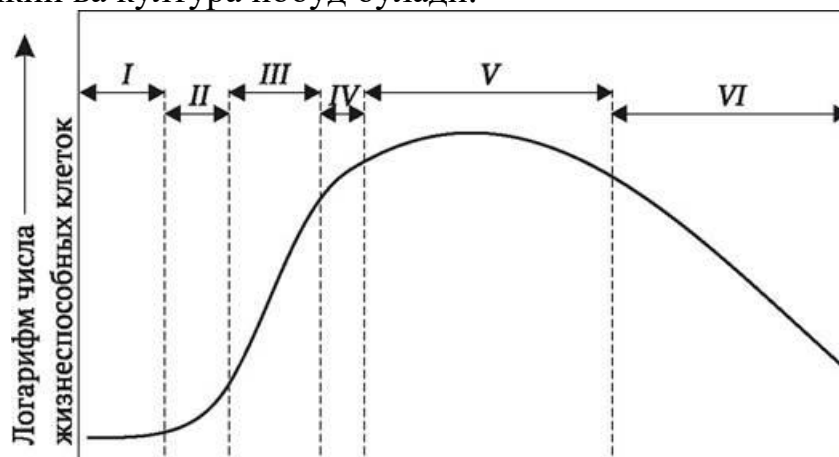
Хужайра суспензиясини олиш учун каллус тўқимаси суяқ озуқа муҳити бўлган идишга жойлаштирилади (100 мл муҳитга тахминан 2 г тўқима).

Кластерларга ва кичик хужайра агрегатларига осонгина парчаланадиган зичлашмаган каллуслардан фойдаланиш афзалдир. Суспензия 100-120 айланиш дақиқаси тезликда чайқатиладиган курилмаларда аралаштирилади. Микроорганизмлардан фарқли ўлароқ, якка ўсимлик хужайраларининг суспензиясини олиш жуда қийин. Тахминан икки ҳафта ўтгач, суспензия якка хужайралар, кичик кластерлар ва каллус хужайраларининг йирик агрегатларига бўлинади. Якка хужайраларни ажратиб олишнинг энг осон йўли суспензияни 1-2 дақиқага тиндиришдир. Катта агрегатлар пастки қисмда жойлашади, якка хужайралар ва кичик хужайра агрегатлари сирт фазасида қолади. Хужайраларнинг катта агрегатларини суспензиядан олиб ташлаш учун 1-2 қатламли дока, нейлон ғалвир орқали филтрлаш ҳам қўлланилади.

Каллусни ауксин сифатида 2,4-Д ни сақловчи калций ионлари берилмаган озуқавий муҳитда олдиндан ўстириш орқали хужайра суспензияси културасини олишда каллус хужайраларининг ажралишини яхшилаш мумкин. Яна бир яхши таъсирга пектиназа (тахминан 2 мг / л) ва целлюлаза (0,01 мг / л) ферментларини муҳитга қўшилиши билан эришилади. Бундай муҳитда хужайра суспензиясини тўғридан-тўғри эксплантдан олиш мумкин. Хужайра бўлинишини сақлаб қолиш учун озуқа муҳитидаги суспензияда ауксинлар ва цитокининлар бўлиши керак. Каллус културалари сингари, хужайра суспензияси вақти-вақти билан янги озуқа муҳитига (пассаж) ўтказилади. Бунинг учун суспензия нейлон ғалвирда филтрланади ва якка хужайрадан ёки майда агрегатлардан иборат бўлган култура ҳажмининг бир қисми - инокулят (инглиз тилидан *Inoculum-пайванд қилинадиган, кўчириб ўтказиладиган қисм маъносини билдиради*)) стерил шароитда тайёрланган янги озуқа муҳитига ўтказилади.

Хужайра култураси ўсиш эгри чизиғи Хужайра маданиятининг ўсиш эгри чизиғи S шаклга эга. Биринчи, латент (лаг-фаза) фазада хужайралар сони ва массасида ўсиш бўлмайди. Айни пайтда хужайралар бўлинишга тайёрланади. Кейинги, логарифмик фаза (экспоненциал ўсиш) энг катта

митотик фаоллик ва ҳужайра массасининг энг катта ўсиши билан тавсифланади. Учинчи босқич - бу чизикли ўсиш, унда ҳужайра массасининг ўсиши доимий тезликда содир бўлади. Кейин секин ўсиш босқичи келади ва ниҳоят ўсиш эгри чизиги платога етади. Ушбу даврда каллус ҳужайраларининг нобуд бўлиш интенсивлиги бўлиниш туфайли ўсаётган ҳужайралар билан мувозанатлашади. Аммо, агар бу даврда янги озуқа муҳитига културани ўтказилмаса, ҳужайра деградацияси қайтарилмас ҳолга келиши мумкин ва култура нобуд бўлади.

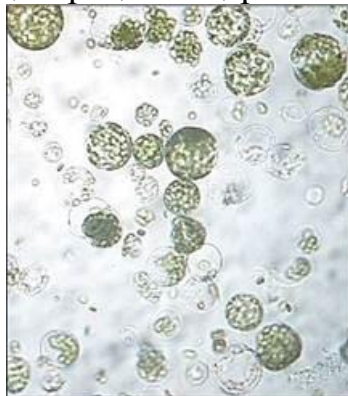


Ўсимлик ҳужайралари суспензияси културасини ўсиш эгри чизигининг фазалари: I - лаг-фаза; II - экспоненциал фаза; III-чизикли ўсиш босқичи; IV-секин ўсиш босқичи; V - стационар фаза; VI- нобуд бўлиш босқичи

Ўсимлик протопластлари култураси

Ажратилган протопласт - ҳужайра девори олиб ташланган кейин ҳужайранинг қолган қисми. Ноттингам университетида Е. Кокинг (Е. Cocking, 1960), уларнинг *in vitro* ўстиришни амалга ошириш учун протопластлар ҳужайра деворини ферментатив бузишнинг бир қатор усуллари ишлаб чиқади. Ҳозирги вақтда ҳужайра деворини олиб ташлаш учун замбуруғлар - *Myrothecium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* ва бошқалардан, шунингдек *Helix pomatia* шилликуртининг овқат ҳазм қилиш ширасидан олинадиган целлюлазалар, гемицеллулазалар ва пектиназалар қўлланилмоқда. Протопластлар турли хил ўсимлик тўқималаридан, каллус ҳужайраларидан ва суспензия култураларидан ажратиб олинади. Икки паллалиларда бир хил турдаги протопластларни кўп миқдорда олиш учун ёш барглarning мезофиллидан фойдаланилади. Solanaceae ва баъзи Brassica оиласига мансуб вакилларида протопластларни ажратиш ва етиштириш усуллари энг кўп ўзлаштирилган. Бир паллали ўсимликлар, шу жумладан донли ва игнабаргли дарахтлар тотипотенцияни амалга оширишга қодир протопластларни олиш учун қийин объектлардир. Ҳужайра суви алмашинувини тартибга солиш ҳужайра деворининг мавжудлиги билан боғлиқ. Ҳужайра деворидан маҳрум бўлган ҳужайранинг яшаб кетиши протопластларни ажратиш ва ўстириш учун муҳитнинг оптимал осмотик хусусиятларини сақлаб туриш шароити берилгандагина мумкин бўлади. Бунинг учун ҳужайралар ва ажратилган протопластлар 0,3-0,8 М ли осмотик стабилизаторлар: шакар (маннитол, глюкоза, сорбитол, ксилоза), ионли

осмотиклар (CaCl_2 , KCl) қўшиб, плазмелизацияланган ҳолатда сақланади. Осмотик таъсирида протопласт ҳажми камайиб, сферик шаклга эга бўлади (расм). Осмотикларнинг таркиби ва концентрацияси ҳар бир ўсимлик объекти учун алоҳида танланади. Шунингдек, ўсимликнинг келиб чиқиши ва протопластларни ажратиш учун танлаб олинган тўқима тури, фермент тури, уларнинг бирикмаси ва концентрацияси қараб танланади.



Расм. Тамаки барг мезофилидан ажратиб олинган протопластлар култураси
Қуйида ўсимликлардан протопласт олиш протоколидан бирининг намунаси берилмаган.

Ёш ўсимликларнинг ажратилган барглари 1 дақиқа давомида 70% этанолда, сўнгра 20 дақиқа давомида 2% натрий гипохлорит еритмасида ($\text{NaOCl} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) стерилизация қилинади. Баргларни стерил сув билан ювгандан сўнг, пастки эпидермисни олиб ташланади ва йирик томирларни ажратиб олиниб ва тахминан 5 мм кенгликда тасмачалар қилиб кесилади. Кесилган барг бўлаклари Петри идишларига пектиназа ва целлюлаза ферментлари аралашмасига жойлаштирилади. Масалан, тамаки барглари учун 0,5% пектиназа, 2% целлюлаза ва 13% сорбитол аралашмаси ишлатилади, $\text{pH} = 5,4$. Баргларнинг парчалари ферментлар аралашмасида термостатда 15-18 соат давомида 25°C да инкубация қилинади. Кейин нейлон мато орқали филтрлаб, протопластларни хужайра деворларининг қолдиқларидан тозаланadi. Протопластларни ферментлардан ҳоли қилиш учун уч марта 170 g (марказдан қочиш тезлиги) да 2 дақиқа давомида центрифуга қилинади. Ювилган протопластлар таркибида 13% маннитол бўлган озука муҳитда 1 мл да 4×10^5 дона протопластлар концентрациясиг қадар ресуспендирланади (пипетка ёрдамида аралаштирилади). Протопластларнинг зичлиги ҳар бир култура учун мос бўлиши керак. Протопласт суспензияси суюқ ёки агар муҳит бўлган Петри идишларига қуйиб ёки микротомчилаш усули билан ўстирилади. Протопластлар суспензияси фермент эритмасидан ювиб олингандан сўнг протопластлар дарҳол хужайра деворини қайта тиклай бошлайди. Целлюлоза микрофибриллаларининг пайдо бўлиши қайд этилади, аста-секин одатдаги хужайра мембранасига айланади. 2-4 кундан кейин протопластлар сферик шаклини йўқотади, бу хужайра деворининг тўлиқ тикланишини аңлатади. Хужайра деворини тикламаган протопластлар нормал митотик бўлиниш ва хужайра колонияларини шакллантириш қобилиятини йўқотади. Бундай протопластларда бўлиниш бошламайди ёки улар бўлинган тақдирла ҳам кўп

ядроли тузилмалар ҳосил бўлиб, чунки кариокинез цитокинез билан давом этмайди.

Хужайра деворининг шаклланиши ҳар доим хужайранинг бўлинишини бошлаш учун етарли шарт бўлиб ҳисобланмайди. Объект ва етиштириш шароитига қараб, хужайра деворини тиклаган протопластларнинг 0,1 дан 80% гачасида кейинги бўлиниш бошланиши мумкин. Биринчи бўлинишлар протопластни ўстириш бошлангандан бошлаб 2-10 кун ичида содир бўлиши мумкин. Ҳосил бўлган хужайра колониялари, регенерация муҳитига ўтказилгач, одатдаги каллус култураси каби регенерант ўсимликларни ҳосил қилиши мумкин.

Иккиламчи цитодифференциация: гистогенез, органогенез, эмбриогенез

Каллус тўқималарига дндифференцировка бўлгандан кейин ихтисослашган тўқима хужайрасини ривожланиши қуйидаги йўналишларда давом етиши мумкин:

- хужайра иккиламчи дифференциацияга учрайди ва бўлинишни тўхтатади, яъни дифференциаллашган каллус хужайрасига айланади. Бу каллус хужайраларининг қариши ва ўлими билан тугайдиган ривожланишининг нормал цикли бўлиб ҳисобланади.
- каллус хужайрасини қатъий дедифференциаллашиши, унинг гормонсиз муҳитда ўсиш қобилиятини ҳосил қилиши, яъни ўсимтага айланиши (кўчириб ўтказиб келинаётган эски култураларнинг баъзи хужайраларига хос);
- гистогенез (каллусда турли хил тўқималарнинг пайдо бўлиши) ёки морфогенез (уюшган тузилмаларнинг пайдо бўлиши) билан кечадиган иккинчи даражали дифференциация. Каллус хужайраларининг гистологик дифференциацияси лактатлар, толалар, трихомалар, ўтказувчи тизимининг элементлари - трахея ва ксилеманинг трахеидлари, ғалвирсимон найлари ва флоэманинг ҳамроҳ хужайраларининг пайдо бўлишига олиб келиши мумкин.

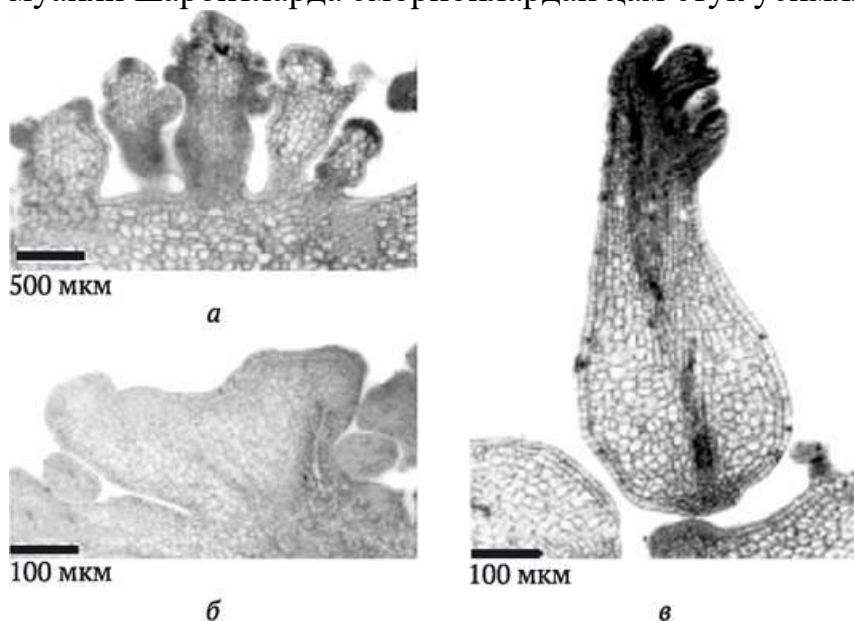
Морфогенез **органогенез** ёки **соматик эмбриогенез** шаклида содир бўлади. Органогенез – *in vitro* да алоҳида ўсимлик органлари: поя, илдизлар, камдан кам ҳолларда - гул элементлари, барглари хужайралари регенерацияси. Соматик эмбриогенез - бу эмбрионларнинг ҳосил бўлиши, яъни зиготик эмбрионларга ўхшаш тузилмалар.

Соматик эмбриогенез ҳодисасини биринчи бўлиб Ф. Стюард ва бошқалар (1958) ва Ж. Рейнерт (1959) томонидан ўсимлик хужайраларининг суспензиясини ўстириш пайтида кашф этилган.

Амалий нуқтаи назардан, ўсимликнинг аҳамиятга эга қисми бу хужайра културасидан ёки тўғридан-тўғри эксплантнинг ўзидан яхлит ўсимликни тиклашга имкон берадиган поя органогенези ва соматик эмбриогенез ҳисобланади. Поя органогенези натижасида поянинг апикал меристемасидан иборат бир кутбли тузилма ҳосил бўлади. Бу ҳолда, ҳосил бўладиган тўқима ўтказувчи тизими ёрдамида она тўқимаси билан алоқани сақлаб қолади (.. а, б-расм). Хужайра култураси аосида олинган ниҳолларни мумкин (*in vitro*

ёки *in vivo* да) илдиз олдириш шу йўл билан яхлит ўсимликни олиш мумкин. Соматик эмбриогенез натижасида биполяр (икки кутбли) структура

(эмбрионид) ҳосил бўлади, унинг таркибида поя ҳам, илдиз меристемаси ҳам мавжуд бўлди (3.5-расм, с). Эмбрионларнинг она тўқималари билан ўтказувчан найлар тизими ўртасида алоқа мавжуд бўлмайди. *in vitro* даги муайян шароитларда эмбрионлардан ҳам етук ўсимлик олиш мумкин.



Расм *Melia azedarach* нинг морфоген тузилмалари : а ва б - апикал меристемаларни ўз ичига олган ва она тўқималарининг ўтказуви тизими билан алоқаси сақланган бир қутбли тузилмалар (органогенез; ҳар хил катталаштиришда олинган); пояси ва илдиз тизими бошланғичларидан иборат икки қутбли тузилма (эмбрионид) она тўқима билан ахборот алмашинуви йўқолган (S. Vila et al. 2010).

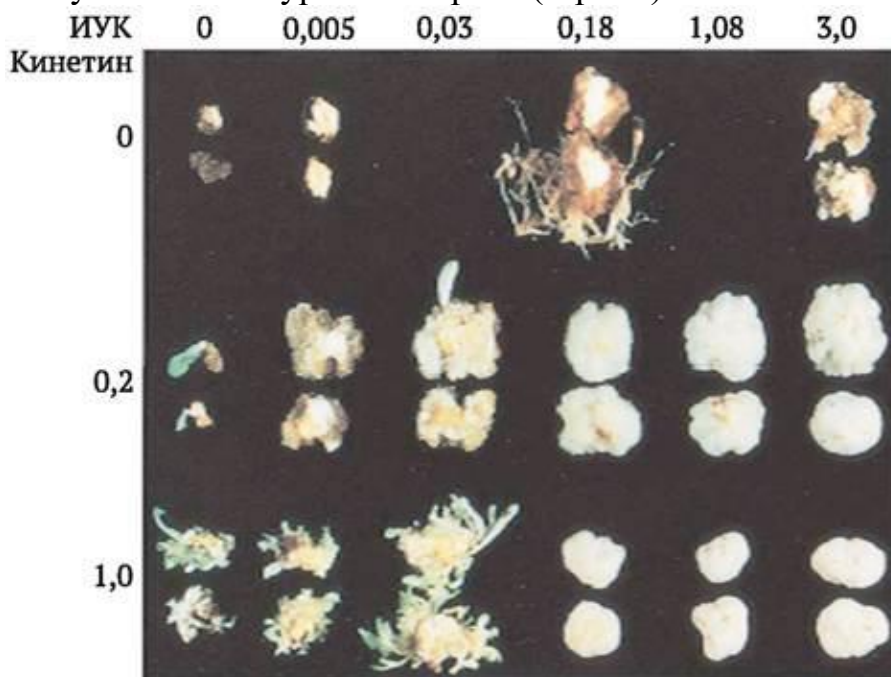
Ўсимлик ҳужайраларини културалаш билан боғлиқ бўлган омиллар орасида морфогенез учун озуқа муҳити таркиби, хусусан, фитогормонлар (ўсиш регуляторлари)нинг таркиби ва нисбати, унинг консистенцияси (суюқ ёки агарли), шунингдек ўстириш учун шароитлар: ҳарорат, қоронғулик ёки ёруғликда ўсиши, ёруғликнинг табиати (ёруғликнинг спектрал хусусиятлари, ёруғлик интенсивлиги ва фотопериоднинг узунлиги), экинларга стресс омиллар (масалан, ҳарорат ўзгартирилиши), электр токига билан таъсир қилиш, ва бошқалар жуда муҳимдир.

Морфогенезни индукция қилиш. Гормонлар - морфогенез индукторлари

Морфогенезнинг у ёки бу рағбатлантирувчиси таъсири остида каллус ҳужайраси **детерминацияланади**, яъни у ўзининг кейинги тараққиёт йўлини белгилаб олади. Бироқ, ҳамма ҳужайралар эмас, балки 400-1000 тасидан биттаси морфогенезга олиб келаган иккиламчи дифференциация йўлини олади. Шунинг учун морфогенезга ўтиш учун индуктор (стимул) етарли эмас, балки ҳужайранинг унга жавоб беришга тайёр бўлиши зарур. Индуцирловчи таъсирни қабул қилиш ва ўзининг тақаддири дастурини ўзгартириб, унга нисбатан махсус жавоб реакциясини бериш қобилияти ҳужайралар **компетенцияси** деб аталади. OptAd360 tomonidan e'lonlari

Одатда морфогенезнинг стимули ёки морфогенз сигнали деб аталадиган органогенезнинг энг кучли индуктори бу озуқа муҳитига кирувчи

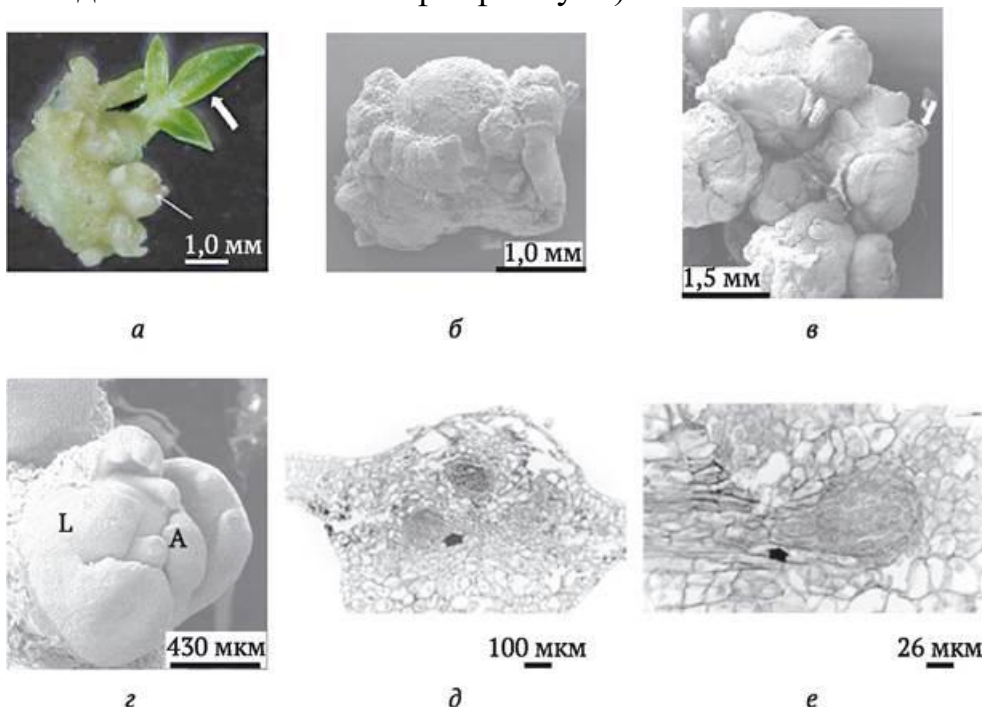
цитокининлар ва ауксинлар концентрацияси нисбатнинг ўзгартирилиши ҳисобланади. Ҳозирги вақтда F. Skoog ва K. Miller (1957) нинг дастлабки мақолаларида тамаки поя паренхимасидан олинган каллусни ауксин (ИСК) ва цитокинин (кинетин) ўз ичига олган озуқа муҳитида тахминан тенг моляр концентрацияларда ўстиришда хужайранинг интенсив кўпайиши-**пролеферацияси**, ауксоксинларга нисбатан цитокининлар устунлиги поя органогенезининг тезлаша бошлаши, агар ауксинлар устун бўлса, илдиз органогенези кучайишини кўрсатиб берган (- расм).



Расм. Ауксин (индолил сирка кислотаси, ИСК) ва цитокининлар (кинетин) концентрациясининг озуқа муҳитидаги нисбатига қараб тамаки хужайрари културасида поя ва илдиз органогенези (F. Skoog, C. O. Miller, 1957)

Каллус тўқималарида органогенез муайян таъсирлар таъсири остида (биринчи навбатда ауксин ва цитокининларнинг озуқа муҳитдаги нисбати ўзгарганда) компетент хужайра ёки компетент хужайралар гуруҳи атрофдаги каллус хужайраларидан ажратиб олиниши билан бошланиб (J. G. Torrey, 1966), юқори даражада митотик фаолликка эга - **меристемоид** (баъзан "**унициал**" "бошловчи") деб аталадиган қисмларни ҳосил қилади. Меристемоидлар одатда каллуснинг пастки қисмида, трахеяга ўхшаш элементларнинг ёнида жойлашган бўлиб, бу жойлашув уларга улар озуқа муҳити билан алоқани ва гормонал стимулларни қабул қилиб олишни таъминлайди. Меристемоид хужайралари каллус хужайраларининг қолган қисмидан кичик ўлчамлари билан ажралиб туради, изодиаметрик шаклга, ингичка деворларга ва кўплаб кичик вакуолаларга эга бўлади. Катта ядро одатда марказий жойни эгаллайди. Кейинчалик, меристематик фокусда поя, илдиз, барг ёки гул куртаклари рудиментлари фарқланади ва шунга мувофиқ поя, илдиз, барг ёки гуллар органогенези юзага келади (..-расм). Меристемоидлар ҳосил бўлишидан олдин уларнинг жойлашиш зоналарида крахмал тўпланиши кузатилади. Органогенез жараёнининг ўзи сезиларли

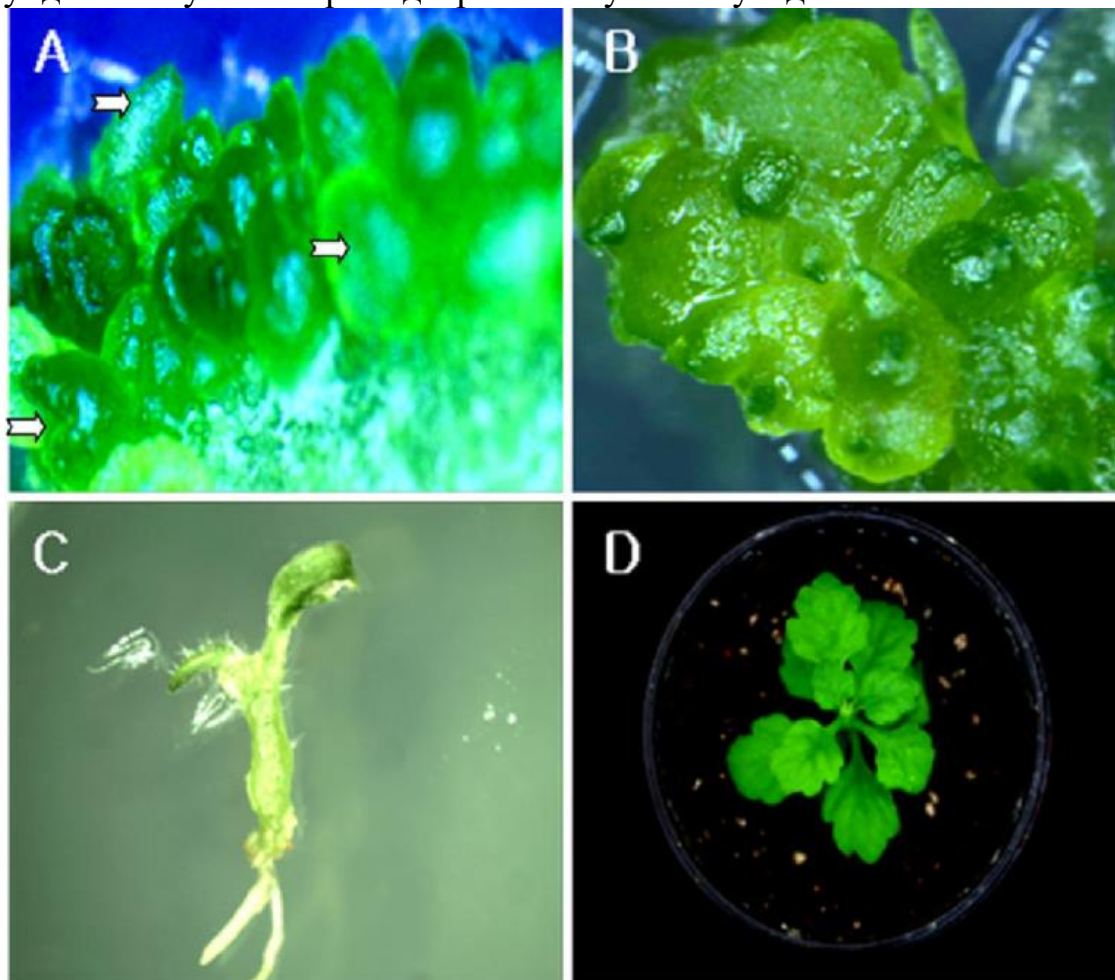
даражадаги энергия сарфи билан амалга ошади (гликолизнинг кўпайиши ва углевод оксидланишининг пентозфосфат йўли).



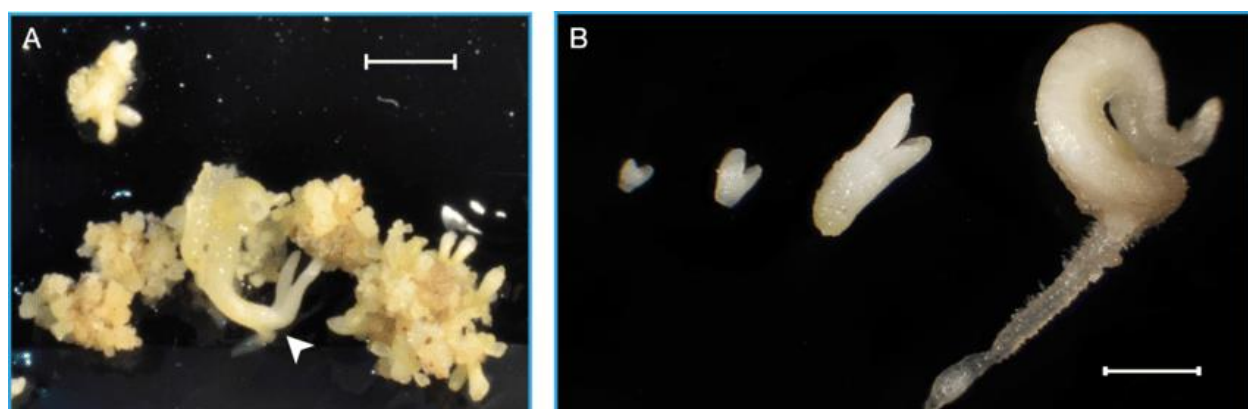
Расм *Sclerocarya birrea* барг эксплантдан *in vitro* шароитида шаклланган куртаксимион меристемоид кўриниши ва ривожланиш босқичи ((а-г) М. Мoyo ва бошқ., 2009.); *Passiflora edulis* барги эксплантининг (д ва е) *in vitro* културалашда шаклланган меристемоиднинг анатомик тузилиши (В. Gloria ва бошқ., 1999): а - барг экспланти културасида ҳосил бўлган меристемоид (ингичка ўқ) ва поясимон тузилма (қалин ўқ) кўриниши; б - меристемоиднинг глобулар тараққиёт босқичининг электрон микрофотографияси; (в) дифференциалланиш бошлаган меристемоидлар кластерининг электрон микрофотографияси, ўқ ривожланаётган вегетатив куртаклардан бирига ишора қилмоқда; г - дифференциалланган апикал меристем (А) ва барг примордиалари (L) билан бирга ҳосил бўлган вегетатив куртакнинг микрофотографияси.; д ва е - *Passiflora edulis* барг эксплантининг гистологик кесмаси, эксплантни 21 (е) ва 28 (е) кун давомида 1 мг / л нафтилсирка кислота қўшилган Мурасиге - Скуг озуқа муҳитида ўстириб олинган; ўқ билан барг эксплантининг барг томир тизимида шаклланган илдиз меристемоида ҳосил бўлган жой кўрсатилган.

Соматик эмбриогенезни индукция қилиш учун одатда озуқа муҳитида ауксин (кўпинча 2,4-Д) бўлиши керак. Соматик эмбриогенез чақириш учун ишлатиладиган бошқа эмбриогенез индукторлари каби (масалан, электр майдони) ауксин, компетент хужайралар қутбланишини ўзгартиради, бу эса эндоген ауксиннинг градиентлари ва калцийнинг биоэлектрик потенциали ҳосил бўлишига олиб келади. Бундан ташқари, хужайраларда цитоскелет элементларининг қайта ташкил этилиши содир бўлади, бу уларнинг қутбланиши ва кейинги ассиметрик бўлинишлар билан боғлиқ. Айнан ассиметрик бўлиниш натижасида ҳосил бўлган кичик қиз хужайралар эмбриоген, (эмбриогенезга кўра белгиланади). Бўлади. Дастлаб аниқланган

эмбриоген хужайралар бошланғич эксплант тўқималарида учраши мумкин бўлиб, бу эса мазкур эксплантлардан «эмбриоген каллус» олиш имконини беради, ундан эса кўплаб эмбрионидлар олиш мумкин бўлади.



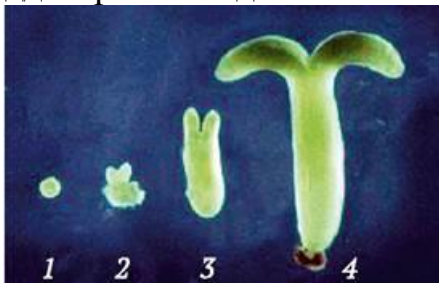
Анжир. 3.8. *Chrysanthemum* cv. *Euro* бағз эксплантидан соматик эмбриогенез https://www.researchgate.net/figure/Plant-regeneration-via-direct-somatic-embryogenesis-from-leaf-explants-of-Chrysanthemum_fig1_257668382



Расм. Узум - *Grapevine* (*Vitis vinifera* L., cv. *Mencía*). ДМ1 дифференциация муҳитида ўстирилган соматик эмбрион агрегатлари. А- 30 кунлик ўстиришдан сўнг асинхрон ривожланишни кўрсатадиган соматик эмбрион агрегатлари. Ўқ учи билан муддатидан олдин ўсиб чиққан соматик эмбрион. Bar: 1mm. В - ДМ1 дифференцирловчи озуқа муҳитида ўстирилган

соматик эмбрионларнинг ривожланиш босқичлари. Чапдан ўнгга, юрак босқичи, торпедо босқичи, уруғпалла босқичи ва эрта ривожланган эмбрион босқичи. Bar: 1mm

Эмбриоген хужайраларнинг бўлиниши натижасида глобулар проембрио ҳосил бўлади. Унинг кейинги ривожланиши учун култураларни концентрациядаги ауксинни берилган озуқа муҳитга ёки умуман гормонсиз муҳитга ўтказиш талаб этилади. Дедифференция қилувчи омил (ауксин) ни озуқа муҳитидан чиқариб ташлаш, проембрионинг глобулар эмбрионга айланишига олиб келади, кейинчалик у зиготага хос эмбрионларнинг ривожланиш босқичига ўтади: "юрак", "торпедо", етук соматик эмбрионид ҳосил бўлади (-расм). Соматик эмбриодларда поя ҳамда илдизи меристемалари мавжуд бўлади. Пояси апексидан ўсимта ҳосил бўлади. Эмбрионнинг "илдизли" учи, одатда, каллус томонга йўналган бўлиб, унинг ичига қараб ҳосил бўладиган илдизлар "ўсади" ва янги шаклландиган ўсимлик керакли озиқ моддаларини олади.



Соянинг соматик эмбрионидлари гисто-дифференциацияси босқичлари: 1 - глобулар эмбрион; 2 - "юракча"; 3 - "торпедо"; 4 - етук соматик эмбрионид. (www.parrotlab.uga.edu)

Регенерант ўсимликларни олиш

Поя органогенези ёки соматик эмбриогенезни индукция қилиш регенерант ўсимликларни олишга имкон беради. Поя органогенези ёрдамида ўсимликлар каллус култураларидан, шунингдек адвентив куртакларни ёки поя қаламчаларининг яширин куртакларидан индукция қилиш орқали эксплант хужайраларидан қайта тикланади. Адвентив (қўшимча-ён) куртаклари зараланмаган-интакт ўсимликларда поянинг юқори қисмида ёки барг қўлтиғида емас, балки ўсимликнинг турли хил органларида (илдизлар, барглар, поялар) да ҳосил бўлади. Бунда улар апикал меристемалар билан боғлиқ бўлмасдан, балки юза ва чуқур жойлашган турли хил тўқималардан ҳосил бўлади. Хужайра културасидан фойдаланиш барг, туганак, новда ва ўсимликнинг бошқа қисмлари эксплантатларидан кўп миқдордаги адвентив куртакларини олишга имкон беради. Худди шу ҳолат поя эксплантларининг яширин куртакларидан поя индукциясига тегишлидир. *in vitro* да (вегетатив) клонли микроқўпайтиришнинг асосий усуллари регенерант ўсимликларни яширин ёки адвентив куртаклардан олиб ўстиришга асосланади. Куртаклардан ҳосил бўлган пояларни ауксин берилган (ёки ўстириш

регуляторлари берилмаган) озуқа муҳитларида илдиз олдириб, кейин *in vivo* шароитига ўтказилиб, улардан етук ўсимликлар ўстирилади.

Соматик эмбриогенезни хужайралар суспензияси културасида, каллус култураларида, чангчи култураларидан ҳам индуцирлаш – ривожлантириш мумкин. Ҳосил бўлган эмбрионлар гормонсиз озуқа муҳитга ўтказилиб, унда ёруғликда ўстирилгач эмбрионлардан пробирка ўсимликлари ривожланади, улар бироз ўсгач кейин грунтга экилади. Шунинг учун соматик эмбриогенез ўсимликларнинг клонли микрокўпайтиришда қизиқиш уйғотади.

Хулоса

Ўсимликлар эмбрионининг ривожланаётган хужайралари ихтисослашмаган бўлади. Улар интенсив равишда бўлинади ва турли ўсимлик тўқималари ва органларини ҳосил қилиши мумкин. Дифференциация жараёнида хужайралар ихтисослашади; аммо, улар бўлиниш қобилятини йўқотадилар. Эмбрион ҳолатида фақат меристемаларнинг хужайралари қолади. Бироқ, ўсимликларда маълум шароитларда, масалан, шикастланганда янги, иккинчи даражали меристемалар пайдо бўлиши мумкин. Жароҳат меристемалари интенсив равишда бўлиниб, жароҳат жойини қоплайдиган, дифференциаллашмаган паренхимал хужайралардан ташкил топган махсус тўқима -каллусни ҳосил қилади. Уларнинг иккиламчи дифференциацияси жараёнида шикастланган тўқималар ва органлар тикланади.

Айрим ўсимлик хужайраларининг ривожланиш дастурини ўзгартириши, дедифференциацияни ўтказиши, иккиламчи дифференциациядан ўтиши ва натижада яхлит бир ўсимлик пайдо бўлиши, яъни уларда мавжуд бўлган генетик маълумотни англашга лаёқатлилигини **тотипотенция** деб аталади

Назорат саволлари

1. Иккиламчи меристемалар бирламчидан нимаси билан фарқ қилади?
2. Қайси фитогормонлар ихтисослашган ўсимлик хужайрасини дедифференциаланишга ўтишига туртки беради?
3. дедифференция пайтида хужайралар тузилиши ва метаболизмида қандай ўзгаришлар юз беради?
4. Ўсимликларнинг "одатланган" ва шиш хужайраларининг гормонга боғлиқлиги қандай фарқ қилади?
5. суспензион култураларида хужайраларнинг ўсиш тезлиги ва яшовчанлигини баҳолаш учун қандай параметрлардан фойдаланилади?
6. Протопластларни олишда осмотик моддаларни озуқа муҳитига қандай мақсадда киритилади?
7. Якка хужайралар ва протопластлар културасида бўлинишни қўзғатиш-индуцирлаш ва қайта тикланадиган-регенерант ўсимликларни олиш учун ишлатиладиган асосий ёндашувлар қандай?
8. Ўсимликлар хужайралари културасида иккиламчи дифференциация қайси шаклда содир бўлиши мумкин?

9. *in vitro* културада ҳужайраларнинг органогенезга ўтишини қўзғатиш-индуцирлашнинг асосий омиллар қайсилар?

10. Ўсимликлар ҳужайралари културасида соматик эмбриогенез жараёнида юз берадиган жараёнларни айтиб беринг.

11. Поя органогенези ва соматик эмбриогенез ёрдамида ҳужайра културасида қайта тикланган –регенерацияланган ўсимталарнинг бир-биридан фарқи нимада?

IX боб. ЎСИМЛИКЛАРНИ КЛОНЛИ МИКРОКЎПАЙТИРИШ

in vitro да шароитида ҳужайралар, тўқималар, органлар култураси усулларида фойдаланиш ўсимликларни вегетатив кўпайтириш ва генетик коллекцияларини сақлаб қолиш учун янги имкониятлар очади. Қишлоқ хўжалиги ёки манзарали ўсимликларни агар улар кўпайиш учун махсус органларга эга бўлса (илдиз, пиёз, пиёз, туганак) вегетатив йўли билан кўпайтирилади, ёки уларнинг ювенил даври (вояга етиш даври) узоқ давом этадиган бўлса, ҳосилни йиғиш вақти чўзилиб кетиб, бу эса алоҳида генотипларни селекцион жиҳатдан баҳолашни қийинлаштиради (ёғоч пояли экинлар ва буталар).

Вегетатив равишда кўпаядиган ўсимликларнинг навлари ва турлари, одатда, мураккаб гетерозиготалар, полиплоидлари ҳам учраб турали. Уруғидан кўпайтириш орқали уларнинг генотипини қайта тиклашнинг деярли имкони йўқ. Вегетатив кўпайтириш, селекция ва хўжалик аҳамияти жиҳатидан қимматли бўлган бир генотипдан кўплаб нусхаларни олиш имконини беради, бу эса уни уруғли кўпайтиришдан асосий устунлиги ҳисобланади. Бундан ташқари, вегетатив кўпайтириш йўли билан секин ривожланадиган ўсимликлардан анча тез ҳосил олиш имконини беради.

Масалан, олма дарахтининг шохига пайванд қилиш йўли билан бирикки йил ичида бизни қизиқтирган навадан мева олиш мумкин.

Бироқ, вегетатив кўпайиш бир нечта камчиликларга ҳам эга. Табиий вегетатив кўпайишда кўпайиш коэффициенти одатда уруғидан кўпайтиришга нисбатан юқори эмас. Бу усулда, битта ўсимликнинг уруғлик картошкасидан кўпайтирганда, фақат экиш учун ишлатилиши мумкин бўлган 4-10 дона туганак олинади. Шу билан бирга, битта буғдой уруғидан юздан ортиқ уруғ олиш мумкин. Уруғлик туганаклар, пиёзбошлар оддий уруғлардан ҳажм жиҳатидан анча катта. Уларни сақлаш учун катта хоналарга эҳтиёж сезилади, шанинингдек хоналарда маълум бир ҳарорат ва намлик сақланиб туриши керак бўлиб, бу кўпинча катта энергия харажатларини талаб қилади. Вегетатив кўпаядиган экин навлари вегетация даврида турли инфекцияларни тўплаб, улардан кейинги авлодларга берилиш эҳтимоли юқори бўлади. Бактериал ва замбуруғли инфекцияларини тегишли кимёвий воситалар билан бартараф этиш имкони бўлса ҳам, вируслар ва вироидлар келтириб чиқарадиган ўсимлик касалликларини оддий ташқи даво воситлари билан даволаш муваффақият келтирмайди. Шунинг учун вегетатив кўпаядиган экинлардан уруғлик материали етиштириш уруғли экинларига қараганда анча мураккаб ва қимматга тушади. Одам иштирокида олиб бориладиган вегетатив кўпайитиришнинг айрим турлари (пайвандлаш, қатламчалаш ва

бошқалар) жуда машаққатли, аниқ мавсумий хусусиятга эга, бунда жуда катта ҳажмдаги иш қисқа вақт ичида бажарилиши керак бўлади.

Веgetатив равишда кўпаядиган экинларнинг генетик коллекцияларини сақлаш ҳам катта харажатлар билан боғлиқ. Кўп ҳолларда, ҳар йили экиб туриш талаб қилинади. Бунинг учун катта майдонлар ҳайдалиб, ўғитлар қўлланилади, ўсимликларни парвариш қилиш бўйича барча агротехник тадбирлар амалга оширилади, ўсимликларни ҳимоя қилиш ишлари ташкил этилади, йиғиш ва саралаш ишлари олиб борилади ва йиғилган туганак ва пиёзбошларни сақлаш ишлари олиб борилади. Ўсимликларни соғлом ҳолатда сақлаш, вирусли касалликларга чалинганларни чиқариб ташлашга алоҳида талаблар қўйилади. Алоҳида намуналарни сақлаш, агар улар ўстирилиши лозим бўлган шароитга мослаштирилмаган бўлса жуда қийин кечиши мумкин. Масалан, касаллик ва зараркунандаларга қаршилик чидамлилиги бўйича қимматли генларнинг манбаи бўлган селекция учун аҳамиятли картошканинг ёввойи турлари намуналаридан мўътадил иқлим минтақаларида узун кун шароитида туганаклар олиш имкони мавжуд эмас.

in vitro да вегетатив кўпайтиришни амалга ошириш билан юқорида келтирилган бир қанча камчиликларни сезиларли, даражада бартараф этиб, юқори самарадорликка эришиш мумкин. *in vitro*да ўсимликларнинг клонал кўпайтиришнинг замонавий технологияларидан фойдаланиш юқори кўпайиш коэффицентини таъминлайди. Шундай қилиб, битта пробиркадаги картошка ўсимлигидан йилига юз мингдан ортиқ ўсимлик олиниши мумкин. Ушбу технологиянинг энг муҳим афзаллиги шундаки, ундан фойдаланиб анъанавий усуллар билан кўпайтириш қийин бўлган ўсимликларни самарали равишда кўпайтириш мумкин. Барча ишлар йил давомида амалга оширилиши, катта майдонларни талаб этилмаслиги ҳам муҳим томонларидан биридир. Ўсимликлар пробиркада кўпайтирилганда, уларни вирусли ва бошқа касалликлар билан қайта юктириш хавфи йўқлиги (асл она ўсимлик соғлом бўлиши шарти билан) жуда муҳимдир.

Умуман, *in vitro* да ўсимликларнинг клонал кўпайтириш технологияларини қўллаш анъанавий вегетатив кўпайиш технологиялари билан таққослаганда иқтисодий жиҳатдан анча фойдалироқ ва юқори сифатли уруғлик материални олишга имкон беради.

Соғломлаштирилган экиш материални олиш учун апикал меристемалар културасидан фойдаланиш

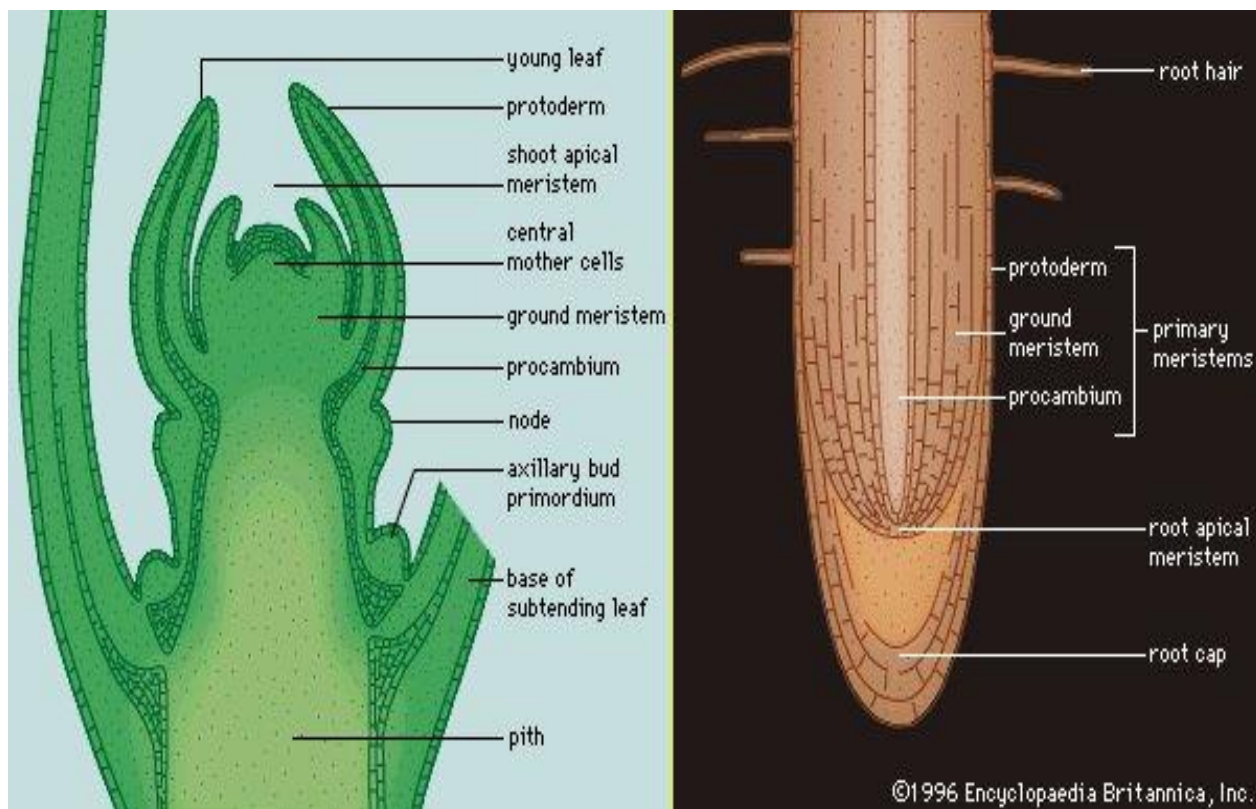
Веgetатив кўпайтиришнинг мақсади - энг қисқа вақт ичида она ўсимликдан кўпроқ соғлом ўсимликларни етиштириш. Шу билан бирга, ушбу янги олинган ўсимликлар иложи борица она ўсимликнинг генотипи ва фенотипини, биринчи навбатда унинг амалий аҳамиятга эга бўлган хусусиятларини кўпайтириши муҳимдир. Аксарият ҳолларда анъанавий вегетатив кўпайиш асосан поя куртаклари (ён, яширин, куртаклар, туганаларнинг "кўзлари") билан кўпайишдир. Бу тасодикий эмас, чунки соғлом ўсимликларни олиш имкониятини таъминлайдиган бу куртакларда жойлашган апикал меристемаларнинг ўзига хос хусусияти кўпайиш пайтида она ўсимлик генотипининг сақланиб қолишини таъминлайди.

Меристемалар зиготик эмбрионнинг ривожланиши жараёнида ҳосил бўлади. Меристеманинг айрим (бошланғич-инициал) ҳужайралари дифференциаллашмаган (ихтисослашмаган) ҳолда сақланиб қолади ва бўлиниб, ўсимликнинг узлуксиз ўсишини таъминлайди. Бошқа ҳужайралар аста-секин ажралиб, доимий тўқималарни ҳосил қилади (қопловчи, ўтказувчан, механик ва бошқалар). Ихтисослашган тўқималарнинг ҳужайраларидан фарқли ўлароқ, апикал меристемаларнинг бошланғич ҳужайралари юқори цитогенетик барқарорлиги билан ажралиб туради: ўсимлик ҳаёти давомида улар, одатда, зиготанинг генотипини сақлаб қолади. Патогенсиз экиш – соғлом матэриалини ишлаб чиқариш учун апикал меристема културасидан фойдаланиш вегетатив кўпайтиришнинг мақсади - энг қисқа вақт ичида она ўсимликидан кўпроқ соғлом ўсимликларни олиш. Шу билан бирга, ушбу янги ўсимликлар иложи борида она ўсимликнинг генотипи ва фенотипини, биринчи навбатда унинг амалий аҳамиятга эга бўлган хусусиятларини кўпайтириши муҳимдир.

Меристемик тўқималарнинг яна бир муҳим хусусияти – бу ҳатто вируслар билан зарарланган ўсимликларда ҳам вирус зарраларининг бўлмаслиги ёки жуда паст концентрацияда учраши ҳисобланади. Бундан ташқари, ихтисослашган тўқималар ҳужайраларида вирусларнинг титри қанчалик юқори бўлса, улар апикал меристемалардан қанчалик узоқ жойлашган бўлади. Одатда, поянинг апикал меристемаси ўсиш конусидан, шунингдек битта ёки иккита барг пбашланғичидан (примордия) иборат бўлади(-расм). Унинг дистал қисмининг (марказдан узоқда жойлашган қисми) ўртача диаметри тахминан 200 μm , баландлиги 20 дан 150 μm гача бўлди. Пастки қатламларда меристеманинг дифференциал ҳужайралари прокамбийни ҳосил қилади, бу эса ўтказувчи тизимнинг боғламларини келтириб чиқаради. Апикал меристеманинг бу структуравий хусусияти вирус заррачаларнинг унга ўтказувчан тизим орқали тезкор транспорт орқали кириб боришини истисно қилади, аммо бунда меристема ҳужайраларини бирлаштирувчи плазмодесмалар орқали секин тарқалиш эҳтимоли бўлади. Бундан ташқари, меристеманинг интенсив равишда бўлинадиган ҳужайраларининг юқори метаболик фаоллиги вирус зарраларнинг кўпайишини олдини олади, деб ҳисобланилади. Худди шу таъсир меристема ҳужайраларида юқори концентрациядаги ауксинлар воситасида келиб чиқиши ҳам мумкин.



Поянинг учки куртагининг тузилиши



apikal meristemalarni ildizi va otish

Hypericum uralumning apikal apikal meristemasi (chapda) *poynaning* eng yuqori qismida paydo bo'ladi. Apikal meristemaning orqasida birlamchi meristematik to'qimalarning uchta mintaqasi joylashgan. Ildizning apikal meristemasi (o'ngda) darhol himoya ildiz qopqog'i orqasida paydo bo'ladi. Apikal meristemaning orqasida uchta asosiy meristema aniq ko'rinadi.

1952-йилда, Ж. Морел ва С. Мартин картошкагул ўсимлигини соғломлаштириш усули ишлаб чиқилган бўлиб, бунинг учун *in vitro* културалаш учун ўлчами 100 μм бўлган апикал меристемалардан фойдаланилган. Ўшандан бери ушбу усул вегетатив кўпаядиган ўсимликларнинг кенг доирасида турли даражадаги самарадорлик билан қўлланилиб келинмоқда. Меристемалар култураси ўсимликларни нафақат вируслардан, балки бактериал, замбуруғли инфекциялар, виroidлар ва микоплазмалардан ҳам соғломлаштиришга имкон беришини аниқланган. Кейинчалик электрон микроскоп ёрдамида олиб борилган тадқиқотлар меристема хужайраларида ҳам вирус зарралари мавжудлигини кўрсатди.

Аммо, кўп ҳолларда, айниқса инфекциянинг дастлабки босқичларида, меристемик тўқималар узоқ вақт касалликдан ҳоли бўлиши аниқланган. Шундай қилиб, поя меристемлари вегетатив кўпайтиришга мослашган ўсимликлар учун энг *in vitro* да културалаш учун муносиб эксплантант бўла олади ҳамда она ўсимлик генотипини юқори даражада сақлаб қолиш ва соғлом ўсимликлар олиш имкониятини беради. Саноат миқёсида кўпайтиришнинг биринчи босқичи - нав, дарахт ва бута турларининг энг мос келадиган ёки ижобий хусусиятлар тўплами тавсифи билан ажралиб турадиганлари (масалан, плюc- белгига эга дарахтлар) ни танлаб олиш. Културага киритилишидан олдин танланган ташқи кўриниши соғлом она

Ўсимликларини турли хил усуллардан фойдаланган ҳолда асосий вирусларнинг мавжудлигини қўшимча равишда текширилади: биотестлар (индикатор, яъни патогенга ўта сезгир ўсимликларни зарарлантириш), электрон микроскоп, иммунофермент таҳлили (ИФА) –ELISA (инглиз тилидан enzyme linked immunosorbent assay, фермент билан боғлиқ имуносорбент таҳлили)

Сўнгги пайтларда патогенларнинг нуклеин кислоталарини таҳлил қилишга асосланган усуллар қўлланилмоқда: электрофорез, *in situ* гибридизация турли нишонлардан фойдаланиш билан биргаликда (масалан, NASH – nucleic acid spot hybridization), ПЗР таҳлил вариантлари (масалан, RT-PCR – reverse transcription polymerase chain reaction). тескари транскрипсияли полимераза занжири реакцияси.

Апикал меристемалар *in vitro* култураси асептик шароитларда бинокуляр микроскоп остида поянинг ўсиш конусининг юқори қисмидан тахминан 200 мкм ажратиб, уни агар озиқа муҳитига қўчириб ўтказиш олинади (5.1-расмга қаранг). Цитокининлар ва ауксинлардан ташқари озуқа муҳитга озгина миқдорда гиббереллин қўшилади. Ўстириш ёруғликда амалга оширилади. Эксплантатнинг қанча кўп баргли примордийлари бўлса, у озуқа муҳитига осонроқ мослашади, ундан ниҳолларнинг тикланиши шунчалик яхши бўлади. Аммо, агар мақсад касалланган ўсимликлардан, вируссиз регенерант ўсимликларни олиш бўлса ёки она ўсимликларини таҳлил қилишда биронта ҳам вирус аниқланмаганлиги шубҳа уйғотса, эксплантат ҳажми иложи борица кичик олиниши керак. Соғломлаштириш самарадорлиги нафақат эксплантат ҳажмига, балки вирус турига ҳам боғлиқ. Чунки картошканинг Y вирус (PVY) дан ҳоли 70% ва X вирус (PVX) дан ҳоли атиги 10% ўсимликларни олишга эришилган.

Меристемалар култураси ёрдамида вирусли инфекциядан қутулиш самарадорлигини ошириш учун она ўсимликлар эксплантларини ажратишдан олдин термотерапия усулида - узок вақт юқори ҳарорат таъсирида даволанади. Термотерапия иқлим камераларида ўсимликларнинг ёритилиши тахминан 5 минг люкс; фотопериод даври 16 соат бўлган, 37° С ҳарорат ва нисбий намлик 90% да амалга оширилади;.. Биринчи ҳафта давомида ўсимликлар аста-секин юқори ҳароратга мослашади ва ҳар куни уни 25 даражадан икки даражага кўтарилиб 37 ° С гача етказилади. Термотерапия давомийлиги ўсимликлар ва вируслар турига қараб фарқ қилади. Масалан, чиннигулни вирусдан ҳоли қилиш учун 10-12 ҳафта иссиқлик билан таъсир қилиш kifoya қилади. Меристемалар култураси билан биргаликда термотерапияни қўллаш вирусдан ҳоли қулмоқ ўсимлигининг 70 фоиздан кўпроқ, кулупнай ўсимликларининг 90 фоиз, қора ва қизил смородина ўсимликларининг 25 фоиз, малинанинг 50 фоиз, картошка экинларининг 80% регенерант ўсимликларини олиш имконини беради. Микоплазмалар келтириб чиқарадиган касалликларни даволаш учун термотерапия усулининг самарадорлиги кўрсатилган.

Бироқ, ўсимликларнинг аксарият турлари юқори намликда юқори ҳароратга бардош бера олмайди: кўпинча ўсимликлар иссиқлик таъсиридан

анча олдин нобуд бўлади. Кўпгина вируслар термотерапияга чидамли (масалан, картошка вируслари орасида фақат барг буралиши вируси PLRV гина юқори ҳароратга сезгир). Термотерапия жараёнининг ўзи жуда қиммат ва махсус жиҳозларни талаб қилади. Қизиғи шундаки, баъзи ҳолларда экиш материалларини соғломлаштиришнинг самарали усули иссиқлик эмас, балки ўсимликларга совуқ билан ишлов беришдир. Масалан, картошка урчуксимон вироидидан (pSTV) қутулишга зарарланган туганакларни 6 ой давомида совиткичдада сақлаб, кейин меристемалар културасини олиш орқали эришилган. Меристемалар култураси билан бирга ўсимликларни вируслардан ҳоли қилишнинг яна бир усули бу хемтерапия ("химиотерапия" атамаси ҳам) қўлланилади. Бу апикал меристемалар ўстириладиган озучавий муҳитга вирусга қарши таъсирга эга турли хил моддаларни қўшишга асосланади. Бунинг учун кўпинча пурин ва пиримидин асосларининг синтетик аналоглари қ: цианогуанозин, 2-тиоурацил, Д-рибофуранозил-1,2,4-триазол-карбоксимид (тижорат номи – виразол)), шунингдек интерферон, ридостин (натрий рибонуклеат), биназа (микроб рибонуклеазаси), фенолкарбон кислоталар: салицил, галл, настарин, кофе, ферула, кумар қўлланилади.

Бир қатор ёғоч ва бута экинлари (гилос, олхўри, малина, смородина) ва баъзи гулли экинлар учун кимёвий терапиянинг ижобий таъсири қайд этилган.

Термо- ёки кимёвий терапиядан фойдаланиш меристема эксплантатининг ҳажмини ошириш соғломлаштиш самарадорлигини йўқотмасдан оширишга имкон беради, бу еса озуча муҳити бўйича эксплантларнинг яшаш даражасини оширади ва натижада соғломроқ қайта тикланганларни олишга имкон беради. ўсимликлар.

IN VITRO да ўсимликларни клонли микрокўпайтириш

Ўсимлик ҳужайралари, тўқималар ва органлар култураларини *in vitro* да вегетатив кўпайтиришни *in vitro* шароитида клонли микрокўпайтириш усули деб аталади "Клон" атамаси (юнон тилидан. шохча, ниҳол, бачки маъноларини англатади) дастлаб вегетатив кўпайиш усулларида фойдаланган ҳолда битта она ўсимликдан олинган ўсимликлар гуруҳини, биринчи навбатда мевали дарахтларни тушунилган. Кейинчалик, клон нафақат бутун гуруҳни, балки унинг алоҳида вакиллари ҳам (онадан ташқари) балки клонлаш жараёнининг ўзини ҳам тушунила бошланди. Ҳозирги вақтда биологияда "клон" атамаси кенгроқ қўлланилмоқда, масалан, илгари китобларда "ҳужайра клони" тушунчаси пайдо бўлган бўлса яъни битта ҳужайранинг митотик бўлинишидан келиб чиққан авлод ҳақида гап кетган. Юксак ҳайвонлар (Долли кўйи), ДНК молекулалари (молекуляр клонлаш) ва ҳаттоки алоҳида генлар клонланади. *in vitro* да ўсимликларни клонлаш жараёнини кўрсатиш учун "микроклонад кўпайтириш", "клонли микрокўпайтириш" ёки оддийгина "микрокўпайтириш" (инглиз тилидан. micropropagation) каби атамалардан фойдаланилади. Ўсимликларни клонал кўпайтиришлагги биринча атама-"микро" , шубҳасиз, ўсимликларни *in vitro* да клонли микрокўпайтиришнинг биринчи босқичи - апикал меристема културасини олишда эксплантатнинг микроскопик билан боғлиқдир.

***In vitro* да ўсимликларни клонли микроқўпайтириш усуллари**

Амалда ўсимлик организмларини микроқўпайтиришнинг қуйидаги усуллари қўлланилади:

- мавжуд меристемалар (поя апекси, ён ва яширин куртаклар) ривожланишини фаоллаштириш;
- эксплантатдаги ёки каллус културасида пайдо бўладиган адвентив куртакларни қўзғатиш (индукция);
- соматик эмбриогенез.

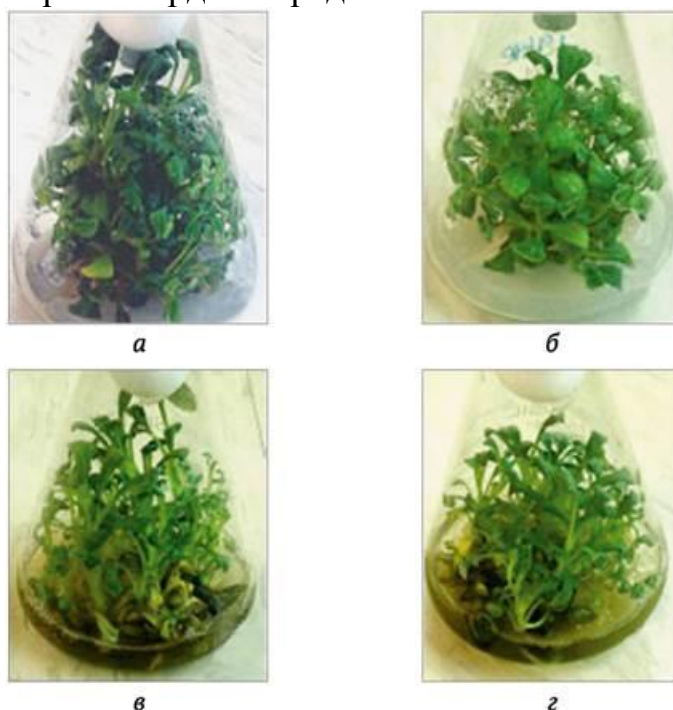
Мавжуд бўлган меристемалар ривожланишини фаоллаштириш апикал доминантликни йўқотишга асосланган. Апикал доминантлик – апикал куртак иштирокида ўсимликнинг ён куртакларининг ўсишини тўхтатиб қўйилиши. Уни пробирка ўсимликларидан икки усул билан: апикал куртакни олиб ташлаш ёки озуқа муҳитига цитокининлар қўшиш орқали олиб ташлаш мумкин. Ушбу усуллардан биринчиси, пробиркадаги ўсимликларни, одатда, битта ён меристемасини ўз ичига олган қаламчаларга бўлишни ўз ичига олади. Қаламчаларни озуқа муҳитига барг пластикасини тўлиқ ёки қисман олиб ташлаб, экилади. Бироз вақт ўтгач, ён меэристремаси фаоллашади ва бир ёки бир нечта ўсимта ҳосил бўлади. Шу билан бир вақда, қаламчаларда илдиз олиши содир бўлади. Натижада, нисбатан қисқа вақт ичида (картошқада қўпайтирилганда 3-4 ҳафтадан кейин) қаламчалаш ва клонлашнинг янги даврини бошлаш мумкин бўлган пробирка ўсимлиги олинади (-рasm). Ушбу репродукция пайтида қаламчалардан бири ён эмас, балки терминал куртакга эга бўлади. Бундан ташқари, қаламчалар озуқа муҳитига экилганида фаоллашади ва бир хил вақт ичида пробирка ўсимлигини ҳосил қилади.



Рasm. Пробирка ўсимликларни қаламчалаш билан картошкани клон микроқўпайтриш (ён ва учки (терминал) куртаклари фаоллашиши туфайли): 1 - озуқа муҳитига экилганидан сўнг ён куртаклари бўлган қаламча; 2 - ён ёки терминал куртакнинг фаоллашиши, илдиз отиш бошланиши; 3 - қаламчаларни озуқа муҳитига экишдан уч ҳафта ўтгач, илдиз отган пробирка ўсимлиги, уни 4 та қаламчага бўлиш ва кейинги клонлаш босқичини бошлаш мумкин; 4 - қаламчалашдан бир ой ўтгач ўсимликнинг кўриниши, қўпайиш

коэффициенти - 8

Иккинчи усулда апикал устунликни бартараф этиш учун цитокининлардан фойдаланиш апикал куртакни олиб ташламасдан ён куртакларнинг ривожланишига имкон беради. Бундай ҳолда, эксплантат куртакларидан ва эксплантатнинг апикал ва ён куртакларидан ўсишни бошлаган куртакларидан куртаклар конгломерати (қўлтиқ ости шохлари) ҳосил бўлади (-рasm). Улар маълум бир узунликка (1-2 см) етганида, эксплантатдан ажралиб чиқиб кейинги кўпайиш босқичи учун цитокининларни ўз ичига олган янги озуқа муҳитига ёки илдиз олиш учун ауксинли (баъзи ҳолларда ўсиш регуляторларисиз) муҳитга кўчирилади ва кейинчалик ерга экилади. Баъзи экинлар, биринчи навбатда, дарахт ва буталар кўпайиш даврида, ўсган ниҳолларни ex vitro да илдиз олдирилади ва бунинг учун махсус субстратлардан фойдаланилади. Бу эса махсулот таннархини пасайтиришга ёрдам беради.



Расм. *In vitro* клонал кўпайтирилган *Picrorhiza kurroa* доривор ўсимлиги кинетин берилган озуқа муҳитида ён шохлари ўсиши индукцияланган. Кейинги босқичда in vitro кўпайтириш ёки ерга экиб илдиз олдириш мумкин бўлган поя конгломератларини ҳосил қилган. а-г – турли таркиби ва концентрациядаги озуқа муҳити вариантлари (Н . Sood , R . Chanhan , 2009)

Мавжуд меристемаларни фаоллаштириш йўли билан микрокўпайтириш - ўсимликларни кўпайтиришнинг энг самарали усули. Бошқа усуллар билан таққослаганда, у асл она ўсимлигининг генотипини сақлаб қолишнинг энг юқори даражасини таъминлайди, чунки ҳосил бўлган клонлар тўғридан-тўғри меристематик хужайралардан келиб чиқади, улар юқори цитогенетик барқарорлиги билан ажралиб туради. Ушбу усул асосида сабзавот ва техник экинлар (картошка, помидор, бодринг, қалампир, ошқовоқ, спаржа, қанд лавлаги, қўлмоқ, тамаки, ернок, стахис ва бошқалар), мевали ва резавор экинлар (олма, олхўри, олча, нок дарахтлари, узум, малина, смородина, крижовник ва бошқалар), ёғоч ўсимликлар (терақ, тол,

олха, қайин, рябина, секвоя, туя, арча ва бошқалар), манзарали экинлар (чиннигуллар, хризантема, атиргул, гербера, орхидея), тропик ва субтропик ўсимликлар (рододендрон, азалеа, камелия, чой ва бошқалар) ни кўпайтириш технологиялари ишлаб чиқилган.

Адвентив куртаклар индукцияси йўли билан ўсимликларнинг *in vitro* клонал кўпайтириш усули ўсимлик хужайраси тотипотенцияси хусусиятига асосланган. Унинг моҳияти шундан иборатки, ўсимлик куртаклари бўлмаган ўсимликларнинг турли қисмлари ва аъзоларининг эксплантлари *in vitro* шароитида поя органогенезини келтириб чиқарадиган омиллар мавжуд бўлганда уларни шакллантиришга қодир. Тушунтириш учун барглар япроқлари ва бандлари, ёш тўпгуллар, пиёзбошлари ва пиёзбошнинг пўстлоқ қисмлари, ткганақ пиёзчалар, илдиз бачкилари, латерал ва интералар меристемалар ва бошқа органлари ва тўқималар ишлатилиши мумкин. Поя куртаклари эксплантациянинг эпидермал ва супэпидермал қатламларида *de novo* ҳосил бўлади. Улар ўсимлик учун "ғайриоддий" жойда пайдо бўлганлиги сабабли, улар **адвентив** (қўшимча) деб номланади. Бир қатор ўсимликлар мавжуд, улар учун **двентив** куртаклари ҳосил бўлиши вегетатив кўпайишнинг табиий усули ҳисобланади. Масалан, малина ва ежевика илдизи устида ривожланадиган илдиз бачкилари ёрдамида кўпаяди. Бегония, узамбар бинафшаси (сенполиялар) ва баъзи бошқа манзарали ўсимликлар асосан барг қаламчлари билан кўпаяди. *in vitro* културада, тегишли ўсиш регуляторларидан фойдаланиш туфайли (олдинги бобга қаранг), бу жараёни сезиларли даражада тезлаштириш мумкин; бундан ташқари, ўсимликларда амалда уларни *in vivo* да ҳосил бўлмайдиган, **адвентив** куртакларнинг оммавий шаклланишига эришиш мумкин. Эсплант иўқималридан адвентив куртакларни индукция қилиш пиёзбошли гулли ўсимликлар (лилия, нарцис, заъфарон, гулсафса, лола) ни микрокўпайтиришнинг энг кенг тарқалган усули – пиёзбош баргчалари, пиёзбошнинг асос қисми-тубидан, барг эксплантларидан кўпайтириш бўлса, кулупнайда меристема тўқималарида регенерация бўлган поя асос қисмидан; *Brassica* оиласи вакиллари (гулқарам, бошқарам, Брюссел қарами, брокколи) да- гипокотил, уруғпалла барглар, барг сегментларидан; сачратида- барг пластикаси сегментларидан, петунияда – илдиз сегментларидан глоксиния, сенполия, стрептокарпус, эхинапсусда- барг пластикаси сегментларидан кўпайтирилади.

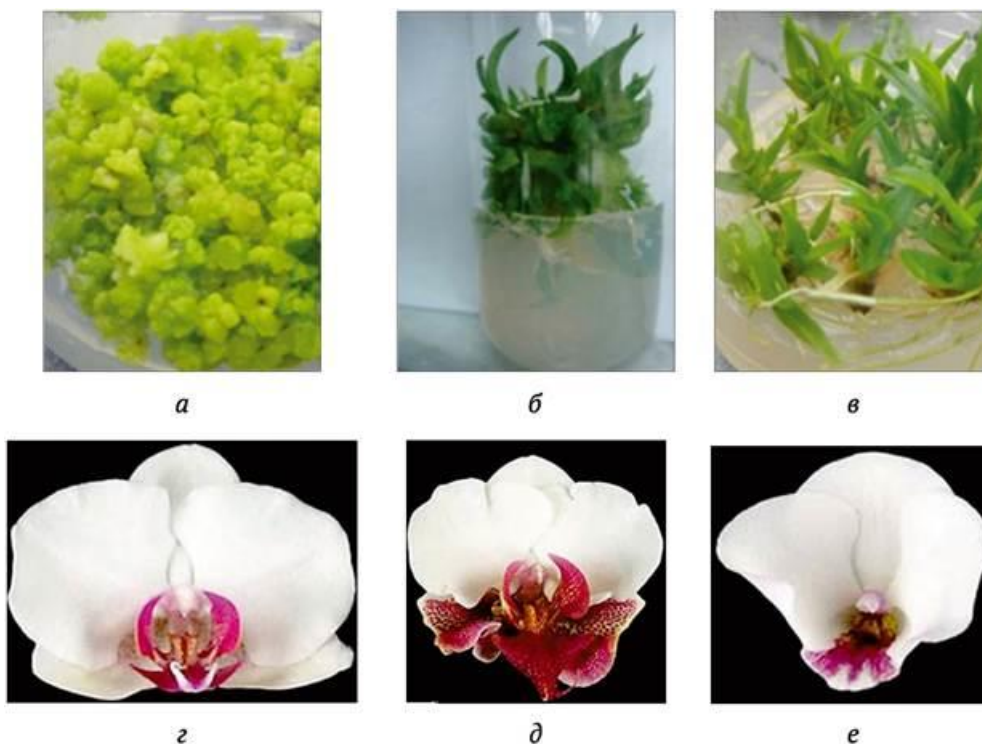


Ертут *Fragaria* × *ananassa* Duch.нинг микроклонал кўпайиши адвентив куртаклар индукцияси йўли билан;

регенерант културада поя асосидан, меристемадан кўпайиши (M. Biswas ва бошқ., 2009)

Ушбу усул ёрдамида олинган регенерант ўсимликлар ҳар доим ҳам асл она ўсимлик генотипини тўлиқ кўпайтира олмайди, чунки ихтисослашган тўқималар ҳужайраларининг цитогенетик барқарорлиги меристемик тўқималар ҳужайраларида бўлгани каби юқори эмас. Узоқ вақт давомида вегетатив равишда кўпайган ўсимликлар соматик мутацияларни тўплаши мумкин, натижада улар химер бўлади¹⁴. Баъзи манзарали ранг-баранг баргли, гулли ўсимликлар генетик химерлардир. Ўзгарган ҳужайралардан адвентив куртакларнинг ҳосил бўлиши генетик жиҳатдан ажралиб турадиган регенерант ўсимликларнинг пайдо бўлишига олиб келади. Шунга қарамай, тажриба шуни кўрсатадики, кўпайтиришнинг ушбу усулидан фойдаланганда кўп ҳолларда қайта тикланадиган регенерант ўсимликларнинг ўзгариши табиий даражадан ташқарига чиқмайди. Поянинг адвентив куртаклари *in vitro* да каллус културасида шаклланиши мумкин (поя органогенези). Юқори даражада органогенез учун қобилятига эга тез ўсадиган каллус култураси микрокўпайтиришни тезлаштириш учун қўшимча имкониятлар яратади. Бироқ, каллус ҳужайраларининг ирсий беқарорлиги асл она ўсимликдан сезиларли даражада генетик фарқлари бўлган (сомаклонал ўзгарувчанлик) регенерант ўсимликлар ҳосил бўлишига олиб келиши мумкин (-расм). Бундай ўсимликлар селекция учун қизиқиш уйғотиши мумкин, аммо ўзгарувчанлик тижоратбоп ўсимликларни кўрайтиришда муҳим камчилик ҳисобланади. Шунга қарамай, ушбу усул баъзи ҳолларда, бошқа усуллар самарасиз бўлган тақдирда ёки кам миқдордаги сомаклонал ўзгарувчан экинлар учун (амариллис, эписция, драцена, помидор, спаржа, баъзи дарахт турлари) муқобил вариант бўлиб ҳисобланади.

¹⁴ **Ximera** - genetik jihatdan bir-biriga o'xshamaydigan hujayralardan tashkil topgan organism, ximeralar hujayralari ikki yoki undan ortiq [zigotadan](#) kelib chiqqan organizmlardir



Расм. *Phalaenopsis* авлодига мансуб орхидеяни клонли микрокўпайтириш (а– в) *in vitro* културада каллус културада адвентив куртакларнинг билвосита регенерацияси асосида (А. Hussain ва бошқ 2012); адвентив куртаклардан регенерация бўлган *Doritaenopsis* орхидеяси соматоклонал вариабеллиги – турли туманлиги ((г–е) (S. Y. Park ва бошқ., 2009):: а – адвентив куртаклари тўпи ривожланиб келяётган каллус; б – пояларнинг оммавий равишда регенерацияси; в - пояларнинг гормонсиз муҳитда илдиз отиши; д – *Doritaenopsis*нинг эксплантат олинган (оддий гул) асл-дастлабки клони гуллари, д ва е – адвентив куртакларидан регенерация жараёнида олинган гул шакли ва ўлчамлари ўзгартирилган соматоклонал вариантлар

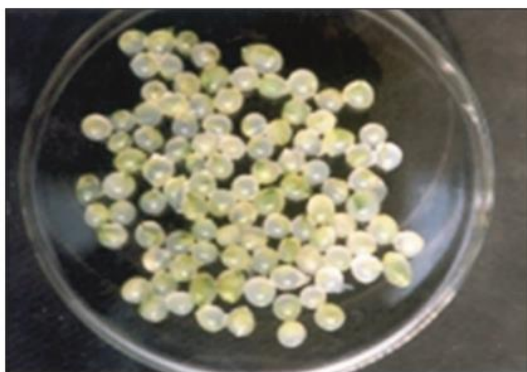
Юқоридаги барча ўсимликларда *in vitro* клонли кўпайтириш усули қўлланилиб, у тўқима экспланти ёки каллус хужайраларининг суспензион култураси соматик эмбриогенез индукциясига асосланган. Шу билан бирга, усулнинг баъзи ижобий хусусиятлари уни энг истиқболли усуллардан бирига айлантиради. Соматик эмбрионларни серияли ишлаб чиқариш ва уларни *ex vitro* шароитига мослаштириш технологиялари бир қатор муҳим экинлар учун яратилган. Ушбу технологияларда, биореакторлардан фойдаланиш кимконияти бошқалар усулларга нисбатан сезиларли даражада меҳнат харажатларини (ҳар иккала кўпайтириш усулида ҳам ўсимликлар кўпайтириш ва *ex vitro* шароитига кўчириб ўтказишда ҳам) маҳсулот таннархи камайтириш имконини беради ва эмбрионларни сунъий инкапсуляциялаш сунъий уруғларни механизатсиялашган ишлаб чиқариш (- бобга қаранг) ни ўз ичига олади.

Сунъий уруғларни олиш учун соматик эмбрионларни капсулалаш гоёсини Т. Мурасиге томонидан 1970-йилларда илгари сурилган эди. Бу 1980 йилга келиб: сабзи қуритилган соматик эмбрионларида (S. Kitto, J. Janik, 1982) ва нам (қуритилмаган) беда эмбриоди (K. Redenbaugh ва бошқ, 1984.)да амалга ошди Энг кенг тарқалгани бу

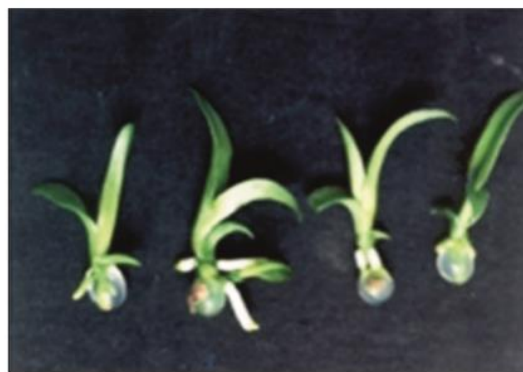
юқорида келтирилган технологияларнинг иккинчиси бўлиб, у соматик эмбрионларни агар, алгинат, карбоксиметилцеллюлоза, карагенан, гелрит, натрий пектати ва бошқалар каби турли хил гел табиатига эга моддаларда инкапсуляция қилишдан иборат бўлиб, унда энг яхши алгинатдан фойдаланишда натижаларга эришилди.

Алгин кислотаси сувўтлари толаларидан ҳосил бўлган табиий полисахарид бўлиб, иккита (турли нисбатлардаги) мономер: маннурон ва гиалурон кислоталаридан иборат. Ушбу кислоталарнинг узун занжирлари уч ўлчамли занжирларга ўзаро боғланиши мумкин, улар икки валентли металл ионларини ўзларининг карбоксил гуруҳларига боғлайди. Алгин кислотанинг натрий тузи сувда осон эрийди, ёпишқоқ эритмалар ҳосил қилади, шу туфайли у озиқ-овқат саноатида қуюқлаштирувчи ва стабилизатор сифатида ишлатилади. Сунъий уруғларни олиш учун натрий алгинат соматик эмбрионлар ўстирилган озуқа муҳитида эритилади ва битта эмбрионни пипеткалар билан жиҳозланган махсус мосламалар ёрдамида ушбу эритманинг алоҳида томчиларига жойлаштирилади. Алгинат томчилари ичидаги эмбрионлар билан бирга калций нитрат (натрий хлорид) эритмасида думалок зич капсулаларни ҳосил қилади, бунда Na^+ ионлари

Ca^{2+} ионларига ўрин алмашинади. Капсулаларнинг зичлиги алмашинган ионлар миқдориغا боғлиқ (одатда комплекс ҳосил бўлиши 1-5% натрий алгинат эритмаси билан 100 мМ калций нитрат эритмасида 20-30 минут давомида амалга оширилади, ундан кейин капсулалар сув ёки озуқа муҳити билан ювилади) (-расм).



а



б

Орхидеянинг сунъий уруғлари (алгинат гелидаги соматик эмбрионлар) (а) ва улардан олинган ниҳоллар (б) (Г. G. Saiprasad, 2001)

Соматик эмбрионлар, зиготик эмбрионлардан фарқли равишда, эндоспэрмни ўз ичига олмайди. Ушбу етишмовчиликни қоплаш учун барча керакли озиқ моддалар капсула матрицасига қўшилади. Бу эса 4°C да сақланганда эмбрионнинг нисбатан узоқ вақт (6 ой ва ундан кўп) дамида яшовчанлигини сақлаб, капсулалар ерга сепилганда униб чиқиш қобилиятини таъминлайди. Бундан ташқари, матрицага капсулаларнинг хавфсизлигини оширувчи фунгицидлар, пестицидлар, антибиотиклар ва эмбрионлар нафас олишини яхшиловчи фаол углерод киритилади. Баъзи ҳолларда (баъзи орхидея уруғларини капсулалашда) уруғларнинг

муваффақиятли униб чиқиши ва ниҳолларнинг ривожланиши учун зарур бўлган микоризаларни ҳам киритилади.

Сунъий уруғларнинг сифатини ошириш учун эмбрионларнинг ривожланиши синхронлаштирилади (турли ўлчамдаги элаклар ўтказиш, центрифугалаш, автоматик сепаррациялаш), инкапсуляциядан олдин олдин эмбрионларни ўстиришнинг махсус режими ҳам қўлланилади. Ушбу режим ёруғда (тахминан 300 люкс, фотопериод 16 соат) осмотик (10% маннитол) қўшилган суяқ озуқа муҳитида эмбрионларни ўстиришни ўз ичига олади. Шу вақт ичида уларнинг ўлчами 3-4 баробар кўпаяди, хлорофилл миқдори ошади. Кейин улар бир ҳафта давомида филтр қоғозида ёруғда қуритилади (улардаги сув миқдори 80-90% гача камаяди), сўнгра улар 2% сорбитол, 0,01 мг / л 6-БАП ва озуқа. 0,01 мг / л ГК₃ ҳаводаги карбонат ангидрид концентрацияси (2%) га келтирилган озуқа муҳитида икки ҳафта ўстирилади, бу даврда эмбрионлар автотроф озиклинишга ўтади.

Умуман олганда, сунъий уруғларнинг униб чиқиш даражаси пастлиги уларни кенг ишлатилишида асосий тўсиқ бўлиб хизмат қилади. Усулнинг муҳим камчилиги - бу олинган ўсимликларнинг соматоклонал ўзгарувчанлиги. Шунга қарамай, ушбу технология бир қатор қимматбаҳо экинларни кўпайтиришда қўлланилади: орхидея (дендробиум, цимбидиум, фаленопсис,

спатоглоссис), машҳур ҳинд доривор ўсимлиги ним (*Azadirachta indica*), сандал дарахти (*Santalum album*), беда, пахта. мойли палма (*Elaeis guineensis*) кабиларни кўпайтириш учун соматик эмбриогенезни индукция қилиш вегетатив кўпайтиришнинг ягона мақбул усули ҳисобланади.

Регенерант ўсимликларни *in vitro* шароитидан *ex vitro* шароитига ўтказиш муаммолари

In vitro шароитида клонли кўпайтириш йўли билан ўстирилган ўсимликлар тупроқда ўсаётган ўсимликлардан сезиларли даражада фарқ қилиб: юқори даражада ноорганик ва органик озуқа моддалари, углеводлар манбаи сифатида сахароза, муҳитдаги экзоген ўсиш регуляторлари, юқори даражада намлик, етарли бўлмаган ёруғлик ва паст даражадаги газлар алмашинуви кузатилади. Микроклиматнинг бу хусусиятлари эксплантларнинг пробиркада тез ўсиш ва кўпайиш учун жуда қулайдир, аммо улар ўсимликларнинг *ex vitro* шароитда яшашини жуда қийинлаштирадиган таркибий ва физиологик хусусиятлар пайдо бўлишига олиб келади.

Юқори намликда ва гетеротроф озикланишда ҳосил бўлган барг анатомик ихтисослашуви кучсиз: палисад тўқимаси¹⁵ мавжуд эмас ёки кам ривожланган, мезофилл асосан ҳужайралараро бўшлиққа эга бўлган булутсимон паренхиманинг ҳужайралари билан ифодаланади, хлоропластлар

¹⁵ **Palis va pastki mato** (frantsuzcha Palissade - palisade, panjara), ustunsimon mezofill, assimilyatsiya qiluvchi barg [*parenximasi*](#) (kamdan-kam holda poyasi); organ yuzasiga perpendikulyar ravishda cho'zilgan, zich bog'langan yupqa devorli hujayralardan iborat Odatda bargning yuqori qismida rivojlanadi va epidermis ostida joylashgan; hujayralararo bo'shliqlarga boy shimgichni to'qima uni ichkaridan tutashtiradi.

тартибсиз, хлорофилл ва оксилларнинг кам миқдорда бўлади. Фотосинтез учун масъул бўлган ферментлар фаоллиги паст. Баргларнинг най-толали томир тизими кам ривожланган. Кўп сонли оғизчалари тўлиқ очик бўлиб қолади ва одатда, уларнинг ёпилишига олиб келадиган реакцияга жавоб бермайди (қоронғи, СО₂ абсцис кислотаси ва бошқалар). Ҳимоя мум қавати деярли мавжуд эмас ва ҳосил бўлган мум кимёвий таркиби жиҳатидан атроф муҳитда ўсадиган ўсимликларнинг баргларидаги мумдан сезиларли даражада фарқ қилади. Пробиркадаги ўсимликларнинг поялари етарлича лигнинга эга бўлмайди; улар оддий ўсимликларга нисбатан анча кам колленхима ва склеренхимага эга бўлади.

Пробирка ўсимликларининг анатомияси ва физиологиясининг юқорида айтиб ўтилган хусусиятлари, экстремал шароитга ўтказилганда уларнинг атроф-муҳит шароитларига мослашишида катта қийинчиликлар туғдиради. Кўпинча, ерга кўчирилгандан сўнг, биринчи навбатда сув балансидаги мувозанат бузилиши туфайли ўсишдан тўхтаб қолган, барглар тушади ва ўсимликлар нобуд бўлади. Кўпинча пробирка ўсимликлари ерга ўтказилганда илдиз тукчалари ҳосил қилмайди. Ушбу камчиликларни камайтириш, ўсимликларнинг яшовчанлиги яхшилаш учун бир қатор услубий ёндошувлар ишлаб чиқилган. Улардан баъзилари *in vitro* да қолганлари - ерга ўсимликларни экиш кейин ишлатилади.

Ўсимликларни ерга экишдан олдин охириги марта сунъий озук муҳитида ўстириш учун таркибида минерал тузлар камайтирилган озук муҳитидан фойдаланиш тавсия этилади, масалан, Уайт муҳитид, сахароза концентрацияси 1% гача камайтирилади. Цитокининлар бутунлай чиқариб ташланади, фақат илдиз ҳосил бўлишини рағбатлантирадиган ауксинлар қолади (масалан, ИМК). Ёруғлик интенсивлигини ошириш (8-10 минг люксгача) ва *in vitro* ўстириш ҳароратига нисбатан бир оз пасайтириш таклиф этилади. Поянинг узунлигини ўсишини тўхтатадиган, илдизларнинг йўғонлашишига олиб келадиган, барглар юзасини пасайтирадиган, хлорофиллни кўпайтирадиган қаҳрабон кислота, крезацин, Мивал-Агро каби адаптогенларни ва ўсишни сусайтирувчи моддалар (ретердантлар) ни озик муҳитига қўшиш самарали бўлиб, баргларда хлорофилл ва мум ҳосил бўлишини рағбатлантиради. Шунга ўхшаш самарага экиш идишлардаги ҳаво намлигини қуритувчи воситалар ёрдамида камайтириш, идишларнинг пастки қисмини совутиш ва шунингдек, ўсимликларни ерга экишдан 7-10 кун олдин пробиркалардан тикинларни олиб ташлаш орқали эришилади. Бир қатор дарахт экинлари учун пробиркадаги ўсимликларнинг микоризацияси қулай самара беради.

Пробирка ўсимликлари одатда ерта баҳорда ёки ёзнинг бошида экилади. Иссиқхоналар ёки ёруғлик, ҳарорат, намлик бошқариладиган хоналардан фойдаланилади. Сувсизланиш туфайли ўсимликларнинг нобуд бўлишини камайтириш учун, уларни ерга экишдан сўнг, туманлаш мосламалари ёрдамида ҳаво намлигини юқори даражада ушлаб турилади, экин экиладиган майдонларни махсус мато билан қопланади. Ҳиндистонлик олимлар томонидан таклиф қилинган барглардан сув буғланишини

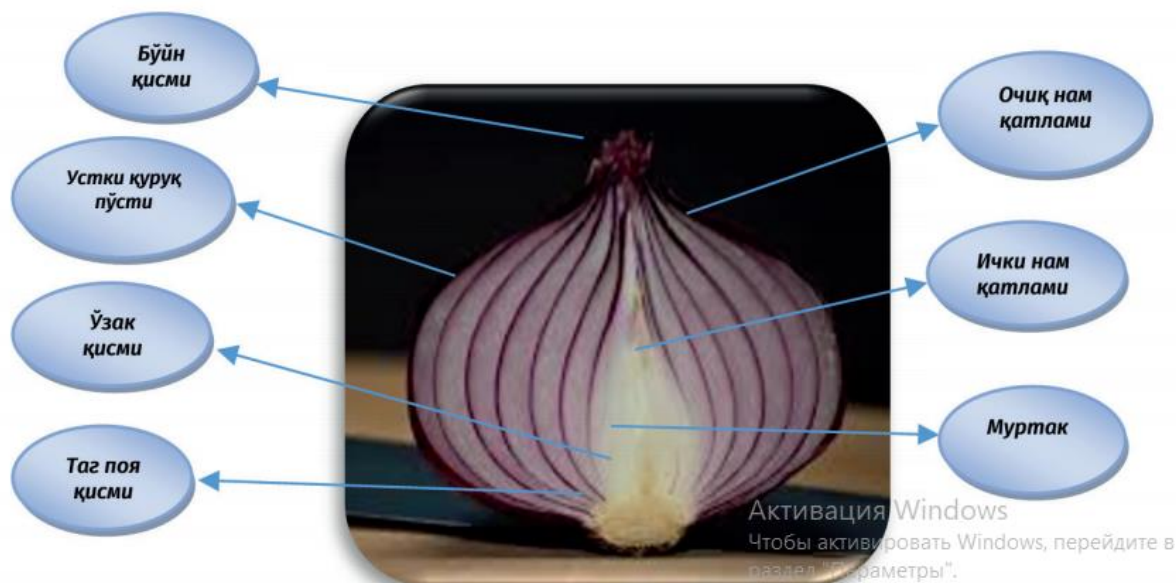
камайтириш усулини қўллаш қизиқиш уйғотмоқда. Бунда мослашиш даврида ўсимликларни глицериннинг 50% сувли эритмаси ёки парафин ва диетил эфир аралашмаси (1: 1) билан пурклади.

Пробирка ўсимликларни экиш учун тупроқ сифатида нейтралланган ва минерал тузлар, тоф ва қум аралашмаси (3: 1) ва перлит ишлатилади. Яхши натижалар Белоруссия Миллий Фанлар Академиясининг Физик-Органик Кимё Институтида ишлаб чиқарилган ион алмашинадиган смолалар асосидаги субстратлар ёрдамида олинган. Бироқ, бундай субстратлар жуда қиммат, бу эса уларнинг кенг қўлланилишини чеклайди. Тупроқда илдиз олган ўсимликлар ўсишни бошлагандан сўнг, мураккаб ўғитлар билан озиклантирилди ва улар касаллик ва зараркунандаларга қарши ишлов берилади. Мослашув даври тугагандан сўнг (20-30 кундан кейин) улар иссиқхонада ёки далага доимий жойга кўчирилади (-расм).

Расм . Пробирка ўсимликлари *in vitro* дан *ex vitro* шароитларига мослаштириш учун ишлатиладиган

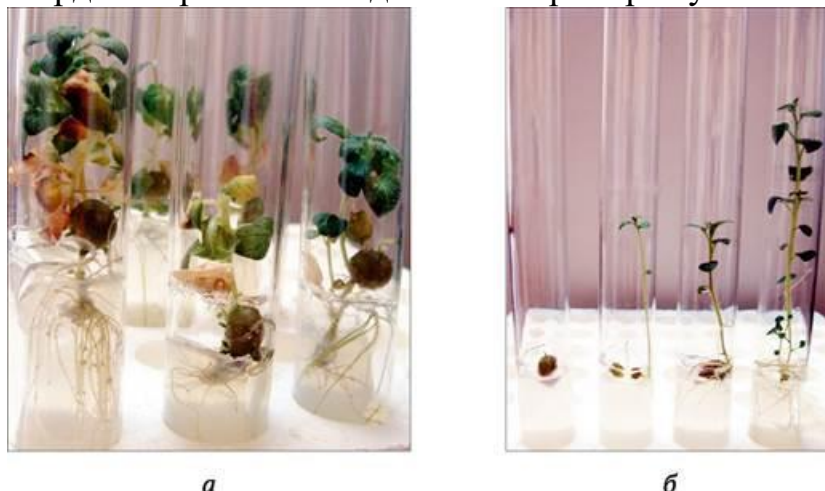


Пробирка ўсимликларни ерга экиш билан боғлиқ муаммолар нафақат ўсиш шароитларига мослаштириш, балки жараёни амалга оширишнинг ўзи мураккаблиги ва кўп меҳнат талаб қилиши ва уни механизациялашнинг иложи йўқлиги билан боғлиқдир. Саноат шароитида қисқа вақт ичида жуда кўп миқдордаги пробирка ўсимликларини (100 минг ва ундан ортиқ) ерга экиш вазифаси қўйилади. Бироқ, ўсимликларни шикастлантirmасдан уларни пробиркалардан чиқариб олиш ва эҳтиёткорлик билан ерга экиш керак. Ҳозирги вақтда ушбу муаммоларни ҳал этишда истиқболли усуллардан фойдаланиш *in vitro* ўсимликларини заҳира тўпловчи органлари: туганак, пиёзчалари, микротуганак, микропиёзбош ва суьий уруғлар (капсулаланган соматик эмбрионлар) фойдаланишга эътибор берилмоқда. Бу усуллар уларни ҳеч қандай мослаштиrmасдан тупроққа экишгина эмас, балки уларни сақлаш ва ташиш жараёнларини осонлаштиришга имкон беради.



Микропиёзбошлар адвентив куртаклар индукцияси натижасида ҳосил бўлиб, 3-6 вегетатив куртаклардан иборат қалин этли, ширали қобиклар, шакли ўзгарган барглар ёки пиёзбош тубини, масалан, нилуфаргул пиёзчасини кичик бўлакларга бўлиш орқали 35-40 кун ичида 100 тагача микропиёзбош олиш мумкин. Чунки Пиёзбошнинг туби оддий битта пиёзбошли ва шохлайдиган икки ёки бир неча пиёзбошли бўлади. Пиёзбошнинг битта тубдан бир нечта пиёзбош ҳосил қилиш қобилияти унинг «болалаши» деб аталади. Бир, икки, уч ёки кўп болалайдиган пиёзлар бўлади. Микротуганаклар маълум етиштириш шароитида пробиркадаги картошка ўсимликларини ҳосил қилишга қодир (-рasm, а). Агар картошка ўсимликлари қуриб қолгунча озуқа муҳитида қолдирилса ўз-ўзидан (спонтан) равишда микротуганаклар пайдо бўлиши мумкин. Ушбу жараёни фаоллаштириш учун цитокининлар (3-5 мг / л 6-БАП) ва сахароза миқдори оширилган (6-10%) озуқа муҳити ишлатилади. Озиқа муҳитига ретардантлар (50-100 мг / л хлорхолинхлорид) қўшиш самарали бўлиши мумкин. Паст ҳарорат (15-18 ° C), ёруғлик даврининг 10 соатгача камайтирилиши ёки экинларнинг қоронғиликка кўчирилиши ҳам туганак ҳосил бўлишига ёрдам беради. Микротуганаклар ва микропиёзбошларни биореакторларда суяқ озуқа муҳитида олиш мумкин, бу уларнинг ишлаб чиқариш нарҳини пасайтиради. Картошка турли навлари ҳар хил интенсивлик билан *in vitro* да микротуганаклар ҳосил қилади. Баъзи навлар учун ушбу технология мос келмайди, чунки пробирка ўсимликларининг озгина қисми фақат оптимал шароитдагина ҳам туганак ҳосил қилади. Шунинг учун микротуганак ҳосил қилиш қобилияти ҳар бир нав учун ўзига хос баҳоланиши керак ва ушбу технология фақат юқори ҳосил берадиганларга нисбатан қўлланилиши керак. рasm. Пробиркадаги картошка ўсимликларида (а) (а) микротуганакларнинг ҳосил бўлиши. Совутгичда сақлангандан сўнг (чапдан ўнгга) пробирка ўсимликларини микротуганаклардан тиклаш: уйғонган куртакли микротуганак, кейин - поя ўсишининг турли босқичлари, туганагидан

ажратилиб, қаламчадан кўпайтириш ёки илдиз олдириш учун ишлатилади; микротуганаклардан ажратилган илдиз отган пробирка ўсимлиги



Пробиркаларда ўстириш йўли билан олинган микротуганаклар физиологик жиҳатдан тупроқда ўсадиган ўсимликларнинг туганак меваларига ўхшайди. Хусусан, улар узок (турига қараб 3-4 ой) тиним даври билан тавсифланади. Бу картошканинг генетик коллекцияларини сақлаш учун жуда фойдали хусусиятдир. Аммо, клон кўпайтириш усулидан фойдаланганда, бу бироз ноқулайлик туғдиради, чунки у пробиркадаги ўсимликларнинг микроклонлаш даврини қисқартиради: тиним даврдан ўтиш учун ерга экишдан уч ой олдин микротуганакларни йиғиб олиниши керак. Шу нуқтаи назардан, картошкани микрокўпайтиришнинг иккита усули комбинацияси афзалдир: дастлабки даврда ўсимликлар поя қаламчалари билан кўпайтрилади (қўлтиқ ости меристемаларини индукция қилиш йўли билан), сўнгра олинган пробиркадаги ўсимликларнинг бир қисми микротуганакларни ҳосил қилиш учун қулай шароитга ўтказилади ва иккинчи қисми қаламчалашда давом еттирилади. Натижада, анъанавий пробирка ўсимликлари ҳам, тиним давридан ўтган микротуганаклар ҳам тупроққа экилиб, эса меҳнат сарфини камайтиради.

Белоруссия Миллий Фанлар Академиясининг Генетика ва Цитология институтида картошканинг микротуганакларини етиштириш схемаси ишлаб чиқилган бўлиб, у иш ритмини –узлуксизлигини таъминлайди ва ходимлар меҳнати ҳамда ускуналар оқилона фойдаланишга имкон беради (А. Ермишин, 1994). Схема маълум ҳажмдаги учта питомникни ўз ичига олади: 1-питомник - она ўсимликлари (қаламчаш учун); 2-питомник - "ўстириш" (бу ерда ўсимликлар қаламчалардан олинади, кейинчалик улар микротуганакларни ҳосил қилиш учун мақбул шароитга ўтказилади (3-питомник)). Иш ритмини таъминлайдиган технологиянинг энг муҳим хусусияти - бу она ўсимликларини кўпайтириш ва питомникларни тўлдириш тартиби. Иш куни давомида, уларнинг биринчи қисми, 2-питомникни тўлдириш жадвалини бажарилиши учун, айнан шунча микдорда кесиб олиниши керак, бошқа томондан, доимий бўлиши керак бўлган 1-питомникнинг ҳажми тўлиқ янгиланиб туради.

Ниҳолларни ўстириш динамикаси қуйидаги жадвалда келтирилган.

Картошка микротуганакларини етиштиришда питомникларда ўстириш динамикаси (юлдузча кунлик ишлаб чиқариш ҳажмини кўрсатади)

Вақт (ҳафта)	1-Питомник	2- Питомник	3- Питомник	Сақлаш
0	*****			
3	*****	*****		
6	*****	*****	*****	
9	*****	*****	***** *****	
12		*****	***** ***** *****	
15			***** ***** *****	*****

Ишлаб чиқариш цикли питомникдаги маълум миқдордаги пробирка ўсимликларидан бошланади. Унинг ҳажмини ҳисоблаш формуласи куйидагича:

$$A = Rt/W(b - 1),$$

бу ерда A - 1-питомник ҳажми; R – етиштириладиган микротуганаклар сони (режа); W – қаламчалаш режалаштирилган иш кунларининг умумий сони; b - битта она ўсимликдан олинган қаламчалар сони; t – қаламчалар ёрдамида билан кўпайтириш учун мос бўлган ўсимликни олиш учун зарур бўлган вақтдаги иш кунлари сони (яъни, b қаламчалар етиштиришга имкон берадиган). b ва t қийматлари ҳар бир ўзига хос нав, она ўсимликларни етиштириш шартлари ва ишлаб чиқариш жараёнини ташкил етиш учун эмпирик равишда аниқланади.

Режани амалга ошириш учун зарур бўлган ёруғлик мосламалари сонини, ишлаб чиқариш майдонларининг ҳажмини аниқлаш учун питомникнинг максимал ҳажми тўғрисида маълумот талаб қилинади. Уни куйидаги формуладан топилади

$$F = Re/W,$$

бу ерда F - питомникнинг ҳажми 2; e - пробирка ўсимликлари питомникда бўлган давридаги иш кунлари сони; W - режалаштирилган иш кунларининг умумий сони.

Шундай қилиб, агар ҳар бир она ўсимликидан $b = 4$ та қаламчани олиш учун $t = 15$ иш куни сарфланадиган бўлса , $W = 50$ кун ичида $R = 30$ минг микротуганак ишлаб чиқариш вазифаси бўлса , у ҳолда 1-питомникда ишлаб чиқариш цикли бошланганда 3 минг она ўсимлик бўлиши керак. 2 питомникни қаламчалар билан максимал даражада тўлдириш билан унинг ҳажми 9 минг ўсимликка етади.

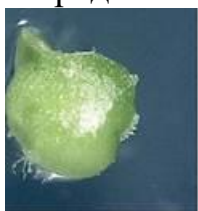
Анъанавий технологиядан фойдаланган ҳолда 30 минг микротуганакни ишлаб чиқаришда (биринчи навбатда, қаламчалаш йўли билан керакли миқдордаги ўсимликлар олинади, кейин улар микротуганакларни ҳосил қилиш учун қулай шароитга ўтказилади), 30 минг пробиркани ёруғлик мосламалари билан жиҳозланган хонага ўтказилиши талаб қилинади (битта пробирка ўсимлигидан 1 микротуганак олинади). Юқоридаги мисолда 12 мингта

пробирка учун қурилма керак бўлиб (3 мингта - 1-питомник ва 9 мингта - 2-питомник), яъни 2,5 барабар кам ускуна талаб этилади.

Анъанавий технологияга мувофиқ ишлаб чиқаришда циклининг бошида қаламчалаш ҳажми кам. Цикл охирида 7,5 минг ўсимлик (30 минг: 4) қисқа вақт ичида қирқиб тайёрланиши керак бўлиб, бунда ўртача ҳар бир ишчи кунига кунига 150-200 ўсимлик экишини ҳисобга олсак, бу жуда катта меҳнат талаб қилади. Тавсия этилган технология муаммони тўлиқ ҳал қилади: тўлиқ цикл давомида тенг тақсимланади, кунлик ишлаб чиқариш барқарор ва нисбатан кам вақт талаб қилиши бална ажралиб туради.

in vitro да ўсимликларнинг клонал кўпайтиришдан амалда фойдаланиш йўналишлари

in vitro да ўсимликларнинг клонли кўпайиш бошланиши билан ва ушбу технологияни уруғлик ва кўчатли экиш материалларини саноат ишлаб чиқаришига янада жадал жорий этиш Ж. Морелнинг (1960) орхидея бўйича қилган ишлари асосида амалга оширилиб борди. Ушбу йўналишдаги муваффақият ва жадал тараққиёт асосан тадқиқот объектини муваффақиятли танлашни таъминлади. Орхидея - Ғарбда қимматбаҳо ва жуда машхур маданийлатирилган гул ҳисобланади. Бироқ, уни вегетатив кўпайишининг анъанавий усуллари самарасиз бўлиб келган. Орхидеяни уруғидан кўпайтириш ҳам муаммо бўлиб қолмоқда. Орхидея навларининг юқори гетерозиготалиги туфайли уларнинг авлодлари ота-она шакллари хусусиятларини сақламайди. Орхидея эндосперми кам бўлган жуда кичик уруғларга эга. Уруғлар униб чиққандан сўнг, эмбриондан думалок туганаксимон тузилишга эга протокорм ҳосил бўлади —, кейинчалик ундан ўсимта ўсиб қиади. Бунинг учун кўп ҳолларда баъзи қзамбуруғлар билан симбиоз муносабатга киришиши талаб қилинади. Орхидея кўчатлари жуда секин ривожланади: ўсимликларнинг гуллаш босқичига ўтиши учун камида 5 йил вақт керак бўлади. Ж.Морел цимбидиум поясининг апикал меристемаси културасида эмбрионнинг униб чиқиши пайтидаги каби протокормлар ҳосил бўлишини аниқлади. Муайян ўстириш шароитида протокормлар қисқа вақт ичида бир нечта янги протокормларни ҳосил қила олади, улар асл протокормдан ажралиб, кейинги кўпайтириш ёки кўчатлар олиш учун янги озуқа муҳитига ўтказилади (-расм). *in vitro* културалаш усулларида фойдаланиш орхидеяни уруғидан кўпайтириш самарадорлигини сезиларли даражада оширишга имкон берди. Сунъий озиқа муҳитида орхидеяни уруғидан *in vitro* шароитида ўстириш сезиларли даражада микоризалар иштирокисиз ҳам ювенил босқични камайтириб, ниҳоллар ривожланишини тезлаштиради.



а



б



в



г

расм. *Phalaenopsis gigantea* орхидеяни in vitro шароитида протокормдан ўстириш а - озиқа муҳитига экилган 150 кунлик протокорм; б - янги протокормларни экиш; в – эксплантатни озуқа муҳитига экилганидан сўнг 4 ҳафтадан кейин протокормларнинг етилиши; 2 – эксплантни экилгандан 10 ой орхидеяда ҳосил бўлган поялар ((по R. Murdad ва бошқ., 2006)

Табиийки, ушбу микротуганаклар олиш технологиялари бутун дунё бўйлаб орхидея етиштиувчилар томонидан ижобий қабул қилинди. Ҳозирда кўплаб орхидея турларини, шунингдек бошқа қимматли гул ва декоратив экинларни микроклонал кўпайтиришнинг саноат технологиялари ишлаб чиқилган ва кенг қўлланилмоқда. Масалан, Голландияда ҳар йили бир неча ўн миллионлаб ўсимликлар микроклонлаш ёрдамида ишлаб чиқарилади.

Ўсимликларнинг клонал кўпайтиришнинг технологиясидан амалий фойдаланишнинг иккинчи муҳим йўли in vitro шароитида пробирка ичида - юқори сифатли уруғлик картошка ишлаб чиқариш. Ушбу экин учун экиш материалининг сифати юқори ҳосил олишда ҳал қилувчи рол ўйнайди.

Анъанавий картошка уруғини ишлаб чиқариш ҳар қандай навдаги, унинг тавсифига тўлиқ мос келадиган соғлом, самарали ўсимликларни танлашга ва ўсимликларнинг соғлом ҳолда сақланишини таъминлайдиган усуллар ёрдамида уларни кўпайтиришга асосланган (мавсумда камида уч марта фитосанитар тозалаш ишлари, зараркунанда ҳашаротларга қарши кураш чоралари, эрта йиғиб олиш ва бошқалар). Ишлаб чиқариш циклини синов питомнигини ташкил этиш ва дастлабки клонларни танлаб олиш билан бошланади. Картошканинг кўпайиш тезлиги юқори бўлмаганлиги сабабли (4-6), 4-5 йил ичида дастлабки клонлардан кейинги кўпайиш жараёнида етарли миқдордаги элита уруғини олиш учун питомник жуда катта ҳажмли бўлиши керак бўлади. Ушбу питомникдаги ўсимликларнинг соғломлиги асосан визуал тарзда аниқланади, чунки ўсимликларнинг кўплиги сабабли барча ўсимликларни иммунофермент таҳлили ёки вирусларни аниқлашнинг бошқа усуллари ёрдамида баҳолашнинг деярли имконияти мавжуд эмас. Яширин вирусли инфекцияларни ўз ичига олган ташқи томондан соғлом ўсимликлар питомникка кириб қолиши мумкин. Натижада, дастлабки клонларни кўпайтириш пайтида, ўсимликларнинг соғломлаштириш ҳамда сақлаш бўйича барча сабъ-ҳаракатларга қарамай, инфекциянинг тўпланиши содир бўлади, бу эса экиш материалининг сифатини пасайтиради.

Картошкани микрокўпайтириш технологиясининг жорий қилиниши вирусдан холи бўлиш эҳтимоли юқори бўлган тоза клонлари асосида ўсимликларни шакллантиришга имкон беради. Бунга қуйидаги йўл билан эришилади. Ишлаб чиқариш цикли, унинг тавсифига мос келадиган, навларнинг энг самарали, визуал жиҳатдан соғлом ўсимликларини танлаш билан бошланади. Кейин танланган ўсимликлар иммунофермент таҳлили ёки патогеннинг нуклеин кислоталари таҳлилининг сезгир усуллари ёрдамида уларнинг тўқималарида асосий вируслар ва виroidларнинг таркибига кўра таҳлил қилинади. Меристемалар културасини олиш учун вируссиз ўсимликлар эксплантатлар манбаи сифатида ишлатилади. Вируслардан

бутунлай холи бўлган клонларнинг меристемик културасини олишнинг ишончлилигини ошириш учун термо- ва / ёки кимёвий терапиядан фойдаланиш тавсия этилади. Меристемалардан регенерация бўлган пробиркадаги ўсимликлар вируслар ва вироидлар таркибига қўшимча равишда синовдан ўтказилади ва салбий реакция (патогенлар йўқлиги исботланса) бўлса, бу ўсимликларни қаламчалаш йўли билан микроклонал кўпайтириш ва микротуганаклар олиш бошланади.

Келгуси йилнинг баҳоригача етиштирилган пробирка ўсимликлари ва тиним даврдан ўтган микротуганаклар иссиқхоналарга экилгач, улар ёзги мавсумда **минитуганаклар** деб номланган туганакларни ҳосил қилади. Ўсимликларни ўстириш учун иссиқхоналарни ўраш учун дока ёки тўқилмаган материаллардан фойдаланиш мақсадга мувофиқ, улар ўсимликларни иссиқ ҳавода қизиб кетишига йўл қўймайди, шу билан бирга уларни вирусли инфекция ташувчилари ҳашаротлардан химоя қилади. Шунингдек, улар учун зарур бўлган парваришларни амалга оширилади, унга мунтазам озиклантириш, ўсимликларни патоген ва зараркундаларга қарши кимёвий дорилар қўйиб киради. Олинган минитуганаклар кейинги йили далага экилади. Бундан ташқари, ўсимликлар анъанавий технология бўйича кўпайтирилади, уларни соғлом ҳолда сақлаш учун барча тадбирлар амалга оширилади.

Картошкани микрокўпайтириш технологиясидан фойдаланиш қисқа вақт ичида кўплаб соғлом ота-она клонларини етиштиришга имкон беради. Бу эса элита уруғлик ишлаб чиқариш вақтини қисқартиришга ва натижада вирусли инфекция тўпланиши давомийлиги пасайиши туфайли унинг сифатини яхшилашга имкон беради. Масалан, Нидерландияда ва уруғлик картошка олишга ихтисослашган бошқа ривожланган мамлакатларда уч йиллик циклга амал қилинади: минитуганаклар - супер-супер-элита - суперэлита-элита.

Дарахт ва бута экинларини микроклонал кўпайтириш технологиялари нафақат турли хил мевали ва манзарали экинларни, балки шаҳарларни ободонлаштириш ва ўрмонларни тиклашда ишлатиладиган экинларни етиштиришга ҳам кенг татбиқ этилган. Бунинг сабаби шундаки, ушбу технологиялар маълум хусусиятларга эга бўлган маълум бир генотипли соғлом кўчат материаллари (навлар, шакл, пайвантаг, элита дарахтлари) ни кўп миқдорда олиш имконини беради. Шундай қилиб, ўрмонларни тиклаш, асосан, эркин чангланишдан холи серҳосил элита ёки ижобий сифатли дарахтлардан йиғилган уруғлар ёрдамида амалга оширилади. Бироқ, пайдо бўлган насл, бўлиниш туфайли, ота-она шакллариининг ижобий хусусиятларининг яхлит мажмуасига эга бўлмайди. Микрокўпайтириш бундай дарахтларнинг генотипини кўплаб нусхаларда кўпайтиришга имкон беради. Уни қўллаш айниқса экинлар учун жуда муҳимдир, мойли палма каби анъанавий вегетатив кўпайиш усуллари билан деярли кўпаймайдиган ўсимликлар учун жуда самаралидир. Унувчан уруғ ҳосил қилмайдиган экинларни кўпайтириш учун ҳам (масалан, триплоидли маданий банан *Musa × paradisiaca*) ёки икки уйли ўсимликларнинг кўпайиши (папайяни

уруғидан ўстиришда фақат гуллаш пайтидагина алоҳида ўсимликларнинг қайси жинсга мансуб эканлиги аниқ бўлади; уруғчи шакллари амалий аҳамиятга эга ҳисобланади) ушбу усулдан фойдаланиш катта қизиқиш уйғотади.

Ўсимликларни микроклонал кўпайтириш усуллари нафақат турли хил экинлар учун экиш материалларини саноат ишлаб чиқариш учун катта аҳамиятга эга. Хужайраларни, тўқималарни ва ўсимлик органларини *in vitro* усулида микрокўпайтириш ва етиштиришнинг махсус усулларида фойдаланиш замонавий генетик усуллар билан муваффақиятга эришиш кийин бўлган дастлабки материалларни катта генетик коллекциялар намуналарини йиғиш ва ташиш, самарали сақлаш, ноёб ва йўқолиб бораётган ўсимлик турларини сақлаб қолиш ва кўпайтиришга имкон беради.

***in vitro* да қимматли генофондини сақлаб қолиш**

Генетик коллекцияларни сақлашнинг энг самарали усули бу уруғларни паст ҳароратларда сақлашдир. Уруғлар генетик банкларида ишлатиладиган кенг тарқалган технология уларни 5-8% намликгача қуритиш ва кейин уларни -18 ° С даражада сақлашни ўз ичига олади, шунда улар кўп йиллар давомида униб чиқишни сезиларли даражада йўқотмасдан ўз ҳаётийлигини сақлаб қолади. Бироқ, ушбу технология мос кеояйдиган ўсимликларнинг катта гуруҳи ҳам мавжуд бўлиб, улар вегетатив равишда кўпаядиган экинларнинг навлари ва шакллари, стерил шакллари, унвчанлигини тезда йўқотадиган ёки қуритишга ва паст ҳароратга бардош бера олмайдиган уруғ ҳосил қиладиган ўсимликлардир. Бундай ўсимликларнинг генетик коллекцияларини сақлаб қолиш учун ишлатиладиган вегетатив кўпайтиришнинг анъанавий усуллари қиммат ва самарасиз ҳисобланади. Ушбу экинларнинг генетик коллекцияларини сақлаш самарадорлигини ошириш учун ҳозирги кунда қуйидаги услубий ёндашувлардан фойдаланилмоқда:

- коллекцияларни пробирка ўсимликларининг аста-секин ўсиб борадиган култураси шаклида сақлаш;
- айрим генотиплар тўқималарини ёки хужайра културасини криоконсервация қилиш.

Пробирка ўсимликларининг аста-секин ўсиб борадиган култураси шаклида генетик коллекцияларни сақлаш

Микроклонал кўпайтириш усулларида ривожланиши ўсимликларнинг генетик коллекцияларини сақлаш билан боғлиқ муаммоларнинг кўпини ҳал қилишга сабабчи бўлди. Бунинг учун, кўп ҳолларда, меристемалар културасидан олинган пробирка ўсимликларнинг мунтазам қаламчалаб янгисига ўтказиш кифоя. Бироқ, *in vitro* шароитида ўсимликларни кўпайтириш ва коллекцияда сақлашда турли мақсадлар мавжуд. Агар биринчи ҳолатда вазифа маълум бир генотипни энг қисқа вақт ичида имкон қадар кўпроқ клонларини олиш бўлса, иккинчи ҳолда пробирка ўсимликларини ҳаётини энг кам харажат билан сақлаб қолиш жуда муҳимдир. Пробиркадаги ўсимликлар коллекцияларини сақлашда харажатларни камайтириш учун уларнинг ўсишини секинлаштиришнинг

турли усуллари қўлланилади, бу эса трансплантация орасидаги вақт оралиғини оширишга имкон беради (-расм). Бунинг учун қуйидагиларни қўлланилади:

- култураларни паст ҳарорат етиштириш;
 - паст атмосфера босими ёки етиштириш амалга оширилаётган ҳавода кислород концентрациясини пасайтириш;
 - озуқа муҳитга ўсимликларнинг ўсишини секинлаштирувчи осмотиклар ёки ўсиш регуляторларини қўшиш;
 - ўсимликларни сақлаш органларини (микротуганаклар, микропиёзчалар, микротуганакпиёзбошлар) ёки капсулани соматик эмбрионларни олиш ва паст ҳароратларда сақлаш.



расм. *in vitro* културасида ўсимликларнинг генетик тўпламлари сақлашнинг самарадорлигини оширишни асосий усуллари

Пробика култураларини кўчириб ўтказмасдан, найча ўсимликларини паст мусбат ҳароратда (1-10 ° C) етиштириш йўли билан 6-24 ойгача ёки ундан кўп муддатга узайтириш мумкин. Шу билан бирга, ёруғлик интенсивлиги пасайтирилади (10-50 люксгача), кундалик ёритишни давомийлиги 16 соат ўзгаришсиз қолдирилади ёки културага ўтказиш қоронғида амалга оширилади. Оптимал ҳарорат экспериментал равишда танланади: ўсимликнинг яшовчанлигини сезиларли даражада йўқотмасдан ўсишни максимал даражада кечиктиришга эришиш муҳимдир. Одатда, совуққа чидамли културалар учун пастроқ ҳарорат (1-4 ° C) ишлатилади, уларни клонлаш 20-25 ° C ҳароратда амалга оширилади. Исиқсевар экинлар учун (тахминан 30 ° C ҳароратда клонланади) ўсишни секинлаштириш учун ўсимликларни 8-16 ° C ҳароратда ўстириш орқали эришилади. Бу усул ёрдамида R. H. Mullin, D. E. Schlegel (1976) *Fragaria × ananassa* Duch

ер тут пробирка ўсимликларининг 6 йил давомида, ҳар уч ойда културага бир неча томчи янги озуқа муҳити қўшиш йўли билан трансплантация қилинмаган тўпламини сақлаб қолишга эришган.

Пробиркадаги ўсимликлар култураси ўсишининг пасайишига атмосфера босимини пасайтириш (0,5 мм сим.уст. гача) ва / ёки кислород концентрациясини пасайтириш орқали газ муҳитини ўзгартириш йўли билан эришилади (бу усуллар сабзавотларни сақлаш, мевалар ва кесилган гуллар амалиётидан олинган,). Гипоксия ҳосил қилиш учун инерт газ (азот) ва кислород аралашмаси 1-10% гача ишлатилади. Атмосфера босими тушганда озуқа муҳити тез қуриб қолмаслиги учун юқори намликни сақлаб туриш муҳимдир. Ушбу усул айниқса паст ҳароратда сақлашга яроқсиз бўлган термофил ўсимликлар коллекцияларини сақлаб қолиш учун истиқболли ҳисобланади.

Пробиркадаги ўсимликларнинг ўсиш суръатларини пасайтиришнинг самарали усули бу осмотик моддалар ва ретардантларни озуқа муҳитига қўшишдир. Экинларнинг ўсишини секинлаштирадиган осмотик стрессни яратиш учун озуқа муҳитида сахарозанинг (6-10%) юқори концентрациясидан фойдаланилади ёки озуқа муҳитига 3-6% маннитол ёки сорбитол қўшилади. Хлорохлин хлорид, малеин кислота гидразиди, 2,2-қаҳрабо кислота диметил гидразиди (Б-995), фосфон Д.

Бир қатор экинларнинг коллекцияларини сақлаб қолиш учун алгинат капсулаларига микротуганаклар, микропиёзчалар, микротуганакпиёзбошлар, капсулаланган соматик эмбрионлар ёки ўсимликларнинг алоҳида қисмларини киритиш ва уларни паст ҳароратларда сақлаш истиқболли кўринади. Шундай қилиб, картошка микротуганакларини 6-12 ой давомида совиткиичда стерил пробиркаларда сақлаш мумкин. тиним даврдан кейин улар униб чиқади ва узун етиолирланган куртаклар ҳосил қилади. Сақлаш тугагандан сўнг, картошка туганагини ярмига бўлиниб озуқавий муҳитга қўчириб ўтказилади, бу ерда тиним давридаги куртаклардан ёруғликда ўстириш давомида кейинчалик *in vitro* да ўстириш мумкин бўлган нормал пробирка ўсимликлари ҳосил бўлади ларни олиб ташлаш мумкин, (расм.).

Паст ҳароратларда (1-4 ° С) ўсимлик материалларини (соматик эмбрионлар, қўлтиқ ости куртаклари, пробика ўсимликларининг поя сегментлари, илдиз културалари) сақлашнинг самарали усули бу алгинат коптокчаларга капсулалашдир. Инкапсуляция ўсишни, транспирацияни сезиларли даражада секинлаштириши ва натижада экинларнинг ҳаётчанлиги узок муддат сақлаб қолишни таъминлаши мумкин. Инкапсуляция ўсимлик материалининг сувсизланиши билан биргаликда криоконсервация пайтида култураларнинг сақланиш хавфсизлигига ижобий таъсир кўрсатади.

Ўсимлик тўқималарини ёки ҳужайра култураларни криоконсервациялаш

Криоконсервация -биологик объектларни музлатилган ҳолатда ўта паст ҳароратларда (қўпинча суяқ азотда -196 ° С да) сақлаш, уларни эритилгандан кейин ўз функцияларини тиклаш. Принципиал жихатдан, ушбу усулдан фойдаланиб, улар жуда узок вақт сақланиши мумкин, чунки ўта паст ҳарорат

хужайралардаги биокимёвий жараёнларни деярли бутунлай тўхтатади.

Криоконсервация микроорганизмлар културалари, баъзи ҳайвонот объектларини сақлаш учун кенг қўлланила бошланди. Хусусан, ҳозирги вақтда уруғлантириш учун ишлатиладиган насли ҳайвонлар спермасини суяқ азотда сақланадиган усулларсиз замонавий чорвачиликни тасаввур қилиш мумкин эмас. Ўсимликлар хужайралари ва тўқималарини криоконсервация қилиш усуллари ҳам ишлаб чиқилган. Дастлаб улар иккиламчи метаболитлар ишлаб чиқарадиган хужайра линияларини сақлаш учун ишлатилган.

Тирик организмлар учун паст ҳарорат ҳалокатли таъсир қилади, чунки у хужайраларга қайтмас даражада зарар етказиши мумкин. Биринчидан, ҳароратнинг тез пасайиши пайтида ҳосил бўлган муз кристаллари хужайра органоидларига ва хужайраларнинг ўзига зарар етказади. Иккинчидан, совутганда хужайралар таркибидан сувнинг 80-90 фоизини йўқотилиши мумкин, бу хужайра ичидаги эритмалар концентрациясининг токсик даражага кўтарилишига, уларнинг учинчи ва тўртинчи тузилишидаги ўзгаришларга макромолекулаларнинг гидратланган комплексларининг ва биополимер фаоллигининг йўқотилишига олиб келади.

Бир қатор услубий ёндашувлар ишлаб чиқилган бўлиб, улардан фойдаланиш музлатиш пайтида хужайралар ҳаётийлигини сақлашни таъминлайди. Аввало, криоконсервация учун биологик объектни танлаш катта аҳамиятга эга. Ўсимликларнинг цитоплазмага бой меристематик хужайралари йирик вакуолали хужайраларга қараганда музлатишга бардошлидир. Шу нуктаи назардан, музлатишдан олдин иккилачи метаболитлар ишлаб чиқарувчи хужайралар суспензиясини криоконсервация қилиш учун тез-тез субкултуралаш, хужайраларни музлатиш учун lag фазанинг кечки босқичида ёки экспоненциал ўсишнинг бошида танлаб олиниши керак.

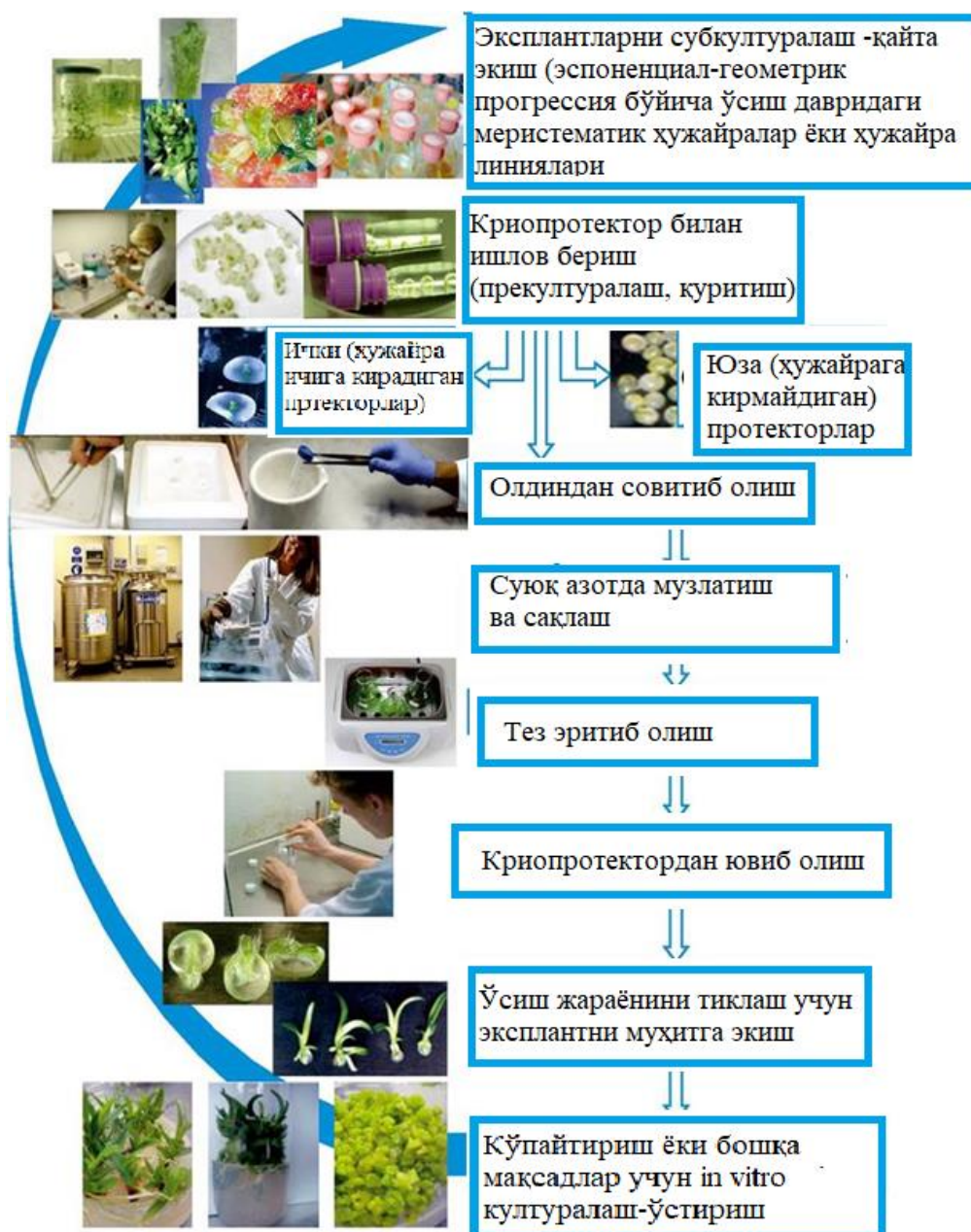
Криоконсервациянинг муваффақияти учун криопротекторлардан фойдаланиш муҳим аҳамиятга эга – улар хужайраларни музлаш пайтида шикастланишдан ҳимоя қилади. Криопротектив хусусиятларга эга бўлган жуда кўп миқдордаги моддалар мавжуд, аммо амалда улардан фақат бир нечтаси ишлатилади. Криопротекторларнинг икки тури мавжуд: хужайра ичига кирадиган хужайралар ичига кирмайдиган.. хужайрага кирадиган протекторлар-ҳимоя воситалари (глицерин, пропилен-гликол, этилен гликол, диметил сулфоксид (ДМСО), аминокислоталар: пролин, аспарагин ва бошқалар) сув молекулалари билан водород боғланишини ҳосил қилиб муз кристаллари ҳосил бўлишининг олдини олади. Хужайрага кирмайдиган криопротекторлар (сахароза, трегалоза, фикоил, альбумин, поливинилпирролидон) хужайраларни музлаш билан боғлиқ бўлган осмотик ўзгаришлардан ҳимоя қилади ва муз кристалларининг ўсиш тезлигини пасайтиради.

Хужайралардаги сув миқдорини камайтирадиган махсус шароитларда музлатиладиган нарсаларни олдиндан култивация (прекультивация) қилиш орқали криоконсервация самарадорлигини ошириш мумкин. Шундай қилиб,

2-6% маннитол ёки сорбитол, ДМСО (2,5-10 %) озуқа муҳида паст ҳароратларда (4-6 ° С) криоконсервация учун мўлжалланган апикал меристемалари бўлган пробирка ўсимликлари бир неча кун давомида олдиндан ўстириш ижобий натижа кўрсатади

Ҳужайра ичидаги сув миқдори минимал даражага тубдан пасайиши учун объектларни силикагелда ламинар боксинг ҳаво оқимида қуритилади. Ушбу усул соматик эмбрионлар ва поя меристемаларини, *Agrobacterium rhizogenius* “соқолдор илдизлри” култураси сегментларини криоконсервация қилишда фойдаланилади. Бу, айниқса, алгинатли капсулалаш (encapsulation/dehydration technique) техникаси билан биргаликда самарали бўлади. Калций алгинат капсулаларига киритилган меристемалар ёки эмбрионлар 0,85 М ли сахароза сақловчи озуқа муҳитида 4-16 соат давомида инкубация қилинади, 3-4 соат давомида ламинар бокс ҳаво оқимида қуритилади, сўнгра суюқ азотга ботирилади. Кўриб турганингиздек, сахароза ягона криопротектор сифатида ишлатилади - криопротектив хусусиятларга эга бўлган энг кам заҳарли моддалардан биридир.

Ўсимликлар ҳужайралари ва тўқималарини криоконсервация жараёни қуйидаги босқичларни ўз ичига олади: музлатиш, сақлаш, эритиш, рекултивация (-расм).



Расм *in vitro* даги ўсимликлар култураларини криоконсервация жараёни

Музлатиш учун объектлар (прекултивация, қуритиш, капсулалаш / дегидратация йўли билан) тайёрланиб, заруратга қараб, криопротекторлар билан ишланади, сўнгра 1-2 мл ҳажмли стерил полипропилен найчаларга қопчоғи билан маҳкамланиб, музлатишга қўйилади. Баъзи ҳолларда материални тўғридан-тўғри суюқ азотга ботириш мумкин бўлса-да, одатда махсус дастурга мувофиқ музлатиш қўлланилади. Ҳарорат аста-секин (дақиқада 0,5-1 ° С) -35 ° С гача туширилади, шу ҳароратда 15-30 дақиқа ушлаб турилади. ва шундан кейингина материал суюқ азотга ботирилади.

Дастурлаштирилладиган совутиш корхоналарида ишлаб чиқарилган махсус аппаратларда амалга оширилади.

Материални сақлаш суюқ азот учун мўлжалланган идишларда, маълум бир тартибда пробиркаларни жойлаштириш учун мосламалар билан жиҳозланган музлатгичларда амалга оширилади, шунда керак бўлганда керакли намунани тезда топиб чиқариб олиш мумкин бўлади. Пробиркалар

доимий равишда суюқ азотга ботиб туриши керак. Агар суюқ азот буғланиб кетса, уни мунтазам равишда кўшиб туриш керак бўлади (одатда ҳафтада бир марта).

Сақлаш охирида материални музлатишдан фарқли равишда муздан эритиш тезда амалга оширилади: суюқ азотдан чиқарилган пробиркалар + 37-40 ° С гача қиздирилган сув ҳаммомига жойлаштирилади. Тез муздан эритиш хужайралар ичида муз кристаллари ҳосил бўлишининг олдини олади, бу эса ҳароратнинг аста-секин кўтарилиши билан юзага келиши мумкин. 1 мл пробирка 0,5-1 дақиқада эритилади. Шундан сўнг културалар криопротекторлардан ювилади (уларнинг кўпи захарли), озуқа муҳити ёки 3-10% сахароза эритмаси ёрдамида ва ўсишни давом эттириш учун озуқа муҳитига жойлаштирилади. Криоконсервациядан сўнг хужайра суспензиялари агарли озиқа муҳитда экилади, сўнгга ҳосил бўлган каллус суюқ озиқа муҳитида қайта тикланади. Муртаклар, эмбрионлар, апикал меристемалар агарли озиқа муҳитига жойлаштирилади, унинг таркибида оз миқдордаги цитокининлар ва гиббереллин мавжуд бўлиб, улар кейинчалик клонлаш учун мос ниҳолларни регенерациясига сабаб бўлади. Уларни худди шу тарзда капсулаланган эмбрионлар, соматик эмбрионлар учун ҳам қўлланилади.

Хулоса

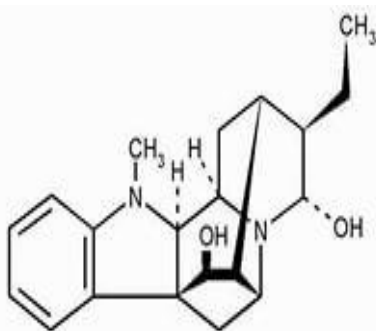
in vitro да ўсимликларни клонал кўпайтиришнинг замонавий технологиялари кўпайтириш самарасини юқори даражада оширишга имкон беради. Уларнинг катта афзаллиги шундаки, улар анъанавий усуллар билан кўпайиши қийин бўлган ўсимликларни самарали равишда кўпайтириши мумкин. Барча тадқиқотлар йил давомида амалга оширилиши мумкин, улар катта майдонларни талаб қилмайди. Ўсимликлар пробиркаларда кўпайтирганда, уларда вирусли ва бошқа касалликлар билан қайта юқиш хавфи йўқлиги (асл она ўсимлик соғлом бўлиши шарти билан) жуда муҳимдир. Умуман, ўсимликлар *in vitro* клонли кўпайтириш технологияларидан фойдаланиш вегетатив кўпайтиришнинг анъанавий технологиялари таққослаганда иқтисодий жиҳатдан анча фойдали ва юқори сифатли уруғлик материални олиш имконини беради.

Иккиламчи синтез моддаларни олишда каллус хужайралари култураси

Ўсимликдан алоҳида ажратилган хужайраларни *in vitro* шароитида субкултуралаш усуллари мавжуд бўлиб, бу усуллар ёрдамида олинган каллус тўқималаридан назарий изланишлар учун, шунингдек амалий қўллаш учун ҳам фойдаланилади. Ажратилган хужайра, тўқима ва органларнинг иккиламчи метаболизм моддаларни синтезлаш хусусияти муҳим аҳамият касб этади. Улардан тиббиёт, ўсимликлар химояси, ветеринария, озуқа ем ишлаб чиқариш, озиқа-овқат саноати, парфюмерия учун зарур моддалар ишлаб чиқаришда фойдаланиш мумкин. Бу йўналишдаги ишларга тадқиқотчиларнинг қизиқиши тасодиф эмас, чунки физиологик фаол моддалар олиш учун хужайралар биотехнологиясининг анъанавий тарзда ўсимликлар хом-ашёси олишга

нисбатан: 1) хужайра биомассасини олиш мавсумга, иқлим ва тупрок шароитларига боғлиқ эмас; 2) зарур миқдорда керакли моддаларни синтезлаб берувчи хужайралар суспензиясини культурлашнинг шароитини оптималлаш имкониятининг мавжудлиги; 3) жараёни автоматлаштириш мумкинлиги каби бир қанча устунлик томонлари бор.

In vitro култураланилаётган каллус хужайраларининг интакт ўсимлик хужайралари каби иккиламчи метаболитлар синтез қилиши аниқланган. Шунингдек, миқдор ва сифат жиҳатидан улар ўхшаш бўлиши мумкин. Ҳозирги кунда саноатда кенг қўлланилаётган иккиламчи метаболитларни синтезловчи, турли оилаларга мансуб ўсимликлар хужайралари културасини катта тўплами йиғилган. Булардан узоқ шарқ женшени – диосгеенин манбаи сифатида, дельтасимон дискорея – стероид гликозидлар, илонсимон равольфия – аймалиннинг антиаритмик алколоиди, стевия – стевонид манбаи бўлиб хизмат қилади (3.9-расм).



аймалин



3.9-расм. Илонсимон равольфия ва ундан олинадиган препарат.

Кейинги вақтларда тадқиқотчиларда резавор тис хужайраларини биореакторларда културалашни амалга ошириш катта қизиқиш уйғотмоқда. Аниқланишича, бу ўсимликнинг хужайралари таксон-моддаларини синтезлар экан, бу модда саратон касаллигига қарши препарат тайёрлашда ишлатилади.

Хужайра биомассасининг *in vitro* ва *in vivo* шароитларда турлича тезликда ўсиши тажрибаларда аниқланган. Масалан, 1 йилда женшен илдизини ўсиши тайгада 1 г ни ташкил этса, плантацияларда эса 3 г. Илдиз хужайралари агарли (*in vitro*) озиқа муҳитда ўстирилганда бир кунда 1 л озиқа муҳитда 0,4 г қуруқ массасини олиш мумкин. Женшен хужайраси суспензияда ўстирилганда 50 литрли ферментерда бир суткада бир литр озиқа муҳитда 2,0 гр га етади, бу плантацияда етиштирилганига нисбатан

1000 марта кўп демакдир (3.10 –расм). Женшеннинг қимматбаҳолигини ҳисобга олиб (плантацияда етиштирилган ўсимликнинг илдизининг 1 килограмми 100-150 АҚШ доллари, ёввойи ҳолда ўсувчиларининг баҳоси бир неча минг АҚШ доллари туриши мумкин) унинг хужайра култураси биомассасини олишни биотехнологик усули эътиборга моликдир. 3.3. жадвалда юксак ўсимликлар хужайра културалари синтезлаган баъзи иқтисодий муҳим маҳсулотлар келтирилган.



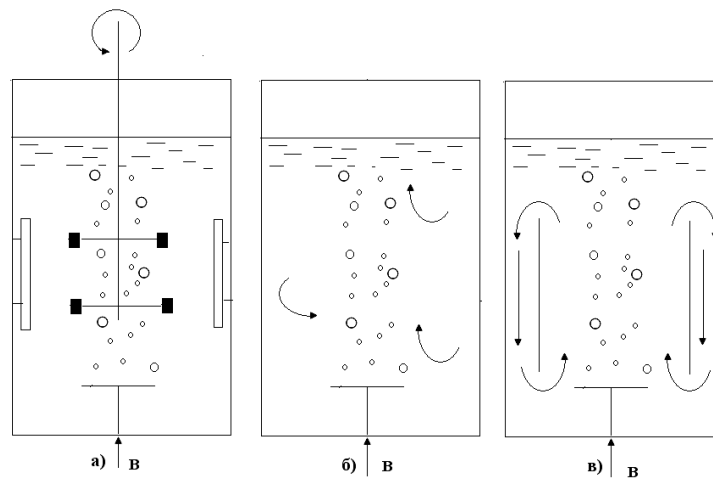
3.10-расм. Женшен ўсимлигининг кўриниши.

3.3 -жадвал

Юксак ўсимликлар хужайралар културасидан олинган иқтисодий муҳим маҳсулотлар. (Р.Г.Бутенко. 1999)

Анаъанавий ўсимлик маҳсулотлари	Янги фаол моддалар	Биотрансформация маҳсулотлари
Алколоидлар	Фитовируслар ингибиторлари	Метилдигоксин Дигоксин
Стериодлар Терпенлар ва тереноидлар	Антиконцерогенлар компомицин	Метол
Бетанинлар гликозидлар Полифеноллар Полисахаридлар Эфир ёғлари	Протеиназа ингибиторлари Ажойиб оксиллар	Неоментол Гераниол Нерол цитронеллол
Табиий бўёқлар (пигментлар) убихинон маза (там) берувчи қўшимчалар, инсектицидлар латекс		

Иккиламчи синтез моддаларнинг културал суспензиялари биореакторларда ўстириш йўли билан олинади. Биореакторлар ўзининг конструкцияси бўйича барбатажли бўлади, уларни аралаштириш кўтарилаётган ҳаво пуфаклари ҳисобига ҳаво аэрацияси орқали ва механик аралаштиргични қўллаш орқали амалга оширилади (3.11-расм).



3.11-расм. Суспензия култураларини културалаш учун қўлланиладиган биореакторнинг ишлаш схемаси

Тажрибалардан аниқланишига иккиламчи метаболитлар хужайра ичидаги органеллаларда: пластидлар, хлоропластлар, митохондриялар ва микопластларда синтезланади, қўшни хужайрларга, ёки озиқа муҳитга ташилмайди, хужайрани бўш қисми ва вокуласи кўпинча метаболитларни йиғишга хизмат қилади (Князьков И. 1996).

Хужайралар *in vitro* шароитида ўстирилганда иккиламчи моддаларнинг миқдор ва сифат ўзгариши озиқа муҳит таркиби боғлиқ. Масалан, женшен ўсимлиги културасида озиқа муҳитдаги турли шаклдаги азотларнинг нисбати стероид сапонинларнинг маҳсулдорлигига таъсир кўрсатиши аниқланди. Демак аммонийли ва нитратли азотнинг 1:3 нисбати биомассани ошишига, 2:3 нисбати маҳсулдорлигига таъсир кўрсатмади, аммо диосгенин тўпланишини камайишига олиб келди. Озиқа муҳитда сахароза миқдорининг оширилиши (5%) хужайра массасини ўсишига, сахароза миқдори камайирилганда эса (1,5 %) диосгениннинг маҳсулдорлигини ошишига таъсир кўрсатади (Шаталова 1998).

Биореакторларда хужайралар културасини ўстириш технологияси кенг ҳажмли жараён ҳисобланади, яъни катта ҳажмдаги биореакторларда хужайраларни ўстириш шароити ишлаб чиқилади. Ҳозирги кунда бир неча кубометр ҳажмли биореакторларда турли хужайралар култураларини муваффақиятли масштабластириш бўйича етарли миқдорда кўп омиллар йиғилган масалан, DJVERSA (ҳозирги вақтда FYTON) немис фирмаси мутахассислари бир қатор ўсимликлар хужайраларини 75000 литрли ҳажмга эга бўлган биореакторларда ўстиришга эришганлар.

Назорат саволлари

1. ўсимликлар *in vitro* да клонли кўпайтиришнинг анъанавий вегетатив усулдан афзалликлари нималардан иборат?

2. Поя апикал меристемасининг қайси хусусиятлари уларни микроўпайтириш мақсадида пробирка ўсимликлари културасини олиш учун энг мос эксплантатга айлантирали?
3. Қандай услубий ёндашувлар вируссиз пробирка ўсимликларини олиш учун меристемалар културасидан фойдаланиш самарадорлигини оширишга имкон беради?
4. Кимётерапияда ишлатиладиган вирусга қарши фаоллиги бўлган моддаларни санаб ўтинг.
5. *in vitro* да клонли кўпайтириш учун қандай усуллар ишлатилади?
6. Алгинат ёрдамида сунъий уруғларни олиш усулини айтиб беринг. Сунъий уруғлар нима учун ишлатилади?
7. Пробирка ўсимликлар тупроққа экилганида, уларнинг яшовчанлиги пастлигининг сабаблари нимада?
8. Пробирка ўсимликларини *ex vitro* шароитига мослашишини яхшилаш учун да қандай усуллар қўлланилади?
9. Ўсимликларни микроўпайтириш технологияларидан амалда самарали фойдаланишга доир мисоллар келтиринг.
10. Генетик коллекцияларни сақлашда пробирка ўсимликлари ўсишини секинлаштириш учун қандай усуллардан фойдаланилади?
11. Суюқ азотда музлатилганда биологик объектларнинг яшовчанлигини қандай қилиб сақлаб қолинади?
12. Суюқ азотда ўсимликлардан иборат биологик материални сақлаб туриш учун ишлатиладиган криопротекторларнинг номини келтиринг.

Бобга доир тест саволлари

1. Биотехнологик усулда иккиламчи синтез моддалар нимадан олинади?
 - А) ўсимликларни сунъий ўстириш орқали, тана ҳужайраларидан
 - В) *in vitro* шароитида олинган микротуганаклардан
 - С) ўсимликларнинг меристемасидан
 - Д) сунъий озуқа муҳитларида ўстирилган каллус тўқималаридан
 - Е) сунъий озуқа муҳитларида ўстирилган алоҳида аъзолардан
2. Ҳужайра ва тўқималар культурасидан фойдаланишда муваффақиятга эришиш учун қандай физиологик жараёнларни оптималлаштириш зарур?
 - А) гул ва мева ҳосил бўлишини
 - В) ўсимликларнинг ўсиш ва ривожланишини
 - С) ҳужайралар дифференциалланишини
 - Д) ҳужайраларнинг регенерациясини
 - Е) С ва Д жавоблар тўғри
3. Агар стерил шароитларда экиш учун мўлжалланган экспланда ички инфекция мавжуд бўлса, қандай чора кўрилади?
 - А) совунли сувда ишқалаб ювилади
 - В) дистилланган сувда ювилади?
 - С) спирт эритмасига ботириб қўйилади
 - Д) натрий гипохлорид эритмаси билан ишлов берилади
 - Е) антибиотиклар билан ишлов берилади
4. Сунъий озуқа муҳитларида цитокинин манбаи сифатида қуйида берилганларнинг қайси биридан фойдаланилади?
 - А) 2, 4-Д
 - В) ИСК
 - С) кинетин
 - Д) зеатин
 - Е) С ва Д

5. Ажратилган меристемаларни культуралаш ва уларни микрокўпайтиришда хоналарнинг ёритилиш даражаси қандай бўлиши лозим?

А) 2000-8000 лк

В) 1000-2000 лк

С) 3000-10000 лк

Д) 30000-50000 лк

Е) тўғри жавоб берилмаган

6. Ўсимлики хужайралари дифференциалланиши ва унинг каллусга айланиши учун озук муҳити таркибида фитогормонларнинг қандай гуруҳлари бўлиши зарур?

А) гибберлин, цитокинин

В) этилен, абсцизов кислотаси

С) брассиностероидар, фузикокцинлар

Д) ауксинлар, цитокининлар

Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

7. Хужайраларнинг *in vitro* дифференциалланган ҳолатидан дидифференциалланган ҳолгатиға ўтишиға нима сабаб бўлади?

А) ДНК репликацияси

В) генларнинг репрессияси

С) генлар фаоллигининг эпигеном ўзгарувчанлиги

Д) каллус хужайраларида махсус оксиллар пайдо бўлиши

Е) хужайраға хос оксиллар миқдори камайиши ёки умуман йўқолиб кетиши

8. Каллус хужайраларидан фитопатогенларға чидамли, ҳосилдорлиги юқори хужайралар олишға имкон берадиган омил нима?

А) каллус хужайраларининг генетик бир хиллиги

В) каллус хужайраларининг дидифференциалланиши

С) хужайраларининг полиплоидланиши

Д) хужайраларининг генетик хилма-хиллиги

Е) А ва В жавоблар тўғри

9. Каллус тўқималари қачон регенерацияланиш қобилиятини йўқотади?

А) умуман йўқотмайди

В) сабаблари ҳали тўлиқ аниқланмаган

С) қариганда

Д) тўртинчи марта қайта экилганда

Е) С ва Д жавблар тўғри

10. Хужайрлар суспензиясида тирик хужайраларни ўлик хужайралардан қандай фарқлаш мумкин?

А) тирик хужайраларни ўсиш тезлигига нисбатан ҳисоблаш

В) тирик хужайраларни ҳисоб камерасида санаш орқали

С) тирик хужайраларга бўёқнинг осон киришига кўра

Д) тирик хужайраларни кўк рангга бўялишига кўра

Е) тирик хужайраларни бўёқ билан бўялмаслигига кўра

11. Алоҳида хужайраларни клонлаш қийинлигига сабаб нима?

А) ферментлар таъсир этганлиги учун

В) майда агрегатлардан иборатлиги учун

С) йирик агрегатлардан иборатлиги учун

Д) каллус тўқималари ўсадиган шароитда бўлинганлиги учун

Е) клонлашда қийинчиликлар бўлиши мумкин эмас.

12 Соматик эмбриогенезнинг органогенездан фарқи нимада?

А) дастлаб алоҳида органлар регенерацияланади

В) илдиз ва поя меристемасига эга бўлган куртаклар ҳосил бўлади

С) дастлаб алоҳида соматик хужайралар ҳосил бўлади

Д) илдиз ва поя меристемасига эга бўлган куртаклар ҳосил бўлмайди

Е) яхлит организм пайдо бўлмайди.

13. Ўсимликларни клонли микроқўпайтириш нима?

А) пробиркада ўсимликларни ўстириш

- В) ўсимликларни вегетатив кўпайтириш
- С) ўсимликларни ўзига хос кўпайтириш усули
- Д) ўсимликларни майда бўлақларга бўлиб кўпайтириш
- Е) генетик бир хил ўсимликларнинг *in vitro* шароитида жинссиз кўпайтириш

14. Ўсимликларда термотерапия усулини қўллашдан кўзланган мақсад нимадан иборат?

- А) ўсимликларни вирусдан ҳоли қилиш
- В) ўсимликларни замбуруғлардан ҳоли қилиш
- С) ўсимликларни патоген бактериялардан ҳоли қилиш
- Д) ўсимликларни зараркунанда ҳашаротлардан ҳоли қилиш
- Е) ўсимликларни турли хил касалликлардан ҳимоя қилиш

15. Қурғоқчиликка чидамли трансген ўсимликлар олиш учун *in vitro* шароитида қайси моддадан фойдаланилади?

- А) глицерин
- В) витаминлар
- С) фитогормонлар
- Д) полиэтиленгликоль
- Е) меркаптэтанол

16. Ўсимликларни касалликларга чидамлилигини ошириш учун *in vitro* да қайси моддадан фойдаланиш мумкин?

- А) фитоалексинлар
- В) патотоксинлар
- С) культурал филтратлар
- Д) патогенлар
- Е) И, С ва Д жавоблар тўғри

17. Кескин ҳароратларга чидамли ўсимликлар олиш учун қандай тадбир амалга оширилади?

- А) антифриз моддалар аккумуляциясини ҳосил қилиш
- В) боғланмаган сувлар миқдорини камайтириш

- С) захира моддалар миқдорини ошириш
 - Д) бундай ўсимлик олишга ҳали эришилгани йўқ
 - Е) А, В ва С жавоблар тўғри
18. Соматик ҳужайраларни дурагайлаш нима?
- А) жинсий ҳужайраларни *in vitro* шароитида қўшиш
 - В) соматик ҳужайралардан ўсимлик етиштириш
 - С) соматик ҳужайралар протопластларини бир-бирига қўшиши
 - Д) Соматик ҳужайраларни бир-биридан ажратиш
 - Е) ҳужайралар деворини парчалаб, қайта тиклаш

Фойдаланилган адабиётлар:

1. Артикова Р., Муродова С.С. Қишлоқ хўжалик биотехнологияси. Ўқув қўлланма.- Тошкент: Фан ва технология 2010 -252 б.
2. Давранов Қ.Д. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. –Тошкент: 2008. -214 б.
3. Шевелуха В.С. и др. Сельскохозяйственная биотехнология: Учебник // Под ред. В.С. Шевелухи. - 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 2008. – 710 с.
4. Назаренко Л.В., Долгих Ю.И., Загоскина Н.В., Ралдугина Г.Н. Биотехнология растений: учебник и практикум для бакалавриата и магистратуры. 2-е изд., испр. и доп. - Москва: Издательство Юрайт, 2018. — 161 с.
5. Биотехнология растений: культура клеток / Под ред. Р.Г.Бутенко.-М.:Агропромиздат,1989.
6. Бутенко Р.Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений. М.: Наука, 1975 г.
7. Бутенко Р.Г. Культура клеток растений и биотехнология.- М.: Наука. 1986.
8. Бутенко Р.Г., Гусев М.В., Киркин А.Ф., Корженевская Т.Г., Маркарова Е.Н. Клеточная инженерия. М., «Высшая школа», 1987, 127 с.
9. Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений *in vitro* и биотехнологии на их основе.- М.: ФБК-ПРЕСС, 1999.

10. Вилдонова Г.В. Индуцированный органогенез у некоторых видов Среднеазиатских можжевильников в культуре *in vitro* // Лесное хозяйство №
11. 2002 г. с. 35- Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе М."Колос" 1992.
12. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений.-Киев: Наукова думка 1982.
13. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Клеточная инженерия растений.-Киев: Наукова думка 1984.
14. Калинин Ф.Л. и др. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наукова думка 1980.
15. Калинин Ф.Л. Кушнир Г.П., Сарнацкая В.В. Технология микрклонального размножения. Киев: Наукова думка 1992.
16. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г. Клональное микроразмножение растений .- М.: Наука 1983.
17. Максимов П.Н. Многофакторный эксперимент в биологии.-М.:Изд-во МГУ, 1980.
18. Муромцев Г.С. Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофьев М.И. Основы сельскохозяйственной биотехнологии.-М.: Наука 1990.
19. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция.- Киев: Наукова думка 1990.
20. Шевелуха В.С. Новая биотехнология в селекции и растениеводстве // Вестник с/х науки. 1986 №2.
21. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе...-М.: Колос, 1982.
22. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин В.А. Сельскохозяйственная биотехнология. Учеб. –М.: Высшая школа, 2003.

XX боб. Фитогормонлар ва ўсимликларни ўсиши ҳамда ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар.

Ўсимликлар гормонал тузишга синтетик регуляторлари таъсири. Фитогормонлар классификацияси структураси ва функцияси . ауксин. Цитокинин. Гиббериллин. Этилен ва Онтогенезни бошқариш. Илдиз ҳосил бўлиши стимуляцияси. Фитогормон ва сунъий регуляторлардан ўсимликшуносликда фойдаланиш. Фитогормон ва фиторегуляторлар олишнинг биотехнологик усуллари.

Дунй қишлоқ хўжалик амалиётида ишлоқ хўжалик экинларининг ўсиши ва ривожланишини бошқаруви воситалар, жумладан, фитогормонлар, ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланиши регуляторлари, индукторлари каби муҳим моддалар иммунитет индукторлари, фенол-ингибиторлар, антибиотиклардан фойдаланишга катта эътибор қаратилади. Бундан келиб чиқиб, ушбу соҳанинг асосий йўналишларда ўрганиш йўллари шаклланган:

- 1) фитогормонлар ва уларнинг таъсир механизми; 2) ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланиши регуляторлари; иммунитет индукторлари, фенол ингибиторлари, ретардантлар; 3) хужайра метаболитлари: аминокислоталар ва органик кислоталар; 4) ўсимликларни касалликлардан ҳимоя қилиш ва тупроқ унумдорлигини ошириш учун биологик препаратлар; 5) пестицидлар: гербицидлар, дефолиантлар ва десикантлар-қуритувчи воситалар, ёрдамчи моддалар, бактериоцидлар (антибиотиклар ва кимёвий бактерицидлар), фунгицидлар; 6) феромонлар.

Ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи моддаларнинг баъзилари - фитогормонлар ёки уларнинг синтетик аналоглари, бошқалари турли ферментларнинг ингибиторларидир.

Қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришида турли хил физиологик фаол моддалардан кенг фойдаланиш XX асрда бошланган ва ҳозирги пайтда биронта замонавий қишлоқ хўжалиги технологияси уларсиз амалга оширилмайди.

Махкур йўналишининг тараққиётига турли моддалар синтезининг хилма-хил биокимёвий жараёнлари механизмлари очиқ берилиш ва уларни организмда ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини гормонал бошқариш тартибга солишнинг молекуляр асосларнинг ташкил этилиши, кўплаб физиологик фаол моддаларнинг таъсир қилиш механизмларига оид асосий кашфиётлар катта ҳисса қўшган

Бундай моддалардан фойдаланиш агробиоценозлар маҳсулдорлигини оширишни таъминлаб, уларда пестицид юкламаси, энергия сарфини камайтиради ва қишлоқ хўжалиги маҳсулотларининг рентабеллигини оширади. Элиситор (сигнал) таъсирига эга биологик фаол моддалардан фойдаланган ҳолда зарарли организмларга нисбатан ўсимликлар иммунитетини индукция қилиш ўсимликларни ҳимоя қилишнинг энг истиқболли замонавий усулларида бири бўлиб ҳисобланади. Ушбу моддалар ўсимликларнинг касалликларга қарши иммунитетини, атроф муҳитнинг бир қатор салбий омиллари (қурғоқчилик,

юқори ва паст ҳарорат, тупроқ шўрланиши) га чидамлилигини оширади уруғлар ва меваларнинг етилишини яхшилайти, шунингдек уларнинг сифати, қаламчаларнинг илдиз отишини таъминлайди, ўсимликларининг ётиб қолишини ва дони тўкилиб кетишини олдини олади, ҳосилни механизациялашган ҳолда йиғиб олишни осонлаштиради, тупроқ унумдорлигига салбий таъсир кўрсатмайди. Улардан тизимли фойдаланиш экинларга фунгицидлар билан ишлов бериш давомийлигини камайтириб, бундай препаратларни қўллашни 25-50% гача пасайтириб, атто ушбу турдаги химоя воситаларидан амалиётда фойдаланишни бутунлай истисно қилади. Улар ҳайвонлар учун кам захарли бўлиб, жуда паст концентрациялар (10^{-6} гача) -10^{-9} мол / л) ўсимликлар, шунингдек фойдали микрофлоралар учун самарали ҳисобланади.

ФИТОРМОНЛАР

Фитогормонлар метаболизм жараёнида ҳосил бўлган ва ўсимликларнинг физиологик ва морфогенетик дастурларини ишга тушириш ва тартибга солиш учун жуда оз миқдорда талаб қилинадиган моддалардир. Улар табиий моддалар бўлиб, ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини тартибга солади. Ушбу моддалар маълум ўсимлик тўқималарида ҳосил бўлади ва бошқа органлар ва тўқималарга етказилиб, уларга таъсир қилади. Ўсимликларда ўсиш, ривожланиш, шаклланиш ва атроф-муҳит омилларига мослашиш каби асосий физиологик жараёнлар фитогормонлар томонидан тартибга солинади. Фитогормонларнинг ўзига хос хусусияти уларни бошқа физиологик фаол моддалардан (витаминлар, из элементлари) фарқли равишда, уларнинг ўсимликларнинг физиологик ва морфогенетик дастурларига таъсир этишидадир.

Замонавий таснифга кўра, фитогормонлар ҳужайралар, тўқималар ва органлар билан ўзаро таъсир қилувчи, ўсимлик организмларидаги морфогенетик физиологик жараёнлар рағбатлантирувчи ва ингибирловчи қилувчи ва ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишининг биологик регуляторларидир.

Фитогормонларнинг фаол шакллари фақат фитогормонларга ваколатли-компетент ҳужайралар, яъни мембраналари ва цитоплазмасида фитогормонларга хос рецепторлар мавжуд бўлган ҳужайраларга таъсир кўрсатади.

Фитогормоннинг рецепторлари билан ўзаро таъсири гормонал сигнални айлантириш ҳужайранинг функционал жавоб реакцияларига айланиши занжирини кўзғатади. Бу жавоблар рецепторлари тури, фитогормон концентрацияси ва бу концентрациянинг бошқа фитогормонлар даражасига нисбати, шунингдек рецепторнинг гормонал сигналнинг ўтказилишида иштирок этувчи у ёки бу молекуляр комплекслар билан ўзаро таъсирга боғлиқ равишда турли туман бўлиши мумкин.

Фитогормонлар ҳужайраларнинг бўлиниши ва ўсишига, чўзилиш, тиним даврини ўтказиши, пишиб етилиши, қариши, шаклланиши, насл

элементарининг шаклланиши, стрессга чидамлилик, тропизми, транспирацияси; организм, индивидуал ривожланиш босқичларининг табиий кетма-кетлигига таъсир қилиб, ўсимликнинг функционал яхлитлигини таъминлайди.

Гормонал тизим хужайранинг генетик аппарати билан чамбарчас боғлиқ. Фитогормонлар нафақат ДНК нинг метилланиш даражасига таъсир қилади, балки генлар экспрессиясини бошқаради, шунингдек оперондаги репрессор оқсиллар билан боғланиб, структуравий генларнинг фаоллашишига ва баъзи ферментларнинг синтезига сабаб бўлади. Шунинг учун, ўзгарувчан озуқа муҳитидаги гормонлар нисбатини ўзгартириш орқали, хужайра ва тўқималарнинг генетик дастурларини ҳам маълум даражада ўзгартирилиши мумкин. Ушбу жараёнлар хужайра ва тўқималарнинг дедифференциацияси, редифференциация ва дифференциацияси деб номланади.

Битта хужайрада битта фитогормоннинг бир неча турдаги рецепторлари бўлиши мумкин бу эса бир хил фитогормоннинг ўзига ўсимлик реакцияларининг турли хил турлари, яъни. унинг таъсирини кўп функционаллиги билан ифодаланади. Фитогормонга реакциянинг интенсивлиги нафақат унинг концентрацияси, шунингдек гормон рецепторлари концентрациясига кўра аниқланади, чунки улар тўлиқ физиологик фаолликка эга алоҳида компонентлар эмас, балки мураккаб тизимдир.

. Бу эса хужайраларнинг айна гормонга нисбатан турли хилдаги сезgirлигига сабаб бўлади. Одатда, ушбу фитогормонни ишлаб чиқарувчи хужайраларда рецепторларнинг паст концентрацияси туфайли унга нисбатан сезgirлиги паст бўлади. Ҳозирги вақтда фитогормон рецепторлари етарлича ўрганилмаган. Бироқ, тегишли органлар (рецепторлар) фитогормонни таниб олиш хусусиятига эга бўлиши керак, деб ҳисобланилади. Уларнинг аксарияти ўзи боғланадиган гормонга жуда яқин бўлган ўхшашликка эга глобулалар оқсиллардир.

Гормонал таъсир хужайрадаги стратегик муҳим позицияни эгаллайдиган оқсил молекулаларининг конформацион (шакли ва фазовий тузилиш хилма-хиллиги) ўзгариши орқали амалга оширилади. Бундай оқсиллар фитогормон рецепторлари, рецепторлари ва маълум ферментативлар орасидаги сигнални ўзгартирувчилар, шунингдек ферментлар, ферментларнинг фаоллаштирувчилари ёки ингибиторлари, мембранани ташиш тизимларининг таркибий қисмлари сифатида фаолият юритиши мумкин.

Барча сезgir хужайралардаги бу эффектлар маълум бир хужайрага хос бўлган кўплаб оқсиллар шаклининг мувофиқлаштирилган ўзгаришлари занжирини акс эттиради.

Ташқи муҳит ўзгаришлари натижасида ўсимликдаги у ёки бу гормон синтезида ўзгаришлар юз бериши мумкин ва у оксиллар алмашинувига таъсир қилади. Тўпланган экспериментал маълумотларнинг катта миқдори натижаларига кўра, фитогормонларнинг ўсимлик хужайраларидаги генлар экспрессиясидаги иштироки ва уларнинг оксиллар синтезига таъсири кўрсатади. Асосий ферментлар фитогормонларнинг биосинтезига таъсир этиб, атроф-муҳит омиллари (ёруғлик, ҳарорат ва бошқалар)нинг ўзгаришига юқори сезувчанликни кўрсатади ва бу эса муайян фитогормон синтезининг устунлигига олиб келади.

Ҳосил бўлган фитогормон молекуласи кейинчалик синтез қилинган жойдан ўсимлик бўйлаб нишон хужайралар, яъни бу фитогормонга сезгир хужайраларга кўчирилади.

Фитогормонлар ўсимликнинг ўтказувчан тизими бўйлаб, шира ҳаракати ва ассимилянтлар оқими бўйлаб, шунингдек, хужайралараро бўшлиқда ташилади. Фитогормон молекулалари нишон хужайраларга концентрация градиентига мувофиқ силжиши, қўшни хужайраларнинг протопластларини боғлайдиган плазмодезма- мембрана каналлари бўйлаб ёки фаол транспорт натижасида хужайранинг чегара мембранаси - плазмалемма орқали ташилиш мумкин.

Рецептор оксилнинг тузилиши бузилганида, рецепторнинг гормон билан боғланиш қобилияти йўқолади. Гормоннинг тўлиқ шаклланмаган аналоглари рецептор билан қисман боғланиш жараёнини амалга оширади, бу гормонал таъсирнинг эса заифлашувида акс этади. Ўсимлик турларини ва навларини фиторегуляторлар таъсирига нисбатан турлича реакциялари қайд этилган кўплаб тадқиқотлар натижалари ва бошқа сабаблар бунни тасдиқлайди.

Ташқи муҳит омиллари Ген экспрессиясининг фитогормонал регуляцияси ўсимлик хужайраси ҳаётида дифференциация ва дедифференциация, бўлиниш, ўсиш ва янги шароитларга мослашиш каби муҳим жараёнларни белгилайди.

Фитогормонларнинг генларнинг репрессиясига ва дерепрессиясига таъсирининг энг катта эҳтимолий йўлларида бири ДНК метилланиши бўлиб, у органогенезнинг у ёки бу босқичида тегишли генларнинг экспрессия жараёнида ўсиш ёки пасайиш ёки уларнинг фаоллигини тўлиқ тугашига олиб келади.

Бириккан ёки ажралиб чиққан метил гуруҳлари сони, уларни латерал шохлардаги локализация жойларидаги ДНК нуклеотидлар кетма-кетлигининг тузилмалари функционал жиҳатдан тузилмаларни ўз ичига олган генларнинг фаоллигига сезиларли таъсир кўрсатади.

Маълумки, стимуляторлар ва ингибиторларнинг биосинтези, уларнинг инактивацияси ва ишлаши ядро томонидан бошқарилади. Организмдаги барча корреляциялар асосида генетик жиҳатдан тартибга солинадиган даражадаги эндоген фитогормонлар ва уларнинг антагонистлари ётади. Натижада, ўсиш марказлари бир орган тизими бошқасига ўзгариб туради.

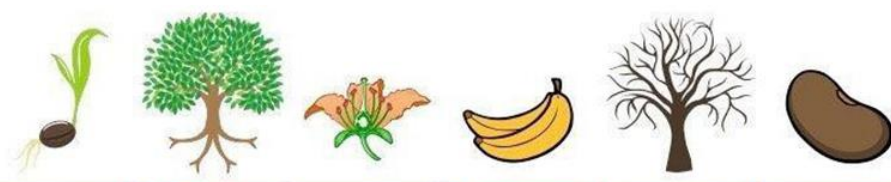
Ёшга боғлиқ ўзгаришлар ўсимликларнинг таракқиётидаги гормонал статуснинг сезиларли ўзгаришлари билан бирга кечади. Турли фитогормонларнинг таъсир кўлами сезиларли даражада бир-бирига тўғри келади, бу уларнинг ихтисослашувининг нисбийлигини кўрсатади.

Шундай қилиб, генотип билан белгиланадиган гормонал регуляция унга сезиларли таъсир кўрсатади ва ирсий регуляция билан биргаликда ўсимликлар ирсий дастурни амалга оширишда генларни назорат қилишнинг асосини ташкил этади. Ўсиш, ривожланиш ва бошқаларни кучайтириш ёки кучсизлантириш жараёнлари, ушбу тизимларда экологик ва бошқа атроф-муҳит омиллари билан ўзаро таъсирида ўсимликларнинг морфогенези, тузилиши, ҳосилдорлиги ва мослашишини белгилайди.

Ўсимликларнинг стресс омилларига чидамлилигини баҳолашда фаол эндоген регуляторлар тизимлари - цитокинин типигаги ўсиш стимуляторлари ва абсцисис кислота типигаги ўсиш ингибиторлари фаолиятини назарда тутиш керак.

Шунингдек, танланган ўсимталар намуналарининг турли хил синтетик ва табиий стимуляторлар ва ўсиш ингибиторлари таъсирга оид реакциясини аниқлаш муҳимдир. Баҳолаш тизимида ўсимта тўқималари таркибидаги абсциз кислотаси ва индолил сирка кислотаси кўрсаткичлари, стимулятор фаоллигининг ингибитор фаолликка ўзгариши, илдиз ва поялардаги стимуляторлар ва ўсиш ингибиторларининг нисбати киритиш мақсадга мувофиқдир.

Фитогормонлар кимёвий тузилиши, таркиби ва фаолият доираси бўйича жиҳатидан турли хил бўлади. Фитогормонларнинг ўсимликка таъсири поливалент бўлади. Кимёвий табиатига кўра ўсимлик гормонлари икки гуруҳга бўлинади: мевалон кислотасининг ҳосилалари (гиббереллинлар, абцизинлар, брассинлар, фусикоксин, цитокининлар) ва аминокислота ҳосилалари (ауксинлар - триптофандан, этилен – метиониндан ёки аланиндан келиб чиқади).



	Униб чиқиш, кўкариш	Етилиш, ўсимликни шаклланиши	Гуллаш	Мева шаклла- ниши ва ривож	Барглари тўқилиши	Уруғларни тиним даври
Гиббереллин	✓	✓	✓	✓	✗	✗
Ауксин	✗	✓	✓	✓	✗	✗
Цитокинин	✗	✓	✓	✓	✗	✗
Этилен	✗	✗	✓	✓	✓	✗
Абсциз кислота	✗	✗	✗	✗	✓	✓

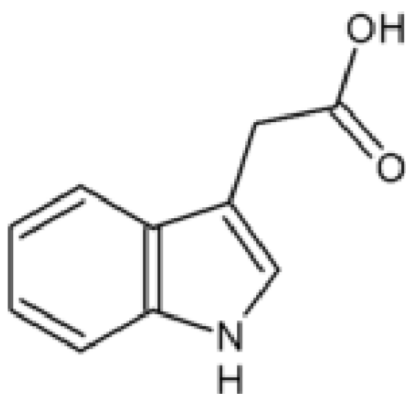
-расм. Фитогормонларни ўсимлик фаолиятининг турли босқичларига таъсири.

Фитогормонлар биосинтези ўсимликлар муайян қисмларида: ИСК индолил-3-сирка кислотаси поя апексида ҳосил бўлади, барг гиббереллинлар синтези маҳсулоти - каурен асосий донори бўлиб хизмат қилади, шунингдек, абсциз кислота, кинетин илдиз учида ва илдиз узайиш зонасида гиббереллинлар синтезланади, зеатин манбаи униб чиққан уруғларнинг эндоспермида ҳосил бўлади.

Функционал таъсири бўйича фитохормонлар 5 та асосий гуруҳга бўлинади:

- ауксинлар, гиббереллинлар, цитокининлар, абсциз кислота, этилен. Улар – стимулятор-фитогормонлар (ауксинлар, гиббереллинлар, цитокининлар ва нисбатан яқинда топилган - брассиностероидлар ёки брассинлар, жасмин ва салицил кислоталари) ва ингибиторлар (абсциз кислота, этилен ва фенол ингибиторлар).

Ауксинлар - бу индол характеридаги моддалардир (-расм).



-расм - индолил-3-сирка кислотаси (гетероауксин)
структуравий формуласи

Ауксин типига асосий фитогормон индолил сирка кислота (ИСК) дир.

Ауксин - ИСК ва унга боғлиқ баъзи бирикмалар -ўсимликларда кенг тарқалган. Уларнинг энг катта концентрацияси ўсимлик организмнинг ўсиб боровчи қисмлари: поя учи, баргларнинг ёш ўсадиган қисмлари, куртаклар, тугунчалар ва чангчилар, униб чиқадиган уруғларида тўплангандир. Фитогормонларнинг синтези, асосан, меристематик тўқималарда амалга оширилади. Ауксинлар поянинг юқорисидан унинг пастки қисмига, сўнгра илдиз асосидан пастки учига қараб яъни қутбли силжийди.

ИСК триптофан аминокислотасидан ҳосил бўлади ва у эса шикимик кислотадан синтезланади. Аммо ауксиннинг триптофанга боғлиқ бўлмаган синтези ҳам аниқланган. ИСКни индол ва индол глицерофосфатдан синтез бўлиши мумкинлиги аниқланган. ИСК таркиби нафақат унинг шаклланиш тезлигига, балки, парчаланиш фаолилигига боғлиқ. ИАА деградацияси учун жавобгар бўлган асосий фермент ИСК оксидазадир.

Ўсимлик хужайраларидаги цитозол ва хлоропластларда ушбу гормон мавжудлиги аниқланган.

Хужайраларида ауксиннинг таркибига таъсир қилувчи асосий омиллар: ауксиннинг триптофанга боғлиқ синтези, ауксиннинг триптофанга боғлиқ бўлмаган мустақил синтези, транспорт, оксидланиш ва декарбоксилланиш, конюгация. ИСК нинг шаклланишига ташқи муҳит шароит (ўсимликнинг азот, сув билан таъминланганлиги, ёруғлик даражаси, эпифитик микрофлора) сезиларли даражада таъсир қилади). Фитогормонлар таркибини ўзгариши ҳисобига, ташқи муҳит шароитининг метаболизм ва ўсиш жараёнларига дастлабки таъсири амалга оширилади. Ўсимлик организмнинг онтогенез жараёнида ауксин таркиби ўзгаради. Ўсимликларнинг гуллаш босқичида баргларда ауксин максимал миқдорда учрайди. Ёзилган куртаклар, униб чиққан уруғлар кўп миқдордаги ауксин сақлайди. Бироқ, В.И. Кефели маълумотига кўра, ўсиш жараёнларининг ниҳоясида (тиним даврида) ауксинларнинг миқдори камаяди. Ауксинларнинг миқдори ва хужайранинг ўсиш даражаси ўртасида тўғридан-тўғри мутаносиблик мавжуд. ИАА ҳосил бўлиши ва парчаланиш йўли билан унинг таркибини тартибга солиниши ўсиш жараёнларини мувофиқлаштириш усулларида биридир. Фитогормонлар фаолиятининг юзага чиқиши учун оксил рецепторлари билан комплекс (гормон-рецепторлари комплекси) шаклланиши зарур. Ушбу эрувчан ауксин билан боғланадиган оксил аллақачон кашф қилинган, у рецептор бўлиб, эндоплазматик ретикулумда ва хужайралар юзасида фаол бўлади.

Ауксинлар поя, барг ва илдизларнинг ўсишини фаоллаштиради, шунингдек ўсимлик қалачаларида илдиз ҳосил бўлишини рағбатлантиради. Ўсимликларда уларни аниқлаш туфайли бир қатор ўсиш жараёнларининг ички сабабларини аниқлаш мумкин бўлди. Поя ва илдизларнинг ўсиш қисмлари - апекслари (тепалари) томонидан ишлаб чиқарилиб, улар апекслардан хужайранинг чўзилиш зонасига ўтиб, чўзилиш жараёнига таъсир қилади. Оддий ҳолатда, кўчат ва илдизларда ауксиннинг катта миқдори мавжуд. Агар ауксиннинг ҳаддан ташқари юқори концентрацияси сунъий равишда яратилса, ўсимлик ўсишдан тўхтаб қолади. Ауксин чўзилувчан хужайралар ўсишига таъсир қилишдан ташқари, хужайранинг бўлинишини келтириб чиқаради ва ўсаётган ўсимлик органлари ўртасидаги ўзаро боғлиқликни таъминлайди. Ауксиннинг бошқа хусусиятлари қаторида унинг бир қатор морфогенетик таъсирларни келтириб чиқариш қобилиятини таъкидлаш лозим: мевалар таркибидаги партенокарпик (помидор, бодринг, анжир), барглар ва гул тугунчаларининг тўкилишини кечиктиради ва илдиз ҳосил бўлишини фаоллаштиради. Бу каби хусусиятларга унинг синтетик аналоглари: индолилмой кислота (ИМК), а-нафтил сирка кислота (НСК), 2,4-дихлорофенокси-сирка кислотаси (2,4-Д), шунингдек ўсимликларнинг ўсишини рағбатлантирадиган табиий фенол бирикмалари ҳам эга. Чангчи таркибидаги ИСК нинг юқори концентрацияси мева ҳажмини ортишига ёрдам беради (гулнинг тумшукчаси устига қанча кўп чангчи тушса, мева шунчалик катта бўлади). Ауксинларнинг организмга ассиметрик тарқалиши

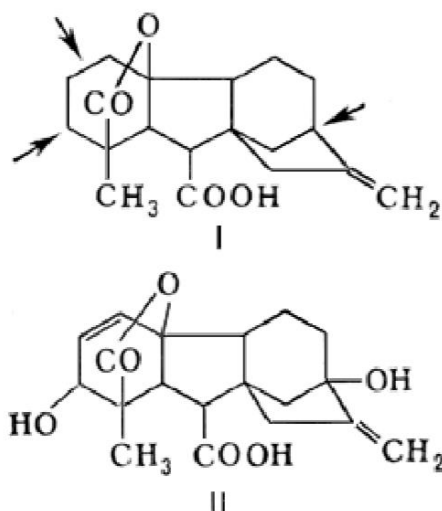
натижасида вужудга келадиган гео- ва фототропизм ходисалари асосий таъсирлардан биридир.

Ауксин сунъий аналоглари, жумладан 2,4-Д нинг таъсири механизми ханузгача аниқ эмас; бу регулятор ўсимликдаги нормал ауксин мувозанатини бузади, оксидловчи фосфорилланишни нафас олиш билан бирлаштиради ва ўсимликлар меристемаларида митоз фаоллигини бўғиб қўяди. Бироқ, гиббереллинлар ва цитокининлар топилгандан кейингина поянинг ўсиши, ўсимликларининг гуллаши, тиним даври ва баргларнинг яшил рангини тартибга солиш механизмлари аниқланди.

Гиббереллинлар - флуорен қаторининг дитерпеноидларига мансуб бирикмалар бўлиб, улар ўзаро тузилишда жуда ўхшашдир. Биринчи марта япон олими Е. Куросава (1926) томонидан шолининг ҳаддан ортиқ ўсиши билан боғлиқ, *Gibberella fujikuroi* Sow. замбуруғи қўзғатадиган касалликни ўрганиш вақтида кашф этилган. Кейинчалик унинг ватандоши Т. Ябута (1935) алоҳида ажралиб чиқди ушбу замбуруғдан кристал шаклида гиббереллин ажратиб олди ва унга шу номни берди. Ҳозирги вақтда уларнинг 27 таси маълум бўлиб, уларнинг барчаси карбон кислоталаридир. Бу гормонларнинг асосий таркибий бирлиги гиббереллин ГК₉ (-расм /) бўлиб, қолганлари эса ҳосилалар сифатида қабул қилинади.

Улар барқарор эмас ва кислотали ёки ишқорий муҳитда тезда парчаланади

Гибберал кислота (ГК₃) энг катта биологик фаолликка эга бўлиб, ГК₉ билан углеродларда гидроксилларнинг борлиги (ўқлар билан белгиланган) ва икки ёклама боғланиш фарқ қилади. Улар ўсимлик пояларининг ўсишини рағбатлантиради ва фаоллаштиради, тиним давридаги уруғлар униб чиқишига сабабчи бўлади ва ўсимликлардаги тиним даврни бузади, фотопериодик сезгир гуллашни стимуллайди, ўсимликларда партенокарпик мевалар шаклланишига ҳисса қўшади (узум, гул кестириб, гилос, олма таркибида), иккиламчи ксилеманинг шаклланишини ва лигнификациясини рағбатлантиради, хужайралар (лигнификация қилинган хужайралар сони гибберел кислота дозаси ошиши билан ортади).



Расм 2 - Гиббереллинлар молекулаларининг тузилиши

Юксак ўсимликларда тез ўсадиган тўқималар уларга энг бой бўлиб: улар пишмаган уруғлар ва меваларда, ўсимталар, очиладиган уруғпаллалар ва баргларда бўлади.

Гиббереллинлар ўсимликларни етиштириш амалиётида кенг қўлланиланилиб, каноп ва зиғир толаси чиқимини ошириш, уруғсиз узум навларида резаворлар ҳажмини кўтариш, ўтчил ўсимликлар ҳосилдорлигини ошириш, уруғларнинг униб чиқишини рағбатлантириш (ишлов бериш тўқималарнинг тиним ҳолатини бузади ва уруғларга стратификацион таъсир кўрсатади; уруғларнинг тиним ҳолатидан табиий чиқарилиши билан, таркибида эндоген гиббереллинлар миқдори кўпаяди). Улар туфайли ўсимликларнинг яшил массаси ўсишининг кескин тезлашиши, улардан фойдаланиш эса ўсимликларнинг озиқланиши яхшилаши билан бирга кечиши керак. Помидор, гилос, олма меваларнинг тез етилиши, шунингдек, дон экинларининг ётиб қолишини олдини олиш учун, ўсимликларга гиббереллинларнинг таъсирининг ингибитор моддалари, масалан – этефон (помидор, гилос, олма дарахтларининг пишишини тезлаштиришга сабаб бўлади) билан ишлов берилади.

Улар асосан *Fusarium* турига мансуб замбуруғларнинг ҳаёт фаолияти маҳсулотларидан биотехнологик йўл билан олинади. Гиббереллинлар ҳужайра бўлинишини поя апексига бевосита туташган жойда ва чўзиш фазасидаги ўсишни тезлаштиради, ўсишни рағбатлантиради (асосан поя ва қаламчаларни) таъсири ауксинларга нисбатан кучлироқдир. Баъзи шароитларда улар барглар, гуллар ва меваларнинг ўсишини, шунингдек ўсимликларнинг ривожланишини ҳарорат ва фотопериодизмга боғлиқ ва маълум шароитларда - гуллаш ва мева етилиши тезлаштириши мумкин.

Ёруғлик ўсимликда унинг шаклланишига ёрдам беради. Ушбу гормоннинг кам ёки кўплиги баъзи патологик аломатларни белгилайди - паканалик ёки ҳаддан ташқари ўсиш. Гиббереллин таъсирида пояда бўғим оралиғи сонининг ўсиши кучаймайди, лекин асосан уларнинг ўсиши тезлашиши ҳисобига боради. Ауксинлар сингари, гиббереллин ҳам ҳужайранинг чўзилиши ва бўлинишини рағбатлантириши мумкин, лекин бу унинг меристематик зонада ҳужайралар бўлинишига таъсири билан тавсифланади. Гиббереллинлар таъсирида келиб чиқадиган митозлар асосий ўқи бўйлаб йўналган бўлиб, бу натижада поянинг чўзилишини келтириб чиқаради. Ўсимликда ИСК ва гибберел кислота ўзаро таъсирлашиб поянинг энига ўсишида янги ксилема ҳосил бўлишини рағбатлантиради. Поянинг ўсиши даврида ИСК гиббереллинни ўсиш нуқтасига транспортини фаоллаштиради, гиббереллин эса ИСК нинг базипетал транспортини¹⁶ фаоллаштиради.

Гиббереллинларнинг ўсиш жараёнига бевосита таъсир механизми специфик генлардан репрессия¹⁷ни олиб ташлашга қаратилган бўлиб, бу м-

¹⁶ Базипетал транспорт — ўсимликда моддаларнинг илдиз апикал меристемаси йўналишида ташилиши

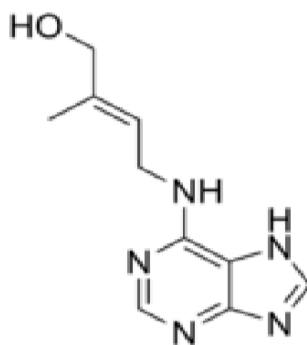
¹⁷ **Repressor** - bu DNK yoki RNK bilan bog'langan [oqsil](#) , [operatorga](#) yoki сайленсепга ulanish orqali bir yoki bir nechta [genlarning ekspressionini inhiбирлайди](#) . DNKни-боғловчи репрессор

РНК, ферментлар ва янги молекулаларнинг пайдо бўлишининг индукциясига олиб келади. Бу гиббереллиннинг эндоспермдаги α -амилаза синтезига индуктив таъсирида намоён бўлади. Гиббереллин баъзи протеиназалар, β -амилаза синтезини индукциялайди.

Цитокининлар - ҳужайранинг бўлинишини рағбатлантиради ва унинг тезлигини сезиларли даражада оширади (цитокинез), яхлит ўсимликнинг ўзида ва нодифференциаллашган каллусда куртаклар шаклланиши ва ўсишини бошлаб беради, шунингдек ҳаёт фаолиятини узайтирилади ва ажратиб олинган баргларда нормал метаболизмни сақлаб туриш, уларнинг иккиламчи даражали яшил ранг олишига олиб келади. Маккажўхори ёш донларидан ажратилган зеатин аденин - 6- (4-окси-3-метил-транс-2-бутениламино) пуриин эканлиги аниқланган.

Ўсимликлар таркибида цитокининлар жуда оз миқдорда бўлади, уларни фақат масс-спектрометрия усули ёрдамида аниқлаш мумкин. Пуриин ҳалқасининг 6-атомидаги аминокислоталарга бириктирилган ён занжир изопреноид тузилишга эга ва гиббереллинлар сингари мевалон кислотасидан ҳосил бўлган. Зеатинга жуда яқин бўлган модда, 6 (Н, Н-диметилалламинамо) пуриин ачитки, нўхат, исмалоқ ва бузоқ жигаридан рибонуклеозид шаклида серин ва тирозин ташийдиган транспорт РНКларидан ажратилган; иккала транспорт РНКларида ҳам бу ноодатий асос қисм тўғридан-тўғри антикодонга қўшилади. Бошқа махсус ўрганилган бешта транспорт РНКларида, бундай қизиқарли асос топилмаган.

Уларнинг таъсири биринчи марта Фолк Скоог томонидан кашф этилган (1940) кокос сутида кашф этилган. Ушбу гормонларнинг икки тури: аденин типдаги, кинетин билан ифодаланган (-расм 3), дифенилмочевина ёки тидиазурон билан ифодаланадиган зеатин ва 6-бензиламинопуриин ва фенилмочевина типдаги таснифланади.



3-расм - Кинетин молекуласининг тузилиши

РНК полимеразанинг promoterга боғланиш жойини блоклайди, шу йўл билан генларнинг мРНКга транскрипциясини тўхтатиб қўяди. РНК ни боғловчи repressor mРНК билан bog'lanib, mРНКнинг oqsilga трансляциясига to'sqinlik qiladi. Экспрессиянинг бундай блокировкаси **repressiya** deb ataladi.

Аденин типдаги цитокининлар асосан илдизларда, шунингдек, поялар ва баргларда синтезланади. Камбий ва бошқа фаол равишда бўлинадиган ўсимлик тўқималари ҳам уларнинг синтез жойи ҳисобланади. Фенилмочевина типдаги цитокининлар табиий равишда ўсимлик тўқималарида учраши аниқланмаган. Улар маҳаллий сигнал узатишда, шунингдек сигнални масофадан узатишда иштирок этади, жумладан, охириги механизм пуринлар ва нуклеозидларни ташиш учун ҳам, ишлатилади, ҳужайранинг бўлинишини, поя ва илдиз морфогенезини, хлоропластларнинг етилишини, ҳужайраларнинг чизиқли равишда ўсишини, қўшимча куртакларнинг ҳосил бўлиши ва қариш жараёнини тартибга солади. Уларнинг ауксинлар билан нисбати ҳужайралар бўлиниши ва ўсимлик тўқималарининг дифференциалланишида асосий омил ҳисобланади. Куртаклар ҳосил бўлиши ҳужайра дифференциациясининг варианты бўлиб, бу жараён ушбу фитогормонларнинг ўзига хос таъсири ҳисобланади.



<https://greenok.lv/ru/fitogormony-ili-gormony-rastenij/>

Биосинтези. Изопрен биосинтезидаги биринчи реакция цитокининлар аденозин фосфат изопентилтрансфераза ферменти томонидан катализланади, у АТФ, АДФ ёки АМФ дан субстрат сифатида ва идиметилалил дифосфат ёки гидроксиметил бутенил дифосфатдан эса пренил гуруҳининг донори сифатида фойдаланади.

Бу реакция цитокининлар биосинтезида чекланади, субстратлар пентлеритрол фосфатнинг биокимёвий йўлида ҳосил бўлади. Ўсимликларда бу гормонлар т-РНК нинг парчаланиш маҳсулотларидан ҳам ҳосил бўлиши мумкин.

Цитокининлар нафақат ҳужайранинг бўлинишини рағбатлантиради, балки улар културада етиштирилаётган ўсимлик ҳужайраларининг тузилишини ҳам ўзгартириши мумкин. Агар озука муҳитида цитокинин концентрацияси паст (10^{-9} М дан ошмаган) бўлса, фақат бўш, зичлашмаган,

мустаҳкам бўлмаган тўқимлар ҳосил бўлади. Бирмунча юқорирок концентрациялар (10^{-8} дан 10^{-7} М гача) да ҳужайралар массаси юзасида илдизлар ривожланади ва ниҳоят, юқори концентрациялар (тахминан 3×10^{-6} М) ундан ҳам кўпроқ бўлганда поялар ҳосил бўлиши бошланади. Тўқима култураларида кўрсатилган илдиз ва поялар дифференциациясининг цитокининлар концентрациясига бундай боғлиқлиги цитокининлар, эҳтимол, яхлит ўсимликда ҳам шунга ўхшаш функцияни бажаради деган фикрни тахмин қилиш имконини беради.

Цитокининларнинг таъсирининг қандайдир ўзига хос биокимёвий реакция боғлиқлиги ҳали исботланмаган; ушбу гормонлар томонидан ҳужайранинг бўлинишини стимуляция қилиш механизми ҳам ҳали номаълум бўлиб қолмоқда.

Улар, шунингдек, сафарбарлик ва озуқа моддаларини органлардаги жойларига жалб қилишда муҳим рол ўйнайди. Ушбу фитогормонларнинг энг фаол таъсири уларнинг бошқалар билан, айниқса ауксинлар билан ўзаро таъсирида намоён бўлади

Цитокининлар тўқима културасида ҳужайра бўлинишининг кескин фаоллашишига ҳам қодир. Улар ўсимликда тартибга солиш функциясини бажаради ва уларнинг асосий физиологик таъсирларидан бири бу ўсимлик тўқималари културасида органогенезни келтириб чиқариш қобилиятидир.

Цитокининлар пиёз илдиз ҳужайраларига ишлов беришдан 30 минут ўтгач, РНК даражасини икки бараварга ошириши ва тамаки илдиз ҳужайраларида ДНК миқдорини ошириши маълумдир. Бу, айниқса, ауксин ҳаракати фонида аниқ кўринади. Цитокининлар ўсиш икки паллали ўтчил ўсимликларнинг ўсиб келаётган барг қисмлари сегментларидаги ҳужайра ўсишини энг самарали рағбатлантиради.

Маълумки, агар ИСК ни 2,4-дихлоро-феноксисирка кислота (2,4-Д) билан алмаштирилса, лекин жуда у юқори концентрацияда бўлса, ўсимликнинг юраксмон каллус ҳужайраларининг кучсиз бўлинишга эришиш мумкин.

Цитокининлар ҳужайраларнинг ҳарорат, сувсизланиш, замбуруғли ва вирусли инфекция, механик стресс ва бошқаларнинг таъсири каби турли хил салбий таъсирлар кимёвий воситаларга қаршилигини максимал даражада оширади.

Шунингдек, Мотес ва Энгельбрехт тажрибаларида кинетин (цитокининнинг синтетик аналог) ҳужайраларнинг қисқа муддатли иситишга чидамлилигини ошириши ва у билан ярми кесилган тамаки барги ҳужайраларига ишлов бериш ва кейинги тикланиш жараёнига ҳисса қўшиши исботланган. Мотес цитокининларнинг бундай таъсирини ҳужайраларнинг ҳаракатчан метаболитларни ушлаб туриш қобилияти ва ва уларга атрофдаги тўқималардан озуқа моддаларининг кириб келиши билан тўғридан-тўғри боғлиқдир деб ҳисоблайди.

Ҳужайраларнинг ҳаракатчан метаболитларни сақлаб қолиши ва жалб қилиш хусусияти ҳужайраларнинг **аттрагирлаш** қобилияти дейилади.

аттрагирлаш қобилияти - фитогормонлар-стимуляторлар (ауксинлар, гиббереллинлар, цитокининлар, brassinosteroidлар) нинг концентрацияси энг юқори бўлган органга озуқа моддаларини етказиб берилишини фаоллаштириш қобилияти.

Иситиш натижасида барг хужайраларининг бунда бу қобилияти кескин камаяди ва цитокинин уни кўпайтиради, бу унинг иситиш билан боғлиқ бўлган ҳимоя ҳаракатининг намоён бўлиш усулларида бири бўлиши мумкин.

Тўқималар културасида турли нисбатларда қўшилган фитогормонлар эндоген гормонлар синтезини тартибга солади, ўсимлик хужайралари ва тўқималарининг турли хил морфогенетик реакцияларида ўзини намоён қилади. Хужайралар ва тўқималар култураси гормонал регуляцияси Скуг Миллер (1955) қондаси номи билан маълумдир, **яъни агар озуқа муҳитида ауксинлар ва цитокининларнинг концентрациясига нисбатан тенг бўлса ёки ауксинларнинг концентрацияси цитокининларнинг концентрациясига нисбатан сезиларсиз даражада ортиқ бўлса каллус ҳосил бўлади, агар ауксинларнинг концентрацияси цитокининларнинг концентрациясидан сезиларли даражада юқори бўлса, илдизлар ҳосил бўлади; агар ауксинларнинг концентрацияси цитокининларнинг концентрациясидан анча кам бўлса, куртаклар ва поялар ҳосил бўлади.**

Энг кенг тарқалган цитокининлардан бир бу -кинетин (3-расмга қаранг). Шунингдек, у протопластидлар ва пластидларнинг етилишини фаоллаштиришга, лигнин синтезини кучайтириш орқали трахеидлар дифференциациясини тартибга солишхусусиятига эга. Кинетин, баргга қўлланилганда, озуқа моддаларини ўзига жалб қилади, яъни. градиентга қарши ҳаракат кузатилади (фаол транспорт). Бу ҳаракат унинг баргларнинг сарғайишини кечиктириш, оксил синтезини кучайтириш, нуклеин кислоталар ва бошқа бирикмалар (липидлар, крахмал), шунингдек, баргнинг бир қисмидан бошқасига маҳсулотларнинг ҳаракатини чақириш қобилияти билан боғлиқ. Кинетин ИСК нинг ўсимликлар ўсишини тормозлови таъсирини енгиллаштириб, ксилема найларининг дифференциациясига бевосита таъсир қилади.

Фитоҳормонлар хужайра мембраналарининг ўтказувчанлигини ўзгартиришга қодир. Ауксинлар ва гиббереллинлар таъсирида хужайраларга протонларнинг ажралиши ортиши, бу эса хужайра деворининг кислоталилиги олиб келади ва улар орасидаги пектин моддаларининг қисман кислотали гидролизи натижасида целлюлоза фибриллалари боғланишларнинг заифлашиши кузатилади. Шунинг учун хужайра девори эластикроқ ва вакуоланинг тургор босими таъсир остида бўлиб, хужайра чўзилиш қобилиятини олади. Ферментлар синтезини индукция қилиш ёки фаоллаштиришда фитогормонлар бир-бири билан ўзаро таъсир қилиб,

натижада гормонларнинг ҳар бирининг функциясини кучайтиради ёки кучсизлантиради.

Шундай қилиб, экзоген ва эндоген келиб чиқишга эга ўстирувчи моддалар ўсимлик томонидан пластик моддаларни қабул қилиниши ва ҳаракатланишига рағбатлантирувчи таъсир кўрсатади.

Этилен тўйинмаган углеводород ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$) ўсимлик тўқималарининг ҳаёт фаолияти маҳсулоти бўлиб, ауксинлар томонидан фаоллаштирилган бир қатор метаболитик ва морфогенетик жараёнларни фаол равишда бостиради-тўхтатади. Этилен поянинг бўйига ўсишини тўхтатади, баргларнинг тўкилишига сабаб бўлади, асосий илдизнинг ўсиши ингибирлайди. Агар ўсимликда ауксинлар миқдори ошиб кетса, ушбу фитогормонга қарама-қарши ингибитор- фитогормон этиленнинг синтези бошланади. Агар ўсимлик табиий ауксинлар (ИСК, ИПВК ва бошқалар) билан ишлов берилса, у уларни тезда сарфланиши, ортиқча ауксинларни оксидланиши ёки "захирага юборилиши"га сабаб бўлади. Этиленнинг юқори даражадаги синтези ИСК концентрацияси юқори бўлган жойда энг кўп учрайди. Бундан ташқари, стресс остида бўлган ҳар қандай органларда кўп миқдордаги абсцис кислотаси (АБК) ва этилен тўпланади. Шунинг учун бу фитогормонлар кўпинча стресс гормонлари деб аталади.



Расм. Этиленнинг ўсимликлар ва мевалари ҳаётидаги физиологик роли.

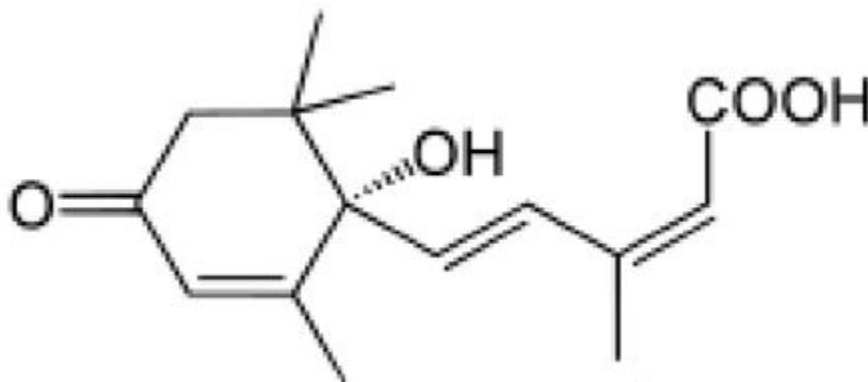
Улар оралиқ метаболитик маҳсулот сифатида сезиларсиз миқдорда ўсимлик тўқималарида ҳосил бўлади. Юксак ўсимликларнинг турли органларида (мевалар, гуллар, барглар, поялар, илдизлар) да учрайди. Биосинтезнинг этиленнинг таъсири устун бўлган томонга силжиши ўсишни секинлаштиришга, ҳужайранинг қаришини тезлашишига, меваларнинг пишиб этишига ва тўкилишига, барг бандлари ва мева бандларида

ажраладиган қавт ҳосил бўлишига сабаб бўлади. Зарарланиш таъсири остида бўлган жойларда бу фитогормон биосинтезини кучайиши локализация қилувчи некрознинг шаклланишига ёрдам беради. Бир қатор физиологик жараёнларни тартибга солишда абсцис кислота билан биргаликда фаолият юритади. Синтетик этилен ёки этилен ҳосилалари ҳосили йиғиб олинган мевалар (банан, помидор ва бошқалар) нинг пишишини тезлаштириш учун ишлатилади

Шунингдек, ўсимлик тўқималаридан этиленни ажратиб чиқарадиган 2-хлороетил-фосфоник кислота ва у асосида тайёрланган бошқа препаратлар ҳам ишлатилади. Улардан фойдаланганда ананасларнинг гуллаши синхронлаштирилади, йиғиб олингандан кейин ўсимликларда меваларнинг пишиши кучаяди ва поя ўсиши сусаяди, бир қатор донли, дуккакли экинлар ва сабзавотларда ён новдалар сони ортади.

Абсцис кислота (инглизча abscission дан - ажралиш, парчаланиш сўзидан олинган) баргларнинг сўлиши, тиним жараёнларини тартибга солувчи ўсимлик гормони. Ўсимликларнинг ўсишини тормозлайди.

Изопреноид кимёвий хусусиятига кўра сесквитерпеноид (расм).



4-расм - Абсцис кислота молекуласининг тузилиши

Биринчи марта абсцис кислота америкалик олимлар Ф. Эддикотт ва ҳамкасблари (1963) ва мустақил равишда Ф. Уоринг раҳбарлигидаги инглиз тадқиқотчилари томонидан ажратиб олинган. Бундан ташқари, унинг тузилишига яқин ва физиологик фаоллика эга - ксантоксин ва сув ўтлари ва жигар мохларида ўсиш ингибитори сифатида луналар кислотаси топилган.

Абсцисиз кислота ўсиш ва метаболик жараёнларни ингибирлайди, қурғоқчилик шароитларида оғизчалар орқали транспирацияни тўхтатади, уруғлар, илдиз мевалар ва туганакларнинг шаклланиши ва тиним даврига ўтиш ҳолатига ёрдам беради, шунингдек кўплаб ўсимликларнинг гуллари ва мевалари тўкилишини осонлаштиради

Унинг биосинтези виолаксантин типдаги каротиноидларнинг ўзига хос парчаланиши орқали содир бўлади. Табиатда у конюгатларни, биринчи

навбатда, углеводлар билан ҳосил қилиши мумкин, бу эса ушбу фитогормоннинг инактивациясига олиб келади.

Абсциз кислота барча органлар ва тўқималарда мавжуд бўлиб, ўсимликлар ва уларнинг кўпчилигида: барглар, илдизлар, уруғлар ва меваларда синтез қилиниши мумкин. Барг ҳужайраларида у хлоропластларда тўпланади. Унинг узок масофага транспорти қилема ва флоема бўйлаб, яқин масофага - апопласт (ҳужайра деворлари ва ҳужайралараро бўшлиқлар) ва симпласт (плазмодезмалар билан муносабатга киришадиган ҳужайралар протопластлари) бўйлаб амалга ошади. У турли хил физиологик таъсирга эга бўлса ҳам, бироқ уни "ҳосил қилмайдиган" ёки унга сезгир бўлмаган "сўлиб қоладиган" ўсимлик мутантлари ҳам олинган. Абсциз кислота қурғоқчилик шароитида, айниқса, сув мувозанатини сақлашда муҳимдир. Намлик этишмаслиги ушбу фитогормоннинг синтезини кескин фаоллашишига Заҳира бўлиб тўпланган жойларидан ҳужайра ичи ва ҳужайра ташқарисидаги бўшлиққа чиқишига олиб келади. Оғизча ҳужайраларда бу зудлик билан калийнинг чиқарилиши келтириб чиқаради ва ҳужайраларда тургорининг пасайишига ва оғизчаларнинг ёпилишига олиб келади, шу билан бирга у бир вақтнинг ўзида сувнинг илдизлар томонидан сўрилиши фаоллашади.

Кўп физиологик жараёнларда абсциз кислота ауксин, гиббереллин ёки цитокинин антагонистидир. У эрта униб чиқишни олдини олади тиним давридаги ва етилган уруғлар, куртаклар, туганаклар ва илдиз меваларнинг тиним даврини узайтиради, тиним даврини кучайтиради, ауксинлар томонидан стимуляция қилинган колеоптилларнинг ўсишини ингибирлайди.

Абсциз кислота этилен билан биргаликда қариш ва тўкилиш жараёнларини кучайтиради, айниқса сўлиган гуллар ва меваларда яққол намоён бўлади.

Биокимёвий даражада, бу фитогормонунинг тез ва секин таъсири фарқ қилинади. Тез таъсирлар бир неча дақиқада плазматик мембрана (оғизча ҳужайралари) даражасида юзага келади ва калий, кальций ва анион ионларини мембрана бўйлаб асимметрик ташиш билан боғлиқ бўлиб, унинг натижасида оғизча ҳужайраларига сув оқими келиши пасаяди ва уларда тургор бузилади.

Секин эффектлар муайян тўқиманинг бир-бирига боғлиқ характерли ваколатли генларнинг маълум бир тўпламининг фаоллиги (фаоллашиши ёки репрессияси) ўзгариши билан тавсифланади. Уларнинг кашф этилиши қурғоқчиликка чидамли ўсимликларнинг янги шакллари яратиш бўйича тадқиқотларга туртки бўлди ва ўсимликларда транспирациянинг самарали кимёвий регуляторларини синтезига олиб келди.

Маълумки, буғдой уруғида аглутинин (WGA) синтези ва миқдорий даражасини бошқаришда АБК иштирок этади. АБК дан ташқари 2,4-эпибрассинолид (ЕБ), гибберел кислота (ГК) ва ИСК ҳам бунда иштирок этиши кўрсатилган. Бу эса ушбу фитогормонларнинг буғдой лектини гени экспрессияси индукциясида иштирок этишини тахмин қилишга имкон беради.

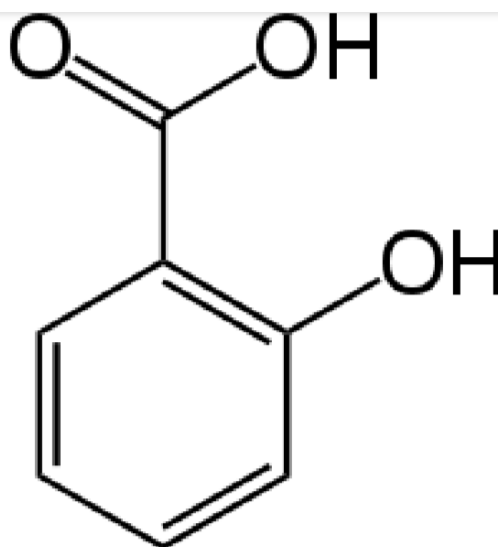
WGA генининг транскрипциявий фаоллигини таҳлил қилиш шуни кўрсатдики, ушбу фитогормонларнинг барчаси лектин мРНК лари синтезини фаоллаштирган, аммо бу жараённинг тезлиги сезиларли даражада фарқ қилган. Шундай қилиб, ниҳолларни АБК, ЭБ ва ГК эритмаларида сақлаш нисбатан тез (2-3 соат ичида) WGA генининг транскрипсияси ортишига олиб келади. Шу билан бирга, ЭБ ва ГК буғдой майсалари илдизларида АБК нинг эндоген даражасини ўзгартирмайди, бу эса ушбу фитогормонлар буғдойда тўғридан-тўғри лектин синтезини бошқаришда иштирок этади, деган тахминга асос бўлади. Буғдой ўсимликларини ИСК билан инкубация қилиш натижалари ўрганиш пайтида бир оз бошқача манзара кузатилган бўлиб, WGA ген экспрессионининг индукцияси анча секинроқ кечган (атиғи 16 соат). Бунда ИСК нинг таъсири АБК даражасининг ортишига олиб келиб, бу эса

олдин лектин мРНК си синтезининг фаоллашишига АБК орқали WGA гени экспрессиясини бошқаришда билвосита ИАА иштироқи амалга ошиши мумкин.

Фенолли ўсиш ингибиторлари. Табиий ингибиторларга киради. Улар орасида машҳурлари: кумарин, кофеин, хлороген, долчин, ферула, салицил ва п-гидроксibenзой кислоталари; скополетин, нарингенин (2000 га яқин)дир. Улар, асосан, шикимик кислота ва кейин фенилаланин ва тирозин, сўнгра долчин ва паракумарик кислоталар ҳосилалари ҳисобланади. Ушбу феноллар фитогормонларнинг фаоллигини пасайтиради, шунингдек ўсимликларнинг ўсишини тўғридан-тўғри ингибирлайди, метаболизмни тўхтатиш орқали моддалар алмашинувиға ўзига хос бўлмаган таъсир кўрсатади. Шу билан бирга, ферулон кислотаси ИСК оксидаза ферментини фаоллаштиради.

Улар орасида салицил кислотаси энг кенг тарқалган ҳисобланади.

(Salix L. мажнунтолнинг лотинча номидан олинган бўлиб, биринчи бўлиб, мазкур ўсимлик унинг қобиғидан ажратиб олинган) - 2-гидроксibenзой ёки фенол кислота, $C_6H_4(OH)COOH$ (-расм).



Активация Wi
Чтобы активировать
раздел "Параметр"

-рasm - Салицил кислотаси молекуласининг тузилиши

У этанол, диетил эфир ва бошқа кутбли органик эритувчилар осон эрийдиган рангсиз кристаллар билан ифодаланади, аммо сувда (1,8 г / л 20 ° С да) кам эрийди. Уни италиялик кимёгар Рафаел Пириа мажнунтолдан ажратиб олиб, кейин уни синтез қилиб олган. У ўсимликларда ҳосила сифатида табиий равишда учрайди - асосан метил эфири гликозиди шаклида (хусусан, салицил кислотаси аввал тол қобиғидан ажратиб олинганлиги боис, номи салицил деб аталади), эркин салицил кислотаси алдегид билан бирга оз миқдорда баъзи спираеа (*Spiraea ulmaria*, *Spiraea digitata*) турларининг гулларида ажратилган эфир мойида учрайди.

Салицил кислотаси - бу маълум бир термоген ўсимликлар (хусусан, *Amorophophallus*). органларида ҳароратнинг ошишига олиб келадиган фитогормон. Бу митохондриядаги нафас олиш занжирида электронлар транспортининг бузилишидан келиб чиқади. Сўнги пайтларда салицил кислоталарнинг стресс омилларига хос бўлмаган реакцияни ривожланишида ва ҳужайраларда реактив кислород турларининг тўпланишида ўрни кенг ўрганилмоқда.

Фенолл ингибиторлар уруғлар, куртаклар, илдиз мевалари, пиезбошларнинг тиним даврини таъминлайди (бу жараёнда уларнинг концентрацияси ошади). Улар электронлар ташиш, лигнин биосинтези билан ҳам иштирок этади. Синтетик ингибиторларнинг ўсимликларга тормозловчи таъсир механизми яхши ўрганилмаган. Уларнинг аксарияти фосфорилланиш ва нафас олиш жараёнларини бузиш нуклеин кислоталар синтезини узилиш орқали таъсир кўрсатади.

Шундай қилиб, ҳужайра ва молекуляр даражадаги жараёнлар; физиологик жараёнларнинг ички механизми, ўсимликларнинг гормонал-ингибитор регуляцияси тизимининг хусусиятларини чуқур ўрганиш, ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланиши регуляторларини мақсадли равишда синтез қилиш ва улардан самарали фойдаланиш имкониятларини очиб беради.

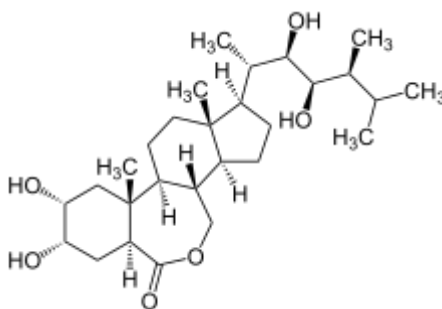
рассиностероидлар - бу стероид синфидаги фитоҳормонлар, бу ўсимлик иммунитет тизимининг нормал ишлашини қўллаб-қувватлайди, айниқса салбий шароитларда, масалан, паст ҳароратларда, совукда, тошқинда, курғоқчиликда, касалликларда, пестицидларнинг таъсири, тупроқнинг шўрланиши ва бошқалар.

Брассиностероидлар - бу стероид табиатига фитогормонлар бўлиб, улар ўсимлик иммунитет тизимининг нормал ишлашини, айниқса, ноқулай шароитларда, масалан, паст ҳарорат, совуқ, сув босиши, курғоқчилик, касалликлар, пестицидларнинг таъсири, тупроқ шўрланиши ва бошқалар. қўллаб-қувватлаб, ўсишни кучли рағбатлантирувчи фаолликка эга бўлган стресс адаптогенлари ҳисобланади. Ҳар бир ўсимлик ҳужайрасида жуда оз миқдорда мавжуд бўлади. Брассиностероидлар биосинтези ферментларининг концентрацияси ёш ўсимлик тўқималарида: этиолирланган кўчатлар, меристемалар, гулли примордиалар ва ривожланаётган чангчиларда энг юқори бўлади.

Брассиностероид гурухининг биринчи вакили - брассинолид - 1979 йилда америкалик олимлар томонидан асаларилар томонидан тўпланган 40 кг рапс чангидан (*Brassica napus*) 4 мг миқдорида кристалл модда шаклида ажратиб олинган.

Ҳозирги вақтда олтмишдан ортиқ брассиностероидлар маълум бўлиб, улар бу каштан (*Castanea sativa*) дан - кастастерон, қўға (*Typha*) дан – тифастерол, чой (*Thea*) дан - теастерон, катарантусдан (*Catharanthus*) - катастерон бошқалар сифатида ажратиб олинган.

Ўсимликлар таркибидаги брассиностероидларнинг кам миқдори кимёвий синтезнинг ушбу фитогормонларнинг асосий манбаи сифатида ҳар томонлама ўрганиш ва амалий фойдаланиш учун алоҳида ролини белгилайди. Синтетик усулда олинган биринчи брассиностероид эпибрассинолид бўлиб, у табиий ўсимлик гормони билан мутлақо бир хилдир.

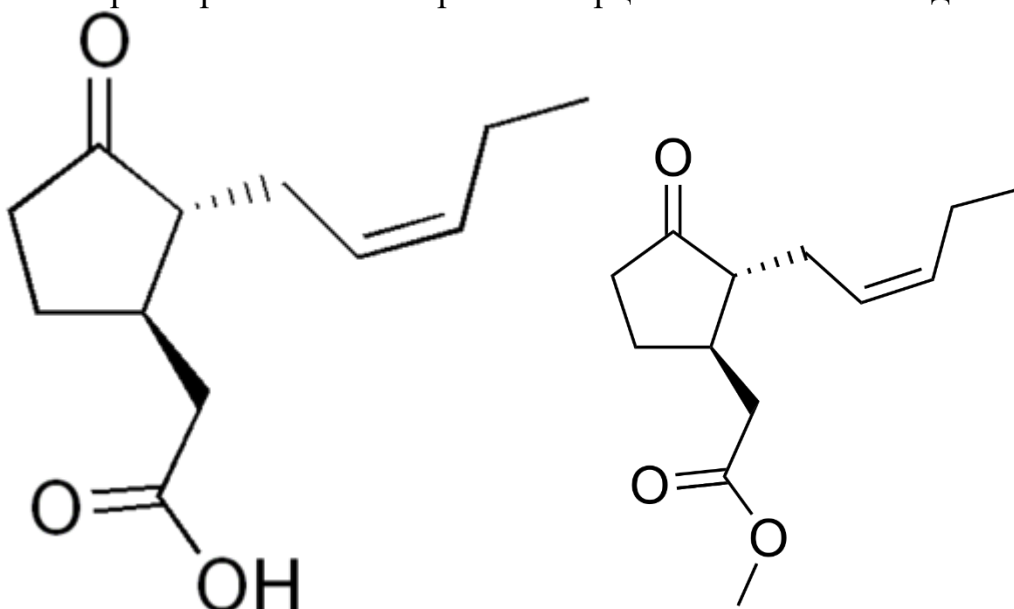


Расм. Дастлаб ажратиб олинган брассиностероид

Жасмонатлар ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини тартибга солувчи гормонлар гуруҳидир. Жасмонатлар таркибига жасмонат кислота ва унинг эфирлари масалан, метил жасмонат киради. Жасмонатлар линолен кислотасидан синтез қилинади ва улар циклопентанонлардир (простагландинларнинг аналоглари - сутемизувчи гормонларда ҳам ёғ кислоталаридан синтез қилинади). Ўсимликлар тўқималарида жасмонатларнинг таркиби ривожланишнинг турли босқичларида турлича бўлиб, улар ўсимлик организмнинг ташқи муҳит таъсирига жавоб реакцияси сифатида юзага чиқади. Юқори даражадаги жасмонатлар перикарп гуллари ва тўқималарида, шунингдек ёруғликда хлоропластларда учрайди. Жасмонат кислота миқдори барг оғизчаларининг буралиб қолиши каби зарарланишлар каби механик шикастланишларга жавобан тез ошади. Вазифалари. Жасмонатлар ўсимликларда қуйидаги функцияларни бажаради:

- Жасмон кислотаси ва метил жасмонат тиним даврига кирмаган уруғларнинг униб чиқишига тўсқинлик қилади ва тиним даврини ўтаган уруғларнинг униб чиқиши бошқаради.
- Жасмон кислотасининг юқори миқдори захира оқсилларини тўпланишини рағбатлантиради; захира оқсилларини кодловчи генлар жасмон кислотаси ва унинг ҳосилаларига сезгир бўлиб, туганаклар ҳосил бўлишига таъсир қилади.

- Жасмон кислотаси хлорозни қўзғаб, маҳсулотлари фотосинтезда иштирок этадиган генларни ингибирлаши мумкин.
- Гуллар ва меваларда тўпланадиган жасмон кислотасининг аҳамияти номаълум; аммо, жасмон кислотасининг тўпланиши меванинг пишиши ва каротиноидларнинг тўпланиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.
- Жасмон кислотаси ўсимликларнинг ҳашаротлар ва касалликларга чидамлилигида муҳим рол ўйнайди. Жасмон кислотаси ўсимликларни ҳимоя қилиш тизимининг қўплаб генларини фаоллаштиради. Шунингдек, у этилен билан биргаликда ҳимоя функцияларини бажариши мумкин.
- Ауксин каби, жасмон кислотаси убикивин орқали қабул тизимига эга бўлади. Жасмонатнинг изолейцин қолдиғи билан бирикмаси убикивин билан нишонланган JAZ оксилининг парчаланишига ва бошқа транскрипсия омилларининг тарқалишига олиб келади



Расм. Жасмон кислотаси ва метилжасмонат

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=14797929>. Ed (Edgar181)

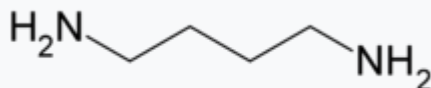
Замонавий кишлоқ хўжалик амалиётида табиий фитогормонлар иқтисодий жиҳатдан муҳим катта ўрин топа олмади, чунки уларни ажратиб олиш ва амалда қўллаш илм-фан ва ишлаб чиқаришнинг ҳозирги ривожланиш босқичида жуда қиммат ва самарасиз бўлиб чиқди. Бу эса шунга ўхшаш таъсирга эга бўлган синтетик препаратларни - ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи воситаларни излашга, синтез қилишга ва улардан фойдаланишга олиб келди.

Морфактинлар ўсиш нуктасидаги аномалияларни келтириб чиқарадиган ўсимликларда ғайри оддий органларнинг пайдо бўлишига олиб келадиган бирикмалардир. Уларга ИСК ва унинг ҳосилаларининг ўсимликдаги ҳаракатини махсус тўхтатиб турадиган моддаларни киритилади. Синтетик ингибиторлар, табиийлардан фарқли ўларок, ўсиш жараёнларини кескинроқ тўхтатишга кодир, чунки улар узоқ вақт давомида ўзларини

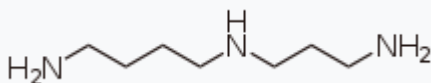
ўсимлик тўқималари томонидан инактивация қилинишига йўл қўймай келган, уларнинг таъсир кўлами кўпинча нафақат ўсиш жараёни билан, балки, морфогенетик жараёнларни издан чиқариш хусусияти билан боғлиқдир.

БОШҚА РЕГУЛЯТОРЛАР

Полиаминлар



Путрессине кимёвий тузилиши .



Спермидиннинг кимёвий тузилиши .

Полиаминлар ўсимликлар, ҳайвонлар ва микроорганизмлар мавжуд полиамин табиатли молекулалардан иборат. Биринчи хусусияти улар фитогормонлар , яъни ривожланиш регуляторлари сифатида таъсир қилади , гарчи баъзи олимлар таъсирга шубҳа билан қарайдидар, чунки уларнинг ўсимликдаги концентрацияси жуда юқори бўлиб, бу уларнинг таърифига кўра гормонлар, жуда паст дозаларда фаол моддалар сифатида ишлайди деган фикрга зиддир. Улар ўсимликларда ўсиш, ривожланиш, қариш ва стрессга жавоб реакцияси сифатида юзага чиқади. Полиаминлар кадавриндан ва декарбоксилланган С-аденозил метионин молекуласи билан таъминланган аминопропил гуруҳини кўчирилиш йўли билан биосинтез қилинади .

Уларнинг аҳамиятлилигига мисол, агар уларнинг синтези инҳибе қилинган бўлса, ҳужайра цикли тўхтайтиди ёки секинлашади, агар улар экзоген равишда қўшилмаса. Кўпгина еукарётик ҳужайралар плазма мембранасида жойлашган полиамин транспорт тизимига эга, бу эса экзоген полиаминларни қабул қилишни осонлаштиради. Ҳайвонларнинг тўқималарини кўпайтиришда ҳаётини аҳамиятга эга бўлган ушбу тизим янги кимёвий терапевтик бирикмаларни яратишда фармакологик мақсад ҳисобланади .

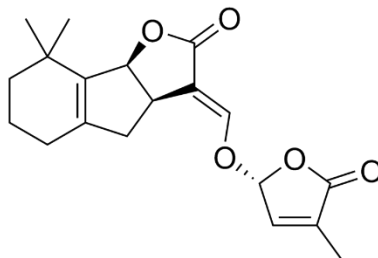
Оксилипин

Оксилипинлар ўсимлик патоген микроорганизмларга ёки пестицидлар билан стресс таъсирларига жавоб реакцияси натижасида, асосан ўша жараёни тартибга солишда келиб чиқади. Улар ўсимлик иммунитет тизимининг бир қисмидир. Шунингдек, улар мева ва чанчиларнинг пишиб этишига, уруғнинг униб чиқишига ёки илдиз ўсишига таъсир этиши мумкин. Ҳозирги вақтда ўсимлик ва замбуруғларда 150 дан ортиқ тури аниқланган.

Оксилипидлар - бу эркин ёғ кислоталаридан , айниқса линолеик ва линоленик кислоталардан ҳосил бўладиган бирикмалардир . Унинг биосинтези учун асосий қадам ферментлар , липоксигеназлар ёрдамида ёғ кислотасини оксидланишидан бошланади.

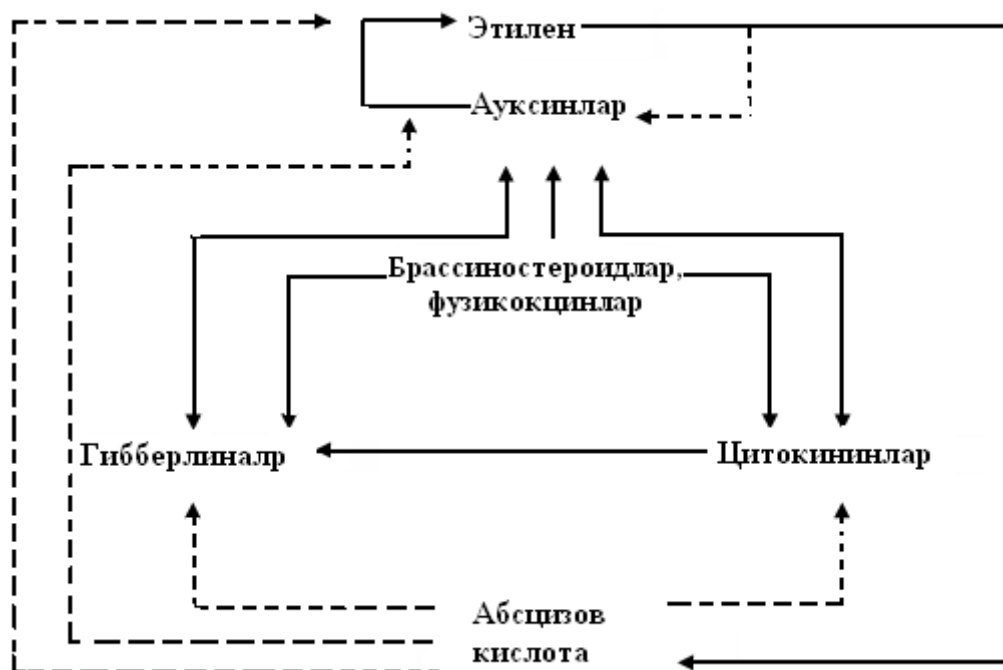
Олигосахаринлар (олигосахаридлар), ўсимликларнинг ўсишининг табиий регуляторлари гуруҳи, бир хил ёки турли хил углеводларнинг олигомерлари. Паст концентрацияларда улар ауксин, гиббереллин ёки фузикокин билан стимуляция қилинган ўсимликларнинг ўсишини тўхтатади, шунингдек ўсимликлар эксплантатларидаги морфогенезга таъсир қилади: улар гул ҳосил бўлишига туртки беради, аммо илдиз шаклланишини тўхтатади. Улар плазма мембранасининг тез деполяризациясини келтириб чиқаради ва ион оқимларини ўзгартиради. Юқори концентрацияларда улар фаол элиситорлар, яъни фитопатогенлар кириб бориши пайтида ўсимликларда ҳимоя реакцияларини фаоллаштириш сигналлари бўлиб хизмат қилади. Улар кимёвий жиҳатдан икки синфга бўлинади: занжир узунлиги одатда 5 дан 20 гача бўлган мономерлар ва турли хил углеводлардан ташкил топган шохланган ксилоглюканлар, кўпинча глюкоза, ксилоза, галактоза ва фукоза қолдиқлари бўлган чизиқли олигогалактуронидлар. Хужайра деворларининг полисахарид таркибий қисмлари: пектин моддалари, полигалактурон кислотаси ва гемицеллюлозаларни гидролиз қилиш натижасида ҳосил бўлган. Ўсимлик хужайралари мембраналарида олигосахариннинг ўзига хос рецепторлари топилган.

Стриголактонлар



5- деоксистригол , стриголактон

Стриголактонлар (SLs) дастлаб паразит *Striga lutea* бегона ўти ўсишини ўрганиш натижасида топилган . *Striga* турларининг униб чиқиши , хўжайин ўсимликнинг илдизи томонидан ажралиб чиқадиган бирикма томонидан рағбатлантирилган . Кейинчалик, тупроққа чиқарилган SLs лар симбиотик арбускуляр микориза (AM) замбуруғларнинг ўсишига ёрдам бериши кўрсатилган . Сўнгги пайтларда, отишни ўрганиш далланишининг олдини олишда СЛ учун бошқача рол аниқланди. SLs нинг поя шохланишидаги ўрнини ўрганиш натижасида ушбу гормонларга қизиқишг кескин ортди ва шу вақтдан бошлаб SLs баргларнинг қариши , фосфат алмашинувидаги, очлик, шўрланишга чидамлилиқ ва ёруғликка сезгирлик реакцияларидаги муҳим роли аниқланди.



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

Ретардантлар - бу ўсимликларнинг ўсишини бостирадиган турли хил кимёвий табиатдаги ўсиш регуляторлари. Улар қишлоқ хўжалик экинларини етиштиришда ўсимликларининг баландлигини камайтириш, поянинг қалинлигини ошириш учун ишлатилади, натижада ўсимлик эгаллаган жойни қисқартиришга имкон беради. Биотехнологияда ретардантлардан фойдаланиш (хлохолин хлорид, алара ва бошқалар) пробирка ўсимликларда бўғин оралиғи узунлигини камайтириш учун фойдали бўлиши мумкин. Улар ўсимликларни янги озуқа муҳитига кўчириб ўтказиш даврини узайтиришга имкон беради, шунингдек, ерга экилганида ўсимликларнинг сақланиб қолиш даражаси юқорилини таъминлайди.

бобга доир назорат саволлари

1. Ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини генетик бошқариш қандай амалга оширилади?
2. Қандай механизмлар ёрдамида фитогормонлар синтезини бошқариш мумкин?
3. Муайян органдаги фитогормонлар миқдори қайси жараёнларга боғлиқ?

4. Фитогормонал бошқариш билан боғлиқ бўлган қандай сабаблар ўсимликларнинг паканалигини юзага келтиради?
5. Илдиз, поя ва барг хужайраларининг ауксининг бир хил концентрациясига таъсирчанлиги турлича бўлишининг сабаби нимада?
6. Фитогормон ва фиторегуляторлар тушунчалари орасидаги фарқ нимада? Ўсимликларнинг гормонал статуси ва унинг мониторинги усуллари.
7. Ўсимликлардаги абсцис кислота миқдорини қандай усуллар ёрдамида ошириш мумкин?
8. Қишлоқ хўжалик экинларига фиторегуляторларни қўллаш самараси қайси омилларга боғлиқ?
9. Ўсимликшуносликда ўсиш регуляторларини қўллашнинг генетик ва экологик ҳавфсизлиги. Назорат қилиш усуллари.
10. Ўсимлик хужайраларининг дифференцировка ва дедифференцияланишини гормонлар ёрдамида бошқариш қандай амалга оширилади?
11. Нима учун каллус тўқималари 2,4-Д тутувчи озиқа муҳитда узоқ вақт ўстирилганда илдиз ҳосил қилиш қобилиятини йўқотади?
12. Чуқур тиним даврининг физиологик ўзига хослиги нимада? Фиторегуляторлар ёрдамида уруғларнинг ўсиши ва тиним даврига ўтишини бошқаришга мисоллар келтиринг.
13. Ретардантлардан аммонийнинг тўртламчи тузлари ва этилен маҳсулотларининг поянинг ўсишига таъсир механизмидаги фарқни айтиб беринг.
14. Фиторегуляторларнинг таъсир самарасини қандай ошириш мумкин?
15. Қишлоқ хўжалик экинларида фиторегуляторларни қўллашнинг самараси қайси омилларга боғлиқ?

Бобга доир тест саволлари

1. Фиторегуляторлар қандай мақсадларда қўлланилади?

А) ўсимлик ҳужайраларнинг дифференциалланиши, бўлинишини бошқаришда

В) ўсимликларда янги тўқима ва органиларни ҳосил бўлишида

С) ўсимликларни ўсиш ва ривожланишини тезлаштиришда

Д) ўсимликларнинг ҳосилдорлиги ва сифатини оширишда

Е) барча жавоблар тўғри

2. Фитогормонлар қайси моддлардан ҳосил бўлади?

А) углеводлар ва ёғлардан

В) олигосахаридлардан

С) органик кислоталардан

Д) аминокислоталардан

Е) С ва Д жавоблар тўғри

3. Фитогормонларнинг фаоллашиши нима ҳисобига рўй беради?

А) гормон-рецептор комплексини ҳосил бўлиши

В) фитогормон молекулаларининг фаоллашиши

С) янги оқиллар ҳосил бўлиши

Е) барча жавоблар тўғри

4. Ауксининг физиологик самараси қандай амалга ошади?

А) онтогенезни бошқаради

В) ўсимлик ҳужайраларининг чўзилувчанлигини таъминлайди

С) ўсимликларни тиним ҳолатидан чиқаради

Д) меваларнинг пишиб етилишини тезлаштиради

Е) ҳужайраларнинг чўзилиши, бўлиниши, дифференциалланишини амалга оширади

5. Цитокининнинг асосий физиологик таъсири нимадан иборат?

А) ҳужайралар бўлинишини фаоллаштириш

В) онтогенезни бошқариш

С) ўсишни жадаллаштириш

Д) меваларнинг тўкилишига таъсир кўрсатади

Е) муҳим физиологик жараёнларни ингибирлайди

6. Қуйида берилган қайси фитогормон қовокдошлар ва буттулдошлар оиласига кирувчи ўсимликларга таъсир кўрсатмайди?

- А) 3-ИСК
- В) ГК₄
- С) ГК₃
- Д) цитокини
- Е) ауксин

7. антиауксин таъсирга эга фитогормонни аниқланг.

- А) цитокинин
- В) ауксин
- С) гибберлин
- Д) этилен
- Е) абсцизов кислотаси

8. Кучли ингибитор таъсирга эга фитогормонни кўрсатинг

- А) ауксин
- В) индоллилсирка кислотаси
- С) нафтилсирка кислотаси
- Д) фузикокцинлар
- Е) абсциз кислотаси

9. Ўсимликлар таркибидаги қандай моддалар уларнинг стресс омилларга чидамлилигини оширади?

- А) синикация оқиллари
- В) нуклеин кислоталар
- С) углеводлар
- Д) намлик
- Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

10. Брассиностероидларнинг кўп миқдорда учраши ўсимликдаги қандай ўзгаришларга сабаб бўлади?

- А) ўсимликларнинг бўйига ўсишини тўхтатади
- В) атроф муҳитнинг ноқулай таъсирларига чидамлилигини оширади

- С) инфекцияларга чидамлилигини оширади
- Д) паст ёки юқори ҳарорат, қурғоқчиликка чидамлилигини оширади
- Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради
11. Стероид табиатга эга фитогормонни аниқланг.
- А) барссиностероидлар
- В) фузикокцинлар
- С) ауксинлар
- Д) цитокинилар
- Е) А ва В жавоблар тўғри
12. Биотехнологияда ўсимликларнинг фитогормон тизимига йўналтирилган таъсирлар қайси моддалар ёрдамида амалга оширилади?
- А) фиторегуляторлар
- В) оқсиллар
- С) фитоалексинлар
- Д) синикация оқсиллари
- Е) антибиотиклар
13. Илдиз ҳосил қилишни стимуллашда, тропизм, хужайралар чўзилиши ва дифференциалланишида иштирок этадиган сунъий фиторегуляторнинг номини аниқланг.
- А) 2,4-Д
- В) ИСК
- С) ИМК
- Д) 2,4,5-учхлорфенокси пропион кислотаси
- Е) барча жавоблар тўғри
14. Қайси сунъий регулятордан каллус тўқималари олишда, хужайралар бўлинишини фаоллаштириш, ниҳоллар дифференциалланишини индукциялаш, апикал доминантликни бартараф этишда, ўсимликларни клонли кўпайтиришда уларнинг коэффицентини оширишда фойдаланилади?

- А) 2,3,5 –йодбензой кислота
- В) нафтилфаламин кислота
- С) 4-хлорфеносисирка кислота
- Д) 6-БАП
- Е) дифенилмочевина –дропп

15. Қайси фитогормоннинг аналоглари ўсимликдаги ён илдизларнинг ўсишига ингибитор таъсир кўрсатади?

- А) ауксин
- В) цитокинин
- С) гибберлин
- Д) фузикокцинлар
- Е) брассиностероидлар

16. Ҳозирги вақтда органик кремний асосида қайси фитогормоннинг бир қатор продуцентлари олинган?

- А) этилен
- В) абсциз кислотаси
- С) нафтилсирка кислота
- Д) брассиностероидлар
- Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

17. Абсциз кислотанинг носпецифик антагонистларига нималар киради?

- А) ҳали аниқланмаган
- В) этилен ва унинг аналоглари
- С) ауксин
- Д) стимулятор сифатида таъсир этувчи барча гормонлар
- Е) тўғри жавоб берилмаган

18. Микроорганизмлардан ажратилган, умумий стимуляторлик таъсирига эга, юқори самарали фиторегуляторларга нимаалар киради?

- А) ризобитоксин
- В) гидрел, дигедрел

- С) композан, дропп
- Д) симбионт-2, эмистим
- Е) барча жавоблар тўғри
23. Микробиологик синтез қилинган препаратларнинг камчилиги нимада?
- А) кўп таркиблилигида
- В) таъсир этувчи асосни ажратиш қийинлигида
- С) регулятор аралашмалари компонентларининг заҳарли таъсирини аниқлаш қийинлигида
- Д) бутун препарат ва унинг қолдиқлари аралашмасини назорат қилиш қийинлигида
- Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради
20. Ретердантлар қандай мақсадда қўлланилади?
- А) ниҳоллар ўсишини тезлаштиришда
- В) ҳужайралар бўлиниши ва чўзилишини фаоллаштиришда
- С) буғдойнинг ерга ётиб қолишини олдини олишда
- Д) ўсимликлардаги паканаликка қарши
- Е) ўсимликлар мевасини тез пишиб етилишига эришиш учун

Адабиётлар

1. Биологически активные вещества в защите растений.-СПб.: ВИЗР,1999.
2. Возделывание озимой пшеницы с использованием обработки растений экзогенными регуляторами /В. В. Котляров, Ю. П. Федулов, Д. В. Котляров, Д. Ю. Донченко, Е. К. Яблонская //Труды КубГАУ. - 2012.- Вып. 36, т.1. 3.
3. Иммунизирующие и рострегулирующие эффекты экзогенных аминокислот (электронный ресурс) / Т. А. Рябчинская, И. Ю. Бобрешова, Г. Л. Харченко, Н. А. Саранцева.-Режим доступа <http://www.agroxxi.ru/gosudarstvenyi-katalog-pesticidov-i-agrohimikatov-2012/ribav-yekstra-p.html>
4. Кефели В. И. Природные ингибиторы роста и фитогормоны.- М.: Наука ,1974.
5. Котляров В. В. Бактериальные болезни культурных растений: (учеб. пособие).- Краснодар: КубГАУ, 2008.

6. Котляров В. В. Физиология иммунитета растений.- Краснодар: КубГАУ, 2006.
7. Регуляторы роста растений в практике сельского хозяйства. О.А.Шаповал, В. В. Вакуленко, Л. Д. Прусакова, И. П. Можарова. - М.: ВНИИА, 2009.
8. Полифункциональное действие нового фитоактиватора стимунол еф на яровом ячмене / Г. Л. Харченко, Т. А. Рябчинская, Н. А. Саранцева, И. Ю. Бобрешова//Перспективы использования новых форм удобрений, средств защиты растений и регуляторов роста растений в агротехнологиях сельскохозяйственных культур: (Материалы докл. 7-ой конф., Анапа, 2012), МоскваАнапа. - 2012.
9. Технология комплексного применения регуляторов роста и фунгицидов при выращивании сельскохозяйственных культур. О.А.Шаповал, В. В. Вакуленко, И. П. Можарова.-М.: ВНИИА, 2005.

10. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений /под. ред. Н.Н. Третьякова. М.: Колос. - 1998.
11. Шевелуха В. С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе.- М.: Колос, 1992.
12. Смирнова З. И. Применение регуляторов роста для ранней выгонки тюльпанов // [Интродукция и приёмы культуры цветочно-декоративных растений](#). — М.: Наука, 1997. — 168 с.
13. Безуглова О. С. [Гуминовые препараты — стимуляторы роста](#). Удобрения и стимуляторы роста. Дата обращения: 22 февраля 2015.
14. Шноль С. Э. [Гормоны растений](#). «Биохимия», цикл лекций профессора Шноля С. Э.. Дата обращения: 22 февраля 2015.
15. https://etnowiki.ru/wiki/Plant_hormone
16. Azcón-Bieto, J y Talón, M. (2000). Fundamentos de Fisiología Vegetal. Mc Graw Hill Interamericana de España SAU. ISBN 84-486-0258-7.
17. Prescott, L.M. (199). Microbiología. McGraw-Hill Interamericana de España, S.A.U. ISBN 84-486-0261-7.

18. Wang, C.; Delcros, J.-G.; Cannon, L.; Konate, F.; Carias, H.; Biggerstaff, J.; Gardner, R.; Phanstiel, O. Defining the molecular requirements for the selective delivery of polyamine-conjugates into cells containing active polyamine

**XX бoб. МИКРООРГАНИЗМЛАРДАН БИОТЕХНОЛОГИК
МАҲСУЛОТЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШДА ФОЙДАЛАНИШ**
**Микроорганизмлар продуцентлари (ишлаб чиқариш учун
мўлжалланган маҳсулот бурувчи культуралари) га қўйиладиган талаблар**

Биотехнологияда асосан муаяйн иқтисодий аҳамиятга эга бўлган маҳсулотни олиш имконини берадиган микроорганизмнинг соф култураси продуцентлари қўлланилади. Бунинг учун микроорганизмларнинг штаммларидан фойдаланилади.

Микроорганизм продуцентларига қуйидаги талаблар қўйилади:

- микроорганизмлар арзон ва осон топиладиган озиқ-овқат муҳитида ўсиши керак;
- озуқа муҳитидаги озуқа моддаларининг максимал даражада ўзлаштирилиш;
- биомасса тез ўсиши ва ҳосилдорлиги юқори бўлиши керак;
- синтетик фаолликни кўрсатиб, керакли маҳсулотга йўналтирилиши керак,
- қўшимча маҳсулотларни сотиб олиш сезиларли даражада кам бўлиши керак;
- генетик жиҳатдан бир ҳил, талабчан, ҳосилдорлиги, озуқавий субстрат ва ўсиш шароитлари бўйича барқарор бўлиши керак;
- бегона микрофлорага чидамли;
- одамлар ва атроф-муҳит учун зарарсиз;
- маҳсулот яхши ажратиб олиниш хусусиятларига эга бўлиши керак.

Кўпинча табиатда микроорганизмнинг маълум миқдордаги иккиламчи метаболитик маҳсулотни унинг физиологик эҳтиёжларидан ортиқ миқдорда ишлаб чиқариш қобилияти кен тарқалган. Микроорганизмларнинг бу хоссалари дастлаб одамларнинг иқтисодий фаолиятида қўлланилган ва шу билан самарали ишлаб чиқаришга асос солинган.

Саноатда микроорганизм штаммларининг учта шакли қўлланилади: табиий ёки сунъий селекция натижасида олинган яхшилланган штамм, мутацион модификацияланган штамм ёки генетик ёки ҳужайра муҳандислиги усуллари қўллаш натижасида олинган штаммлар. Кўпинча юқори фаол продуцентларни танлаш қийин, мураккаб жараён ҳисобланади шунинг учун микроорганизмнинг табиатити керакли йўналишда ўзгартириш масаласи келиб чиққан. Бунинг учун уларда селекция усулидан фойдаланади.

Микроорганизмларнинг табиий штаммлари керакли маҳсулот миқдорини кам харажат билан озиқа муҳитида зарур бўлган маҳсулот тўплаши ва ажратиши керак. Шунинг учун селекциянинг вазифаси нафақат микроорганизмнинг табиий хусусиятларини ошириш орқали баъзи моддаларни (ферментлар, антибиотиклар, аминокислоталар ва бошқаларни) олиш, балки кўпинча продуцентнинг ёввойи туридан янги штамм яратиш каби ҳолатлардан ҳам иборат бўлиши мумкин. Ушбу вазифа табиий штаммни ирсиятни ўзгартириш, яъни мутация йўли билан ҳал қилинади.

Бу эса ҳужайранинг фенотиби, физиологик ва морфологик хусусиятларига ҳам таъсир қилади. Тасодикий мутациялар микроб популяциясини ўзгартиради ва уни янги ҳаёт шароитларига мослаштиради.

Мутация микроорганизмларнинг табиий хусусиятларини кўпайишига олиб келади, бу еса баъзи моддаларнинг синтези ва шаклланишига, шунингдек моддаларнинг янги хусусиятларининг пайдо бўлишига имкон беради. Селекция жараёнини тезлаштириш учун йўналтирилган мутагенез ва физик, кимёвий ва биологик табиатга эга мутаген омилларидан фойдаланилади.

Физик мутагенлар - ультрабинафша нурлари, рентген нурлари ва бошқалар; кимёвий мутатенлар - азотли оксиди, нитросаминлар, тетраклорометан CCl_4 ва бошқа моддалар; биологик - мутаген фаглар (микроорганизмлар вируслари)дан иборат. Шундай қилиб, селекция йўли билан олинган микроорганизмларнинг штаммлари маълум ирсий мустаҳкамланган хусусиятларга эга бўлади.

Бирок, мутация тасодифан амалга ошадиган жараён бўлганлиги боис, муайян аниқ мақсадга йўналтирилган микроорганизм штаммини олиш имконини бермайди, шунинг учун ген муҳандислиги - пробиркада генетик рекомбинация усулидан фойдаланилади.

ДНК рекомбинантлари тирик ҳужайраларнинг табиий ёки синтетик қисмларини пробиркадаги ДНК молекулалари билан бирлаштириш натижасида олинади. Ушбу усул одам ва ҳайвон генларини бактерияларга, аниқроғи ичак таёқчаси *E.coli* билан бириктириш амалиётларида қўлланилган. Пробиркадаги рекомбинация усули ДНКнинг гибрид молекулаларини ажратиб олиш ва янги нишонланган молекулани олиб, уни тирик ҳужайрага ўтказишга имкон беради.

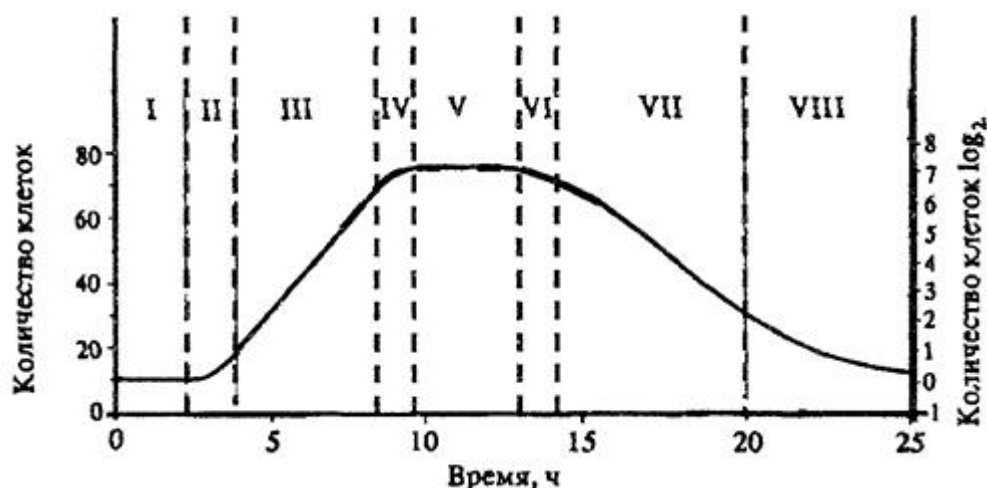
Мазкур усул муайян бир оксилни олишда, пенициллин антибиотигининг продуцентини олишда микроорганизмларнинг янги штаммларини олиш усулидан фойдаланилган.

Penicillium chrysogenum (NRRL-1951)) штаммида 60 мг / л пенициллин олинган. Кейин тасодифий мутациядан янги штамм ((NRRL-1951.B25) олинди, ундан 150 мг / л пенициллин олишга муваффақ бўлинган. Рентген нури билан нурлантириш орқали олинган мутантидан (X1612) 300 мг / л пенициллин ҳосил бўлган. Ультрабинафша нур нурланиш ва иприт билан ишлов бериш натижасида бир нечта мутагенез ва селекция усуллари ёрдамида олинган юқори маҳсулдор (E-15.1) штамм 7 г / л пенициллин ҳосил қилган. Шундай қилиб, 21 та циклда мутагенез ва селекцияни қўллаш орқали пенициллин ишлаб чиқаришни сўнгги 2 ўн йилликда 55 баравар ошириш мумкин бўлган. Ҳозирги вақтдаги микроорганизм продуцентлари 20 г / л пенициллинни чиқариш имконини беради.

Микроорганизмларни ўстириш босқичлари ва кинетикаси

Маълумки, микроорганизмлар янги озиқа муҳитига кўчириб ўтказилганда дарҳол бўлинмайди. Ушбу босқич логарифмик фаза деб аталади. Ушбу босқичда экиш материаллари янги муҳитга мослаша бошлайди. Ферментлар тизими фаоллашади, агар керак бўлса янги ферментлар тизими синтез қилинади ва ҳужайра янги нуклеин кислота ва бошқа бирикмаларни синтез қила бошлайди. Ушбу босқичнинг давомийлиги

микроорганизмларнинг физиологик хусусиятларига, озуқа муҳитидан фойдаланиши ва ўстириш шароитларига боғлиқ бўлади.



1. Лаг-фаза:

I— дастлабкт стаціонар босқич; II— лаг-фаза — кўпайишни тўхтаб туриш босқичи. 2. Экспоненциал босқич: III— экспоненциал (логарифмик босқич). 3. Стаціонар босия: IV— салбий ўсишни тезлашиши босқичи; V— максимал стаціонар босқич. 4. Нобуд бўлиш босқичи: VI — Нобуд бўлишнинг тезлашиши босқичи; VII— логарифмик нобу бўлиш боқичи; VIII— нобуд бўлиш тезлигининг камайиш босқичи Пилькевич Н.Б., Виноградов А.А., Боярчук Е.Д. Основы микробиологии: Учебное пособие для студентов высших учебных заведений. — Луганск: Альма-матер, 2008. - 192 с. [3].

https://www.pesticidy.ru/dictionary/Regularities_of_the_growth_of_populations_of_microorganisms

Экиладиган материаллар олишда, продуцентни экишга тайёрлашда кўпинча даврий ўстириш усулидан фойдаланилади. Бунинг моҳияти шундан иборатки, микроорганизмларнинг ўсиш даврида ташқаридан кўшимча озуқа моддалари қўшиб борилмайди, шунингдек олиб ташланмайди ҳам. Бундай шароитда микроорганизмлар маълум ривожланиш даврини босиб ўтган ҳолда ўсади, ривожланади ва кўпаяди. Ривожланиш цикли фазалар ва даврлар алмашинуви билан белгиланади. Фазаларнинг бирин-кетин алмашилини жараёнлари чизмаларда ифодаланиши мумкин. Агар экилган вақтда идишдаги хужайралар сони аниқланса, маълум бир вақтда маълум миқдордаги хужайралар сони пайдо бўлади. Хужайра сонини (ёки уларнинг умумий оғирлигини) абсциссага, ўтган вақтни эса ординатага қўйиб чизма чизилганда, микроорганизмларнинг қандай кўпайганлиги тўғрисидаги ахборотни олиш мумкин бўлади (5-расм).

Ушбу эгри чизик микроорганизмларнинг ўсиш эгри чизиги деб аталади ва у бир неча фаза ва даврларга бўлинади.

- I. Дастлабки ёки биринчи фаза лаг фаза ёки мослашув фазаси деб аталади. Бу фаза муҳитга ачитқи продуцент ташлангандан, микроорганизм-ларни кўпайиш даври бошлангангача давом этади. Бу давр ичида микроорганизм янги муҳитга, яъни шароитга мослашади (адаптация). Ушбу фазанинг тузилиши микроорганизмнинг физиологик ўсиш хоссаларига, экув ва озуқа муҳитининг таркиби ва сифатига ҳамда ўстириш шароитига боғлиқ бўлади. Бу шароитлар микроб олдин ўсиб турган шароитдан қанчалик кўп фарқ қилса ҳамда қанчалик экув материалларини миқдори кўп бўлса, бу фазанинг даври шунчалик қисқа бўлади. Хужайра ташқарисида унчалик ўзгариш кузатилмаса ҳам, хужайра ичидаги биокимёвий жараёнларда ўзгариш бўлиб ўтади. Хужайрада рибосомалар сони ва оксил миқдори кўпаяди, ферментлар тизими фаоллашади. Дастлабки даврда микроб популяциялари кўпаймаган ҳолда хужайра ҳажми кенгаяди.
- II. II- фаза ўсишнинг тезланиш ёки ўтиш даври деб аталади. Бу фазада хужайранинг бўлиниши бошланади, хужайрада нуклеин кислоталари, оксил миқдори (ДНК, РНК) ошади ва хужайра ҳажми кенгаяди. Хужайра сатҳининг уни ҳажмига нисбати маълум даражага етганда хужайранинг бўлиниши бошланади, оқибатда микроорганизмлар сони ва уни ўсиши ортиб боради. Бу фаза унчалик узоқ давом этмайди.
- III- фаза - хужайра сонининг ўта фаол кўпайиш фазаси. Бу фаза экспоненциал ёки лагоририк фаза ҳам деб аталади. Бу фаза микроорганизм бутунлай мослашиб олгандан кейин, унинг ривожланиши ва кўпайиши озуқа муҳитидаги моддаларни камайишига ҳамда ҳосил бўладиган моддалар миқдорини ошиб боришига эътиборсиз вақтда содир бўлади. Микроорганизмларнинг ўсиш жараёनларини ўрганилганда ўсишни абсолют ва солиштирма тезлигини фарқига етиш керак. Ўсиш абсолют тезлиги; вақт бирлигида биомасса ўзгаришини ифодалайди:
- $$V = dm / dt$$
- m - биомасса миқдори ёки хужайралар сони, г/л;
t - вақт, соат.
- Солиштирма ўсишнинг нисбий тезлиги биомасса ўсишининг абсолют тезлигини дастлабки биомасса бирлигига нисбати; қуйидаги формула билан ифодаланади:
- $$M = V / m$$
- Идеал шароитда микроб хужайраларининг кўпайиши доимий солиштирма тезликда кечади. Бундай ҳолатда, маълум вақтда бир дон хужайрадан иккита хужайра ҳосил бўлади, кейинги шу даврда ҳосил бўлган икки хужайра яна иккитадан хужайра ҳосил қилади ва биомасса икки маротаба ошади:

$$N_1 = 2nN_0$$

бунда, n – генерация сони (хужайрани бўлиниши); N_1 – маълум вақтдаги хужайралар сони; N_0 – бошланишдаги хужайралар сони.

Микроорганизмларнинг солиштира ўсиш тезлиги организмнинг ўзи ва унинг ўстириш шароитлари учун энг муҳим тавсифлардан ҳисобланади. Солиштира ўсиш тезлиги ва микроорганизмлар ўсишини чеклаб турувчи субстрат миқдори орасида маълум боғлиқлик бўлиб, уни француз олими Моно қуйидаги тенглама тарзида кўрсатган эди:

$$\mu = \mu_{\text{макс}} \cdot S / S + K_S,$$

бунда, $\mu_{\text{макс}}$ – энг баланд солиштира ўсиш тезлиги; S – субстрат миқдори; K_S – тўйиниш константаси, солиштира ўсиш тезлигининг энг баланд нуқтасининг ярмига тенг бўлгандаги субстрат миқдorigа тенг.

Солиштира ўсиш тезлиги шунингдек, модда алмашинуви жараёнида хужайрадан ажралиб чиқадиган маҳсулот миқдorigа ҳам боғлиқ. Ўсишни секинлаштирувчи моддалар таъсирини ҳисобга олган ҳолда ифодаланувчи тенглама, Моно - Иерусалимский номлари билан аталиб, у қуйидаги тарзга эга:

$$\mu = \mu_{\text{макс}} \cdot S / S + K_S \cdot K_p / p + K_p$$

бунда, p – хужайра ўсишини секинлаштирувчи модда миқдори;

K_p секинлашиш константаси, ўсишнинг солиштира тезлигини икки марта камайтириш учун зарур бўлган модда миқдorigа тенг.

Микроорганизмларнинг экспоненциал фазада ўсиши қуйидаги тенглама билан ифодаланади:

$$X = X_0 e^{\mu_{\text{макс}} t}$$

бу ерда, X_0 – бошланиш давридаги биомасса миқдори ёки хужайра сони; e – натурал логарифм асоси.

Ушбу тенгламани логарифмга солсак, қуйидаги кўриниш ҳосил бўлади:

$$\ln x = \ln x_0 + \mu_{\text{макс}} t$$

демак, биомасса миқдори ёки хужайра сонининг логарифми бир хил тезликда кўпайиб боради.

Шунинг учун ҳам, ушбу фазани логарифмик фаза ҳам деб аталади.

Микроорганизмларнинг жадаллик билан ўсиш даврида озуқа таркибидаги моддаларнинг сарф бўлиши ва янги ҳосил бўладиган модда ёки моддаларнинг миқдори ҳам жадаллик билан ўзгариб боради.

Оқибатда, жой талашиш пайдо бўлиб, хужайралар бир бирларига ҳалақит берадиган бўлиб қолади, озуқа моддаларнинг хужайрага кириши ва метаболитларнинг хужайрадан чиқиши сусаяди. Ўсиш тезлиги пасаяди, хужайранинг бўлиниш сони қисқаради, оқибатда ўсишнинг кейинги фазасига ўтилади.

IV - фаза - ўсишнинг секинлашув фазаси ёки ўсиш тезлигининг сусайиши. Бу фазада экспоненциал фазадан фарқли ўлароқ, хужайралар ҳар хил бўлиб қоладилар. Бунга асосий сабаб, турли хил нохуш омиллар таъсири (озуқа моддалар миқдорининг камайиши, метаболитлар миқдорининг кўпайиши ва х.к.) ортиб боради. Буларнинг барчаси нафақат ўсиш

тезлигининг пасайишига, балки ҳужайраларнинг нобуд бўлишига, ҳатто лизисга (эриб кетиш) олиб келади.

V - фаза - стационар фаза. Бу фазада микроорганизмларнинг биомасса ҳосил қилиш қобилияти деярли тўхтайдиган, ва:

$$dX / dt = 0$$

Шуни ҳам айтиб ўтиш лозимки, баъзи бир (кўп бўлмаган) микроорганизмларнинг кўпайиши секин давом этганлиги сабабли, бу фазада ҳам биомассанинг тўпланиши ўта секинлик билан кузатилиши мумкин. Аммо, кўпайиш билан ўлиш жараёнлари тобора бир бирларига яқинлашиб борганлиги сабабли юқоридаги тенглама ўз ўрнини топади.

Ўсишнинг стационар фазасига етган микроорганизмлар энг кўп миқдорда биомасса ёки ҳужайра тўплаган бўлади. Бу кўрсаткичлар ҳосилдорлик деб аталади.

Амалиёт нуқтаи назаридан иқтисодий коэффициент деган ибора катта аҳамият касб этади. Бу кўрсаткич ҳосил бўлган биомасса оғирлиги билан ишлатилган субстратлар миқдорини солиштириш имконини беради.

Стационар фаза учун ҳужайраларнинг хилма хиллиги характерлидир. Бу даврда бир неча кўпайишга имконияти бор ҳужайралар қатори, кўпайиш хусусиятини йўқотган, аммо ҳозирча тирик, шунингдек ўлик ва лизисга учраган ҳужайралар ҳам мавжуд бўлади.

VI - фаза - ўлиш ёки қирилиш фазаси ҳам деб аталади. Бу фаза ўлаётган ҳужайралар сони кўпайишга қодир ҳужайралар сонидан ортган даврдан бошланади. Бу фазада ҳужайра яшаши учун шароит йўқ барча захирадаги моддалар ишлатилиб бўлинган бўлади. Микроорганизмларни даврий кўпайтириш усули кейинги асосий ферментация қайси усулда олиб борилишидан қатъий назар эквивалент материалларини тайёрлаш учун кенг қўлланилади.

Доимий кўпайтиришнинг афзалликларидан қатъий назар кўпгина саноат жараёнлари ҳанузгача даврий кўпайтириш усулида олиб борилади. Бунга асосий сабаб микроорганизмлар хусусиятларининг ўта мураккаб ва тез ўзгарувчанлигидир.

Шунинг учун ҳам микроорганизмларнинг кўпайиш ва ривожланиш фазаларини яхши таҳлил қилиш улар иштирокидаги технологик жараёнларни муваффақиятли олиб боришга асос бўлиб хизмат қилади.

Биологик фаол моддаларни синтез қилувчи микроорганизмларни ажратиш усуллари

Ҳозиргача микроорганизмларнинг 100 мингдан кўпроқ турлари аниқланган. Микроорганизмларни ўзига хос жойлардан, яъни ёғ парчаловчи фермент синтез қиладиган микроорганизмларни – ёғ заводи тупроқларидан; углеводород оксидловчиларни - бензин қуйиш шахобчалари тупроқларидан, виночиликда қўл келадиган ачиткиларни - ток ўсимлигидан, кислородсиз

шароитда целлюлоза парчаловчи ва метан ҳосил қилувчиларни - йирик шохли ҳайвонларнинг оғиз бўшлиғидан ва ҳ.к. қидирилади.

Ажратиб олинган тажриба нусхалари махсус таркибга эга бўлган суюқ озуқа муҳитига ўтказилади. Бу озуқа муҳити- электив озуқа муҳити деб аталади. Бу муҳит таркиби ва шароитини танлаб ўзгартириш натижасида махсус биотехнологик шароит учун зарур бўлган микроорганизмлар ажратиб олинади. Танлов омилларига энг аввало, энергия манбаи, углерод, азот манбалари, рН, ҳарорат, босим ва бошқалар киради. Масалан, амилаза ферментини ишлаб чиқариш муаммосини ечиш учун ягона углерод манбаи қилиб крахмал; протеаза ферменти учун - оксил моддалар; целлюлаза ферменти учун целлюлоза сакловчи моддалардан фойдаланилади. Шу тарзда микроорганизм тўпламлари олинади.

Кейинги босқич - тоза культурани (штамм ёки микроорганизм деб аташ мумкин) ажратиш. Бунинг учун қуюқ озуқа муҳити ишлатилиб, унинг юзасига олдинги босқичдан олинган микроорганизмлар тўплами экилади. Петри ликобчасига экилган микроорганизмлар алоҳида-алоҳида тўпламлар ҳосил қилиб ўсиб чиқади.

Алоҳида униб чиққан тўпламларни қайта экиш натижасида тоза продуцент (маълум физиологик фаол модда (ФФМ) синтез қилувчи микроблар) культураси ажратиб олинади. Кўпчилик ҳолларда бу культура бир турга мансуб микроорганизмлардан иборат бўлади. Микроорганизмлар танлашнинг иккинчи йўли уларни микроорганизмлар тўпламида (коллекцияси) мавжуд культуралар орасидан танлаб олиш. Бу усул микроорганизмлар физиологияси ва биокимёсини ўрганиш асосида амалга оширилади. Масалан, антибиотиклар ҳосил қилувчиларни актиномицетлар орасидан; гидролитик ферментлар синтез қилувчиларни грамм мусбат бактериялар орасидан; этанол ҳосил қилувчиларни эса ачитқи замбуруғлар орасидан ахтармоқ лозим бўлади ва ҳ.к. Ажратиб олинган микроорганизмларни мақсадли моддалар (ферментлар, антибиотиклар, витаминлар ва ҳ.к.)ни синтез қилиш хусусиятлари асосий кўрсаткич бўлиб хизмат қилсада, замонавий биотехнология продуцентларга бир қатор қўшимча талаблар қўяди.

Дарҳақиқат, бу кўрсаткичлар мақсадли моддалар таннархининг пастрок бўлиши учун хизмат қилади. Бир ҳужайралилар кўп ҳужайрали ҳайвонларга нисбатан синтез қилиш жараёнининг юқорилиги билан фарқ қилади.

Биотехнология нуқтаи назаридан, фотосинтез қилувчи микроорганизмлар алоҳида эътиборга лойиқ. Улар ўзларининг ҳаёт шароитларида куёш энергиясини ютиб, ҳужайра учун зарур бўлган бир қатор моддалар синтез қилади ва бу жараёнда карбонат ангидридни қайтариш ҳамда сувни оксидлаш (цианобактериялар ва баъзи бир эукариотлар), ҳаводаги азотни ютиш (прокариотлар) имкониятларига эгалар. Бошқача қилиб айтганда, энг арзон энергия ва углерод манбаи, қайтариш эквивалентлари ва азот ҳисобидан ҳаёт кечиришлари мумкин. Фотосинтетик микроорганизмларнинг асосий фарқи ва устунлиги ҳам шундан иборат.

Фототроф микроорганизмлар аммиак, водород, оксил моддалар ва бошқа биопрепаратлар олиш учун истиқболли манбалардан ҳисобланади.

Бу гуруҳга кирувчи микроорганизмлар яқин келажақда ген муҳандислиги йўли билан қуёш энергияси асосида қурилажак янги биотехнологиялар яратишда катта аҳамият касб этиши турган гап. Фақатгина фототроф микроорганизмлар генетикаси ва молекуляр биологиясини чуқур билмаслик бу йўналишнинг жуда секин ривожланишига сабаб бўлиб турибди. Биотехнология учун қулай манба бу термофил микроорганизмлар асосида яратилган жараёнлардир. Термофиллар юқори ҳароратда ўсади (60-80°C), баъзилари эса ундан ҳам баландроқ ҳароратда 110°C, қайноқ сув чиқадиган манбаларда, айниқса катта океан тағларидан отилиб чиқадиган сувларда 3000°C гача яшай оладиган микроорганизмлар топишган.

Бундай юқори ҳароратда бошқа микроорганизмлар ўса олмаслиги аниқ. Термофил микроорганизмлар асосида спиртлар, аминокислоталар, ферментлар, молекуляр водород синтез қилиниши илмий адабиётларда келтирилган. Термофиллардан фойдаланиш стерилизацияга кетадиган харажатларнинг пасайишига сабаб бўлади. Бундан ташқари, уларда (термофилларда) ўсиш тезлиги ва метаболитик фаоллик мезофилларга нисбатан 1,5-2,0 баробар баланд туради. Термофиллар ҳосил қиладиган ферментлар ўзларининг мўътадиллиги билан ажралиб туради. Масалан, *Thermus caldophilus* ёки *Thermus aquaticus* ҳосил қиладиган протеаза ферменти ҳароратга, органик эритувчилар, оксидловчилар, детергентлар таъсирига ўта чидамлилиги билан ажралиб туради. Шунинг билан бир вақтда улар оддий ҳароратда паст фаолликка эгалар. Масалан, *Thermus caldophilus* дан ажратилган протеазанинг фаоллиги 20°C да 75°C га нисбатан 100 мартаба пастроқ. Ферментнинг бу хусусияти жуда катта аҳамиятга эга, масалан, озиқ-овқат саноатида. Термофилларнинг яна бир афзал томони биореакторларни совутиш билан боғлиқ. Термофилларни ўстириш учун ишлатиладиган реакторлар-ферментёрлар, атроф муҳит ҳароратидан бир мунча юқори ҳароратда ишлашини ҳамда юқори ҳароратда иссиқликни тез ўтказилишини ҳисобга олган ҳолда, биореакторларни соддалаштирилган чизмаларидан фойдаланиш мумкин. Хусусан, иссиқ ҳарорат берувчи ускуна, аэрация, аралаштиргич, кўпик босувчи ускуналар анча соддалашган бўлиши мумкин, бу эса анча маблағнинг иқтисод қилинишига олиб келади. Биотехнологик жараёнлар учун зарур манбаларни ажратиш, танлаш жуда муҳим босқич бўлсада, оддий танлаш билан керакли, барча хусусиятлари (фаоллиги, ўсиш тезлиги, технологияга мослиги, мўътадиллиги ва ҳ.к.) тўғри келадиган микроорганизмларни топиш ўта мушкул масала. Шунинг учун ҳам танлаб олинган микроорганизмларнинг баъзи бир хусусиятлари ва табиатини керакли йўналишда ўзгартириш лозим бўлади. Бунинг учун эса селекция усулларидан фойдаланилади. Худди шу йўлларни қўллаш натижасида микроорганизмларнинг фаоллиги ўн, юз ва ундан ҳам ортиқроқ кўпайиши мумкин.

Хом- ашё ва озуқа муҳитлари.

Ҳар қандай ишлаб чиқариш жараёни хом-ашё танлаш билан бошланади. Бутун дунё бўйича биотехнологик маҳсулотлар ишлаб чиқариш ҳажми тахминан йилига бир миллион тонна миқдорида ошиб бормоқда. Микробиология саноатида қўлланиладиган хом-ашёнинг асосий қисми (90% га яқини) этанол ишлаб чиқаришга сарфланади, шунингдек, нон маҳсулотлари ачитқилари ишлаб чиқаришга 5%, антибиотикларга 1,7%, органик кислоталар ва аминокислоталарга 1,65%, қолганлари эса бошқа маҳсулотлар ишлаб чиқаришга сарф этилади.

Ферментлар биотехнологияси йирик миқдорда крахмал талаб қилади, масалан биргина фруктоза қиёмидан ҳар йили 3,5 млн. тонна тайёрланади ва истеъмолчига етказиб берилади. Иқтисодий нуқтаи назардан биотехнологик жараёнларда ишлатиладиган хом-ашё кўп тонналик бўлиб, маҳсулот умумий баҳосининг 40-65% ини ташкил этади ва сарф- харажатда биринчи ўринни эгаллайди. Озуқа субстрати ёки озуқа муҳити юқорида таъкидланганидек суюқ, қаттиқ ва газсимон компонентлардан ташкил топган уч шаклдаги мураккаб тизимдир. Саноатда ишлаб чиқариладиган кўпгина ферментлар ҳужайранинг сиртида жойлашган ёки унинг озуқа муҳитида тўпланган бўлади. Бундан ташқари, биосинтез маҳсулотларининг кўпчилиги ҳужайра парчаланганда озуқа муҳитида тўпланади. Баъзи бир оралиқ метаболитлар захира озуқа вазифасини ўтайди, қачонки асосий озуқа манбаи тугаганда ҳужайра ундан фойдаланади. Ўстириладиган биообъект ва озуқа муҳитининг физик-кимёвий хусусиятлари орасида узвий боғлиқлик мавжудки, бунда бир тарафдан физик-кимёвий омиллар (рН, Н, О₂, осмотик босим ва ҳ.к.) продуцентларнинг биокимёвий фаоллиги ва ҳужайра ўсишини назорат қилади. Иккинчи томондан эса ҳужайраларнинг яшаши натижасида озуқа муҳитининг физик-кимёвий хусусиятлари ва кимёвий таркиби ўзгариб туради. Бу ҳолатлар эса ўстириладиган субстратда ҳужайра ички муҳитида кечаётган жараёнлар давомийлиги қай ҳолатда кетаётганлигини кузатиб боришни тақозо этади.

Микроорганизмларни ўстириш учун озуқа муҳитлари

Озуқа муҳити таркибини тузишда асосан микроорганизмлар физиологияси эътиборга олинади. Культуралар каталогини тузишда ушбу қобилиятдан ташқари унинг рН кўрсаткичи ва ҳарорати ҳам асосий роль ўйнайди. Мутахассислар олдида турган вазифалар: аниқ штамм - продуцентнинг мақсаддаги маҳсулоти учун углерод, азот, фосфор ва бошқа манбаларнинг иқтисодий ва экологик жиҳатларини эътиборга олган ҳолда, компонентларни танлаб, мўътадил озуқа муҳити таркибини тузишдан иборатдир. Ушбу мақсадни амалга оширишда, математик режалаштиришнинг эксперимент усулларида фойдаланилган ҳолда лаборатория тажрибалари олиб борилади. Асосий маҳсулот миқдори унинг конверсия коэффицентини (Y_P/S ва Y_X/S) ҳисоблаш билан аниқланади. Мўътадил ўстириш жараёнида метанол ва глюкозанинг конверсия ва биомасса коэффицентини (Y_X) тахминан 0,5 ни, этанол учун - 0,70-0,75; гексадекан учун - 1,0-1,1; суюқ парафинлар учун эса -1,2-1,3 ни ташкил

этади. Бу эса шуни кўрсатадики, даврий ўстириш жараёнида 1 л озуқа муҳитида 30 г биомассали субстрат учун метанол 60 г, этанол 40 г, гексадекан 30 г ёки суюқ парафин 24 г бўлиши керак. Метанолнинг 1,0% ёки этанолнинг 1,5-2,0% миқдоргача кўтарилиши микроорганизмлар учун зарарли таъсир этади. Глюкоза, сахароза, фруктоза ва бошқа кичик молекуляр шаклларни миқдори 7-8% дан кўпроқ бўлиши ҳам кўпчилик микроорганизмларнинг ўсишини тўхтатади. Конструктив метаболизмда азот сақловчи маҳсулотлар миқдори, био-массаси ва унинг маҳсулдорлиги ҳисобланганда 5% гача азот фойдаланилмай қолиши аниқланган. Минерал азотдан ташқари қатор микроорганизмлар озуқа муҳитига қўшилган оксил азоти, пептидлар ва аминокислоталарни ҳам ўзлаштириш қобилиятларига эгадирлар.

Микроорганизмларнинг озуқадаги минералларга бўлган эҳтиёжини озуқага қўшиладиган қатъий тартибдаги тоза ҳолдаги компонентлар (кристалл ҳолдаги тузлар) ва дистилланган сувдан ташкил топган синтетик озуқа муҳити белгилаб беради. 30 г/л биомассани ўстириш учун минерал элементларга бўлган талаб жадвалда келтирилган

Биомассани ўстиришда (30 г/л) зарур бўладиган минерал элементлар

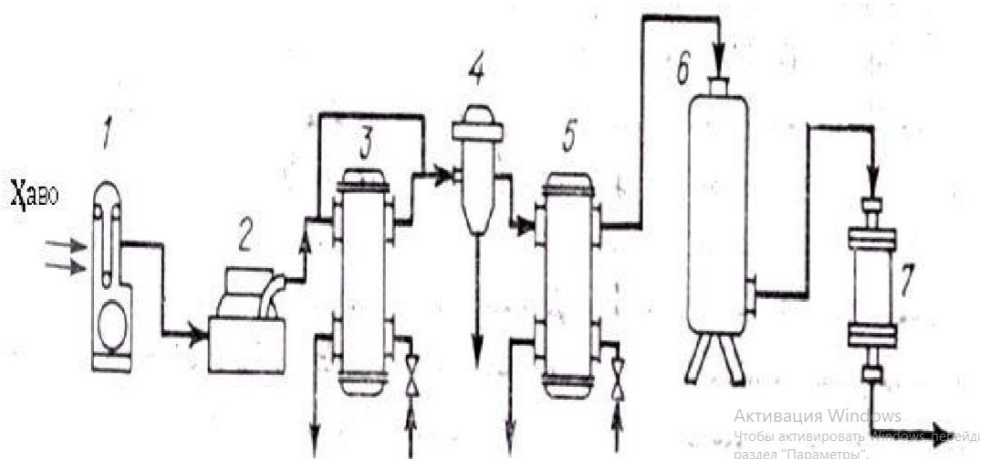
<i>Компонентлар</i>	<i>Миқдори, г/л</i>
Азот манбаи - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	12
Фосфор манбаи - KH_2PO_4	1,3
Магний манбаи – MgSO_4	1,5
Макроэлементлар - Fe, Ca, Mg	10^{-3}
Микроэлементлар - Cu, Co, Zn, Mo, Mn	10^{-4}

ФЕРМЕНТАЦИЯ ҲАВОСИНИ ТОЗАЛАШ ВА ФЕРМЕНТАЦИЯ БОСҚИЧЛАРИ

Микробиологик технология ўзининг мақсадли биосинтезини ташкил қилиш ва ёрдамчи операциялари учун катта ҳажмдаги стерилланган ҳаво ёки инерт газларни талаб қилади. Технологик хусусиятларига кўра ҳавони тайёрлаш тизимини тўрт гуруҳга ажратиш мумкин: 1. Аэроб ўстириш шароитига мос келадиган, ферментация ҳавосини тозалаш ва узатиш; 2. Аэроб ўстириш жараёнида культурал суюқликдан чиқадиган турли хил газсимон маҳсулотларни йўқ қилиш учун инерт газларни тайёрлаш ва узатиш; 3. Сочилувчан маҳсулотлар пневматранспорти учун ва микроорганизмлар суспензиясини бир ускунадан бошқа бирига ўтказиш учун ҳайдалаётган сиқилган ҳавони тайёрлаш ва узатиш; 4. Барча турдаги технологик ускуналардан чиқадиган ҳаво ёки газлар аралашмаларини тозалаш. Бу тизимлар ҳар бири алоҳида хусусиятларга эга бўлишига қарамасдан, уларни стериллаш жараёнларининг назарий асослари бир-бирлари билан боғланган. Аэроб микроорганизмларни суюқ озуқа муҳитида

ўстириш шароити ферментаторга ҳавони узлуксиз равишда юбориб турушни талаб қилади. Ферментаторга берилаётган ҳаво бир неча функцияларни бажаради: Микроорганизмларни кислород билан таъминлайди; Газсимон моддалар алмашишини йўқотади; Микроорганизмлар ажратадиган иссиқликни йўқотади; Микроорганизмлар массаси суспензиясининг бир хиллигини ҳосил қилади; Суюқ озуканинг аралашуш ва масса узатилиш тезлигини оширади.

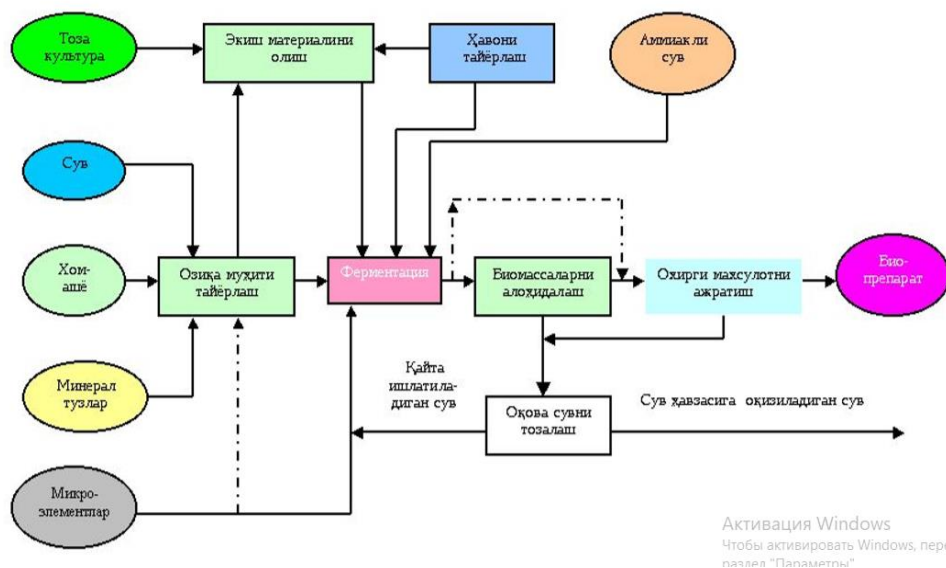
Микроорганизмлардан тозаланган, тоза, сиқилган ҳаво олиш - мураккаб технологик вазифа бўлиб, махсус тизимда амалга оширилишни талаб қилади. 13-расмда ҳавони тозалаш ва стериллашнинг махсус технологик чизмаси акс эттирилган. Биринчи босқичда атмосфера ҳавосини чанглардан тозалаш ва уни сиқиш амалга оширилади. Атмосфера ҳавоси фильтр орқали, дастлабки тозаланган ҳолда зарур босимгача (350-500 кПа) сиқиладиган компрессорга берилади. Микробиологик ишлаб чиқариш корхоналарида ҳавони сиқиш учун ҳар хил трубокомпрессорлар ёки поршинли компрессорлардан фойдаланилади. Иккинчи босқичда, сиқилган ҳаво зарур бўлган мўътадил термодинамик ҳолатда тутиб турилади. Сиқилган ҳаво 100-200°C гача қиздирилади, иссиқлик алмаштирувчи ускуналар 3°C дан 25-30°C гача совутади. Совутилган ва сиқилган ҳаво атмосфера ҳавоси билан учрашганда, намланиб конденсацияга учрайди (4). Ҳаводан сувлар ажратилгандан сўнг микроорганизмларни ўстириш ҳароратида, иссиқлик алмаштирувчи ускунада (5) қиздирилади. Шундан кейин ҳаво уни етарли намлик ва ҳарорат билан таъминловчи бош фильтрга берилади. Бу фильтрда ҳавони совуқ стериллаш жараёни кетиб, баъзи бир қолган чанглар ва микроорганизм ҳужайраларидан тозаланади. Учинчи босқичда ҳавони охириги стериллаш алоҳида юпка, нозик фильтрда (7) тозалаш амалга оширилади.



расм. Ҳавони тозалаш ва стерилизациялаш технологиясининг умумий чизмаси 1- ҳавони дастлабки тозалаш фильтри; 2-трубокомпрессор; 3-иссиқлик алмаштирувчи-совутгич; 4-суяқлик ажратувчи; 5-иссиқлик алмаштирувчи-қизитгич; 6-бош фильтр; 7-алоҳида фильтр.

Микробиологик синтез бирламчи хом-ашёларни қайта ишлаш натижасида, инсон фаолияти учун зарур бўлган тайёр маҳсулот олишни

таъминловчи бир қанча мураккаб технологик операциялар мажмуасини ўзида мужассамлаштиради. Замонавий микробиологик ишлаб чиқаришда турли хил биопрепаратларнинг ҳар бири, алоҳида технологиялар асосида ишлаб чиқарилади. Бироқ, барча ишлаб чиқариш жараёнларида ишлатиладиган микроорганизмлар деярли бир хил ҳаётий давр босқичларини босиб ўтадилар. Мана шунини эътиборга олиб, микробиологик синтез учун мос келадиган технологик жараёнларнинг намунавий чизмаси қабул қилинган. (расм)



чизма. Микробиологик синтезнинг намунавий технологик чизмаси

Бу чизма қуйидаги босқичларни ўз ичига олади: - Экув материалларини тайёрлаш; - Хом-ашёларни тайёрлаш; - Озуқа муҳитини тайёрлаш; - Ҳавони стериллаш ва тайёрлаш; - Ферментация (микроорганизмларни суюқликда ёки юза қисмга (сиртда) экиш); - Мақсадли маҳсулотларни ажратиш; - Оқова сувларни ва қолдиқ газларни тозалаш.

Микроорганизмларни суюқ озуқа муҳитида ўстириш, вертикал ҳолатда жойлашган ферментёрларда олиб борилади. Ферментёрга қўйилган энг асосий талаб - продуцентни ўстириш жараёнида интенсив ҳаво алмашинуви билан бирга асептика шароитларини вужудга келтириш имкониятларидир. Ўстириш жараёнида мураккаб бўлган уч фазали: суюқлик-қаттиқ, жисм-газ тизими билан ишлашга тўғри келади. Бу тизимда масса алмашинув жараёнлари жуда қийин кечади ва ускунани ўстиришнинг ҳамма босқичларига мослаб яратиш анча мушкул иш ҳисобланади. Саноатда ишлатилаётган ферментёрларни ҳаво алмашинуви учун энергия узатиши ва аралаштириш усулларига қараб уч гуруҳга бўлиш мумкин:

1. Механик аралаштиргичли ва пуркама ускуналар (бирлаштирилган);

2. Сиқилган ҳавони пуркаш тизимиға (энергияни суюқлик ичига пурковчи) асосланган ускуналар; 3. Пуркашға асосланган (энергияни газ фазасига узатувчи) ускуналар.

Чукур ўстиришда ферментларнинг биосинтези доимий ҳаво таъминоти ва аралаштириш билан 2-4 кун давом этади. Дастлабки боскичларда озуқа моддаларининг юқори концентрацияси продуцент биомассанинг ўсишига тўсқинлик қилиши мумкин, шунинг учун фаол ўсиш боскичида кўпинча янги муҳит ёки унинг баъзи қисмлари ферментёрға киритилади. Ҳароратнинг оптимал даражаси 22-32 ° С оралиғида бўлади.

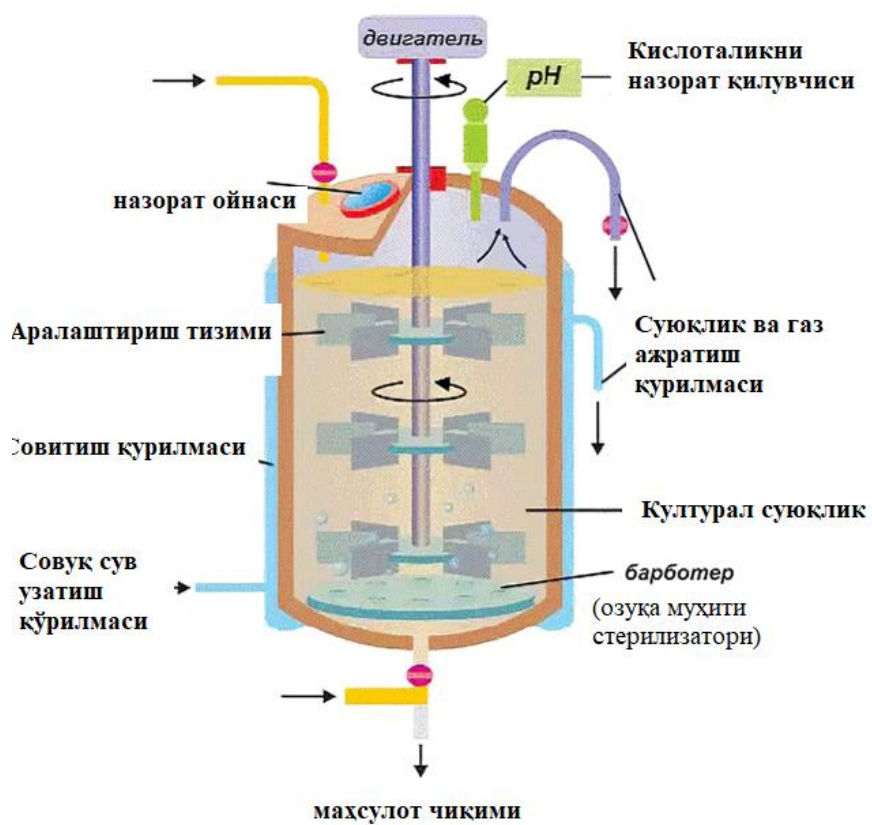
Замонавий технологик жараёнларда муҳитдаги углеводлар таркибини, ҳосил бўлган метаболитлар сони ва хужайралар концентратиясини доимий равишда автоматик аниқлаш амалга оширилади. Маълумотлар компютерға киритилади, бу жараёни тузатиш стратегиясини аниқлайди ва уни автоматик равишда бошқаради. Бу максимал иш фаолиятини ва энг сифатли маҳсулотни таъминлайди.

Ферментёрларнинг энг йириги механик айлантиргичлари ва кўпик сўндиргичлари билан биргаликда 2000 м³ ҳажмға эга бўлади. Германиядаги Хемапi фирмаси 360-400 м³ ли ферментёрларни ишлаб чиқариш билан шуғулланади. Россияда ишлаб чиқарилган 50 м³ ли ва 100 м³ ли герметик берк бўлган ва механик аралаштиргичли ҳамда ҳавони пуркашға мўлжалланган ферментёрлардан кенг миқёсда фойдаланилади. Бундан ташқари Германия маҳсулоти бўлган 63 м³ ли ферментёрлар жуда кўплаб фермент корхоналарида ишлатилади. Ферментёрлар кўпи билан 0,25 МПа босим ва стерилизация вақтида 130-140°С ҳароратда ишлашға мўлжалланган.

Продуцентни ферментёрда ўстириш жараёнида асептика нуқтаи назаридан энг муҳим бўлган омил - ферментёр қисмларини тўғри ва ўз қондасига биноан йечиш улашдир. Агарда ҳар бир қисм ферментёрни ишлатиб бўлгандан кейин алоҳида ювиш, тозалаб, яхши стерилизация қилинмаса, ифлосланишнинг манбаи бўлиб қолиши мумкин.

Микроорганизмларни ферментёрларда ўстириш жараёнида ҳосил бўлаётган ферментларнинг тўпланиши, продуцент биомассасининг ҳолати, муҳитнинг рН кўрсаткичи, озукани ташкил қилувчи баъзи компонентларнинг камайиши ва бошқа бир қанча омиллар доим назорат қилиб борилиши лозим.

Ўстириш жараёнининг тугалланиши билан культурал суюқлик ишлаб чиқаришға яъни узатилади ёки суюқлик фазасини, биомасса ва қаттиқ фазадан ажратиш бўлимиға узатилади. Баъзи ҳолларда продуцент биомассаси ҳар хил тозаликдаги фермент препаратларини олиш учун манба бўлиб хизмат қилади



Расм. Ферментернинг умумий кўринишининг технологик чизмаси.



Расм. Саноатда қўлланиладиган ферментерининг кўришиши.

XXII боб. ФЕРМЕНТЛАР ТУЗИЛИШИ, КЛАССИФИКАЦИЯСИ ВА БИОСИНТЕЗИ

Ферментлар кимёвий реакцияларни тезлаштириши мумкин бўлган оксиллардир. Табиатда мавжуд бўлган 25000 га яқин турли хил ферментларнинг бугунги кунгача 3000 дан ортиқ ферментларнинг номлари тавсифланган ва ферментлардан оз қисми амалий мақсадларда ишлатилган. Айни пайтда ферментлар кимёвий реакцияларни 108 - 1012 марта тезлаштиришга қодир бўлган жуда самарали катализаторлардир. Улар катализлайдиган аксарият реакциялар биологик тизимларда ўз-ўзидан пайдо бўлиши мумкин емас еди. Ферментларнинг яна бир муҳим хусусияти уларнинг бир хил модданинг турли хил моддаларига, кимёвий боғланишларига ва ҳар хил турдаги изомерларига нисбатан таъсирчанлиги. Уларнинг таъсири еритманинг ҳароратига, кислоталигига, ион кучига боғлиқ. Нафақат синтез ва ҳаёт айланиши босқичларида, балки ўзига хос активаторлар ва инхибиторлар ёрдамида ҳам қатъий назорат қилинади.

Биотехнология саноати томонидан ишлаб чиқариладиган фермент препаратларини сотиш ҳажми йилига миллиардлаб долларга баҳоланмоқда, уларнинг ишлаб чиқарилиши ҳар йили йилига 10-15 фоизга кўпаймоқда.

Фермент препаратлари биотехнологик жараёнларда, шунингдек замонавий саноатнинг турли соҳаларида, кенг қўлланилади.

Ҳозирги вақтда ферментлар ва биотехнологлар нафақат янги ферментларни излаш ва уларнинг хусусиятларини ўрганиш билан шуғулланмоқдалар, балки ферментлар препаратларининг барқарорлигини ошириш, уларнинг давомийлигини кўпайтириш ва ишлаб чиқаришда йўқотишларни камайтириш учун янада кўпроқ ҳаракатлар олиб борилмоқда. Кимёвий модификация қилиш, ферментларни иммобилизация қилиш, шунингдек уларни генетик муҳандислик усуллари билан ишлаб чиқариш технологиялари фаол ривожланмоқда.

Ферментлар - бу барча тирик организмларнинг тўқималарида ва хужайраларида мавжуд бўлган ва уларда содир бўладиган кимёвий реакцияларни кўп марта тезлаштиришга қодир бўлган моддалар.

Кўпгина ноорганик табиат катализаторларидан фарқли ўлароқ, ферментлар юқори самарадорлик ва таъсирнинг ўзига хос хусусиятларига эга. Оксилсиз катализаторлар одатда реакцияларни 10¹-10³ марта тезлаштиради, ферментлар таъсирида реакцияларнинг тезланиш тезлиги 10⁶-10¹² га тенг.

Асосан, ферментлар ўзига хос оксиллардир. Бироқ, йигирманчи асрнинг 80-йилларида Т. Чек ва С. Алтман рибозимлар деб номланган (улар ферментлар таснифига киритилмаган) паст молекуляр оғирликдаги полирибонуклеотидларда каталитик хусусиятларни кашф этдилар ва 1989 йилда ушбу кашфиёт Кимё бўйича Нобел мукофоти. Ушбу бўлимда муҳокама ферментларнинг энг катта гуруҳи - юқори даражада ихтисослашган оксил молекулаларига қаратилади.

Ферментлар, барча оксиллар сингари, бир қатор характерли хусусиятларга эга: амфотерлик, электрофоретик ҳаракатчанлик ва ярим ўтказувчан мембраналар орқали диализга қодир емаслик. Ферментларнинг катта молекуляр массаси бор: ўн мингдан бир неча миллион далтонгача. Улар оксил молекулаларини таркибий ташкил етишнинг барча хусусиятларига эга (бирламчи, иккиламчи, учинчи ва тўртинчи даражали ташкилот даражалари).

Ферментлар оддий полипептид занжирларидан қурилган ва фақат аминокислоталарга гидролизланганда парчаланадиган оддий оксиллар бўлиши мумкин. Оддий оксиллар - бу кофермент бўлмаганда ўз вазифаларини бажарадиган гидролиз ферментлари (масалан, протеазалар, липазлар, рибонуклеаза). Кўпгина ҳолларда ферментлар мураккаб оксиллардир. Мураккаб оксиллар (холоензимлар) таркибида оксил қисми (апоензим) билан бирга оксил бўлмаган таркибий қисм (кофермент ёки протез гуруҳи) мавжуд (1-расм).

Ферментатив реакция оксил молекуласини ташкил қилувчи аминокислоталарни сиртида жойлашган функционал гуруҳлар иштирокида амалга ошади. Ферментатив реакцияни белгилаб берувчи босқич фермент – субстрат комплексини ҳосил бўлишидир. Бу комплекс фермент

молекуласининг алоҳида қисмида пайдо бўлади ва бу ферментнинг **фаол маркази** деб аталади.

Апофермент фермент таъсирининг ўзига хослигини таъминлайди. Коензимлар кўпинча молекуланинг оксил қисми билан ковалент бўлмаган ўзаро таъсирлар орқали боғланади: водород, ҳидрофоб ёки ион боғланишлари. Апоферментнинг коферментга (тетрагидрофолат ва биотин) ковалент бирикиши камроқ учрайди. Коензимлар ва бошқа протез гуруҳлари катализ жараёнида бевосита иштирок этади.

Икки компонентли ферментларнинг ўзига хос хусусиятларидан бирини таъкидлаш керак: фақат апоензим коензим ёки кофактор билан бирикганда улар каталитик фаолликка ега бўлади. Барча ферментларнинг 25% дан ортиғи тўлиқ каталитик фаоллик учун металл ионларини талаб қилади.



Ферментларнинг фаоллиги бу реакция тезлигини ҳар хил даражада тезлаштириш қобилиятидир. Фаолият қуйидагича ифодаланади:

- 1) Халқаро фаолият бирликлари - (ХБ) 1 дақиқада 1 мМ субстратнинг конверсиясини катализловчи фермент миқдори.
- 2) Катал (кат) - 1 мол ичида 1 мол субстратни конверсиялашга қодир катализатор (фермент) миқдори.
- 3) ўзига хос фаоллик - синов намунасидаги фаоллик бирликларининг сони (юқоридаги ҳар қандай нарса) ушбу намунадаги оксилнинг умумий массасига.
- 4) Одатда, моляр фаоллик ишлатилади - бир дақиқада битта фермент молекуласи томонидан конвертация қилинган субстрат молекулаларининг сони.

Фаолият биринчи навбатда ҳароратга боғлиқ. У ёки бу фермент энг мақбул ҳароратда фаолроқ бўлади. Тирик организмнинг ферменти учун бу қиймат организм турига қараб $+37,0 - +39,0^{\circ}\text{C}$ оралиғида бўлади. Ҳароратнинг пасайиши билан Браун ҳаракати секинлашади, диффузия тезлиги пасаяди ва шунинг учун фермент ва реакция таркибий қисмлари (субстратлар) ўртасида мураккаб ҳосил бўлиш жараёни секинлашади. Агар ҳарорат $+40 - +50^{\circ}\text{C}$ дан юқори бўлса, оксил бўлган фермент молекуласи денатурасён жараёнида ўтади. Бундай ҳолда кимёвий реакция тезлиги сезиларли даражада пасаяди.

Ферментнинг фаоллиги муҳитнинг рН қийматиға ҳам боғлиқ. Уларнинг аксарияти учун уларнинг фаоллиги максимал бўлган маълум бир оптимал рН қиймати мавжуд.

Ҳужайра юзлаб ферментларни ўз ичига олганлиги сабабли уларнинг ҳар бири ўзига хос рН даражасига ега бўлганлиги сабабли, рН ўзгариши ферментатив фаолликни бошқаришда муҳим омиллардан биридир. Шундай қилиб, маълум бир фермент иштирокидаги битта кимёвий реакция натижасида, рН қиймати $7,0 - 7,2$ оралиғида ётади, бу кислота бўлган маҳсулот ҳосил бўлади. Бундай ҳолда, рН қиймати $5,5 - 6,0$ оралиғига ўтади. Ферментнинг фаоллиги кескин пасаяди, маҳсулот ҳосил бўлиш тезлиги секинлашади, аммо шу билан бирга бошқа фермент фаоллашади, бунинг учун бу рН қийматлари оптимал бўлади ва биринчи реакция ҳосиласи кейинги кимёвий трансформацияға учрайди.

Ҳозирға қадар маълум бўлган ферментлар 6 синфға бўлинади:

1. Оксидоредуктазалар - оксидланиш ва қайтарилиш реакцияларини катализлайди. Масалан, каталаза ферменти.
2. Трансферазалар - маълум кимёвий гуруҳлари бир бирикмадан иккинчи бирикмага кўчирилишини таъминлайди. Масалан, киназа ферменти АТФдаги фосфат кислота қолдиғини ташишда иштирок этади.
3. Гидролазалар - мураккаб органик бирикмаларнинг сув ёрдамида парчаланиш реакцияларини катализлайди. Масалан, естереза, пепсин, трипсин, амилаза.
4. Лиазалар - субстратдан сув иштирокисиз маълум гуруҳларнинг ажралишини катализлайди. Бу ферментлар фаолияти туфайли ё қўшбоғ ҳосил бўлади ёки маълум гуруҳларнинг қўшбоғларига бирикиши таъминланади.
5. Изомеразалар - ҳар хил органик бирикмаларнинг изомерланиш реакцияларини катализлайди.
6. Лигазалар - АТФ ёки шунга ўхшаш нуклеозид трифосфатлар энергияси ҳисобига оддий молекулалардан мураккаб бирикмалар ҳосил бўлиш реакцияларини катализлайди.

Баъзи ферментлар ва улар катализлайдиган реакциялар			
Кимёвий реакция типи	Фермент	Манба	Катализланадиган реакция
Гидролиз	Трипсин	Ингичка ичак	Оқсиллар + H ₂ O → Турли полипептиды
Гидролиз	β-Амилаза	Буғдой, арпа, батат ва бошқ.	Крахмал + H ₂ O → Крахмалал гидролизати + мальтоза
Гидролиз	Тромбин	Қон	Фибриноген + H ₂ O → Фибрин + 2 Полипептид
Гидролиз	Липаза	Ичак, Кўп мой сақловчи уруғлар, микроорганизмлар	Мойлар + H ₂ O → Мой кислоталари + Глицерин
Гидролиз	Ишқорий фосфатаза	Деярли барча ҳужайралар	Органик фосфатлар + H ₂ O → дефосфорилланган маҳсулот + анорганик фосфат
Гидролиз	Уреаза	Баъзи ўсимлик ҳужайралари ва микроорганизмлар	Мочевина + H ₂ O → Аммиак + углерода диоксид и
Фосфоролиз	Фосфорилаза	Полисахаридлар сақловчи ҳайвон ва ўсимлик тўқималари	Полисахарид (n молекула глюкозадан иборат крахмал ёки гликоген) + анорганик фосфат Глюкозо-1-фосфат + Полисахарид (n – 1 молекула глюкозадан иборат крахмал ёки гликоген)

Баъзи ферментлар ва улар катализлайдиган реакциялар			
Кимёвий реакция типи	Фермент	Манба	Катализланадиган реакция
Гидролиз	Трипсин	Ингичка ичак	Оқсиллар + H ₂ O → Турли полипептиды
Гидролиз	β-Амилаза	Буғдой, арпа, батат ва бошқ.	Крахмал + H ₂ O → Крахмалал гидролизати + мальтоза
Гидролиз	Тромбин	Қон	Фибриноген + H ₂ O → Фибрин + 2 Полипептид
Гидролиз	Липаза	Ичак, Кўп мой сақловчи уруғлар, микроорганизмлар	Мойлар + H ₂ O → Мой кислоталари + Глицерин
Гидролиз	Ишқорий фосфатаза	Деярли барча ҳужайралар	Органик фосфатлар + H ₂ O → дефосфорилланган маҳсулот + анорганик фосфат
Гидролиз	Уреаза	Баъзи ўсимлик ҳужайралари ва микроорганизмлар	Мочевина + H ₂ O → Аммиак + углерода диоксид и
Фосфоролиз	Фосфорилаза	Полисахаридлар сақловчи ҳайвон ва ўсимлик тўқималари	Полисахарид (n молекула глюкозадан иборат крахмал ёки гликоген) + анорганик фосфат Глюкозо-1-фосфат + Полисахарид (n – 1 молекула глюкозадан иборат крахмал ёки гликоген)

Баъзи ферментлар ва улар катализлайдиган реакциялар			
Кимёвий реакция типи	Фермент	Манба	Катализланадиган реакция
Гидролиз	Трипсин	Ингичка ичак	Оқсиллар + H ₂ O → Турли полипептиды
Гидролиз	β-Амилаза	Бугдой, арпа, батат ва бошқ.	Крахмал + H ₂ O → Крахмалал гидролизати + мальтоза
Гидролиз	Тромбин	Қон	Фибриноген + H ₂ O → Фибрин + 2 Полипептид
Гидролиз	Липаза	Ичак, Кўп мой сақловчи уруғлар, микроорганизмлар	Мойлар + H ₂ O → Мой кислоталари + Глицерин
Гидролиз	Ишқорий фосфатаза	Деярли барча ҳужайралар	Органик фосфатлар + H ₂ O → дефосфорилланган маҳсулот + анорганик фосфат
Гидролиз	Уреаза	Баъзи ўсимлик ҳужайралари ва микроорганизмлар	Мочевина + H ₂ O → Аммиак + углерода диоксид и
Фосфоролиз	Фосфоорилаза	Полисахаридлар сақловчи ҳайвон ва ўсимлик тўқималари	Полисахарид (n молекула глюкозадан иборат крахмал ёки гликоген) + анорганик фосфат Глюкозо-1-фосфат + Полисахарид (n – 1

Ферментатив реакцияларни тезлиги одатдаги кимёвий реакцияларга караганда 10^9 мартаба тезроқ кечиши аниқланган. Кимёвий реакцияларни худди шундай самара билан кечиши учун $600-700^\circ \text{C}$ ва 200-300 атм. босим зарур бўлади.

Морфологик ҳар-хил ҳужайраларда ферментлар сони ва уларни хилма-хиллиги ҳам ҳар хил бўлади. Масалан, прокариот ҳужайраларда 3000 га яқин оксил моддалари аниқланган бўлса, эукариотлар ҳужайраларида бу сон 40000 дан ортади.

Органик ҳаётда ферментлар энг мураккаб бирикма ҳисобланади. Улар 20та ҳар хил аминокислоталардан тузилганлар. Ҳар бир оксил учун ўзига хос бўлган аминокислоталар кетма-кетлиги маълум. Ферментларни молекуляр оғирлиги бир неча мингдан, бир неча миллионгача бўлади.

Ферментлар ўзига хос бўлган спецификликка ва фаолликка эга, улар уч гуруҳга бўлинади:

1. Нисбатан паст спецификликка эга бўлган ферментлар. Бу гуруҳга барча гидролитик ферментлар: амилазалар, липазалар, пектиназалар, целлюлазалар, эстеразалар ва бошқалар. Юқорида кўрсатилган ферментлар ҳар хил тезликда полимер, олигомер ҳамда паст молекулали субстратларга таъсир кўрсатади.

2. Бир-бирларига ўхшаш структурага эга бўлган бир гуруҳ субстратларга таъсир этувчи ферментлар. Бундай ферментларни гуруҳ спецификлигига эга бўлган ферментлар деб аталади ва улар ҳар-хил гексозаларни фосфорлаш реакциясини олиб борувчи гексокиназалардир.

3. Абсолют спецификликка эга бўлган ферментлар. Бундай ферментлар фақатгина биргина субстратни ўзгартирувчи реакцияни катализ қила оладилар ёки структураси жуда ҳам яқин бўлган субстратларни ўта секинлик билан ўзгартиришлари мумкин. Бу ферментлар стерео спецификилиги билан характерланади. Масалан, дегидрагеназалар водород атоми

субстратдан коферментнинг никотин-амид ядросини ўта аниқ томонига ўтказди.

ХIII бoб. ФЕРМЕНТЛАР МУҲАНДИСЛИГИ

Ҳар бир халқда камида битта ачитқидан тайёрланган миллий таом бор. Йогурт Арманистон ва Грузияда кенг тарқалган, кефир Болгария ва Белоруссияда кенг тарқалган, Роқуефорт каби пишлоқлар Франция ва Испанияда машҳур, рус ва украин таомлари жавдар нони ва ёгурциз тасаввур қилиб бўлмайди. Миллий таомлардан бошлаб, бу маҳсулотлар халқаро миқёсда тан олинган.

19-аср охирида И.И. Ушбу бактерияларнинг тоза културалари ацидофил ҳосил қилиш учун ишлатилади. У стерил сутдан тайёрланади (120 ° С да 15 дақиқа стерилизация ёки 110 ° С да 30 минут), тоза уруг ўмаданияти қўшилиб, керакли кислота олинмагунча 35-37 ° С ҳароратда 20-48 соат давомида инкубация қилинади. Ацидофилдаги Лактобациллус ацидофил жонли бактериялар сони 1 мл дан камида 200 миллион бўлиши керак. Яхши тайёрланган ацидофил таркибидаги сут кислотаси 0,65-0,75% ни ташкил қилади. Ферментация пайтида ацидофил бактериялар органик кислоталарни (асосан сут), глюкоза, галактоза, лактоза ва бошқа шакарларни ассимиляция қилади.

Сут кислотасининг машҳур маҳсулотини кефир деб ҳисоблаш мумкин. Қадимги даврларда кефир, буғдой, ечки, қўй ёки сигир сутини тайёрлаш учун "кефир доналари" деб номланган екин екилган. Бу табиий симбиотик микрофлора, шу жумладан сут кислотаси бактериялари, Ластобациллус сасеи, Сасчаромйсес кефир хамиртуруши ва бирга келадиган стрептококкларнинг баъзи турлари. Сут жингалакда ачитилган; карбонат ангидрид чиқарилиши натижасида ичимлик ефирга чиқа бошлади. Замонавий кефир, асосан, сигир сутини ачитиш орқали тайёрланади.

Сут кислотасининг яна бир маҳсулоти - йогурт - микрофлораси аралаштирилади, лекин болгар бактерияси Ластобациллус булгарисус доминант бўлиб, глюкоза, галактоза ва лактоза ферментация қилади.

Пишлоқ тайёрлаш. Пишлоқ, творогдан казеинни ёғли ёки ёғсиз сутни қайта ишлаш орқали тайёрланади. Казеин коагуляцияси микробиял ферментлар ва сут кислотаси таъсирида ёки ширдон ферменти ёрдамида содир бўлади. Сут кислотаси бактериялари *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus diacetilactis* коагуляцияда иштирок этади. Протеин коагуляцияси натижасида калций казеиндан ажралиб чиқади, иккинчиси сувда эримайдиган казеин кислотасининг парчалари шаклида чўқади.

Қўй, ечки, сигир ёки сут сутидан фойдаланган ҳолда ҳар хил турдаги пишлоқ тайёрлаш учун. Пишлоқ тайёрлаш технологиясига қараб, зардоб филтр прессида творогдан тўлиқ ёки қисман ажратилади. Творог олинadиган пишлоқ турига мувофиқ микроорганизмлар маданияти билан уруғланади. Микроорганизмлар томонидан чиқарилган ферментлар таъсири остида пишганда, творогнинг кимёвий таркиби ва физик хусусиятлари сезиларли

даражада ўзгаради. Рокефорт пишлоқининг ўткир таъми сут ёғларини парчалайдиган фермент микробил липаза таъсирига боғлиқ.

Ферментларнинг қўлланилиши

2000 дан ортиқ фермент аниқланган

250 дан ортиғи саноат миқёсида ишлаб чиқарилади.

60% амилаза ва протеазаларга тўғри келади.

Фармацевтика- 15%

Вино, шарбат тайёрлаш-10%

Спирт-8%

Пишлоқ олиш -5 %

Нонвойчилик -5%

Пивочилик -6%

Таҳлилий илмий тадқиқотлар -10%

Бошқа соҳалар

Ем ҳашак ишлаб чиқариш

Қишлоқ хўжалиги ва саноатнинг лигноцеллюлоза ва целлюлоза чиқиндиларини микроблар билан қайта ишлашга асосланган протеин, этанол, органик кислоталар, метан ва бошқа қимматбаҳо маҳсулотларни олиш муаммоси ечилмоқда.

Целлюлоза ва бир қатор табиий лигноцеллюлоза материаллар таркиби ва хоссалари, ушбу материалларни биоконверсиялаш самарадорлигини ошириш мақсадида уларни дастлабки ўзгартириш усуллари тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Целлюлоза ва унга алоқадор полисахаридларнинг энзиматик парчаланиш механизмлари, шунингдек биосинтез ва целлюлолитик ферментларни қўллашнинг баъзи жиҳатлари кўриб чиқилган. Ишда фойдаланилган маълумотларни умумлаштириш ва таҳлил қилиш асосида биоконверсия жараёнларини амалий равишда амалга ошириш имконияти тўғрисида хулосалар чиқарилган.

Чорвачиликда ферментлардан амалий фойдаланиш.

Ферментлар бу ҳайвонлар, кушлар, чўчқалар, ёш қорамоллар танасида метаболик жараёнларни тезлаштирадиган табиий моддалардир. Биринчидан, улардан фойдаланиш озуқа харажатларини сезиларли даражада камайтиради (10% гача) ва уларнинг организмда сўрилишини яхшилади. Бройлер, тўнғиз ва чўчқаларни боқишда ферментлардан фойдаланиш озуқа истеъмоли 5 фоиздан 10 фоизгача камайган ҳолда тирик вазнда ўртача кунлик даромадни 4-5 фоизга, тухум қўядиган товуқларнинг тухум ишлаб чиқаришини ўртача 5 фоизга оширади.

Силослаш жараёнида фермент препаратларидан фойдаланиш силос жараёнини целлюлоза, гемицеллюлоза, пектин моддалари ва оксилларни пептидлар ва аминокислоталарга қисман парчалаш йўналиши бўйича амалга оширишга имкон беради ва шу билан озуканинг озукавий қийматини сезиларли даражада оширади.

Фермент препаратларини грануляция ва микроинкспуляцияга бўлган эҳтиёж кўп жиҳатдан биотехнологик корхоналарда меҳнатни муҳофаза

килиш талаблари билан белгиланади. Шу билан бирга, гранулали ва микро-капсулали препаратларни ишлаб чиқарадиган ишлаб чиқарувчилар, бундай аралашмалар аралаш озуқаларга киритилиши жараёнида одамлар учун барқарор, барқарор ва хавфсиздир деб даъво қилмоқда.

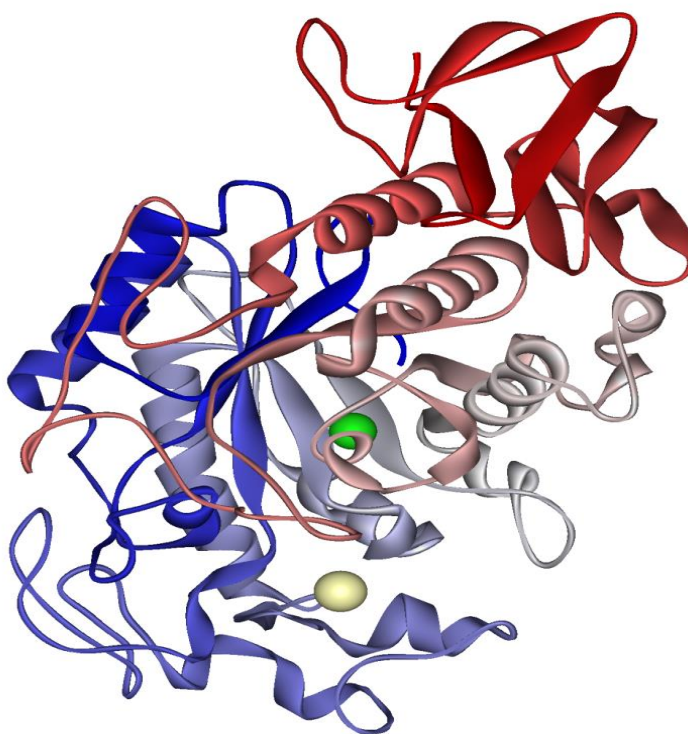
Ферментлар ишлаб чиқаришда фойдаланиладиган микроорганизмлар.

Амилазалар — бактерия ва замбуруғлардан олинадиган амилазалар крахмални кичик молекуляр шакарлар: декстринлар, глюкозалар, малтозаларгача

парчалайди. Бактериал протезалар пишлоқ пиширишда ва тери ошлашда оксилларни

бузишда қўлланилади. *Bacillus* sp. дан олинадиган глюкозоизомераза ферменти глюкозани фруктозага айлантиришда ёрдамлашади.

Кейинги вақтларда олимлар диққат эътиборини қуйидагилар ўзига тортмоқда: циклодекстринглюкозилтрансфераза (ЦДГТ) га мослашиш, циклодекстринлар бирикмаларининг ишлаб чиқарилиши: кимёвий ва фармакологик ишлаб чиқаришда, озиқ — овқат маҳсулотлари сифатини оширишда, косметика ва бошқалар ишлаб чиқаришда зарурдир.



Амилаза ферментининг тузилиши.

Лактаза ёки β – галоктозидаза (β – D – галоктозид – галоктогидролазалар) лактозани глюкоза ва галактозага айлантиради. Бу фермент *E.Coli*, *Asp.niger*, *Sacch.cerevisiae*, *Curvularia inaequalis*, *Alternaria tenuis* ва айрим бошқа микроорганизмларда синтез бўлади.

Глюкоамилаза – (1,4 – α – D – глюкоан – глюконогидролаза) асосан замбуруғларда

кенг ўрганилган. **Aspergillus niger** замбуруғида унинг молекуляр массаси 100 000 дальтон атрофида бўлган иккита гликопротеинлардан иборат. Демак, бу ферментни хусусиятлари бир-биридан фарқ қиладиган иккита формаси (шакли) мавжуд.

Липазалар – (3.1.1.3. – триацил глицеролода гидролазалар липид (ёғ) алмашинувида

иштрок этадиган, катта амалий қизиқиш уйғотадиган ферментлар. Культура ўсадиган муҳитга ажратадиган липазаларни ишлаб чиқарувчиларнинг

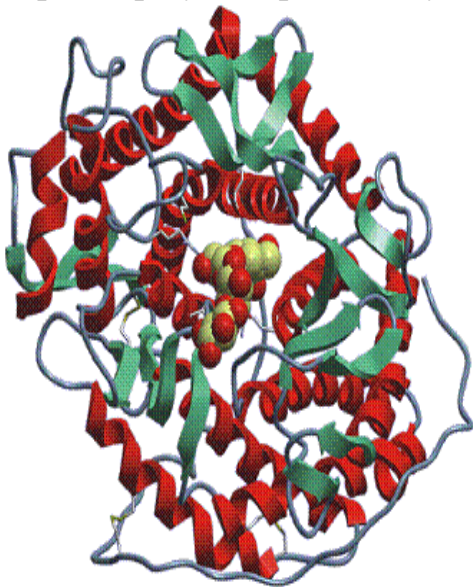
кўпи мицелиали замбуғлардир.

Улардан **Aspergillus**, **Mucor**, **Geotrichum**, айрим ачитки замбуруғлар (**Candida**) ва бактериялардир (**Pseudomonas**). Липазалар триацилглицеролларни парчалаб ёғ кислоталари ва глицерин ҳосил қилади.

Саноат асосида кўп миқдорда ишлаб чиқарилаётган ва кенг миқёсда халқ хужалигида

қўлланилаётган ферментлардан ташқари, кам миқдорда олинадиган ва кам соҳада

қўлланиладиган бир қанча ферментлар ҳам бор, лекин буларнинг айримлари ўта даражада муҳимдир



Глюкоамилаза ферментининг тузилиши

Ферментлар продуцентларини ўстириш жараёнига таъсир қилувчи омиллар.

Ўзгариб турадиган атроф муҳит шароитларига тирик организмни мослашиб бориши, муайян организмлар ҳужайраларидаги макромалекулаларнинг тузилишларини ўзгаришига олиб келади.

Ферментларни эволюцияси ҳам жуда узоқ вақт давом этган жараён. Тахмин қилишча, миллион йиллар аввал ўша даврдаги ташқи муҳит таъсири сабабли, ферментлар ўзларининг бугунги аналогларига нисбатан анчагина юқори ҳароратга чидамли бўлган. Худди шунингдек ўша давр ферментларининг молекуляр оғирлиги ҳозиргисидан анча баланд бўлганлиги ҳам маълум. Бундай хусусият фақатгина ферментларга эмас, балки ҳужайрадаги барча макромолекулаларга ҳам хос бўлади.

Молекуляр массани кичикланиши, нуклеин кислоталари ва ферментларни макромолекула-кулаларини оптимал ҳолатга тушиши, эволюция жараёнининг энг муҳим натижаларидан биридир.

Агар ферментларни иссиққа чидамлилигини пасайиб боришини сабабларини муҳокама қилсак, бундай эволюцион ўзгаришлар вақт ўтиши, атроф-муҳит шароити ўзгариб бориши билан ҳужайра учун шундай макромолекулаларни синтез қилиш қулайроқ бўлганлиги билан тушунтириш мумкин. Маълумки, термостабил ферментлар ҳужайра ичидаги қўшимча боғларни бўлиши зарурлигини талаб қилади, бу эса ҳужайра учун энергетик жиҳатдан фойдасиз ҳисобланади.

Ферментлар продуцентларини ўстириш жараёнига таъсир қилувчи омиллар.

Ҳар қандай саноат маҳсулотини олишнинг биологик жараёни учун иккита ҳолат:

1. муайян маҳсулотга харидор бўлиши шарт.
2. жараённи ишлаб-чиқаришга тадбиқ этиш иқтисодий фойда келтирадиган бўлиши керак.

Саноат шароитида ферментлар асосан микроорганизмлардан олинади:

1. микроб культуралари селекциясига (бирламчи селекция, мутация, ген муҳандислиги) бўлган замонавий усуллар ва ўсиш шароитини оптимизация қилиш ҳар қандай микроб ферменти биосинтезини амалга оширишга имкон яратади.
2. саноат шароитида ишлатиладиган штамм-продуцент, продуцент ўзини физиологик эҳтиёжидан кўпроқ миқдорда синтез қилиш имкониятига эга бўлсин.
3. микроорганизмларни ўстириш жараёнига фасл факторини таъсири умуман бўлмаслиги шарт.
4. ҳар хил таксономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизм-продуцентлар учун ферментларни кенг спектори биосинтези характерли, яъни продуцентлар керакли ферментларни синтез қилиши керак.

Ферментлар продуцентларини ўстириш жараёнига таъсир қилувчи омиллар. рН кўрсаткичи, ҳарорат, углерод манбалари, азот манбалари ва бошқалар..

Микробиологик йўл билан ферментларни ишлаб чиқаришни, иқтисодий самарадорлигини аниқловчи омиллардан бири-микроорганизмларни ўстириш усулидир. Ўстиришни бир неча усуллари

мавжуд: сиртки (юзаки), суюқ озуқа муҳитида (даврий), осиб (жуда ҳам кам ишлатилади) ва озуқа муҳитида тўхтовсиз ўстириш усуллари.

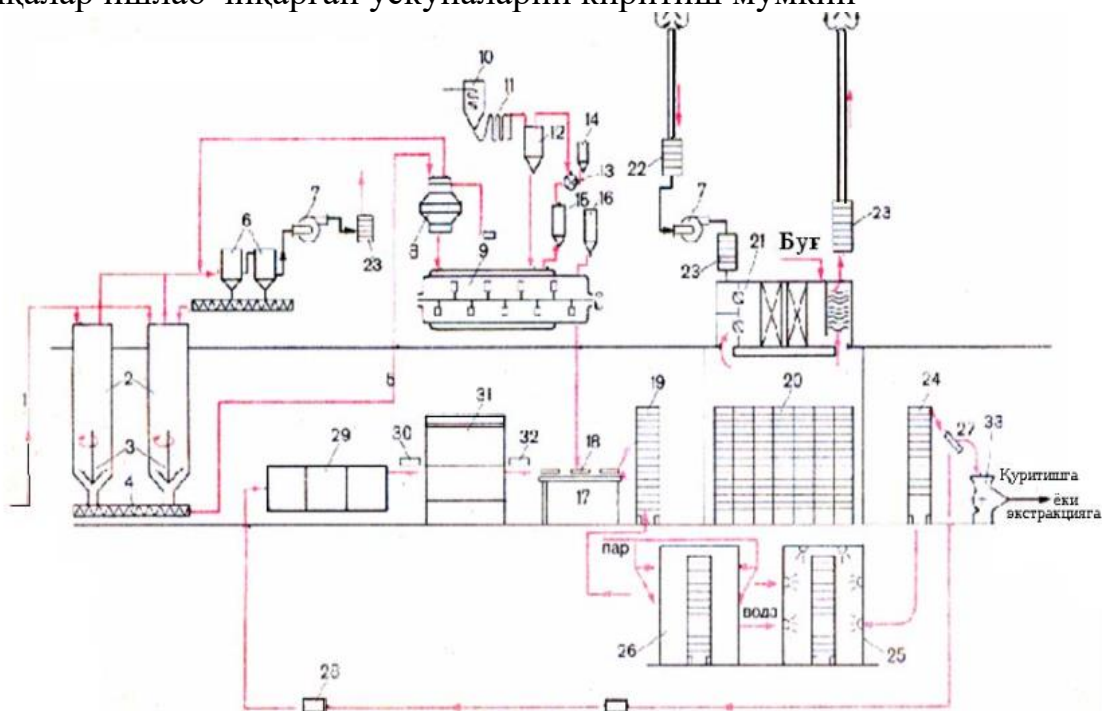
Микроорганизмларни қаттиқ фаза сиртида, юзаки ўстириш жуда катта аҳамиятга эга. Японияда ва Узоқ Шарқни бошқа мамлакатларида ивигилган буғдой ёки гуручга тузлар солиб, уй ҳароратида ва стерил шароитда махсус идишларда замбуруғ ўстирилади. Шу усулда амилаза, протеаза, пектиназа, целлюлаза ва бошқа ферментлар олинади. Ўтган асрнинг 20-йилларида-антибиотиклар ишлаб чиқариш бошланган даврда—микроорганизмларни суюқ озуқа муҳитида, чуқурликда ўстириш усули яратилган. Бу усулдан фойдаланиб, ферментлар биосинтезини амалга ошириш, дастлабки тажрибаларда ўзини истиқболли эканлигини кўрсатди.

Саноат ферментациясини асосий мақсади энергиядан (ўстириш ҳарорати, озуқа муҳитини стерилизация қилганда ва уни аралаштирганда сарфланадиган энергия вах.к.) унумли ва самаралироқ фойдаланишдан иборат. Шунинг учун ҳам озуқа муҳитининг компонентларини энергетик ва озуқавий баҳоси энг муҳим омиллардан ҳисобланиб, ўстириш шароитини танлаш ҳам катта аҳамиятга эга (ҳарорат, pH, O₂ ни парциал босими, жараёни давомийлиги ва х.к.). Саноат шароитида маҳсулотни тан нархини белгилашда ферментациядан ташқари, озуқа муҳити компонентларини баҳоси, энергия сарфлари, хизматчиларни меҳнат ҳаражатлари, аппаратларни ишлатишдаги ҳаражатлар ва бошқа муайян жараён билан алоқадор бўлган ҳаражатлар эътиборга олинади.

Микроорганизмларни юза қаватида ўстириш

- Продуцентларни ўстириш жараёни совитилган стерил озиқа муҳитига экиш материални сепишдан бошланади. Даврий стерилизация шароитида экишни одатда стерилизаторнинг ўзида узлуксиз аралаштириш йўли билан ўтказилади. Узлуксиз стерилизация қилиш шароитида эса озиқага экиш стерилизаторнинг совитиш бўлимида амалга оширилади ва экилган озиқа муҳити культура билан биргаликда ўстириш цехига юборилади.
- Культураларнинг қаттиқ озиқа муҳити сиртида ўстириш жараёнини ҳар хил усуллар билан бажариш мумкин. Кюветаларга экиб ўстириш ананавий усул ҳисобланиб, кўп қўл меҳнатини ва кўп 13 ишлаб чиқариш майдонини талаб қилади. Продуцентларни механизациялашган қурилмаларда ўстириш бирмунча янги усул бўлиб ҳисобланади.
- Кюветали ўстириш усулининг элементар ячейкаси бўлиб оддий рухланган темир туникадан ясалган усти очик ёки ёпиқ ва баландлиги 20-50 мм ли 0,25-0,50 м 2 майдонга эга бўлган идиш ташкил қилади. Бу идишнинг таг қисми тешикли ёки тешиксиз бўлади
- Кюветаларга 2-2,5 см қалинликда намланган, экилган озиқа муҳити солинади ва у ўстириш хонасига юборилади. Бу ерда кюветалар ҳаракатланувчан ёки стационар ускуналарда бир неча қаватли қилиб терилади. ҳар бир қават ораси 10-11 см бўлади.

- Одатда бу қаватлар сони 18 та атрофида бўлиб, умумий бўйи 2 м дан ошмаслиги керак. Биринчи кювета 20-25 см баланликда ўрнатилади. ҳамма темир ускуналар каррозияга қарши материал билан қопланган бўлиши лозим.
- Кюветаларни ўстириш хонасига бўшатишда улар формалин билан дезинфекция қилинади. ўстириш хоналари ҳар хил шакл ва кўринишда бўлиши мумкин. Кўпинча улар узун энсиз икки томонига эшик ўрнатилган йўлак шаклида бўлади. ўстириш хонаси тепасида ҳаво ҳайдаш ва ҳавони тозалаш мосламалари ўрнатилади. ўстириш хоналарида олиб бориладиган бутун технологик жараёнлар 36- 90 соат давом этади. Механизациялашган ўстириш қурилмаларини яратишнинг имкониятлари озиқа муҳити қаватларининг орасида ҳавонинг яхши айланиши, зичлашиб қолмаслиги ёки тезда қуриб қолмаслиги каби талаблар билан чекланган.
- Шу билан бирга уларни шундай қуриш керакки, агарда ўстирилаётган микроорганизмлар ифлосланиб қолса, ўстириш тизимини тўхтатмасдан шу ердаги ифлосланган озиқа муҳитларини бемалол алмаштириш ва стерилизация қилиш имкониятлари бўлиши керак. Бундай нисбатан яхши қурилмаларга Джеффрис, Христенсен, Андеркофлер, Валерштейн, чехословакия ва ВНИИФС, ВНИИ биотехника ва бошқалар ишлаб чиқарган ускуналарни киритиш мумкин



Микроорганизмларни юза қисмга экиш усулининг технологик чизмаси

- 1-донадор компонентларнинг пневмотранспорти; 2- бункер; 3- ворошитель; 4-шнек; 5- кепак пневмотранспорти; 6- чикувчи газларни тозалаш учун циклонлар; 7- вентелятор; 8- 14 кепакни автоматик меъёрловчи ускуна; 9- донадор компонентлар стериллизатори; 10-сув

стерилизатори; 11-иссиқлик алмаштирувчи; 12- стерил сув ўлчагич; 13-меъёрловчи (дозатор); 14-хлорид кислота тўпланувчи идиш; 15-суялтирилган хлорид кислотани ўлчов ускунаси; 16- экиш суспензияси учун идиш; 17-стол; 18- кюветаларга жойлаш; 19-кюветаларни кетма-кет жойлаштириш учун жавонлар; 20-ўстириш камераси; 21-совутгич; 22-дастлабки тозалаш учун филтр; 23-микробиологик ифлонишларни тозалаш учун филтр. 24-тайёр культуралар учун жавонлар; 25-жавонларни ювиш жойи; 26-жавонларни стериллаш; 27-кюветалардан қуйиб олиш; 28-ифлосланган кювета; 29-кюветаларни ювиш; 30-тоза кювета; 31-кюветаларни стериллаш камераси; 32-стерил кюветалар; 33-майдалагич ускуна.

Микроорганизмлардан фермент препаратларини ажратиб олиш усуллари.

Микроорганизмлар – фермент олиш учун жуда қулай манба ҳисобланади, чунки уларнинг (ферментларини) ҳужайрадаги концентрациясини микроорганизм ўсишини тезлатиш ёки генетик манипуляция қилиш ҳисобига ошириш мумкин. Микроорганизмлар тез ўсади, арзон муҳитларда кўпаяди ва турли ферментларга бойдир. Микроб ферментлари ҳозирда ўсимлик ва ҳайвон ферментлари ўрнини босмоқда. Қатор ферментлар медицина диагностикасида ҳам ўзига хос ўрин эгаллаб келмоқда. Масалан, холестериноксидаза қон зардобидеги холестеринни, уреаза эса, сийдик кислотаси миқдорини ўлчада ишлатилади. Ген инженерлиги тадқиқотларида эса, микроблардан ажратиладиган рестриктацион эндонуклеазалар ва лигазалар ишлатилади. Микробиологик усулда олинган ферментлар пластмасса ишлаб чиқаришда ҳам ўрин эгаллайди. Қаттиқ ёки суюқ озуқа муҳитларида ўстирилган микроорганизмларнинг культураси ва уларнинг культурал суюқликлари таркибиде жуда кўп миқдорда балласт моддалар бордир.

Микроорганизм культураларини қуритиш учун тасмали, тоннелли, шахтали, барабанли, жавонли (шкафли) ва тебранувчан қуритгичлардан фойдаланиш мумкин. Ишлаб чиқаришда, юқорида қайд қилинганларига нисбатан кўпроқ тўғри йўналтирилган барабан типидеги қуритгичлар ишлатилади. Бунда ҳўл культура иссиқлик берувчи қурилма билан биргаликда 80-85оС да қуритгичга тушади. Бундай юқори ҳароратда қуритилувчи ҳўл микроорганизмларнинг майда бўлақларидаги намни буғланиши ҳисобига қаттиқ қизиб кетиш ҳолати кузатилмайди ва ундаги ферментларнинг фаоллиги деярли тўлиқ сақланади.

Фермент саноатиде 8СМ типидеги сепараторлар ҳам кенг қўлланилади. Улар ичига барабан ўрнатилган идиш кўринишида бўлади. Барабанларнинг ичиде цилиндрик тўсиқлар ўрнатилган бўлиб, юқори тезликдаги марказдан қочма куч ҳисобига унинг тагиде чўкма ҳолиде биомасса ва бошқа компонентлар чўқади. Сепараторнинг самарадорлиги юқори бўлиб, 2000- 5000 л/с гача етади. Кўпроқ АСЭ-3, АСИ, АСЭ-Б типидеги сепараторлар ҳамда

“Альфа-Лаваль” (Швеция) фирмасининг соплоти сепараторларидан фойдаланилади

Биомассани филтрлаш самараси ишлатилаётган ускуна типига, озуқа муҳит таркибига, ажратилаётган бўлакчаларни катта-кичиклигига, эримаган фракциялар миқдорига, филтрловчи материалнинг физик-кимёвий хусусиятларига, ҳарорат режимига ва бошқа омилларга узвий боғлиқдир. Филтрлаш жараёнини яхшилаш мақсадида культурал муҳит кимёвий қайта ишланади, яъни ишқорийлиги рН 8-8,5 га келтириб 0,1%ли CaCl_2 эритмаси ва ҳар хил кизелгурлар (диатомит, радиолит, микрозил, кларгель ва х.к.) қўшилади. Бу тўлдирувчилар, филтрлаш самарасини оширади, лекин баъзи фермент фаоллигига салбий таъсир қилади. Олинган биомасса (биошрот) стерилизация қилинади ва қуритилиб чорва молларига ем сифатида ишлатилади. Культурал суюқлик филтрлати эса тоза фермент препарати олиш учун қайта ишлашга юборилади

Фермент эритмаларини мембраналар ёрдамида қуюқлаштириш ва тозалаш. Мембранали тозалаш усулига диализ ва электродиализ, баромембранали усулга эса қайтариловчи осмос, ультрафилтрация, микрофилтрация ва нозик филтрация кабилар киради. Эритмадаги моддаларни диализ усулида ажратиш – мембранани модда массасига қараб танлаб ўтказувчанлик хусусиятига асосланган. Бу жараён учун яримўтказгич мембрананинг ҳар икки томонида эритмалар 281 концентрациясини фарқи вужудга келиши керак. Диализ жараёнини ушбу тенглик билан ифодалаш мумин:

$$Q = DdS\Delta C$$

Бунда, Q – маълум вақт ичида мембранадан ўтган модда миқдори, Dd – диализ коэффиценти, S – мембрана сиртининг юзаси, ΔC – мембрананинг ҳар икки томонидаги моддалар концентрациясининг фарқи. Диализ усулидан, фермент препаратларини кичик молекулали моддалардан тозалаш мақсадида фойдаланилади. Масалан, фермент эритмаларини шакар, аминокислоталар, минерал тузлар ва бошқалардан 60- 100% гача бўлган миқдорда тозалашга эришиш мумкин. Айниқса, ферментлар юқори концентрацияли тузлар билан чўктирилганда диализдан ва электродиализдан унумли фойдаланиш керак.

Лекин тўртламчи структурага эга бўлган ферментларни ва металлоферментларни ажратишда электродиализдан фойдаланиш мумкин эмас, яъни фермент ушбу жараёнда ўз фаоллигини йўқотади.

Баромембрана усули ишлатиладиган мембраналар тирқишларининг катта-кичиклигига қараб синфланади. Масалан, қайтариловчан осмос ($\approx 3 \times 10^{-4}$ мкм); гелфилтрация ($15 \times 10,5$ мкм); микрофилтрация (0,2 мкм) ва нозик филтрация (10 мкм) дир. Қуюқлаштириш ва тозалашнинг қайтариловчан осмос ва ультрафилтрация усуллари кимё, нефтни қайта ишлаш, озиқ-овқат, фармацевтика ва фермент саноатларида жуда кенг тарқалган. Энг асосийси, 282 жараёни жуда ҳам кам ҳаражатлар ва энергия эвазига олиб борилишидир. Ультрафилтрация жараёнида ферментларни ҳарорат таъсиридаги инактивацияси умуман бартараф қилинган бўлиб, бир вақтнинг ўзида эритма бир қанча балласт бирикмалардан, хона ҳароратида тозаланади. Ушбу жараён

юқори босим остида ўтганлиги учун самарадорлиги ҳам юқоридир. Бу усулнинг ҳам асосий элементи бўлиб мембраналар ҳисобланади. Ҳозирги кунда целлофандан, каучукдан, полиэтилендан, полистеролдан, целлюлозадан ва б. бир неча хил материаллардан тайёрланган мембраналар ишлатилмоқда.

Чўктириш усуллари ва унинг назарияси. Саноат учун зарур бўлган кўпчилик ферментлар сувда эрувчан оксиллардир. Фермент эритмалари уларни олиниш манбаларига қараб, микроорганизмлар лизатлари, экстрактлари, культурал суюқлик филтратлари, ўсимлик ёки ҳайвон тўқималарининг гомогенатлари бўлиши мумкин. Фермент эритмаларининг, таркиби жуда мураккаб системадир. Унда ферментлардан ташқари коллоид табиатга эга бўлган ҳар хил бирикма ва моддалар ҳам учрайди. Бундай мураккаб системалардан ферментларни ажратиш олиш мушкул вазифадир

Нейтрал тузлар ёрдамида чўктириш. Бу жараён асосан оксил молекуласининг гидрофоблиги даражасига боғлиқ. Типик оксил молекуласи, сиртида бир қатор аминокислоталар (тирозин, триптофан, лейцин, изолейцин, метионин, валин ва фенилаланин) занжири шаклида ёпишган гидрофоб қисмларга эга. Оксил молекуласининг гидрофоб қисми сув билан тўқнашганда сув молекулалари билан ориентирланган қават ҳосил бўлади ва шу жойлар “музлатилган” ҳолатда бўлади. Бундай тартибли структуралар термодинамик жиҳатдан чидамли эмасдир. Агар сув молекулаларини оксил табиатига ўхшамаган моддалар билан иммобилизация қилинса, оксил молекулалари ўзаро таъсирлашиб агрегатлар ҳосил қила бошлайди. Маълумки, тузларнинг ионлари гидратланади. Агар оксил эритмасига маълум миқдорда сув қўшилса, у сув билан боғланади ва сув билан боғланмаган оксил молекулалари эса, агрегат ҳосил қиладилар. Туз ионлари қанча кўп бўлса, оксилларнинг агрегатланиши ҳам шунча кучаяди ва чўкмага тушиши ортади

Оксилларни тузли эритмаларда эрувчанлиги Коннинг эмпирик тенгламасига бўйсунди: 1

$$gS = \lg S_0 - k_s \mu$$

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

k_s – тузлаш константаси, μ – эритманинг ион кучи

органик эритувчилар ёрдамида чўктириш. Ферментларни сувда эрувчан органик эритувчилар билан чўктириш усуллари саноат миқёсида кенг қўламда қўлланилади. Оксилларни чўктириш самараси органик эритувчилар таъсирида сувнинг фаоллигини камайиши билан узвий боғлиқдир. Эритувчининг концентрацияси ортиши билан ферментнинг зарядланган гидрофил молекулаларини сув таъсирида солватланиш қобилияти пасаяди. Оксилнинг гидрофоб қисмидаги сув молекулалари органик эритувчи томонига ўта бошлайди ва натижада ферментнинг эрувчанлиги пасаяди. Оқибатда оксил молекулалари агрегатланади ва чўкмага тушади.

ҲУЖАЙРА ТАШҚИ ВА ИЧКИ ФЕРМЕНТЛАР

Ҳужайрадан ташқарида учрайдиган ферментларни ажратиш олиш осонроқ ва иқтисодий арзонроқ бўлганлиги учун ҳам уларга бўлган эътибор катта. Саноатда ишлатиладиган продуцентларни фермент секреция қилиш механизмлари, яъни ҳужайрадан ташқарига чиқадиган ферментлар, ҳужайра

ичида қолиб фаолият кўрсатадиган ферментларга қараганда, мураккаброк индукция (биосинтезни кучайиши). Ҳужайрадан ташқарида фаолият кўрсатадиган фермент (протеаза, амилаза, целлюлаза, ксиланаза, липаза, нуклеаза) субстратлари юқори молекуляр оғирликка эга бўлиб, ҳужайра ичига кира олмайди. Шунинг учун ҳам ҳужайра бундай субстратларни озуқа муҳитида топиб олиши ва уларга тегишли ферментлар синтез қилиши керак.

Фермент секрециясининг яна бир ўзига хос бўлган хусусияти, уларни ҳужайра мембраналари орқали ўтишидир. Ферментларни секрециясини ҳар хил таксономик гуруҳлар ҳамда оксилларни ҳар бири учун ҳар хил бўлган (бир-бирларидан фарқ қиладиган), доимий конститутив (унчалик кўп бўлмаган) тезлиги бор. Суюқ озика муҳитида ўстирилган микроорганизмлар биомассасида ферментлар ҳужайра ички (эндоген) ёки ҳужайра ташқарисига маҳсулотлар синтезлайди. Продуцентлар, ўзларини секретор тизимлари орқали культурал суюқликка катта молекуляр массага эга бўлган оксилларни жумладан ферментларни ажратиб туради. Бу хусусият кўплаб эукариот ва прокариот организмларда генетик белгиланган (детерминация қилинган). Ҳужайрадан ташқаридаги оксилларни техник препаратлар сифатида ажратиш, уларни тозалаш, иммобилизация қилиш, капсулаларга жойлаштириш ва бошқа жараёнлар ҳужайра ичида жойлашган ферментларга қараганда анча арзон. Кўпроқ ҳужайра ташқарисида фаолият кўрсатадиган ферментлар полимер субстратларга таъсир этиб, уларни қисман ёки тўла парчалаб, қўшимча углерод манбаи тўплаб берадиган ферментлар ҳисобланади. Бундай ферментлар фаолият кўрсатишлари учун кофакторларга муҳтожлик сезмайди.

Фермент секрециясининг яна бир ўзига хос бўлган хусусияти, уларни ҳужайра мембраналари орқали ўтишидир. Ферментларни секрециясини ҳар хил таксономик гуруҳлар ҳамда оксилларни ҳар бири учун ҳар хил бўлган (бир-бирларидан фарқ қиладиган), доимий конститутив (унчалик кўп бўлмаган) тезлиги бор. Суюқ озика муҳитида ўстирилган микроорганизмлар биомассасида ферментлар ҳужайра ички (эндоген) ёки ҳужайра ташқарисига маҳсулотлар синтезлайди. Продуцентлар, ўзларини секретор тизимлари орқали культурал суюқликка катта молекуляр массага эга бўлган оксилларни жумладан ферментларни ажратиб туради. Бу хусусият кўплаб эукариот ва прокариот организмларда генетик белгиланган (детерминация қилинган). Ҳужайрадан ташқаридаги оксилларни техник препаратлар сифатида ажратиш, уларни тозалаш, иммобилизация қилиш, капсулаларга жойлаштириш ва бошқа жараёнлар ҳужайра ичида жойлашган ферментларга қараганда анча арзон. Кўпроқ ҳужайра ташқарисида фаолият кўрсатадиган ферментлар полимер субстратларга таъсир этиб, уларни қисман ёки тўла парчалаб, қўшимча углерод манбаи тўплаб берадиган ферментлар ҳисобланади. Бундай ферментлар фаолият кўрсатишлари учун кофакторларга муҳтожлик сезмайди.

Ҳужайра ичидаги ферментларни экстракция қилиб, ажратиб олиш биров мураккаброк бўлишига қарамасдан, ажратиб олинадиган ва ишлатилади. Шундай ферментлардан тиббиётда ва озиқ-овқат саноатида глюкозани

аниқлаш учун кенг ишлатиладиган глюкозооксидаза, эндонуклеазалар, протеазалар, полимеразалар ҳамда ҳар хил шишларни даволашда ишлатиладиган аспарагиназа, антибиотикларни трансформациясида иштирок этувчи-пенициллинацилаза ферменти ва бошқалардир.

ФЕРМЕНТ ПРЕПАРАТЛАРИНИ АЖРАТИБ ОЛИШ

Ҳужайра ичидаги ва ҳужайра ташқарисига чиқадаган ферментларни ажратиб олиш ва уларни тозалашни дастлабки босқичида жуда ҳам катта фарқ бор. Биомассани культурал суюқликдаги метаболитлардан, ҳужайра ташқарисига чиққан ферментлардан ажратиш жараёни центрифуга, сепаратор, оддий филтрлаш (замбуруғлар учун) орқали амалга оширилади.

Оқибатда кимёвий таркиби бўйича хилма-хил метаболитлар сақловчи культурал суюқликни филтрлати биомассадан ажратиб олинади. Филтрат ажратиладиган ферментни 80%га яқинроқ бўлган фаоллигини сақлайди ва кейинги технологик манипуляцияларга тайёр эритма ҳисобланади.

Ҳужайра ичидаги ферментларни ажратиб олиш учун биомасса, унда сорбция бўлиб қолган компонентлардан тозалаш учун дистилланган сув ёки жуда ҳам суюлтирилган буфер билан бир неча маротаба ювиб ташланади. Ҳужайра структурасини бузиб, ичидаги ферментларни ажратиб олиш учун ҳар хил усуллардан фойдаланилади: механик (шарикчалар ёрдамида бузиш; кварц қумлари билан артиш), физик (ультратовуш, гидравлик қимирлатиш, музлатиб-эритиш) ва бошқалар. Бузилган биомассадан ферментни рН кўрсаткичи ферментга тўғри келадаган суюлтирилган буфер ёрдамида амалга оширилади. Ҳужайрани бузилган қисмлари центрифуга ёрдамида ажратилади. Нуклеин кислоталар ферментлар ёрдамида парчаланади ёки юқори молекулали катионлар ёрдамида чўктирилади.

Культурал суюқликни филтрлати (ҳужайрадан ташқаридаги ферментлар ажратиш учун) ва ҳужайра ичидаги ферментлар экстракти бир-биридан нима билан фарқ қилади? Ҳужайра ташқарисига филтрат одатда 15-20 та ҳар хил оксиллар сақлайди, ҳужайра экстрактида эса оксил спектри анча кўпроқ бўлади.

Кўпинча, тиниқ ҳолатдаги фермент эритмаси вакуумда парлатиш орқали ёки ультрафилтрация йўли билан қуюлтириб олинади. Бу усуллар фермент эритмасини 5-15 маротаба қуюлтириб олиш имконини яратади.

ИЗОФЕРМЕНТЛАР

Бир ҳужайрада жойлашган ҳар хил генларни маҳсули бўлган ва бир хил реакцияни катализ қилувчи ферментларга изоферментлар деб аталади.

Изофермент атамасига баҳо берганда хато қилмаслик лозим. Чунки, ферментларни ажратиш ва тозалаш жараёнларида улардан кўпчилиги қисман денатурацияга (протеолиз, водород боғларини узилиши, кофакторларни ажралиб кетиши ва ҳ.к.) учрайди. Бундай ҳодисалар органик эритувчилар таъсиридан, рН кўрсаткичини меъёридан у ёки бошқа томонга силжишидан,

реакцион муҳит ҳароратини ўзгаришидан ва бошқа таъсирлар оқибатида содир бўлади. Оқибатда оксил молекуласидаги умумий заряд миқдорида ўзгариш пайдо бўлади. Шундай пайтларда худди сифат жиҳатидан бутунлай янги оксил изофермент бор эканига ўхшаб қолади. Амалиётда эса қисман денатурацияга учраган ферментни ўзи бўлиб чиқади.

Шунинг учун ҳам изоферментларни бор эканлигини аниқлаш учун додецилсульфат натрий сақлаган муҳитда электрофорез қилиб текширилади. Бундай шароитда оксилни фазовий структураси бузилади, полипептид узун ҳолатга ўтади ва оксилларни бўлиниши молекуланинг ҳақиқий заряди ҳисобидан амалга ошади.

Изоферментларни бўлиши деярли барча ферментлар мисолида маъқулланган. Аммо изоферментлар эволюцион жараёнлар натижасида пайдо бўлганми ёки улар мутацияни оқибатими, аниқ айтиш қийин. Нима бўлганда ҳам изоферментларни ҳилма-хиллиги, модификацияга учраган ферментларни ҳар хил организмлар учун одатдаги хос эканлигидан гувоҳлик беради.

Биотехнология мақсадлари учун изоферментларни борлиги, уларни фаолликларини ва критик шароитларга мўътадиллиги ҳар хил бўлганлиги билан қизиқарлидир.

МУЛЬТИФЕРМЕНТЛИ ОКСИЛЛАР.

Бир молекуласи икки ёки ундан кўпроқ ферментатив фаолликка эга бўлган, алоҳида ёки бир-бирлари билан кимёвий боғланган оксилларни **мультифермент оксиллар** деб аталади. Охирги вақтларда мультифермент комплексларни **мультифермент полипептидлар** деб аталадиган бўлди. Мисол тариқасида *E.coli* бактериясидан ажратилган, молекуляр оғирлиги 86 кДа тенг бўлган, аспартаткиназа ва гомосериндегидрогеназа фаолликларига эга бўлган полипептидни кўрсатиш мумкин.

Диққатга сазовор бўладиган ферментлардан яна бири–ёғ кислоталарини синтезида фаол иштирок этувчи полипептид–ёғ кислоталар синтаза ферментидир. Бу фермент ацетил-КоА ни карбоксиллаш реакциясидан ташқари ёғ кислоталарини биосинтези жараёнинг бирин-кетин келадиган барча босқичида иштирок этади. Биотехнология нуктаи назаридан шунингдек, ароматик аминокислоталар–L-триптофан, тирозин ва фенилаланин биосинтезининг бирин-кетин келадиган бир неча реакцияларини катализ қилувчи мультифермент полипептид (1- ва 2-комплекслар) ҳам катта аҳамият касб этади. Мультифермент полипептидларни қизиқарли томони шундан иборатки, улар ўта мураккаб ўтадиган ўзгаришларни енгиллаштиради, ҳамда барча жараёнларни бошқариш учун имконият яратиб беради.

Қуюлтирилган фермент эритмалари асбест ёки целлюлоза филтрларидан ўтказилиб, тозалаб олинади. Коммерция учун тайёрланган фермент концентратларига стабилизаторлар (ош тузи, бензоатлар, сорбинатлар, баъзида металл ионлари) солинади. Агар зарур бўлса суюлтирилади.

Қурук ҳолатдаги фермент препаратлари олиш учун органик эритувчилар (этил спирти, изопропил спирти, ацетон) ёрдамида (1ҳажм фермент концентратига 2-4 ҳажм органик эритувчи ҳисобидан) ёки ноорганик тузлар, (аммоний сульфат ёки сульфат натрий) ёрдамида чўктирилади, чўкма центрифуга ёрдамида ажратилиб, вакуумда қуритилади. Қуритилган препаратлар ҳавончада майдаланиб, унга қўшимча моддалар (крахмал, декстринлар, ксилоза, ош тузи ёки бошқа инерт қўшимчалар) қўшиб стандартланади. Кўпинча фермент препаратлари (суюқликда қурук модда миқдори 15% дан кўпроқ бўлса) пуркаб қуритилади.

Юқори тозалikka эга бўлган фермент препаратлари олиш учун хилма-хил хроматографик усуллардан: ион алмашинув, юқори самарали суюқликда хроматография (ВЭЖХ) ва гель фильтрация усулларида фойдаланилади. Ҳар бир ферментни физик-кимёвий ва энзимологик хусусиятларидан келиб чиққан ҳолда, тозалаш усуллари танлаб олинади ва унда танланган усулни самарадорлиги, арзонлиги, тез вақтда амалга ошириш мумкинлигига эътибор берилади. Ўсимликлардан, ҳайвонлардан ва айрим микроорганизмлардан ажратилиб, озика таркибига кирувчи ферментлар зарарсиз деб топилган. Бошқа ферментлар учун эса (асосан микроорганизмлар ферментлари) заҳарлилиги аниқланиши шарт. Бунга сабаб, фермент препаратлари таркибида аллергия реакция берувчи оксил моддалар, михотоксинлар ва бошқа заҳарли оксиллар учраши мумкин.

Биологик манбалардан ферментларни препаратлар сифатида ажратиб олиш ҳар хил мақсадлар учун олиб борилади:

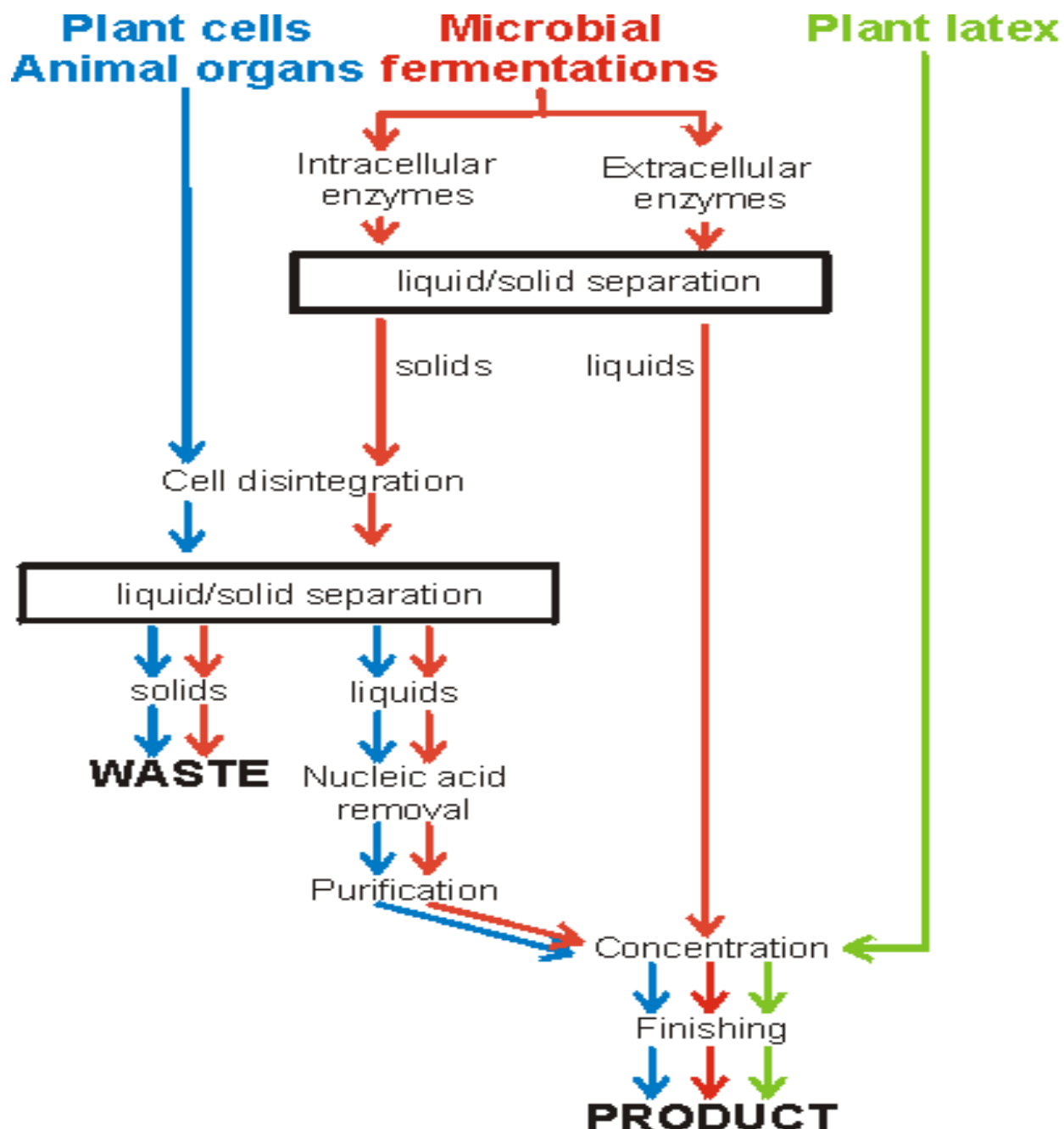
- ферментларни физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш, уларни таъсир этиш шароитларини аниқлаш, ҳар хил критик шароитларга нисбатан муътадиллигини белгилаш, кинетик хусусиятлари ва тузилишини аниқлаш мақсадида;
- саноат, тиббиёт ва илмий изланишлар учун керак бўлган ферментларни ишлаб чиқариш мақсадида;
- ферментларни иммобилизация қилиш мақсадида.

Баъзи-бир ферментлар ҳужайра органеллалари ёки мембраналар билан боғланган ҳолатда бўлади, шу сабабли ҳам уларни ажратиш бироз қийинроқ ўтади. Бундай ҳолатларда боғланган ферментларни ажратиш жараёнини енгиллаштирувчи моддалар махсус детергентлардан фойдаланилади.

Ферментларни ажратиб олиш жараёнида инактивацияга учрашининг асосий сабабларидан бири, уларни протеолизм ҳисобланади. Барча организмлар ҳужайралари ҳар хил спецификликка эга бўлган протеометрик ферментлар сақлайдилар. Ажратишни методологиясини бузилиши протеолитик ферментлар таъсирида пептид боғларини бузилишига, оқибатда эса ажратиб олинмоқчи бўлган ферментни инактивациясига олиб келади. Шунинг ҳам эса сақлаш зарурки, фермент фаоллигини йўқолиши учун биргина фермент боғини парчаланиши кифоя. Ҳар қандай оксил ҳужайрадан ажратилиш жараёнида маълум миқдорда ўзини табиий ҳолатини ўзгартиради. Шунинг учун ҳам ферментни ажратиш жуда ҳам мураккаб жараён ҳисобланади.

Ферментларни хоссаларидан келиб чиққан ҳолда уларни ажратишни ҳар хил технологик ишловлари маълум. Масалан, оксилларни органик эритувчиларда эрувчанлигини хилма-хиллиги, уларни этанол, ацетон, изопропанол, аммоний сульфат тузи эритмаларининг ҳар хил концентрациясида чўкишини белгиласа, оксилларни молекуляр оғирлигидаги фарқ, ультрафилтрация, гелфилтрация усулларидадан фойдаланишни, молекулалардаги зарядларни хилма-хиллиги, ион-алмашинув хроматографияси ва препаратив электрофорез усулларидадан фойдаланишни тақозо қилади. Ферментлар ҳар хил биологик манбалардан ажратилиши мумкин: ҳайвон органлари (безлар, жигар, ичак, ва ҳ. к.), ўсимлик органлари (уруғи, майсаси ва ҳ.к.) ва микроорганизмлардан.

Ҳайвон органлари енгил гомогенизация бўлади, шунинг учун ҳам улардан ферментларни ажратиш олиш учун изотоник эритмалардан кўпроқ фойдаланилади. Изотоник эритмалар ҳайвон ҳужайрасидаги органеллаларни парчаланиб кетишдан сақлайди. Ферментларни ўсимлик органларида, замбуруғ ва бактериялардан ажратиш биров мураккаброқ шароитда олиб борилади. Бунга сабаб уларни ҳужайра деворларини мураккаблиги ва қаттиқлигидир. Бундай организмлардан олинган нусха алюминий оксиди ёки кум, баъзан шиша синиқлари билан аралаштириб эзилади, нусхаларни эзишдан олдин музлатиш ва кейин эритиш яхши натижалар бериши кузатилган. Бир қисм ҳужайралар пресслаш орқали ҳам бузилади. Баъзида ўсимлик ва микроб ҳужайралари гидролитик ферментлар, масалан, лизоцим билан ишлов берилганда девори бузилади.



Турли манбалардан ферментларни ажратиб олиш босқичлари.

XIV-БОБ. ТУПРОҚ УНУМДОРЛИГИНИ ОШИРИШДА БИОТЕХНОЛОГИЯ

Қишлоқ хўжалик экинларидан унумли ҳосил кўтариш жараёнини ва тупроқда микроббиокимёвий жараёнларни бошқариш қишлоқ хўжалик фанида янги йўналиш - тупроқ микроббиотехнологиясини пайдо бўлишига олиб келди. Бу йўналиш тупроқ шароитида микроорганизмлар таркибини ўрганиш ва бошқариш муаммоларига асосланган бўлиб, микроорганизмлар

фаолятини бошқариш ва улар томонидан олиб борилаётган метаболитик реакцияларни, қишлоқ хўжалик экинлари ҳосилдорлигини оширишга йуналтиришни тақозо этади.

Тупроқ микроббиотехнологияси фанининг асосий муаммоси тупроқда, айниқса ўсимликлар ризосфераси ва ризопланида ўтадиган микробиологик жараёнларни бошқаришдир (5.1-расм). Бу муаммо, фақатгина маълум бир белгиланган шароитда, маълум таркибга эга бўлган микроблар ассоциациясини ташкил қилиш билан белгиланади.

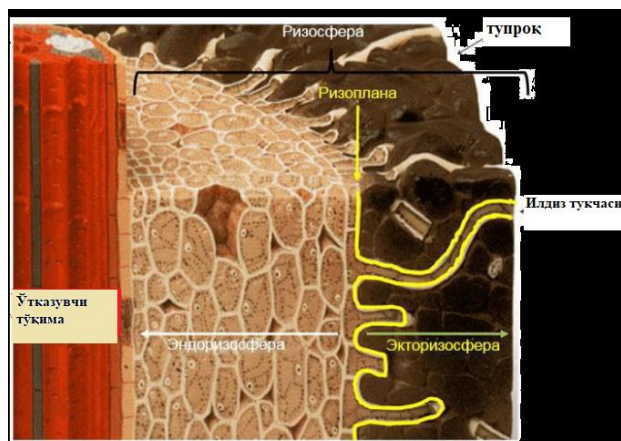
Қишлоқ хўжалиги амалиётида ризобактериялар асосидаги микроб препаратларидан фойдаланишнинг аҳамияти

Замонавий зироатчилик тизимида ўсимлик-ларнинг ҳосилдорлиги ва ишлаб чиқариш маҳсулдорлигини ошириш *PGP* plant growth-promoting rhizobacteria ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини тезлаштирувчи ризобактериялардан иборат микроорганизмларидан фойдаланиш йўли билан уларнинг ўсиши ва ривожланишини жадаллаштириш, касалликлардан ҳимоя қилишда айтилган микроорганизмларни тижорат мақсадида ишлаб чиқариш ва улардан амалиётда фойдаланишга катта эътибор берилмоқда.

Бундай препаратларни ишлаб чиқаришда бир қатор омилларни инобатга олиш даркор (Berg, 2009). Уларга препарат қўлланиладиган нишондаги ўсимликни ўсиши ва ривожланишини таъминлайдиган *PGP* микроорганизмни танлаб олишдан бошлаб, тупроқ типи, маҳаллий микроб ҳамжамоалари, атроф муҳит шароити, экин зичлиги, ташувчиларнинг яроқлилиги, тупроққа ишлов бериш, экинни етиштириш тизимининг интеграллашган бошқарилишига мувофиқлиги ва шу кабилар катта аҳамият касб этади.

Ризосфера атамасининг фанга киритилиши Хилтнер номи билан боғлиқ, бу атама юнонча *rhizosphere* сўзидан олинган бўлиб, *rhizo-* илдиз *sphere*-таъсир этиш ҳудуди (қобиғи) маъноларини англатиб, у микроорганизм - ўсимлик – тупроқ орасидаги юқори даражада фаол қисм ҳисобланади.

Ҳозирги вақтда бу тушунча қайтадан кўриб чиқилиб, тупроққа физик ва биологик таъсир этадиган илдиз ҳамда унда колонияланиб яшайдиган микроорганизмлар йиғиндиси сифатида қаралмоқда. Ризосфера эгаллаган маконни аниқлаш қийин бўлса-да, илдиз ва тупроқ орасидаги 0-2 мм гача бўлган сатҳ тушунилади ва эндоризосфера (эндодерма ва илдизнинг пўстлоқ қисми), ризоплан (илдиз юзаси ва унга кучли ёпишган қисмлар) ва экторизосфера (илдиз билан бевосита боғланган энг ташқи қисмлар) га бўлинади.



5.1-ризосферанинг схематик кўриниши (McNear Jr. D.H. The rhizosphere – roots, soil and everything in between // Nat. Educ. Knowl. – 2013. – V. 4, No 3. – P. 1)

Микроб-ўсимлик муносабатлари тупроқда уруғ шаклланиши жараёнларидаёқ ҳосил бўлиб, уруғ пўсти ва кўпинча унинг ички тузилмалари ҳам микроорганизмларнинг тирик ёки тиним давридаги хужайраларини сақлайди. Микроорганизмларнинг ризосферадаги миқдори ва таксономик тегишлилиги атроф муҳитнинг кўплаб физик-кимёвий ва биологик омиллари билан, шунингдек, уруғларнинг ўзини хусусиятлари билан ҳам боғлиқ бўлади. Ўсимликлар ризосферасида қуйидаги систематик гуруҳларга мансуб микроорганизмлар *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Alkaligenes*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Derxia*, *Herbaspirillum*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ва бошқа тур вакиллари учраб туради.

Ризосфера ўсимлик илдизи билан жуда яқин бўлган ҳудудни ўз ичига олганлиги учун, озуқа элементларига бой бўлган қисм бўлиб, бу ерда микроорганизмларнинг фаоллиги энг юқори бўлади.

Фотосинтез натижасида ҳосил бўлган углерод бирикмаларининг 30% дан 60% гача миқдори илдизгача етиб келса, уларнинг қарийб 49% и илдиз экссудатлари сифатида ажралиб чиқиши ёки илдизнинг нафас олиш жараёни учун сарфланиши ҳисобига йўқотилиши мумкин. Илдиз экссудатлари озуқа моддаларига бой бўлиб, уларнинг таркибига юқори ва паст молекуляр бирикмалар бўлган полисахаридлар, оксиллар, шилимшиқ моддалар, аминокислоталар, органик кислоталар, углеводлар, витаминлар, мой кислоталари ва стероидлар, нуклеотидлар, ферментлар ва бошқа компонентлар, шунингдек, CO_2 , молекуляр водород, протонлар, гидрооксидлар ва бошқалар киради.

Илдиз экссудатларининг илдиз узунлиги бўйлаб ажралиб чиқиши бир хилда кечмайди: уларнинг максимал миқдорини илдизнинг энг ёш қисмларида, яъни илдизнинг учки-апексида ҳамда бирламчи ва иккиламчи илдиз жойлашган қисмларида учратиш мумкин.

Илдиз ризосферасини колониялашда иштирок этадиган бактериялар популяциялари орасида турли хил типдаги муносабатлар, яъни ассоциатив, мутуалистик, симбиотик ёки хўжайин организм учун зарарли, патоген муносабатлар бўлиши мумкин. Илдиздаги бактерияларнинг муваффақиятли фаолиятига жавобгар генлар ва оксилларнинг ўзига хослиги бир қатор *Pseudomonas* бактериялари мисолида яхши ўрганилган. Улар биотик юзага бирикиш ва биофильм ҳосил қилишда иштирок этадиган, флагеллинларга кирувчи хемотаксисда ДНК репарациясида, транспорт ва секрецияда моддалар алмашинуви жараёнларида ҳамда специфик оксиллар синтезида иштирок этувчи оксилларни ва бошқаларни ўз ичига олади. Matilla ва унинг ҳамкасблари нинг қайд этишларича, энг кучли табиий танланиш илдизга яқин бўлган жойда кечади. Бунинг сабаби қуйидагилар: 1) ризосферадан топилган аминокислоталар ва бошқа ароматик бирикмалар каби турли хил

озуқа моддалар ва муайян бирикмалар билан озикланишга бўлган эҳтиёж; 2) турли хил стрессларни бартараф қилиш зарурияти (масалан, кучли оксидланиш, шўрланиш ва ҳ.к) билан изоҳланади.

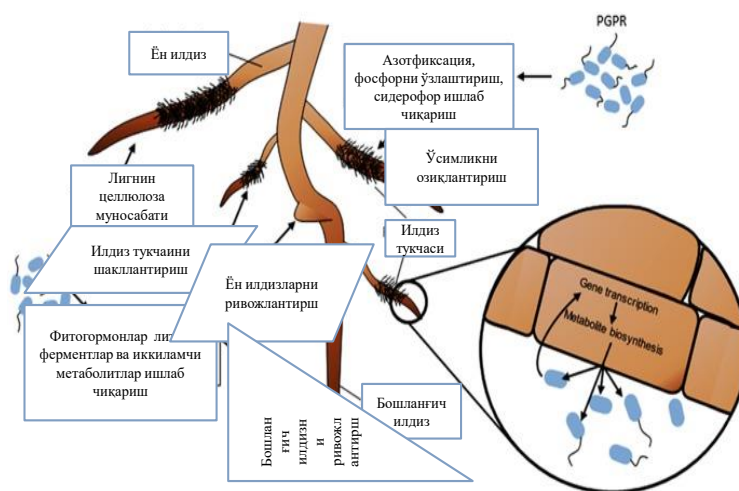
Илмий адабиётларда ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини стимулловчи ризосфера бактерияларини умумий ном билан PGPR (plant growth –promoting rhizobacteria), яъни инглиз тилидан plant –ўсимлик, growth-ўсиш, promoting –стимуллаш, rhizobacteria –ризосфера бактериялари, яъни ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини жадаллаштирувчи илдиз атрофи бактериялари деб аталади. Ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини жадаллаштирувчи ризобактериялар (PGPR) учун умумий хусусиятлар қуйидагилар: 1) уруғларга инокуляция қилингандан кейин яшаб қолиш хусусияти; 2) илдиз экссудатларига жавоб реакцияси сифатида спермосфера (уруғ сиртидаги қисм) да кўпайиш; 3) илдизнинг юзаси бўйлаб мустаҳкам ўрнашиб олиш ва ўсишда давом этаётган илдиз тизимига колониалланиши ҳисобланади.

PGPR кенг кўламдаги қишлоқ хўжалик экинлари ризосферасини колониаллайди ва ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини стимуллашда, фитопатогенлар сонини камайтиришда ҳамда стресс омилларга чидамлилиқни оширишда бевосита ёки билвосита механизмлар билан иштирок этади (бионазорат).

Ўсимликларни стимуллаш (ўсиш ва ривожланишини тезлаштириш) хусусиятининг бевосита (тўғридан-тўғри) механизмлари тупроқдаги ўзлаштирилиши қийин бўлган озуқа моддаларини эрувчан шаклга келтириш, фитогормонлар синтези ўсимликлар тараққиётини кучайтирувчи учувчан бирикмалар ва витаминлар ҳамда аминокислоталарни синтезлаш кабиларни ўз ичига олади.

Ўсимликларнинг ўсишига билвосита таъсир механизми ҳам мавжуд бўлиб, бунда фитопатогенларнинг ўсишини тўхтатиш учун антифунгал моддалар, антибиотиклар, пестицидлар, оддий биоцидлар, ферментлар ишлаб чиқарилиши, биологик жиҳатдан ўзлаштирилиши қийин бирикмалар

учун рақобат (масалан темир учун) ёки индуцирланган чидамлилиқ тизимини ишга солиш ёрдамида ўсимликларни касалликлардан ҳимоя қилинади (*Induced systemic resistance-ISR*) (5.2-расм).



5.2-расм. Ризобактерияларнинг асосий фаолият механизмларининг схематик ифодаси (расм Frontiers in Plant Science / Functional Plant Ecology. – 2013. – Vol. 4. – Article 356 дан олинган).

Қишлоқ хўжалик экинларини ҳимоя қилишнинг биотехнологик усулларида бири юқорида номлари келтирилган PGPR асосида янги биопрепаратлар олиш технологияси ҳисобланиб, у нафақат инсон ва ҳайвонлар саломатлиги учун зарарсиз, экологик соф восита сифатида, балки тупроқ микробиотасини соғломлаштириш учун полифункционал самарага эга тизимни шакллантиришга хизмат қилади.

Ризобактериялар вакиллариининг ўсимлик патогенларига нисбатан антагонистик фаол ва стимулловчи восита сифатида қўлланилиб келинаётган турлари кўплаб топилади. Улар илдиз атрофини макон қилиб, ўша жойда интродукцияланиб, колониалланиш хусусиятига эга бўлиши билан бир қаторда, ушбу экологик маконда озуқа манбаи бўлган углерод ва энергия манбаи учун рақобатга киришади ҳамда турли хил метаболитлар ёки замбуруғларнинг хужайра деворини парчаловчи ферментлар ажратиб чиқариш қобилиятига эга бўлиб, ҳозирги кунда қишлоқ хўжалик амалиётида тобора муҳим аҳамият касб этиб бормоқда.

Симбиотик азотни ўзлаштирилишида биотехнологиянинг генетик асослари

Ўсимликлар ривожланишининг чекловчи асосий омиллардан бири уларнинг азотли бирикмалар билан етарли даражада таъминлаб турилмаслигидир. Фақат баъзи тупроқлар, масалан қора тупроқларда ҳаракатчан азот бирикмаларининг миқдори ўсимликлар эҳтиёжини тўлиқ қондириши мумкин. Бундай ҳолатда, яъни азот танқислиги шароитида ўсимликлар атмосфера ҳавосининг қарийб 80% ини ташкил этадиган молекуляр азот (N_2) қуршовида бўлади.

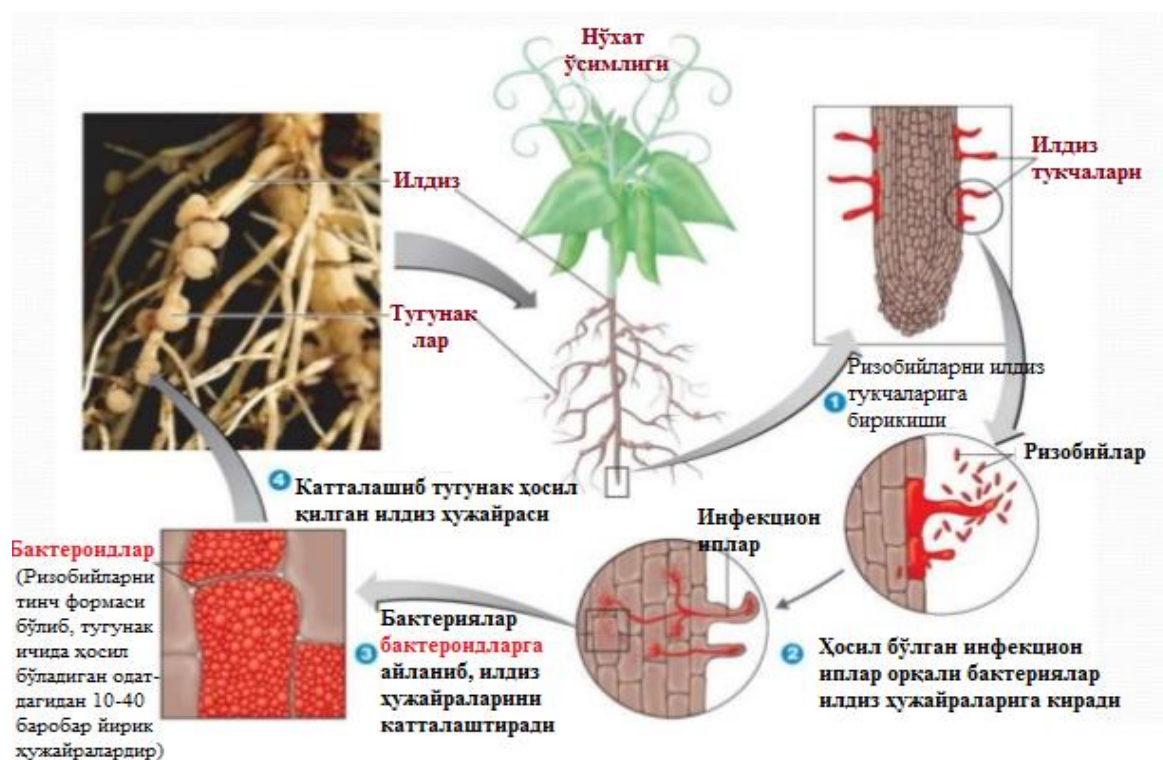
Биологик боғланган азотнинг аҳамияти, биринчидан, уни олиш иқтисодий жиҳатдан арзон, тежамли жараён эканлигига асосланади. Техник азотни ишлаб чиқариш юқори ҳарорат ($300\text{ }^{\circ}\text{C}$) ва юқори босим (350 атм)ни талаб қилса, атмосфера азотини ўзлаштирилиши оддий ҳарорат ва босимда амалга ошади. Азотни ўзлаштирувчи микроорганизмлар томонидан олинадиган азот, моҳияти жиҳатидан мутлақо «текин» ҳисобланади. Иккинчидан, микроорганизмлар томонидан ҳаводан ўзлаштирилиши ҳисобига ҳосил бўладиган биологик азотнинг аҳамияти ва унинг миқдори жуда катталигидадар.

Илмий адабиётлардаги маълумотларда бутун ер юзидаги қишлоқ хўжалиги экинлари тупроқдан бир йилда 100 млн тонна азотни ўзлаштирилиши; ундан минерал ўғитлар билан бирга 12 млн тоннасининг қайтарилиши, қолган етишмайдиган 88 млн тонна азотфиксатор микроорганизмлар ҳисобига компенсация қилиниши қайд этилади.

Кўплаб микроорганизмлар биологик азотни ўзлаштириш хусусиятига эгадирлар. Кейинги йилларда олиб борилган тадқиқотлар микроб-азотфиксаторлар гуруҳи тўғрисида маълумотларни бойитди. Улар тахмин қилингандан кўра кўпроқ бўлиб чиқди. Ҳозирда тугунак бактериялар ва азотобактердан ташқари анаэроб азот тўпловчи (*Clostridium pasterianum*),

шунингдек бир қатор микобактериялар, баъзи термофил бактериялар, кўпгина замбуруғлар, алвон ранг бактерияларнинг ҳам учраши исботланган.

Кўпгина тадқиқотчиларнинг эркин яшовчи азотфиксаторларнинг бир йилда 1 га ерга 10-15 кг атрофида азот тўплашига оид фикрлари ўхшаш бўлиб, дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактериялар фаолияти натижасида турли ўсимликларнинг илдиз ва ер усти қисмларида йилига ҳар гектарига 75-100 кг ва ундан ортиқ азот тўпланиши исботланган. Дуккакли ўсимликларнинг турли хил турлари фосфор ва калий билан тўлиқ таъминланганда йилига ҳар бир гектар ерга: себарга-150-160, бўри дуккаги-160, беда-300 кг гача азот тўплай олади (5.1 - расм).



5.3 - расм. Дуккакли ўсимликлар тугунаклари фаолиятининг умумий кўринишини ифодаловчи чизма.

Маълумки, азот ўсимликлар томонидан бевосита ўзлаштирилмайди. Унинг ўзлаштирилиши учун нитрогеназа ферменти зарур бўлиб, ўсимликларда бошқа эукариот организмлар сингари бу фермент учрамайди. Фақат баъзи прокариотлар – молекуляр азот - N_2 ни ўзлаштириш хусусиятига эга бўлиб, улар билан кўплаб ўсимликлар симбиоз муносабатига

киришадилар. Симбиотик азотфиксация тизимлари генетикаси тизимини ишлаб чиқилиши уларнинг йўналтирилган конструкцияларини тузиш ва қишлоқ хўжалигида кенг фойдаланиш имконини беради.

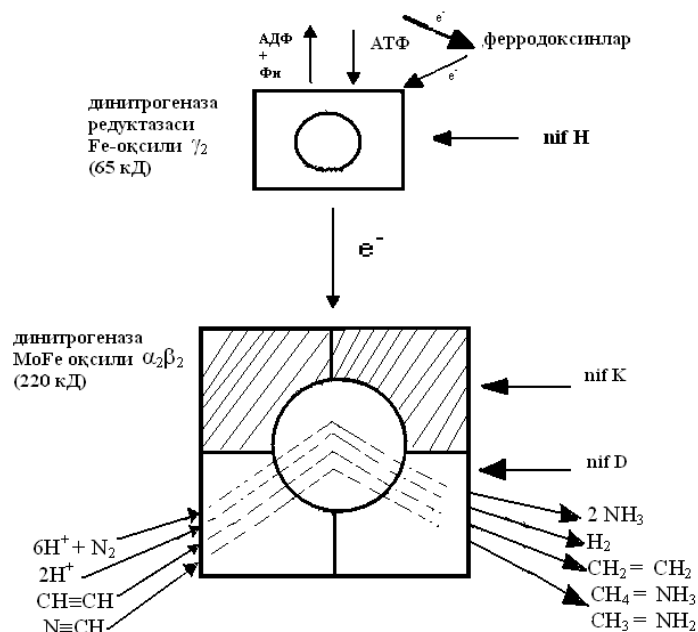
Азотни ўзлаштирувчи тизимларнинг хилма-хиллиги ва ўзига хослиги

Азотфиксаторлар микроорганизмларнинг алоҳида таксономик бирлигини ташкил этмайди. Улар прокариотларнинг деярли барча асосий гуруҳлари: грамманфий ва граммусбат эубактериялар, цианобактериялар, актиномицетлар ва архебактериялар орасида учрайди. Азотни ўзлаштирувчи микроорганизмларнинг кўпчилиги диазотрофлар бўлиб, молекуляр азот (N_2) ни азотнинг ягона манбаи сифатида ўзлаштира оладилар. Шу билан бирга баъзи азотфиксаторлар N_2 ни фақатгина ўсимликлар билан (*Rhizobium*, *Frankia*) симбиоз муносабатдагина ўзлаштирадилар.

Шунингдек, қатор микроорганизмлар (*Azorhizobium*, *Anabaena*, *Nostoc*) диазотрофия ва ўсимликлар билан симбиоз муносабатга киришиш хусусиятининг иккаласини ҳам ўзида мужассамлаштирган бўлади.

Нитрогеназа реакцияси. Молекуляр азотни қайтарилиши нитрогеназа ферменти билан катализланади (5.2 - расм). Мазкур фермент уч хил типдаги оксиллар (α , β , ва χ) ва иккита кофактор: молибден-темир-(MoFe) сақловчи омиллардан иборат. Нитрогеназа иккита суббирлик, таркибига- Mo-Fe-кофактор кирувчи катта-денитрогеназа (уни II компонент деб ҳам юритилади) ва Fe-кофактор сақловчи кичик-редуктаза (I компонент) дан ташкил топган. N_2 молекулаларининг қайтарилиши унинг MoFe-кофактори билан ўзаро таъсири натижасида, яъни денитрогеназада амалга ошади.

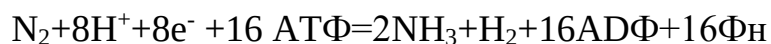
Редуктазанинг вазифаси электронларни денитрогеназага ўтказиш билан яқунланади. Темир ионлари геминли (динитрогеназалар редуктазаси) ёки геминсиз (денитрогеназа) шаклдаги иккала компонент таркибига киради.



5.4-расм- Нитрогеназининг тузилиши ва вазифалари

Ўзининг мураккаб тузилишига қарамасдан нитрогеназа паст даражадаги субстрат спецификлигига: у уч боғли бирикмаларнинг кенг спектрини қайтариш, шунингдек ацетиленни этиленга айлантириш хусусиятига эга. Бу реакция нитрогеназа фаоллиги билан аниқланадиган, ацетилен ва этиленнинг хроматографик ажаратилиши осонлигига асосланган “ацетиленли усул” билан таҳлил қилинади. Баъзи бир чекланишлар (ацетилен билан таъсирлашганда нитрогеназининг каталатик хусусиятлари ўзгариши; микроб-ўсимлик симбиоз муносабатларида – ацетиленнинг ўсимлик тўқималарини физиологик хусусиятига таъсири)га қарамасдан, ацетиленли усул генетик ва селекцион тадқиқотларда кенг қўлланилмоқда.

Нитрогеназа катализлайдиган умумий реакция тенгламасини қуйидагича ифода этиш мумкин:



Реакция тенгламасидан кўриниб турибдики, нитрогеназа реакциясининг энергия сарфи жуда юқори. Бундан ташқари нитрогеназалар синтези ва унга хизмат қиладиган ферментлар (нитрогеназа оксидини шаклланишини назорат қилувчи кофакторлар синтези, электронларни узатиш ва азотфиксация маҳсулотларини ассимиляция қилувчи ферментлар)

ҳосил бўлиши учун катта энергия сарфланиши талаб этилади. Аниқланишича, 1г азот ўзлаштирилиши учун 100-200г глюкоза сарф қилинар экан. Бундан аниқ хулосага келиш мумкинки, микроблар нитрогеназа комплексини боғланган азотнинг қатъиян танқис бўлган ва энергия билан етарли даражада таъминланган шароитидагина синтез қила оладилар.

Микроорганизмлар учун самарали энергия манбаи - оксидланувчи фосфорилланиш ва фотосинтез жараёнларидир. Бироқ азотфиксацияни бу жараёнлар билан боғлаш қийинлиги шундаки, нитрогеназа эркин кислородга нисбатан жуда сезгир бўлиб, у O_2 нинг жуда кам концентрацияларида ҳам инактивацияга учрайди. Бунинг учун турли хил механизмлар мавжуд, улар азотофиксатор - микробларда вужудга келувчи «кислородли парадокс», яъни нитрогеназани кислороддан ҳимоя қилишда энергия олишнинг юқори интесивлигини сақлаб қолган ҳолда, нитрогеназани эркин кислороддан ҳимоя қилади. Бу эркин яшовчи диазотрофларда нитрогеназани кодирлайдиган генларнинг фақат анаэроб ёки микроаэрофил шароитларда фаоллашуви ҳисобига (эркин яшовчи эубактериялар, архебактериялар), ёки азот тўпловчи хужайраларда кислородни жуда қийин ўтказадиган қалин қобиқ (цианобактерияларнинг гетероцисталари) ҳосил бўлиши ҳисобига амалга ошади. Ўсимлик ва азотфиксатор-микроблар билан симбиозда нитрогеназани кислороддан ҳимоя қилиш вазифасини, одатда хўжайин ўсимлик бажаради.

Нитрогеназанинг синтези ва етилиши кўпчилиги барча азотфиксаторлар учун умумий бўлган *nif* – генларнинг мураккаб тизими орқали кодирланади. Уларнинг ичида энг кўп ўрганилгани – *Klebsiella pneumoniae* энтеробактериялари ҳисобланиб, бу тизим битта кластерга жойлашган еттита транскрипция бирликларига бирлашган 25 та гендан иборат.

nifH, *nifD*, *nifK* генлари нитрогеназанинг γ , α ва β оқсиллари структурасини; *nifM*, *nifS*, *nifU*, *nifY* – мазкур оқсилларнинг процессингини

кодирлайдилар. Генларнинг махсус гуруҳи (*nifB*, *nifE*, *nifN*, *nifV*) Мо – Fe – кофактори синтезини назорат қилади. Нитрогеназа комплекси компонентлари структурасини кодирлайдиган генлардан ташқари *Klebsiella* нинг *nif* оперонини иккита регулятор ген тутди. *nifA*, *nifHDK* генлари ва бошқа *nif* генлар транскрипциясини фаоллаштирувчи оксилни кодирласа, *nifL* гени маҳсулоти *nif* – генларнинг кислород ёки боғланган азот иштирокидаги транскрипциясини репрессорлайди. Бироқ кўпчилик азотфиксаторларда *nifL* мавжуд бўлмайди, унинг вазифасини бошқа генлар бажаради.

Ўсимликларнинг азотфиксаторлар билан симбиози. Микроблар орасида азотни ўзлаштириш қобилиятини кенг тарқалишини таъминлайдиган асосий омиллардан бири - бундай хусусиятига эга бўлмаган ва натижада азотга муҳтож бўлган организмлар билан симбиоз муносабат ҳосил қилиши ҳисобланади. Азотфиксаторлар билан симбиоз яшашга энг муҳтож организмлар ўсимликлар ҳисобланади, улар азотли бирикмаларни бошқа бирикмалардан (ҳайвонлар каби) ёки органик қолдиқлардан (замбуруғлар каби) ўзлаштира олмайдилар.

Архебактериялардан ташқари деярли барча азотфиксаторлар ўсимликлар билан узвий муносабатга киришиш хусусиятига эгадир.

Ўсимликлар билан симбиоз муносабатга киришадиган азотни ўзлаштирувчи микроорганизмлар уч гуруҳга бўлинади: ҳужайра ички симбионтлари (*Rhizobium-Frankia*, *Nostoc-Gunnera* билан симбиозда); 2) ўсимлик ичида жойлашган, лекин ҳужайра ичига кириб бормайдиган микроблар (*Azolla* билан симбиозда-*Anabaena* ёки *Nostoc*; *Acetobakter* ва *Azoarcus* - эндофит бактериялари); 3) илдизда яшовчи ассоциатив диазотрофлар (*Azospirillum Flavobakterium*). Азот ўзлаштириладиган симбиоз муносабатларда шерикларнинг ўзаро таъсири умумий мақсадлар билан таърифланади: а) микробнинг азотфиксация маҳсулотларини ҳўжайин ҳужайраси (тўқимаси) га экспорт қилиши, натижада унинг боғланган азотга нисбатан қарамлиги сусайиши ҳисобига экологик потенциали сезиларли

даражада ортади; б) хўжайин микросимбионт учун экологик бўшлиқ яратиб беради (бунда у эркин яшовчи микроорганизмлар билан рақобатдан халос бўлади), шунингдек азот ўзлаштириш учун сарфланадиган энергияни микроорганизм ҳисобига қоплайди.

Азотни ўзлаштирувчи микробларнинг фототроф организмлар билан симбиозда икки хил фундаментал биокимёвий жараён азотфиксация ва фотосинтезнинг симбиоген бирикмаси ҳосил бўлади. Лекин симбиотик муносабатни N - метаболитларни фотосинтатларга «табiiй алмашинуви» деб қараш нотўғри бўлар эди. Кўпгина ўсимликларнинг азотфиксацияловчи бактериялар билан муносабатга киришишида шерикларнинг узвий структуравий – функционал интеграцияси кузатилади, у ўсимлик ва бактерия генларининг ўзаро регуляцияси ва йўналтирилган мувофиқлашган экспрессиясига асосланади. У шерик хужайраларнинг чуқур дифференциаллашуви, шунингдек улар орасида узвий регулятор муносабатлари шаклланиши билан бориши ҳам мумкин.

Дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактериялар (ризобийлар)нинг симбиоз муносабати

Дуккакли ўсимликлар (*Fabaceae оиласи*) билан тугунак бактериялар (ризобийлар) орасидаги симбиоз муносабати энг яхши ўрганилган организмлар аро тизимлар ҳисобланади. Бунинг бир қанча сабаблари мавжуд. Ризобийлар (*Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*) факультатив симбионтлар ҳисобланиб, ex-planta шароитида осон ўса олади ва барча замонавий молекуляр генетик усуллар билан тадқиқ этиш учун қулай ҳисобланади. Дуккакли экинларнинг тугунаклари ўсимликларнинг муҳим функциялари: сигнал жараёнлари ва генлар экспрессияси, хужайраларнинг дифференциалланиши ва органогенез, азот ва углерод алмашинувини таҳлил қилиш учун жуда қулай модел ҳисобланади. Дуккакли – ризобиал симбиозни ўрганишда асосий омил унинг амалий аҳамияти, яъни кўплаб дуккакли ўсимликлар муҳим қишлоқ

хўжалик экин турларига кириб, уларнинг ҳосилдорлигини ошириши долзарб муаммо ҳисобланиши билан боғлиқ.

Ризобийлар ва ўсимликларнинг ўзаро таъсири жуда юқори спецификликга (ўзига хосликка) эга (5.1-жадвал). Бу биринчидан, симбиознинг деярли фақат дуккакдошлар оиласига хос бўлиб чекланганлиги, бироқ бунга истисно равишда фақат *Parasponia* ўсимлиги (*Ulmaceae* оиласи) дуккакдошларга мансуб бўлмаса ҳам ризобийлар билан тугунаклар ҳосил қилиши орқали ифодаланади. Иккинчидан, ризобийларнинг кўпчилиги дуккакли ўсимликларнинг чегараланган қисми билан битта авлод (*R. galegae*, *R. leguminosarum* bv. *trifoli*) га мансуб ёки бир неча таксономик авлодлари билан (*Rhizobium meliloti*, *R. leguminosarum* bv *viceae*) симбиоз муносабатга киришади.

Дуккакли – ризобиал симбиоз кўп босқичли мураккаб жараён бўлиб, у тўрт хилдаги жараён: эрта (преинфекцион) таъсир; тугунаклар морфогенези; эндосимбионтлар таракқиётини бошқариш; тугунакларнинг азот тўпловчи аъзо сифатида фаолият юритиши кабиларни ичига ўз олади. Бу жараёнларнинг барчаси бактериялар, шунингдек хўжайин-ўсимлик томонидан қатъий назорат остида бўлади.

Преинфекцион (сигнал) таъсирлар. Ҳар қандай симбиоз муносабатда шериклар ўртасида молекуляр сигналлар билан алмашинув содир бўлади. Симбиознинг дастлабки босқичларида сигналнинг организмларнинг эркин яшаш тарзидан симбиоз ҳолатига ўтишини, кейинги босқичларида – симбиознинг фаолиятини таъминлашга хизмат қиладиган метаболитик ва морфогенетик жараёнларни кечишига сабаб бўлади. Сигналлар кўпинча нишон–генларнинг транскрипцияси ва трансляцияси даражаларида таъсир кўрсатиб, симбиоз муносабатларни юксак ўсимликларда генларнинг дифференциал экспрессиясини ўрганиш учун қулай моделга айлантиради.

5.1. Жадвал.

Дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактериялар ўзаро таъсирининг ўзига хослиги

Б а к т е р и я л а р	Ў с и м л и к л а р
<i>Rhizobium meliloti</i>	<i>Medicago</i> (беда), <i>Melilotus</i> (қашқарбеда), <i>Trigonella</i> (йўнғичқа)
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i>	<i>Trifolium</i> (себарга)
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i>	<i>Pisum</i> (нўхат), <i>Vicia</i> (вика), <i>Lathyrus</i> (кўк нўхат), <i>Lens</i> (ясмиқ)
<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i> (<i>R. etli</i>), <i>R. tropici</i> <i>R. galegae</i>	<i>Phaseolus</i> (ловия) <i>Galega</i> (галегга) <i>Glycine</i> (сога)
<i>Sinorhizobium fredii</i>	<i>Lotus</i> (лядвинец), <i>Lupinus</i> (бўри дуккаги)
<i>Mezorhizobium loti</i>	<i>Glycine</i> (сога)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	

Сигналларнинг синтези ва ажралиб чиқиши. Тугунак бактериялар ва ўсимликлар орасидаги симбиоз муносабати ризобийларнинг бактерия вирулентлик генлари фаоллаштирувчисини (*nod*-инглиз тилидан *nodulation*-тугунак ҳосил бўлиши) ўсимлик флаваноидларига таъсир реакциясидан бошланади. Бундай генлар назорати остида ризобийлар тугунаклар шаклланишининг илк босқичларини бошлаб берувчи липо-хито-олигосахаридли *Nod*-омилларни синтезлайдилар. (5.3-расм) Ҳозирги вақтда ризобийларда 50 дан ортиқ вирулентлик генлари аниқланган. Уларнинг бир қисми барча ризобийлар учун «умумий» (структуравий-функционал жиҳатдан ўхшаш) бўлса, бошқалари – ҳар бир тур ёки штамм учун спецификдир. «Умумий» *nod* –генлар (*nod A*, *nodB*, *nodC*) даги мутациялар симбиоз тараққиётининг илк босқичларидаёқ ўзгаришлар-илдиз тукчаларининг бурилиши келиб чиқишига сабаб бўлади.

Ҳўжайинга тегишли генлар (*nodH*, *nodF*, *nodQ*, *nodZ*, *nodX*) мутациялари натижасида ўзаро таъсир этишнинг сўнгги, яъни инфекцион иплар ҳосил бўлиши ва тугунак меристемалари шаклланиши билан боғлиқ босқичлари издан чиқади. Бундай вирулентлик генлари гуруҳлари орасидаги

муҳим тафовутлар уларни ризобийларнинг турли хил турларига кўчириб ўтказилганда ҳам кузатилади. Хўжайинга хос ўзига хослик генларини кўчириб ўтказиш реципиент штаммлар донор-штаммнинг хўжайин-ўсимликларида тугунаклар шаклланишига олиб келади. Бундай самара «умумий» *nod* генлари кўчирилиб ўтказилганда кузатилмайди, агар реципиент сифатида ўзининг «умумий» *nod*-генлари бузилган авирулент мутант қўлланилса, унда дастлабки хўжайин-ўсимликларда тугунак ҳосил қилиш хусусияти тикланади.

Ҳар иккала гуруҳ генлари индуцибел ҳисобланади: уларнинг фаоллигини фақат ризобийларнинг ўсимлик ризосферасига тушганидан сўнг қайд этишга муваффақ бўлинган. Бунда, дуккакли ўсимликлар уруғи ёки илдизларидан тупроққа ажралиб чиқадиган флаваноидлар бактерияларнинг NodD оксили билан ўзаро таъсирланади, натижада у қолган *nod*-генлар (*nodD* -ризобийларнинг ягона конститутив фаолият юритувчи гени) нинг транскрипциясини фаоллаштириш хусусиятга эга бўлади. *nodD* гени транскрипцияни бошқарувчи оиланинг вакили ҳисобланиб, бу оилага яхши ўрганилган, *lysR* ва *araC* генлари ҳам киритилади. NodD оксида иккита домен: ДНК билан боғланадиган бирмунча консерватив бўлган, тахминларга кўра, флаваноидлар билан ўзаро таъсирга киришадиган C-қисм аниқланган. NodD оксили ризобиал хўжайиннинг флаваноидлар ўтадиган ички мембранаси билан боғланган бўлади. Улар билан ўзаро таъсирлашган NodD оксили ўзининг конформациясини ўзгартиради, натижада унинг вирулентликнинг индуцибел генлари промоторларида жойлашган консерватив «*nod – box*» кетма – кетлиги билан боғланиш имкониятига эга бўлади. Бунинг оқибатида мазкур промоторларнинг ДНК –полимераза билан ўхшашлиги ортади ва уларнинг транскрипцияси индуцирланади.

Вирулентлик генларининг таъсири натижасидаги охирги маҳсулот Nod-омиллар ҳисобланади, уларни синтез қилиш қобилияти ризобийлардаги энг нодир хусусиятдир. Бу омиллар модификацияланган липо – олигосахаридлар бўлиб, улар – ацетилглюкозаминнинг 3 – 6 қолдиғи ва 16 –

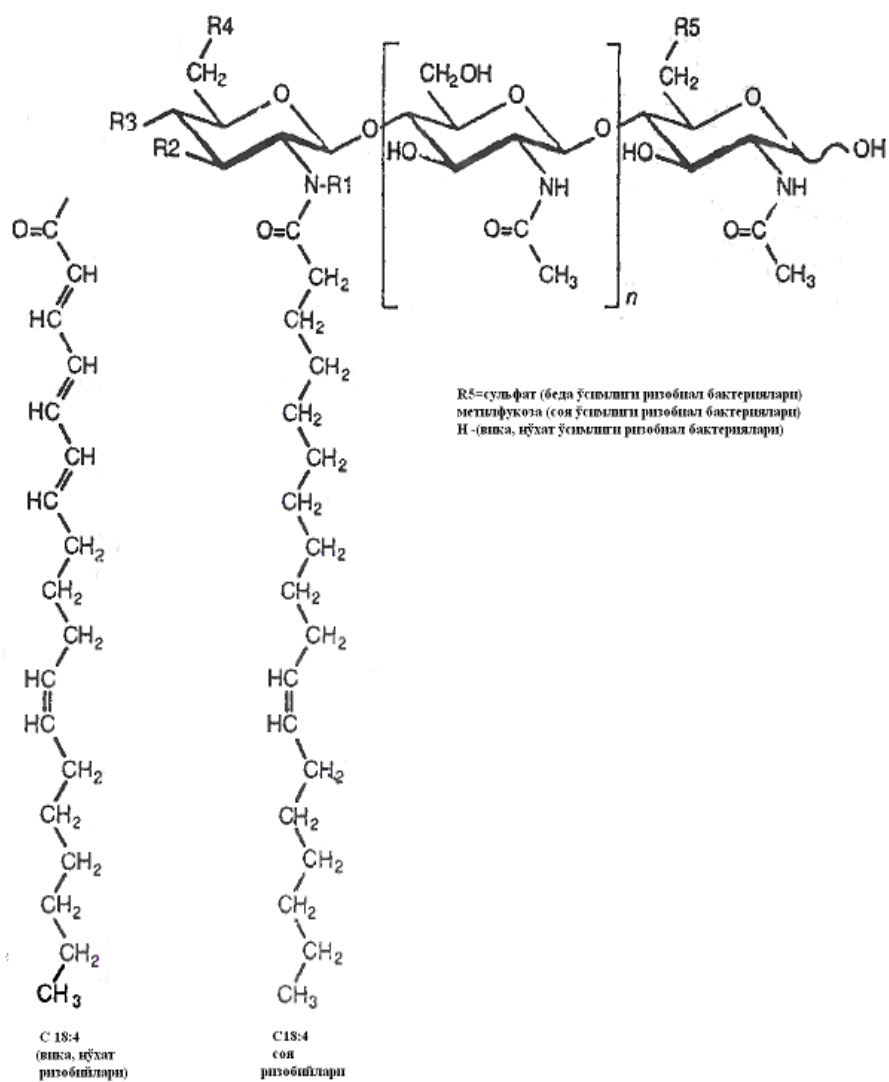
20 тагача углерод атомларини сақловчи тўйинган ёғ кислотаси радикалларида иборат (5.3 (а) - расм). Бу омилларнинг биосинтези куйидаги жараёнларни ўз ичига олади. (5.4- расм):

1) 1-4-β-гликозидли боғлар ҳосил бўлиши билан боғлиқ N-ацетилглюкозаминнинг полимеризацияси (NodM оқили назорати остидаги фукозадан синтезланади). NodC оқили катализлайдиган ушбу реакция хитин олигомерларининг ҳосил бўлишига олиб келади;

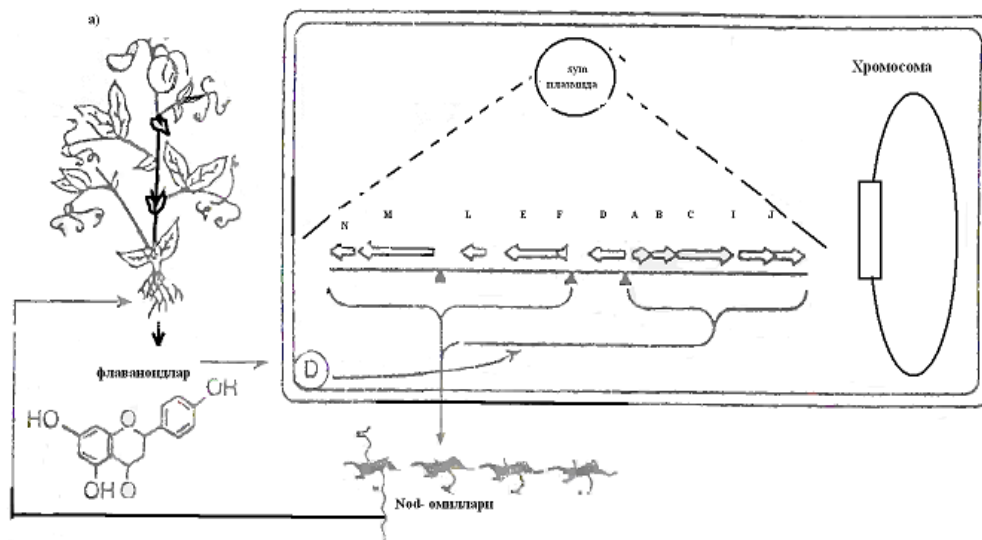
2) глюкозаминнинг охириги (NodB блоки томонидан катализланадиган) қолдиғини «редукцияламайдиган» R1 ҳолатда деацетилланиши ва мой кислотаси қолдиғининг азот атомига бирикиши (NodA оқили билан катализланади);

3) ҳосил бўлган липо-хито-олигосахарид (Nod – омилнинг пўстлоқ қисми) модификацияси; «редукцияловчи» ва «редукцияламайдиган» қисмларидаги водород атомлари турли хил радикал (фукозил, сульфат, метил, ацетил ва ҳ.к.) ларга жойлашади.

Шуни таъкидлаш лозимки, Nod – омил биосинтезининг ушбу босқичлари *nod*-генларнинг турли гуруҳлари томонидан назорат қилинади: пўстлоқ қисмининг синтези «умумий» *nod*-генлари назорати остида бўлса, унинг модификацияси эса - ҳўжайинга хос генлар назоратида бўлади.

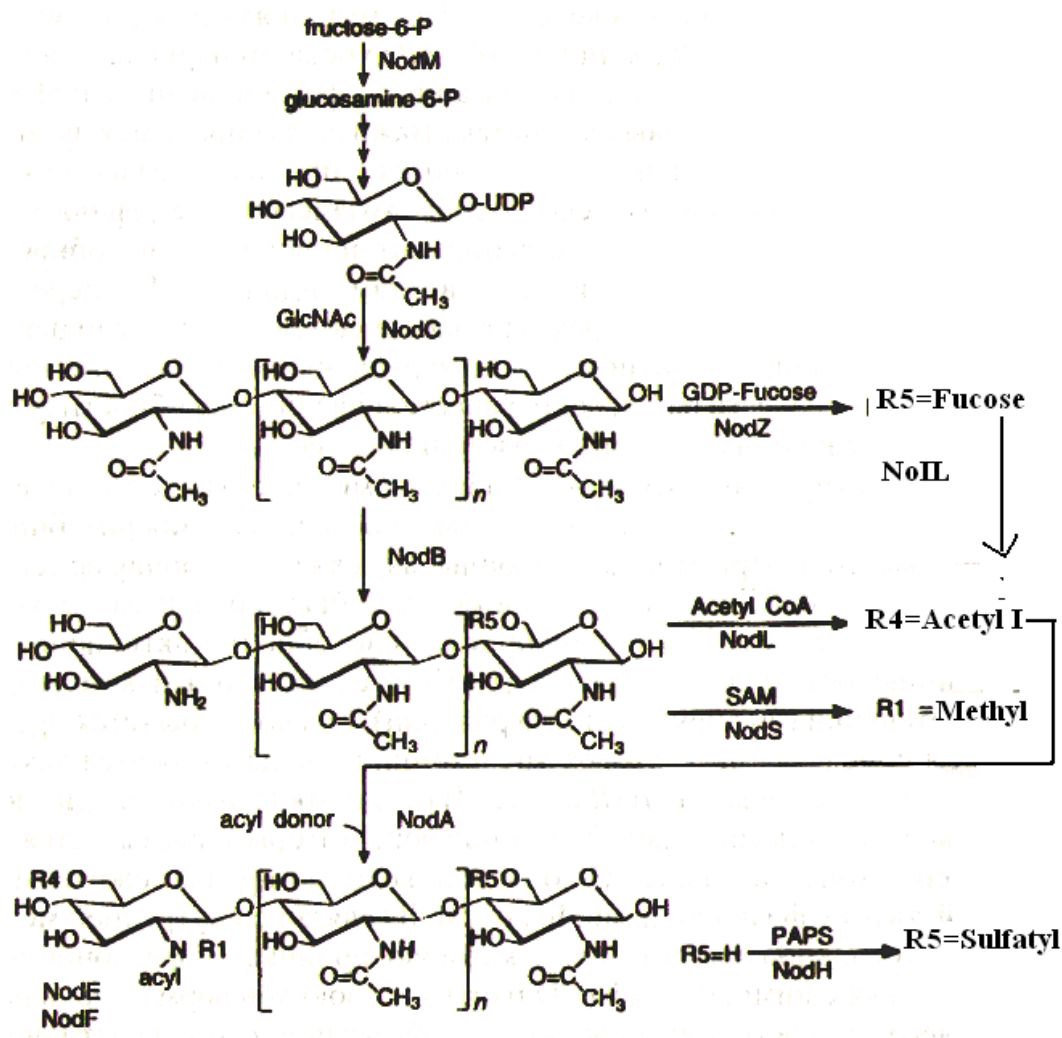


Rhizobium leguminosarum



5.5. расм. Дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактерияларнинг ўзаро сигнал муносабатлари тизими: а-ризобийларнинг Nod-омиллари структураси(энг муҳим ўриндошлар кўрсатилган: редукцияланмаган қисм (C18:1ёки C18:4) даги ацил гуруҳлар ва R5 йўналишдаги ўриндошлар

редукцияланадиган қисмда; б- *Rhizobium leguminosarum* бактерияси билан нўхат ўсимлиги орасидаги сигнал молекулалари билан алмашилиш схемаси (ўсимлик илдизлари специфик флаваноидларни ажратади, улар бактериал NodD оқили билан комплекс равишда бактерияларнинг сигнал молекулалари – Nod-омилларни фаоллаштиради. Охирги маҳсулотларнинг биосинтези *Sym*- плазмидада жойлашган генларда кодирланади.



5.6. - расм. Nod-омилларнинг биосинтези

GlcNAc-N-ацетилглюкозамин; GDP-Fucose-гуанозиндифосфо-фукоза; Acetyl CoA-ацетилкофермент A, PAPS-3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат; SAM—аденозил-метионин.

Концентрацияси атиги 10^{-8} – 10^{-12} М бўлган, тозаланган Nod-омиллар симбиоз шаклланишининг дастлабки босқичлари: илдиз тукчаларининг бурилиши, тугунак меристемалари шаклланиши, баъзи дуккакдилар (беда)да,

хаттоки тугунаклар гистогенезининг бошланғич босқичларини ҳам инициациялайди. *Vicia sativa* ўсимлиги учун Nod-омилларни 5-10 минут давомида таъсир эттириш бир соатдан кейин содир бўладиган илдиз тукчаларининг деформацияси (шакл ўзгариши), 3 соат ўтгач эса илдизнинг шимувчи қисмларидаги илдиз тукчаларининг ярмидан кўпроғининг шакл ўзгаришларига кифоя қилади. Nod-омиллар чақирадиган биринчи биокимёвий реакциялар (инокуляциядан 10 минут ўтгач содир бўладиган) илдиз тукчалари хужайра мембранаси деполяризацияси (кўтбсизланиши) ва эпидермис хужайраларида ион оқимларининг модулланиши ҳисобланади.

Шуни қайд этиш керакки, Nod-омиллар – бу барча симбиотик ўзаро таъсирларнинг ўзига хослигини маълум даражада аниқлайдиган сигналлардир. Бунда хўжайинга хос генлар назорати остида амалга ошириладиган Nod-омилларнинг такомиллашиши муҳим рол ўйнайди. «Редукцияловчи қисм» да R6 ҳолатининг сульфатланиши беда ўсимлигининг ризобийлари (*R. meliloti*) учун хос бўлиб, у «гомологик» хўжайин (беда)да кечадиган бошланғич симбиотик реакциялар индукцияси учун зарур бўлади, сульфат гуруҳларнинг учрамаслиги эса (вика ўсимлигида) худди шу реакцияларнинг индукциясига сабаб бўлади. Сульфатланиш жараёнини катализлайдиган инактивлаштирувчи NodH оксили мутацияларида *R. meliloti* бедага нисбатан вирулентлигини йўқотади, бироқ унинг симбионтлари (*R. leguminosarum* bv. *viceae*) *nodH* гени йўқотилган викага нисбатан вирулентликка эга бўлади.

Nod-омил модификацияларининг хўжайинга хослик белгисини назорат қилишдаги иштирокининг энг кўп ўрганилган мисоли бу – *nodX* гени катализлайдиган R6 ҳолатининг «редукцияланувчи қисм»ининг ацилирланишидир. Бундай модификация нўхат тугунак бактериялари (*R. leguminosarum* bv. *viciae*) га «афғон» нўхатларини зарарлаш (инфекциялаш) хусусиятини беради. «Афғон» нўхатларининг мазкур бактериялар билан инокуляцияланишига мойиллиги бўлмайди, чунки бу ўсимликлар *sym2* аллеллари бўйича гомозигот бўлади. *nodX* генини ундан ҳоли бўлган

штамmlарга кўчириб ўтказилганда улар ацетилланган Nod-омилни синтезлаш қобилиятига эга бўлади ва «афғон» нўхати ўсимлигида туганак ҳосил қилади. Ризобийларга R6 ҳолатини фукозилланишини белгиловчи *nodZ* генини кўчириб ўтказилганда, ўсимликларнинг *sym2*-генлари назорат қиладиган чидамлилигини енгил хусусиятини ҳосил бўлиши кутилмаган ҳодиса бўлиб чиқди. Бу ген соя тугунак бактерияларидан ажратиб олинган бўлиб, улар «афғон» нўхатларида симбиознинг энг дастлабки реакцияларни ҳам қақира олмайдилар.

Сигналлар рецепцияси ва процессинги. Nod-омилларнинг синтези ва фенотипик самараси (эффeкти) яхши ўрганилган, чунки улар бактериялар томонидан озиқа муҳитига ажралиб чиқарилади, шунингдек, улар фаолиятини *in vitro* тизимида осон моделлаштириш мумкин. Бактериал сигналлар рецепцияси ва унинг ўсимликка кетма-кет узатилиш жараёнларини ўрганиш бирмунча қийин. Ўсимлик лектинлари рецепторлари Nod-омилларнинг рецептори ҳисобланади. Уларнинг симбиоздаги ролини ўрганишга бўлган қизиқиш ўтган асрнинг 70-йиллари охирига келиб ортди. Бу даврга келиб илдиз тукчалари юзасига ризобиял хужайраларнинг адсорбцияланиши натижасида тугунакларнинг ривожланиши, ризобий хужайралари ташқи юзасида учрайдиган полисахаридларнинг дуккакли ўсимликларнинг лектинлари билан ўзаро таъсири билан боғлиқ эканлиги аниқланди. Ўсимлик ва бактерия хужайраларининг юза структуралари ўзаро комплементар таъсирининг натижаси сифатида симбиознинг ўзига хос хусусиятини изоҳлайдиган «лектинли» назария (гипотеза) 1980 йиллар бошида тақдим этилди.

Бугунги кунга келиб илдиз лектинларининг баъзи фракциялари синтезини назорат қилувчи генларни турли хил дуккаклилар ўртасида кўчириб ўтказилиши симбиотик хусусиятларнинг кенгайиб бориши билан ўз тасдиғини топди. *In vitro* шароитларида Nod-омиллар билан ўзига хос боғланиш ҳосил қиладиган дуккаклиларнинг илдиз лектинлари фракциялари аниқландики, улар симбиоз муносабат ҳосил бўлишида муҳим ҳисобланади

(мазкур лектинларга қарши антитаналар билан ишлов берилган илдизларда тугунак ҳосил бўлиши блокировкаси кузатилган). Бундан шундай хулоса келиб чиқадики, ўсимлик лектинлари Nod-омиллар рецепцияси тизимининг компонентларидан камида биттаси бўлиб ҳисобланадилар.

Nod-омиллар тузилмасининг ва тугунак ҳосил бўлишининг ўзига хослиги ўртасидаги боғлиқликни изоҳлайдиган назариялардан бири - ўсимлик хитиназалари таъсирига чидамлилигини мазкур омилларнинг модификациялари деган ғояни илгари суради. Дуккаклилар илдизи бир қатор хитиназаларни (шунингдек хитиолигосахаридларни парчалайдиган бошқа хил литик ферментларни ҳам) синтезлаши аниқланди. Бунда: а) баъзи хитиназаларнинг синтези Nod-омиллар томонидан фаоллашиши, б) хитиназаларга чидамлилик Nod-омиллар тузилмасига боғлиқлиги кабилар келиб чиқди. Юқорида мисол қилиб, келтирилган *R. leguminosarum bv viciae* нинг «афғон» нўхати билан ўзаро таъсири шуни кўрсатадики, Nod-омилнинг ўсимлик хитиназаларига чидамлилиги R6 ҳолатнинг модификацияси натижасида бирикувчи қолдиқ қисмининг тузилиши (ацил ёки фукозил гуруҳга мансублиги)дан қатъий назар ортиши аниқланди. Айнан шу мўътадилланиш R6-модификацияланган сигналларни ҳосил қиладиган бактерияларнинг *sym-2* аллеллар кодлайдиган чидамлиликни енгишни белгилайди. Шунингдек, ўсимлик рецепторлари билан Nod-омилнинг ўзи эмас, балки литик ферментлар таъсири нишон-ҳужайраларда ҳосил бўладиган унинг процессинги маҳсулотлари ўзаро муносабатга киришиши эҳтимоли жуда юқоридир.

Симбиознинг тузилмавий асоси тараққиёти. Дуккакли ўсимликларнинг тугунаклари бир қатор комплекс ўзаро боғлиқ вазифаларни бажариб, эндосимбионтлар учун экологик макон, шериклар ўртасида метаболитлар алмашинуви учун структуравий асос бўлиб, бактерияларнинг физиологик фаоллиги ва сонини назорат қилишга хизмат қилади. Бу аъзолар ўсимликнинг тараққиёти генетикасини ўрганиш учун ажойиб модел бўлиб ҳисобланади. Тугунаклар тараққиёти, бошқа аъзолар сингари генларнинг

дифференциал (ихтисослашган) экспрессиясини чакирувчи сигнал жараёнларига асосланади. Бироқ симбиоз муносабатларда бу жараёнлар ўсимликка шерик орқали тушадиган экзоген сигналлар билан боғлиқ, бу эса сигналлар таъсирини қатор ҳолатларда лаборатория шароитларида, шу билан бирга *in vitro* тизимидан фойдаланиш орқали ҳам нисбатан осон ўрганиш мумкин. Бундан ташқари, тугунакларнинг ҳосил бўлиши ўсимликлар учун нормал ўсиш ва кўпайишда шартли бўлмаган, яъни, факультатив ҳолат ҳисобланиб, бу ривожланиш жараёнининг генетик ўзгарувчанлиги тўғрисидаги кенг, батафсил маълумот олиш имконини беради. Тугунаклар морфогенези учун зарур асосий генетик маълумот симбиоз муносабатнинг ўсимлик шериги геномида жойлашган. Шунга қарамасдан, морфогенларнинг бир қисми ризобийларнинг геномида сақланади. Бу эса тугунаклар тарраққиётини генетик таҳлил қилишда геноми тузилмасига аралаштирмаган ҳолда, ўсимлик аъзоси тараққиётининг ирсий дастурини ўрганиш ва модификация қилишнинг янада кенгроқ имкониятларини очади.

Тугунаклар морфогенези. Бу қисмда нўхат, себарга ва беда каби дуккаклиларнинг хос «но детерминацияланган поя» типига мансуб анча батафсил ўрганилган тугунаклари мисолида симбиознинг структуравий асоси тараққиётини кўриб чиқилади.

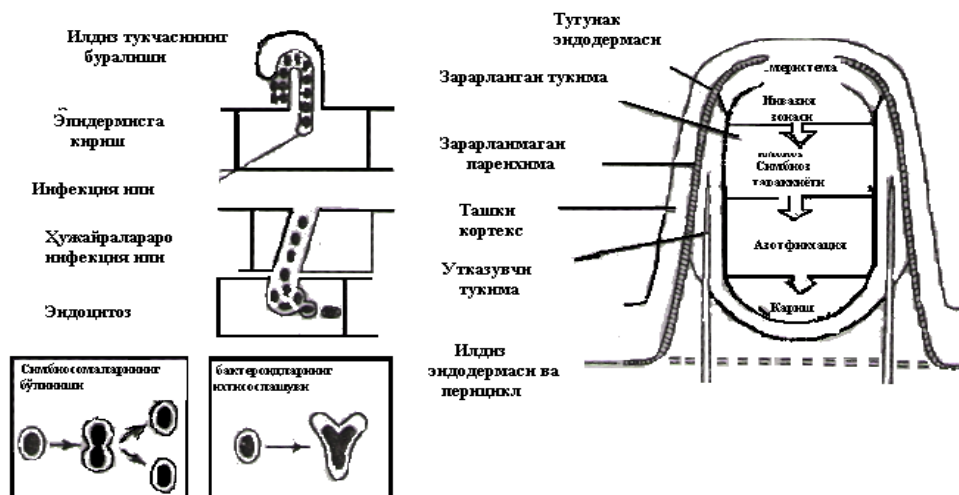
Мазкур дуккакли ўсимликларнинг ризобийлар билан зарарланиши илдиз тукчалари орқали боради натижада илдиз тукчалари буралиб «соябон ушлагичи» шаклини олади (*Нас* босқичи, инглиз тилида *hair curling*). Тукчаларнинг кескин буралиши билан бирга илдиз тукчаси ҳужайраси гидролизи ва плазмолемманинг чуқур инвагинацияси содир бўлади, бунда ўсимлик ҳужайрасининг мембрана структуралари (Гольжи аппарати, эндоплазматик тўр) иштирок этади. Шундай қилиб бактерияларнинг илдиз тукчаларига нофаол кириб бориши ва тез орада микросимбионтни тўлиқ қамраб олиши кузатилади. Натижада бактерия ҳужайралари атрофида ўзига хос туннел – инфекция ипи (ИИ) ҳосил бўлиб, унинг деворлари ўсимлик ҳужайралари девори билан ўхшаш, ички бўшлиғи эса матрикс билан тўлган

бўлиб, унинг ҳосил бўлишида иккала шерик ҳам иштирок этади (*Itf*- босқичи, инглиз тилидан *Infection thread formation*).

III тараққиёти билан бир вақтда тугунак меристемаси ҳосил бўлишига замин тайёрлана боради, у митоз жараёнлари реактивацияси, Nod-омил орқали индуцирланувчи кортекс хужайраларининг дедифференциацияси ва пролиферацияси (*Ced* босқичи, инглиз тилидан *Cortical cell division*) билан боғлиқ бўлади. Ҳосил бўлган тугунак примордийларида гистогенез жараёнлари бошланади (*Ntd* жараёни, инглиз тилидан *Nodule tissue differentiation*), унда тугунакларнинг қопловчи, ўтказувчи ва азот тўпловчи тўқималари шаклланади. III инокуляциядан 2-3 сутка ўтгач, илдиз тукчалари асосигача етиб боради ва кортексга ўтиб, ўсиб келаётган тугунак ичига кириб олади ва шу ерда ривожланиб, шохланади (5.5.-расм).

Эндосимбиоз тараққиётидаги асосий босқич бактерияларнинг III дан ўсимлик хужайрасига ўтиши ҳисобланади, у эндоцитоз йўли билан амалга ошади (*Bar* босқичи, инглиз тилидан *Bacterial release*). III нинг ўсимлик хужайрасига ботиб кириш жойида вақтинчалик тузилмалар – инфекциян томчилар шаклланиб, улардан бактерия сақловчи мембрана пуфакчалари ўсиб чиқади. Шундай қилиб, бактериялар ҳеч қачон ўсимлик цитоплазмасида эркин жойлашмасдан, Гольжи аппарати ва эндоплазматик тўр иштирокида ҳосил бўлган «перибактероид» мембраналари (ПБМ) ичида жойлашади, лекин улар алоҳида бактериал оқсилларга ҳам эга. ПБМ билан қопланган бактерия хужайраси (хужайралар тўплами) симбиознинг асосий субхужайравий бирлиги – симбиосома ҳисобланади.

Ризобийлар III дан ажралиб чиққач ўзларининг ўлчамларини ва таёқчасимон шаклини маълум вақтга қадар сақлаб қолади, шундан сўнг алоҳида шакл – бактероид шаклида (*Bad* босқичи, инглиз тилидан *Bacteroid differentiation*) ихтисослашади. Бактероидлар эркин яшовчи бактерияларга нисбатан анча йирик (3-5 баробар) бўлиб, уларнинг шакли себаргада шарсимон ва ноксимондан тортиб, нўхатда Y ва X симонгача бўлади.



5.7.-расм. Нўхат ўсимлиги азот тўпловчи тугунаклари тузилиши ва тараққиёти.

а-эндосимбиотик бирлашмалар тизимининг шаклланиши асосий босқичлари;

б-тугунакнинг гистологик тузилмаси (нодетерминацияланган тип).

Шуни ҳам қайд этиш лозимки, бактерияларнинг ихтисослашуви уларнинг автоном ўсиши учун зарур бўлган кўплаб генларнинг репрессияси билан боғлиқ. Кўплаб муаллифларнинг фикрича, бу репрессия шунчалик чуқур давом этадики, бактериоидлар шаклланган эркин яшайдиган тугунакларга айлана олмай қоладилар ва тугунаклар нобуд бўлгач, улар ҳам нобуд бўладилар. Бактериоидларда N_2 ни NH^+ га қайтарилишини катализловчи нитрогеназа, шунингдек, нитрогеназа реакцияси учун хизмат қиладиган бошқа ферментлар синтези фаоллашади ва шундан сўнг атмосфера азоти ўзлаштирилиши жараёнлари (Nif - инглиз тилидан Nitrogen fixation) бошланади. Шундай қилиб, бактериоидларни ҳўжайин ўсимликни боғланган азот билан таъминлаб берадиган ўсимликларнинг вақтинчалик органеллалари сифатида қараш мумкин.

Симбиосомаларнинг шаклланиши билан параллел бир вақтда инфицирланган ўсимлик ҳужайралари ихтисослашуви ҳам рўй беради. У ички ПБМ шаклланиши ва биосинтетик жараёнларда иштирок этадиган ички

мембрана тузилмалари сони ортиши билан ифодаланади. Инфицирланган (зарарланган) ҳужайралар учун хроматиннинг транскрипцион фаоллиги ортиши билан боғлиқ полиплоидизацияси ва деконденсацияси хосдир. Биокимёвий жиҳатдан уларнинг ихтисослашуви *de novo* шароитида бир катор оқсилларнинг синтези сифатида акс этади.

Кўрсатиб ўтилган жараён «нодетерминацияланган» типга мансуб мураккаб тузилган тугунакнинг шаклланиши билан яқунланади. Унинг асосий тузилмалари: а) молекуляр азотни ўзлаштирилиши кечадиган бактериялар билан зарарланган тўқима; б) ўсимлик фотосинтатлари келиб тушадиган ва азотфиксация маҳсулотлари чиқиб кетадиган ўтказувчи толалар; в) тугунакнинг ўсиши амалга ошадиган апикал меристема кабилар ҳисобланади. Апикал меристема азотфиксация қилувчи тўқималарнинг доимий янгиланиб туришини таъминлайди, унинг натижасида симбиознинг турли босқичларига мос зоналарга тугунакнинг марказий қисмларининг ихтисослашуви кузатилади. Тугунаклар морфогенезининг асосий натижаси симбиотик шериклар (компаратментлар) нинг уйғунлашган тизимини шаклланиши ҳисобланади, бу эса бактерияларнинг ҳужайралараро (инфекция ишларидаги) шаклидан ҳужайраичи (симбиосомалардаги) шаклига ўтишини таъминлайди.

Генетик таҳлил. Ҳозирги вақтда дуккакли ўсимликлар «симбиотик» генларининг икки гуруҳи чуқур ўрганилмоқда. Биринчи гуруҳ генларини формал генетика усуллари қўллаш – симбиоз тараққиёти учун дефектли мутантларни олиш ва таҳлил қилиш орқали аниқланади. Иккинчи гуруҳ генларини «тескари генетика» - симбиозда синтез бўладиган ген маҳсулотлари (оқсиллар, мРНК) ни таҳлил қилиш усуллари орқали ўрганилади.

Ўсимлик мутантларини тугунак ҳосил қила олмайдиган (Nod) ёки уларда азотфиксация фаоллигини индуцирлаш хусусиятига эга бўлмаган азотсиз муҳитда ўса олмаслик хусусиятига қараб танлаб олинади. Кўплаб дуккаклилар (нўхат, соя, беда, йўнғичка, ловия, нут, хашаки дуккаклилар,

кашқарбеда, себарга) да бундай мутантларни қўллаш орқали симбиознинг ҳосил бўлиши ва фаолиятида бевосита иштирок этадиган 100 дан ортиқ генлар идентификация қилинган. Симбиоз муносабатнинг генетикасини ўрганишнинг қулай объекти ҳисобланилган – экиладиган нўхат (*Pisium sativum* L) да 40 дан ортиқ генлар аниқланган. Ўсимликларни тугунак ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлмаслигини назорат қилувчи мутант аллеллар, камдан-кам ҳолларда, баъзи истисноларни инобатга олмаганда рецессив бўлади. Азотфиксация қилиш хусусиятига эга бўлмасликни назорат қиладиган аллеллар рецессив (нўхат, себарга, бедада) ҳам доминант (соёда) ҳам бўлиши мумкин. Симбиоз тараққиётига зарар келтирадиган мутантлар ўсимликларнинг морфологияси, ривожланиш тезлиги ва етилиши (фертилик) га таъсир кўрсатадилар.

5.2. жадвал.

Симбиоз тараққиётининг асосий босқичларини назорат қиладиган дуккакли ўсимликларнинг генлари

Тараққиёт босқичлари	Кодлар	Маълум босқични назорат қилувчи генлар (дуккаклилар турлари)
Преинфекция (инфекция олди босқичи)		
Ризобийларнинг вирулентлик генлари индукцияси	<i>NgI</i>	Аниқланмаган
Илдиз тукчалари деформацияси	<i>Hac</i>	<i>sym8, sym9, sym19, sym30</i> <i>Ps; rj1=nodI (Gm); rnI (Ca)</i> <i>nn1, nn2 (Ms); sym3 (Ma)</i>
Тугунаклар морфогенези		
Инфекция ипларининг шаклланиши	<i>Itf, Iti, Ith</i>	<i>sym7, sym14, sym35 (Ps), symI, sym5 (Ma), r, t(Tp)</i> <i>sym 2, sym 36 (Ps)</i>
Кортикал хужайралар	<i>Itr, cd</i>	<i>sym5, sym34 (Ps)</i>

бўлиниши индукцияси		<i>sym5</i> (Ps)
Тугунак тўқималари ихтисослашуви	<i>Ntd</i>	<i>sym35</i> (Ps)
Ўсимлик цитоплазмасига бактерияларнинг эндоцитози	<i>Bar, Itn, Idd</i>	<i>sym33</i> (Ps), <i>d, Ii, ie</i> (Tp) <i>sym40</i> (Ps)
Бактероидлар иxtисослашуви	<i>Bad</i>	<i>sym31, sym32</i> (Ps), <i>in₁, in₂, in₄, in₅</i> (Ms)
Эндосимбионтлар тараққиётининг бошқариши		
Тугунак ҳосил бўлиши авторегуляцияси	<i>Aut</i>	<i>nod3, sym28, sym29</i> (Ps), <i>sym5</i> (Vf); <i>nod</i> (Pv), <i>ntsI-nod 2</i> (Gm)

Тугунаклар фаолияти		
Азот ўзлаштирилиши	<i>Nif</i>	Ўсимликларнинг мазкур босқичи издан чиққан мутантлар <i>Bar⁻, Bad⁻</i> , ёки <i>Nop⁻</i> фенотипларига эга бўлади
Тугунаклар барқарорлиги	<i>Nop</i>	<i>sym13, sym25, sym26,</i> <i>sym27</i> (Ps)

Ca – *Cicer areatinum* L., *Gm* – *Glycine max* (L.) Merr., *Ma* – *Melilotus albus* Medik, *Ms* – *Medicago sativa* L., *Pv* – *Phaseolus Vulgarus* L., *Ps* – *Pisum sativum* L., *Trp* – *Trifolium pratense* L., *Vf* – *Vicia faba* L.

Симбиоз тараққиёти генетик таҳлилларининг кўрсатишича, «ёввойи тип» даги тугунакларни ўрганиш натижасида аниқланган йирик босқичларни бирмунча майда («элементар») босқичларга бўлиш мумкин, уларнинг ҳар қайси кам миқдордаги (ҳатто якка) генлар билан назорат қилинади. Масалан, *Itf* босқичи 3 га бўлинади: *Iti* (инфекция ипи шаклланиши инициацияси), *Ith* (илдиз тукчасидаги ипнинг ўсиши) ва *Itr* (*III*нинг илдиз кортексида ўсиши; *Bar* эса икки босқичга: *Itn* (*III*нинг тугунак хужайралари ва тўқималаридаги

тараққиёти ва Idd («Инфекция томчиси»нинг дифференциаллашуви - ихтисослашуви).

Дуккакликларнинг симбиотик генларини, уларнинг маҳсулотларини идентификацияси (кўпинча ўша маҳсулотларнинг ўзини) аниқлаш орқали (агар улар туганакларда *de novo* шароитида фаоллашса) уларни нодулинлар ёки (уларнинг илдизга нисбатан тугунаклардаги фаоллиги сезиларли орта борса *Nst*-генлар) деб аталади. Мазкур генларни аниқлаш тугунак ёки стерил илдизларда, ёхуд азотни ўзлаштирадиган ёки ўзлаштирилмайдиган тугунакларда синтезланадиган оксил (РНК) спектрларини таққослаш йўли билан ўрганилади.

Нодулинлар ва *Nst* генларни мос равишда «эртанги» (азотфиксация бошлангунга қадар фаоллашадиган) ва кечки (азотфиксация бошланиши билан ёки азотфиксация даврида фаоллашадиган) турларга бўлинади.

Кўпгина тугунакка хос оксиллар учун субхужайравий жойлашув (ўсимлик хужайраси цитозоли, бактероид олди мембранаси, инфекция ипи девори) ёки ферментатив фаоллик (кўплаб «кечки» нодулинлар азотли ёки углеродли фермент алмашинувининг изоформаси ҳисобланиши) аниқланган. Баъзи нодулинлар симбиознинг тузилмавий асосини шаклланишида иштирок этади (4.3 расм). Уларнинг қаторига тугунак паренхималарида фаол синтезланадиган эртанги ENOD2 нодулини ва *III* деворларида тўпланадиган ENOD5 ва ENOD12 ни киритилади. Эндоцитоз даврида синтез бўладиган нодулин - N-26, ПБМ таркибига киради, у шериклар ўртасидаги регулятор ёки трофик омилларнинг транспорти учун зарур бўлса керак, деб тахмин қилинади.

5.3-жадвал.

Дуккакликларнинг эртанги нодулинлари

Генлар	Ўсимликлар	Нодулинларнинг таснифи	Тугунаклардаги жойлашуви	Тахмин қилинадиган фаолияти
ENOD2	Нўхат, соя,	Хужайра	Паренхима	Кислородли

	вика, беда, себарга	деворининг экстенсинлари типига хос бой оқсил- гидроксипролин		тўсиқнинг шаклланиши
ENOD5	Нўхат	Сигнал кетма- кетликлари ва пролин-домени	Инфекция иплари охирини сақловчи хужайранинг инфекция зонаси	Инфекцияда (зарарланиш) иштирок этиш
ENOD12	Нўхат, ловия, беда, мош, нут, дуккакдилар	Пролинга бой участкаларга эга	Инфекция зонаси	Инфекция иплари ва хужайра деворини қуриш
ENOD40	Соя, нўхат	Структураси жиҳатидан РНК- бошқарувчи (регулятор) ни эслатади	Ўтказувчи боғламларнинг перицикли	Гормонал мувозанатни аниқлаш (мувофиқлаш- тириш)

Тугунаклар тараққиётида фитогормонларнинг ролини ўрганиш жуда катта қизиқиш уйғотади. Аниқланишича, илдизларга ауксинлар транспортининг ингибиторлари билан ишлов бериш тугунаксимон тузилмаларнинг ҳосил бўлишига олиб келар экан. Тугунак ўсишининг гормонал статусини белгилашда иштирок этадиган ENOD40 нодулини ҳам аниқланган. Унинг вазифаси эндосимбионт таъсирида ўзгарадиган ауксин ва цитокининлар мувозанатининг назорати билан боғлиқ ва у тугунаклар

гистогенези ҳамда тугунакли примордийлар шаклланишида асосий ўрин тутлади. Шунинг ҳам қайд этиш лозимки, кўплаб нодулинларнинг вазифаси тўғрисидаги ғоялар олдиндан аниқланган оксиллар ва аминокислота қисмларини солиштириш орқали таҳлил қилишга асосланади. Нодулинлар симбиоз тараққиётида кўп ҳолларда айнан шу вазифаларни бажаради деган тўғридан-тўғри далиллар ҳанузгача аниқланган эмас.

Эндосимбионтлар тараққиётининг бошқарилиши. Симбиознинг тузилмавий асоси шерикларнинг бошқарувчилик ўзаро алоқалари билан боғлиқ бўлиб, уларнинг натижаси симбиотик тузилмаларнинг тараққиёти оптималлашуви, шунга мос равишда ризобийлар сони ва кўпайиш тезлигининг ортиши билан изоҳланади. Бундай регуляция жуда муҳим, чунки бактерияларнинг потенциал бўлиниш тезлиги ўсимликларга нисбатан анча юқоридир. Эндосимбионт микроорганизмларнинг назорат қилинмайдиган кўпайиши хўжайин ўсимлик учун кўп ҳолларда зарарлидир, унинг симбионтлар кўпайишини қатъий назорат қилиш хусусияти мутуалитик симбиознинг паразитизмдан асосий фарқ бўлиб ҳисобланади.

Симбионтларнинг хўжайин организм ҳимоя тизимлари билан ўзаро муносабати. Дуккакли ўсимликларда симбиознинг шаклланишида патоген микроблар кириши натижасида содир бўладиган вақтдаги каби бир қатор ҳимоявий жараёнларнинг индуцирланиши кузатилади. Бу флавоноидлар, феноллар, хитиназалар, каллозалар ва пероксидазалар синтезидир. Бироқ тугунакларда бу реакциялар патогенлар билан зарарланишга нисбатан кучсиз ифодаланади, бу реакцияларнинг натижаси микроорганизмларнинг инактивациясига эмас, балки метаболитик фаоллиги ва кўпайишини бошқарилиши ҳисобланади. Бу бактерияларнинг ўсимлик ҳимоя тизимлари билан симбиотик тизим тараққиётида нозик ўзаро мувофиқлашган таъсири натижасида содир бўлади.

Шерикларнинг ўзаро мувофиқлашган муносабатлари ризобийлардаги бир қатор генларнинг хўжайин ўсимлик ҳимоя тизими билан ўзаро мулоқоти орқали ифодаланади. Мазкур генлардаги мутациялар симбиоз тараққиётини

тўсиб қўяди, натижада одатдаги тугунаклар ўрнига «сохта тугунаклар» ҳосил бўлади, улар бактерия ҳужайралари ва инфекция ипларига эга бўлмасдан, шаклланмаган тўқима билан тўлган бўлади (бундай мутантларнинг фенотиби *Nod⁺Inf⁻* белгилар билан белгиланади). Ҳўжайин организм билан «муносабатни аниқлаш» га жавобгар бактерия генлари ичида энг кўп ўрганилганлари ҳужайра ташқарисидagi турли компонентлар – экзополисахаридлар ва циклик глюканлар синтезини кодирлайдиган генлар ҳисобланади. Мазкур генлар бўйича мутантларни дастлаб колониялари морфологиясининг ўзгаришлари, шунингдек флуоресцияловчи бўёқ калькофлуорни адсорбция қила олмаслиги бўйича танлаб олинади.

Ризобийларнинг анча чуқур ўрганилган, ўсимлик ҳимоя тизимлари билан ўзаро муносабатига жавобгар ҳужайра сирти компонентларидан бири кислотали экзополисахарид ёки сукциноглюкан (ЭПС-1) ҳисобланади. Унинг синтези беда ўсимлиги ризобийлари (*Rhizobium meliloti*) да 20 дан ортиқ ехо-генлар билан назорат қилинади, уларнинг катта қисми мазкур бактерияларда мавжуд бўлган 2 та мегаплазмидаларнинг бирида кластер бўлиб жойлашади. Бир қатор ехо-генлар учун экспрессия механизми ва бирламчи структура аниқланган бўлиб, бу ЭПС-1 синтезининг бир қадар тўлиқ чизмасини беради. У ўз ичига: оралик маҳсулотлар шаклланиши, улардан (саккиз моносахарид қолдиқларидан ташкил топган) мономерлар синтези, уларнинг модификацияси (сукцинил, пирувил ва ацетил гуруҳларнинг бирикиши), полимеризацияси ва периплазмага кўчиб ўтиши кабиларни олади.

Тугунаклар ҳосил бўлишининг авторегуляцияси. Дуккакли ўсимликларнинг ҳимоя тизимлари орқали амалга ошириладиган симбиоз тараққиётининг бошқарилуви эндосимбионт микроорганизмлар ривожланишини назорат қилишда ўсимликларга ёрдам берадиган барча механизмларнинг кўп хиллигини истисно этмайди. Шунингдек, дуккакли ўсимликларгагина хос тугунак ҳосил бўлиши авторегуляцияси механизмлари ҳам катта қизиқиш уйғотади, улар ўсимликларда ортиқча тугунаклар ҳосил бўлишини олдини олади, бу эса ўз навбатида симбиоз жараёнида ҳамиша

танқис бўлган энергияни тежаш имконини беради. Дуккакли ўсимликлар тугунак ҳосил бўлишини бирмунча қатъий авторегуляция қилиш хусусиятига эга, у “системали” характерга эга бўлиб, ер устки қисмлари воситасида амалга оширилади.

Кўплаб дуккаклиларда тугунак ҳосил бўлишининг авторегуляциясини бузилиши бўйича мутантлар олинган. Уларни танлаб олишда ўта кўп тугунаклар ҳосил қилиш (Nod^{++}) фенотипик белгиси, яъни, тугунакларни «ёввойи типга» нисбатан 2-10 баробар кўп ҳосил қилиш хусусиятига кўра танлаб олинади. Одатда бундай мутантлар дастлабки ўсимликларда симбиоз тараққиётини тўхтатадиган нитратларнинг юқори дозалари иштирокида кўплаб тугунаклар ҳосил қилади (*Nts*-фенотиби – *Nitrate tolerant symbiosis*). Nod^{++} мутантларда умумий нитрогеназа фаоллиги (битта ўсимликка нисбатан ҳисобланганда) ошган бўлса, специфик нитрогеназа фаоллиги (тугунаклар массасига нисбатан) камайган бўлади.

Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, кўплаб Nod^{++} мутантларда ўсимликларининг ер устки массасининг пасайиши кузатилади. Бу энергиянинг катта қисмини азотфиксация қилувчи жуда кўплаб тугунакларга сарфланиши билан изоҳланади. Шундай қилиб, мазкур мутантлар мисолида эндосимбионтларнинг миқдорини назорат қилиш ўзаро муносабатнинг мутуалитик характерини сақлаб туришда муҳим шарт-шароит эканлиги ойдинлашади. Агар шериклар орасидаги бундай назорат камайтирилса, гарчи асосий биокимёвий жараён, яъни симбиознинг асоси (N_2 нинг ўзлаштирилиши) бузилмаса-да, бу муносабат паразитизмга ўтиши мумкин.

Азотнинг ўзлаштирилиши. Симбиознинг якунловчи босқичи, яъни, ризобийларнинг азотни фаол ўзлаштирилиши ва жараён маҳсулотини ўсимликка экспорти кўплаб дуккакли ўсимликларда бактерияларнинг эндоцитози ва бактериодларнинг шаклланишидан сўнг бошланади. Бактериодларда нитрогеназа ферменти синтези фаоллашиб, у умумий оқсилнинг 30% гача булган миқдорини ташкил этиши мумкин. Бироқ нитрогеназанинг ҳосил бўлиши тугунакларнинг симбиотик азотфиксация

аъзоси сифатида фаолият юритишида асосий, лекин ягона жараёни эмас. Жараённинг бошқа хил аҳамиятлилари сифатида: нитрогеназанинг молекуляр кислороддан химоя тизимини шаклланиши, нитрогеназа комплексининг энергетик эҳтиёжларини қондирилиши ва азотфиксация маҳсулотлари ассимиляциясини кўрсатиш мумкин. Бу жараёнларнинг барчаси ўсимлик ва бактериялар билан бирга амалга оширилганлиги учун симбиознинг шериклари ўртасида структуравий ва функционал уйғунлашувни таъминланади.

Нитрогеназа комплексининг биогенези. Азотни ўзлаштирувчи бошқа микроорганизмлар сингари ризобийларда нитрогеназа оқсили таркибини кодирлайдиган *nifHDK* генлари, шунингдек, унинг кофакторлари шаклланиши, синтези ва етилиши жараёнларини бошқарилишига бошқа хил *nif*-генлар мавжуд. Ризобийларда ва симбиотик бўлмаган азотфиксаторларда нитрогеназа таркиби генлари транскрипцияси *nifA*- гени орқали фаоллашади.

5.4-жадвал.

Симбиотик азотфиксацияни таъминлайдиган асосий биокимёвий жараёнлар

Жараёнлар	Шерикларнинг ҳиссаси	
	микросимбионт	ҳўжайин
Нитрогеназа жараёни биогенези	Нитрогеназанинг кофакторлари ва оқсиллари синтези (<i>nif</i> -генлар), регулятор каскади (<i>FixLJ</i> + <i>FixK</i>) шаклланиши	Нитрогеназа генларининг бошқа-рилиши эҳтимоли (турли ўсимликларда <i>nif</i> -генлар индукциясининг ўзига хослиги тўғрисидаги дастлабки маълумотлар мавжуд)
Нитрогеназанинг кислороддан химояланиши	Икки компонентли регулятор тизими <i>FixL J</i> ва транскрипцион активатор <i>nifA</i>	Леггемоглобин оқсили ва кислородли тўсиқ

Тугунак энергетик эхтиёжларининг кондирилиши	Дикарбон кислоталар (<i>dct</i> -генларнинг) бактероидларга транспорти, тугунакка хос цитохромоксидаза <i>cbb₃</i> нинг синтези (<i>fixNOQ</i> , <i>fix</i> <i>GHIS</i> -генлари)	Кўп микдордаги фотосинтат (сахароза) ларнинг тугунакларга томон транспорти, C- метаболизмнинг тугунакка хос изоферментлари синтези
Азотфиксация маҳсулотлари ассимиляцияси	Аммонийнинг ўсимлик хужайрасига экспорти (қисман аланин шаклида)	N-метаболизмнинг тугунакка хос изоферментлари синтези

Шу билан бирга ризобийларда симбиотик азотфиксацияга хос бўлган, яъни, *fixL*, *fixJ* ва *fixK* генларидан ташкил топган бошқарув тизими аниқланган. *fixLJ* генлари икки компонентли регулятор тизими (*fixL* мембрананинг оксил-сенсори, киназа ва фосфатаза фаолликларига эга, FixJ – транскрипциянинг цитоплазматик фосфорилланган регулятори) ни кодирлайдилар. Бундай бошқарув тизимининг фаоллиги фақат микроаэрофил шароитларда амалга ошади, чунки FixLO₂ сенсори вазифасини бажаради, бу гем иштирокидагина амалга ошади. FixK оксили - Csr-Fnr оиласига кирадиган транскрипцион регулятор. Ризобийларда азотфиксацияни бошқарув тизими, нитрогеназининг таркибий генларидан ташқари, *dctABD* (улар азотфиксация жараёнининг асосий энергия манбаи бўлган дикарбон кислоталарнинг бактероидларга транспортини кодирлайдилар), *fixNOPQ* ва *fixGHIS* (бактероидларнинг нафас олиш занжирида электронлар транспортини таъминлайдиган *cdd₃* типдаги бактероид цитохромоксидазаси синтезини кодирлайдиган) генларнинг экспрессиясини ва геннинг биосинтезини назорат қиладилар.

nif – генлар бошқарув тизимидан фарқли равишда симбиотик бўлмаган азотфиксаторлар ризобиал тизими *nif*-генларнинг боғланган азот билан репрессияси учун жавобгар, яъни *Klebsiella* нинг *nifH*- генига хос бўлган

элементларни сақламайди. Бу тугунаклардаги азотни ўзлаштириш жараёни боғланган азот миқдори ортиқча бўлган шароитлардагина амалга ошиши билан боғлиқ, тугунакларнинг ҳосил бўлишини ва боғланган азот миқдори меъёридан ошиқ бўлганда, азотфиксация жараёнини бошқаришни хўжайин-ўсимлик амалга оширади.

Нитрогеназининг кислороддан химоя қилиниши. Тугунакларнинг фаолият юритиши учун зарурий шароит уларда анаэроб муҳитнинг сақлаб турилишидир, чунки бактериялар томонидан синтезланадиган нитрогеназа кислород таъсирида тез ва қайтмас даражада фаоллигини йўқотади.

Бироқ оксидланган фосфорилланишнинг юқори даражасида анчагина кўп миқдорда энергия талаб қиладиган азотфиксация жараёни содир бўлади, унинг учун бактериялар цитохромоксидазаларга O_2 нинг катта миқдори келиб тушиши зарур. Иккала шериклар генетик тизимларининг мувофиқлашган фаолияти натижасида ҳосил бўладиган «кислородли парадокс» масаласи ечилади. Бактерияларда нитрогеназа синтезининг кислородга сезгирлиги FixLJ ва NifA тизимлари даражасида амалга оширилади. Ўсимликлар, шунингдек, азотфиксацияни «кислороддан химоялаш» икки хил механизм: а) тугунакларнинг кислороддан химояланишида пўстлоқ ичи муҳим роль ўйнаб, қопловчи тўқималарида кўп компонентли диффузион тўсиққа; б) кислородни боғлаб ва симбиосомаларга ташилишини таъминлайдиган гемоглобинсимон оксил – леоглобин (у тугунаклар умумий оксилларининг 30%гача миқдорини ташкил этади) га эга.

Узоқ вақт леоглобин синтезини симбиознинг молекуляр даражаси сифатида қаралган. Полипептидли (глобин) қисми ўсимлик генлари, ген қисми – микросимбионт генлари томонидан кодирланади, деб ҳисоблаб келинган. Бу фикр ризобийларнинг азотфиксация қилиш хусусиятига эга бўлмаган аминолевулин кислотаси синтези бўйича дефектли мутантлари, гем ёки унинг оралиқ шакли, тўғрисидаги маълумотларга асосланган эди. Бироқ кейинги тадқиқотларнинг кўрсатишича, леоглобиннинг иккала қисми ҳам ўсимлик хужайралари томонидан синтезланар экан. Тугунакларда

жойлашган бактероидлар ҳам гемни синтезлайди, лекин унинг азотфиксациядаги иштироки нитрогеназага электронлар транспортини таъминловчи цитохромлар биогенезидан иборат бўлади.

Дуккакли ўсимликларда леоглобин синтези ўзаро бириккан бир нечта *lb*-генлари оиласи иштирокида кодирланади. Ҳозирги вақтда мазкур генларнинг структуравий – функционал ташкиллашуви ўрганилган: уларнинг интрон – экзон структураси аниқланган, промоторларнинг ташкилланишини *lb* -генларнинг тугунакларга экспрессияси, кўп ҳолларда, иккала шерикларнинг регулятор сигналларига асосланади. Бу ҳақда баъзи бактериялар промоторларда гомологик ва сигнал молекулаларга нишон бўлиб хизмат қиладиган, ўсимлик хўжайраларига бактериялардан келиб тушадиган мазкур генлар кетма-кетликларининг промоторларда мавжуд бўлиши далолат беради. Шунингдек, леоглобин генлари промоторлари билан муносабатга киришадиган, бактериялар ДНКни боғловчи оксилларни ҳам аниқлашга эришилган.

Эндосимбиотик бактериялар тугунаклардаги микроаэрофил шароитларга боғлиқ равишда интенсив нафас олиш (бусиз симбиотик азотфиксациянинг юқори фаоллигига эришиб бўлмайди) ва нитрогеназанинг фаол ишлаши каби жараёнларни уйғунлаштириш муаммосига дуч келади. Бу ризобийларда тармоқланиб кетган электрон транспорт занжири борлиги туфайли таъминланади, унда баъзи компонентлар аэроб шароит (*exp-lanta*) да ишласа, баъзилари анаэроб (микроаэрофил) шароитларда, шунингдек тугунакларда фаолият юритади. Симбиоз учун бу занжирларда *fixNOQ* ва *fix GHIS* генлари кодирлайдиган цитохромоксидаза *cbb₃* муҳим роль ўйнайди. Бу генлардаги мутациялар симбиотик азотфиксацияни издан чиқаради, лекин эркин яшовчи бактерияларнинг нафас олиш фаоллигига таъсир кўрсатмайди. Шу билан бир вақтда, ризобийлардаги бошқа хил цитохромоксидазалар шаклланишини издан чиқарадиган мутациялар симбиотик азотфиксацияга таъсир ўтказмайди.

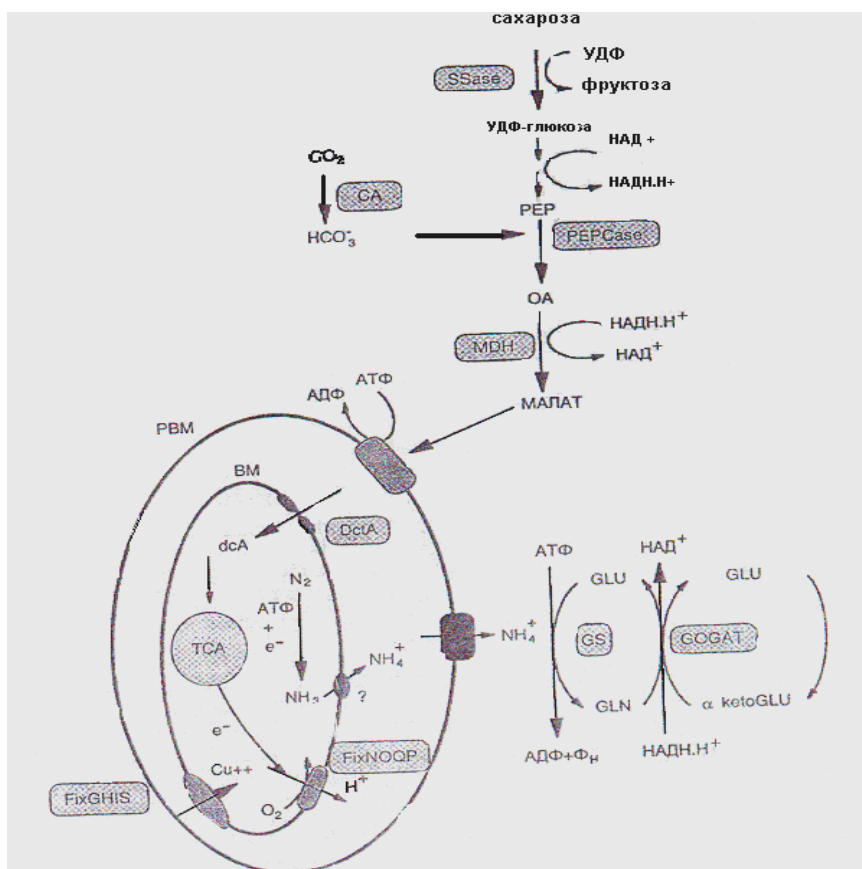
Азотфиксациянинг энергетик таъминоти. Симбиотик

азотфиксациянинг асосий энергия манбаи ўсимликнинг ер усти қисмларида амалга ошириладиган фотосинтез жараёнидир. Фотосинтатлар тугунакларга сахарозага ўхшаш шаклда транспорт қилинади. Шундан сўнг ўсимлик сахароза катаболизмини анаэроб босқичи (гликолиз) ни амалга оширади, бу жараён давомида кўп миқдорда энергия ажралиб чиқади. Микросимбионтнинг улушига катаболизмнинг анчагина энергетик самарадор қисми – уч карбон кислоталар цикли (УКЦ) ни амалга ошириш тўғри келади. Бактероидларга ҳўжайин – ўсимликдан тушадиган асосий углеводлар C_4 дикарбон кислоталари (асосан сукцинат ва малат) ҳисобланади, улар УКЦ да бевосита иштирок этадилар. Шунинг учун бактериоидларнинг нитрогеназа тизими интенсив фаолияти бактериоидларга дикарбон кислоталарнинг ташилишини таъминлайдиган генлар билан маълум даражада боғлиқдир. Бу жараёнда учта ген *dctA* (мембранавий сукцинат пермеазани кодирлайдиган), *dctB* ва *dctD* (*dctA* транскрипциясини белгилайдиган, икки компонентли регулятор тизим оқсилларни кодирлайдиган) генлари асосий ўрин эгаллайди. *DctB* оқсили сенсор ҳисобланиб, у бактериоидлар мембранасига жойлашиб олиб дикарбон кислоталарга сезгирдир. *dctD* гени эса *dctA* гени промотори билан муносабатга киришиб, унга РНК-полимеразанинг ўрнашишини осонлаштиради. Шунини таъкидлаш лозимки, дикарбон кислоталар транспорти тизими симбиотик азотфиксациянинг интенсивлиги миқдорини чекловчи «нозик нуқта»лардан биридир. Бу ҳақда азотфиксациянинг фаоллиги ва симбиознинг самардорлигини ризобийларга *dct*-генларини қўшимча нусхаларини киритиш орқали сезиларли даражада ошириш мумкинлиги далолат беради.

Тугунакларнинг энергетикаси ҳўжайин-ўсимлик томонидан С-метаболизмининг тугунакка хос фермент изоформалари синтези туфайли таъминланади. Улар орасида сахарозани уридиндифосфат иштирокида гидролизлайдиган сахарозасинтетаза (SS) марказий ўринлардан бирини эгаллайди. Соя ўсимлиги тугунакларида эрувчан цитозол оқсиллари умумий

микдорининг 3-4%ини SS ташкил этади. Гидролиз натижасида ҳосил бўлган гексоза (глюкоза ва фруктозалар) катаболизмнинг оддий йўли –гликолизга учрайди. Бунда муқобил-пентозофосфат цикли иккиламчи аҳамиятга эгадир (5.6-расм).

Тугунакларда азотнинг ўзлаштирилиши микдорини белгилайдиган - асосий омиллардан бири тугунаклардаги углерод микдори бўлиб ҳисоблангани учун фосфоенолпируваткарбоксилаза (PEPC) катализлайдиган CO₂ нинг нофотосинтетик (қоронғудаги) ўзлаштирилиши муҳим аҳамият касб этади: фосфоенолпируват + CO₂ = малат. Бу реакция бактериодларга малат ва бошқа энергетик субстратлар таркибидан келиб тушадиган углерод атомининг 25 % ига яқин микдорининг манбаи ҳисобланади. Шундай қилиб, PEPC фаолияти туфайли тугунакларда фаол кечадиган, нафас олиш жараёнида ажралиб чиқадиган карбон кислоталарнинг асосий қисми рециклга учрайди.



5.8 – расм. Азот ўзлаштирилувчи симбиоз муносабат шаклланишида шерикларнинг метаболитик интеграцияси.

Ssase-сахарозосинтетаза, PEP-фосфоенолпируват, PEPCase-фосфоенолпируват-карбоксилаза, ОА-оксалоацетат, MDH-малатдегидрогеназа, DctA-сукцинатпермиаза, GS-глутаминсинтетаза, GOGAT-глутаминситаза, dcA-дикарбонкислоталар (сукцинат, малат), TCA-уч карбон кислоталар цикли, GLU-глутамин, GLN-глутамат, α keto- GLU α -кетоглутарат, FixGHIS ва FixNOQP- бактеоидлар учун махсус цитохромлар, PBM-перибактероид мембрана, BM – бактериоид мембранаси.

Ўзлаштирилган азотнинг ассимиляцияси. Тугунакларга келиб тушадиган С (углерод)-бирикмалари азотфиксация учун фақат энергия манбаи бўлибгина қолмай, балки фиксация қилинган азотнинг ассимиляцияси учун углеродли «скелет» вазифасини ҳам ўтайди. Азотфиксация жараёнида ҳосил бўлган аммоний бактериоидлардан тугунакларнинг ўсимлик хужайралари цитоплазмасига эркин шаклда ёки аланин (бу бактериал аланин – дегидрогеназа фаоллиги натижасида ҳосил бўлади) таркибидан келиб тушади. Ўзлаштирилган азот ўсимлик хужайралари метаболизмига ўтади. Бунда азотнинг дастлабки ассимиляцияси (аммонийнинг хужайра метаболизмига қўшилиши), ўзлаштирилган (тугунаклардан илдизнинг ўтказувчи қисмига ўтадиган) азотнинг транспорт шакллариининг ҳосил бўлиши ва ўзлаштирилган азотнинг транслокацияси (унинг ўсимлик турли аъзолари ўртасида қайта тақсимланиши) каби босқичлар фарқланади. Дастлабки ассимиляция ва ўзлаштирилган азотнинг транспорт шакллари ҳосил бўлишида ўсимлик томонидан синтезланадиган азотли алмашинувнинг тугунакка хос фермент шакллари муҳим рол ўйнайди.

5.5-жадвал.

Азотфиксация қилувчи тугунакларга хос ўсимлик ферментлари

Ферментлар	Ўсимликлар	Тугунакларда фаолликни оширадиган механизмлар
Углеродли алмашинув		
Сахарозосинтетаза	Соё	Янги изо шакл (нодулин N-100) синтези

Малатдегидрогеназа	Бўри дуккаги, нўхат	Янги изо шакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Алкогольдегидрогеназа	Люпин (бўри дуккаги)	Тўрт хил янги изошакл (нодулинлар) синтези
Лактатдегидрогеназа	Люпин (бўри дуккаги)	Тўрт хил янги изошакл (нодулинлар) синтези
Фосфенолпируват- карбоксилаза	Нўхат, дуккаклар, ловия, беда, бўри дуккаги	Янги изо шакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
фосфофруктокиназа	Бўри дуккаги	Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Азотли алмашинув		
Глутаминсинтетаза	Ловия, беда, нўхат, соя	Янги изошакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
NADH га боғлиқ глутаматсинтаза	Ловия, бўри дуккаги	Янги изошакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Asp-аминотрансфераза	Беда, нўхат, бўри дуккаги	Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Gln га боғлиқ аспарагинсинтетаза	Бўри дуккаги, соя, беда, дуккакдилар, нўхат	Nst шакл AS1 ва AS2 синтези кучайиши
Уриказа	Соя, ловия	Янги изошакл (нодулин) синтези

Ўсимлик ҳужайраларида аммонийнинг бирламчи ассимиляцияси «глутаматсинтаза цикли» глутаминсинтетаза (GS) ва NADH га боғлиқ глутаматсинтаза (NADH-GOGAT) ферментлари билан назорат қилинадиган

реакциялар билан бошланади. GS ловия ўсимлиги тугунак бактерияларидан ажратиб олинган бўлиб, молекуляр оғирлиги бир хил – 40 кД га яқин суббирликлардан ташкил топган октамер ферментдир. Уч хил изофермент (GS_{N1} , GS_{N2} , GS_{L2}) аниқланган бўлиб, уларнинг иккитаси цитоплазмада, учинчиси зарарланган ўсимлик хужайраларининг пластидаларида жойлашган. Бунда фақат GS_{N1} , аниқроғи унинг суббирликларидан фақат биттаси тугунакка хос изошакл (нодулин) ҳисобланади.

Тугунакка хос GS дан фарқли ўлароқ глутаматсинтетаза циклининг иккинчи ферменти ўсимлик хужайралари пластидаларида жойлашган NADH-GOGAT ҳисобланади. Шундай қилиб, тугунак бактериялар хужайраларида глутаматсинтетаза цикли ферментларининг алоҳидаланиши (GS-цитоплазмада, NADH-GOGAT пластидаларда) аниқланган. Кўплаб маълумотларнинг кўрсатишича, фиксация қилинган азот ассимиляцияси миқдорини белгиловчи босқич айнан NADH-GOGAT томонидан катализланадиган реакция ҳисобланади: NADH-GOGATнинг энг фаол тугунакларда ҳам активлиги юқори эмас. Нофаол тугунакларда ҳам мазкур ферментнинг активлигини (шунингдек унинг м-РНКсини) аниқлашга кўпинча муваффақ бўлинмаган. Тугунак ҳосил бўлишида индуцирланадиган беда ва нўхат тугунагининг NADH-GOGATи оғирлиги 200 кД дан ортиқ биргина молекула сифатида қайд этилган. Ловия тугунакларида NADH-GOGATнинг иккита изоферменти синтезланиб, уларнинг биттаси тугунак-стимуловчи ҳисобланади.

Глутаминдан ташқари, мўътадил иқлим минтақаларида тарқалган кўплаб дуккакли ўсимликлар (масалан, беда ва нўхат) да азотнинг ташиладиган шакли амидлар, асосан – аспарагин ҳисобланади. Бу дуккаклиларни «амидли» типга киритилади. Бошқа дуккаклилар (ловия, соя, вигна) да азотнинг ташилиши уреидлар - аллатоин ва аллатоин кислота шаклида амалга оширилади. Бу дуккаклиларни уреидли типга киртилади.

«Амидли» дуккаклиларда ўзлаштириладиган азотнинг барча асосий ассимиляция реакциялари симбиосомалар сақлайдиган хужайраларда кечади.

Бунда аспартатнинг оралиқ маҳсулоти-аспарагин ҳосил бўлиши реакциясини катализлайдиган аспартатаминотрансфераза (ААТ) алоҳида роль ўйнайди. «Уреидли» тугунаклар метаболизмида уриказа ферменти муҳим аҳамият касб этади. У уреидлар биосинтезининг охириги босқичларидан бири – пуринлар оксидланганда ҳосил бўладиган сийдик кислотасининг оксидланиши натижасида аллатоин ҳосил бўлишини амалга оширади.

Ўсимликларнинг цианобактериялар билан симбиоз муносабати

Азотни ўзлаштирувчи цианобактериялар бир қатор ўсимликлар, жумладан, ёпиқ уруғлилар, очик уруғлилар, қирққулоқлар, йўсинлар ва ҳатто бир хужайрали денгиз диатом сув ўтлари билан ҳам симбиоз муносабатга киришади. Энг кўп ўрганилганлари гетероцистали цианобактериялар *Anabaena* (*Nostoc*)нинг сув қирққулоғи *Azolla*, шунингдек, *Nostoc* нинг гулли *Gunnera* ва *Anthoceros* ўсимлиги билан эндосимбиоз муносабатидир. *Nostoc-Gunnera* симбиози хужайра ичи симбиозига мисол бўлса, қолганлари – хужайра ташқариси симбиозидир (*Azolla* да цианобактерия барг юзасида жойлашса, *Anthoceros* талломнинг ён томонидаги бўшлиқларда бўлади).

Микроорганизмлар боғланган азотсиз муҳитда ёруғликда ҳам (минимал озиқа муҳитида, яъни автотроф С-ли озиқланишда), қоронғуда ҳам (углерод манбалари мавжуд муҳит, яъни гетеротроф С-озиқланишда) ҳам диазотроф равишда ўса олади. Бу симбиотик цианобактерияларда азотфикация билан боғлиқ жараёнларни генетик таҳлил қилишда кенг имкониятлар очади. Ўсимликлар учун цианобактериялар билан муносабатда симбиозга қарамлик турли даражада ифодаланади: *Azolla* учун у облигат бўлса, *Gunnera* ва *Anthoceros* учун – факультативдир.

Азотни ўзлаштирувчи цианобактериялар билан симбиозларнинг баъзилари экологик ва қишлоқ хўжалик аҳамиятига эгадир. Шоли етиштиришда «*Azolla-Anabaena*» тизими азот манбаи сифатида юқори самарадорликка эга. «*Nostoc-Gunnera*» симбиозини эса дуккакли бўлмаган ўсимликларнинг кенг ҳажми учун азотни ўзлаштиришда симбиотик

муносабат ҳосил қилиш хусусиятини бериш учун модел сифатида қараш мумкин.

Хужайравий ихтисослашуви. *Anabaena* азотсиз муҳитга кўчириб ўтказилганда унинг ипи бўйлаб тартибсиз жойлашган хужайраларининг 10% гетероцисталарга қадар ихтисослашади. Бу хужайралар ҳажми жиҳатдан йириклашиб, цитоплазмага эркин кислород ўтишини тўсиб қўядиган қалин қобик билан ўралади. Гетероцисталарда фотосинтез жараёни бормайди, натижада азотни ўзлаштириш учун микроаэрофил шароит вужудга келади. Бу цианобактерияларга аэроб шароитларда ҳам азотни ўзлаштиришга имконият яратади.

*Anabaena*да гетероцисталарнинг шаклланишини назорат қиладиган генларнинг мураккаб тизими аниқланган. Улар орасида *hetR* гени кўпроқ ўрганилган бўлиб, унинг инактивацияси гетероциста ҳосил қилиш хусусиятининг йўқолишига олиб келади. *hetR* гени бўйича мутантлар азотсиз муҳитда микроаэрофил шароитларда ўстирилганда азотни ўзлаштира олса, аэроб шароитларда ўзлаштира олмайдилар. Агар *hetR* генини кўп нусхали плазмидалар таркибига амплификация қилинса ёки «кучли» промотор таъсири остида унинг экспрессиясини кучайтирилса, аммоний тузлари мавжуд озика муҳитларида ҳам гетероцисталар ҳосил қилиши индуцирланади.

Anabaena штаммига кўп нусхали *hetR* генини киритиш орқали қўшимча гетероцисталар ҳосил қилмайдиган транспозонли мутантларни олиш мумкин. Мазкур мутантларда транспозон инсерциялари *patA* ва *patB* генларида жойлашган. *patA* генидаги мутациялар хужайра ихтисослашуви жараёнларининг ғайриоддий бузилишларига олиб келади: гетероцисталар хужайра занжири охирларидагина ҳосил бўлади. *patB* гени мутациялари гетероцисталар ҳосил бўлишини тўхтатиб қўйилишга олиб келади: агар *Anabaena* 7120 «ёввойи» штаммида бу ҳодиса азотсиз муҳитга олиб ўтилгандан сўнг 24 соат ўтгач бошланса, *patB* мутантларида 48 соат ўтиб бошланади. Бироқ мутант штаммларни азотсиз муҳитга бир неча марта экилгандан сўнг гетероцисталарнинг умумий миқдори ёввойи штаммга

нисбатан ортади. *patB* мутациясини *patA* мутациялар (ёки *hetR* гени бўйича кўп нусхалиликни) бирга қўшилганда цианобактерия нобуд бўлади.

*Anabaen*нинг баъзи мутациялари нитрогеназани кислороддан ҳимоя қила олмайдиган морфологик жиҳатдан нормал гетероцисталарни ҳосил қилади. Шунинг учун мазкур мутантларда микроаэрофил шароитларда азотфиксация қилиш хусусияти бузилмаган бўлса, аэроб шароитларда уни амалга ошириш мумкин эмас. Бу мутациялар ёрдамида гетероцисталарнинг хужайра деворида гликолипидлар тўпланишини назорат қиладиган *hglB*, -C, -D, -K генлари оиласи аниқланган. Тахмин қилинишича, бу генлар O₂ нинг гетероцисталарга диффузияланишига тўсқинлик қилувчи, хужайра девори гликолипидлари таркибига кирадиган мой кислоталари синтезини кодирлайдилар.

Молекуляр ихтисослашув. *Anabaen*нинг азотфиксация қилишга ўтиши, CO₂ни фиксациясини назорат қилувчи генлар репрессияси билан кузатилади, бунинг натижасида гетероцисталарда молекуляр O₂ ажралиб чиқиши тўхтатади. Бундан ташқари аммонийнинг ассимиляцияланиши учун зарур бўлган азот метаболизмининг баъзи генлари (масалан, *glnA*) фаоллашади. Мазкур жараён натижасида ҳосил бўлган глутамин цианобактерияларининг вегетатив хужайраларига транспорт қилинади ёки хўжайин организмга кўчириб ўтказилади.

Гетероцистали цианобактерияларнинг азотфиксация қилувчи тизимидаги нодир хусусият нитрогеназа синтезига олиб келувчи *nif*-генларнинг қайта қурилишидир. *Anabaen*нинг вегетатив хужайраларида нитрогеназанинг синтези амалга ошиши мумкин эмас, чунки *nifD* гени таркибида ўлчами 11 м.н.ж. бўлган ДНК бўлаги жойлашган. Бу бўлак эндонуклеазани кодирлайдиган *xisA* гени тутади. Гетероцисталар дифференциалланишида эндонуклеаза фрагментлар жойидан қирқади, шундай қилиб, *nifD* генининг яхлитлиги тикланиб, *xisA* гени экстрахромосома ҳолатига ўтади. Шунингдек, *xisA* гени *nifC* ва *fdxN* генлари оралиғида жойлашган ўлчами 55 м.н.ж. бўлган яна бир ДНК бўлаги

эксцизиясини белгилайди. Бунинг натижасида азотни ўзлаштирувчи гетероцисталарда учта алоҳида генлар гуруҳидан еттита гендан ташкил топган ва нитрогеназа комплексини кодирлайдиган ягона оперон ҳосил бўлади.

Шуни ҳам қайд этиш лозимки, *Anabaena* гетероцисталарида *nif* генларнинг қайта қурилиши гетероцисталар морфогенезини назорат қилувчи генлардан маълум даражада мустақил амалга ошади. *hetR* гени бўйича мутантларда бу қайта қурилиш анаэроб шароитларда нормал кечади, у нитрогеназа фаоллиги индукцияси жараёни билан ўз ифодасини топади. Ўз навбатида нитрогеназанинг структуравий генлари (*nif*/ДНК) ни инактивацияловчи ёки ДНК (*xisA*) процессингини издан чиқарадиган мутациялар, азотни ўзлаштириш хусусиятини йўқолишига сабаб бўлади, лекин азотсиз муҳитда гетероцисталарнинг шаклланиш сақланиб қолади.

Симбиоз тараққиёти. Азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг ўсимликлар билан симбиози тараққиёти «*Nostoc- Gunnera*» тизими мисолида яхши ўрганилган бўлиб, мазкур тизимнинг ташкил топиши иккала шерик учун факультатив ҳисобланади. Бу организмларнинг ўзаро муносабати юқори спецификликка эга эмас: *Gunnera*дан ажратиб олинган *Nostoc* штаммлари нафақат шу ўсимлик, балки очик уруғли *Macrozamia*, *Anthoceros* ўсимликлари ва ҳатто *Peltigera* лишайниги билан ҳам симбиоз ҳосил қила олади. Шунингдек, *Nostoc*нинг барча изолятлари ҳам симбиотик тизимни ҳосил қила олмайдилар.

Цианобактериялар барг бандлари орасида жойлашган махсус безчаларда яшайди. Бу безлар папиллаларга эга бўлиб, уларнинг орасида ўсимлик тўқималари тубига олиб борадиган каналчалар мавжуд бўлади. Безчага мувофиқ келувчи цианобактерия штамми келиб тушиши билан иккала шерикларда бир қатор морфогенетик жараёнлар индуцирланади, улардан биринчиси безчалар тубига фаол кириб борадиган цианобактерияларнинг ҳаракатчан шакллари – гормогонийлар (гетероцисталар сақламайдиган ҳаво

вакуолаларидан ташкил топган (майда хужайралардан иборат калта ипчалар) ҳосил бўлишидир.

Симбиотик безчалар ичига кириб борган цианобактериялар фаол кўпая бошлайди ва ўсимлик хужайраларини зарарлайди. Шерикларнинг ўзаро алоқаси кучли жойларда ўсимлик хужайра девори эриб кетиши (лизиси) кузатилади. Шундан сўнг эндосимбионтлар ўсимлик хужайраларига кириб олади, хужайра деворлари эса ўзининг яхлитлигини тиклайди. Ўсимлик хужайралари ичида цианобактериялар гетероцисталарга қадар ихтисослашиб, уларда нитрогеназа фаоллиги индуцирланади. Эндосимбиотик цианобактерияларда гетероцисталар 60-80% гача хужайра ҳосил қилса, эркин яшовчиларда бу кўрсаткич 5-10% ни ташкил этади. Gunneraнинг симбиотик безчалари ичида эркин яшовчи цианобактерияларга хос ҳаракатсиз спора (акинетлар) ҳосил бўлиши кузатилмайди.

Gunnera билан симбиозда цианобактериялар нитрогеназа реакциялари натижасида ҳосил бўлган аммонийни ассимиляция қилмайди, балки уларни ўсимлик хужайраларига етказиб беради. Бу симбиотик тизимда (худди дуккаклилар ва ризобийлар ўртасидаги симбиоз каби) аммонийнинг бирламчи ассимиляциясини хўжайин ўсимлик амалга оширади.

Азотни ўзлаштирувчи симбиотик биотизимлар генетик асослари ва эволюцияси концепцияси

Ўсимликларнинг азотфиксаторлар билан симбиози ўсимлик микроорганизм муносабатининг энг кенг тарқалган ва чуқур ўрганилган шаклларида бири ҳисобланади. ҳосил бўлган симбиозлар ўзининг асосига кўра икки томон учун ҳам фойдали (мутуалистик) бўлиб, бироқ баъзи шароитлар (муҳитда боғланган азот миқдорининг кўплиги, етарли бўлмаган озикланиш, генетик ўзгаришлар)да бу муносабат паразитизмга ўтиши ҳам мумкин. Бундан ташқари, дуккаклиларнинг ризобийлар билан муносабат механизмлари ўсимликлар билан фитопатогенлар билан муносабатига ўхшаб умумий босқичларга эга. Шундай қилиб, азотфиксацияловчи симбиозларни

ўрганиш бундан 25 йил илгари Антон Де Бари таклиф этган симбиоз концепциясининг тўғри эканлигини тасдиқлайди. Бу олим симбиознинг асосий хусусияти унинг «фойдали» ёки «зарарли» лигида эмас, балки шериклар ўртасидаги алоқанинг узоқ давом этишидадир, деб ҳисоблашни таклиф этган. Бундай ёндашув симбиотик тизимларни организмдан юқори мўътадил комплекслар сифатида, яъни, бу тизимга кирган организмлар эркин яшаган ҳолатида эга бўлмаган янги экологик ва метаболитик имкониятларга эришадилар, деган қарашни юзага келтиради.

Икки хил типдаги азотни ўзлаштирувчи тизимлар – дуккакли-ризобиал симбиозининг ва цианобактерияларнинг ўсимликлар билан симбиози генетик назорати тўғрисидаги маълумотларга таққослаб кўриб, бу муносабатларга хос бир қатор умумий белгиларни кўриш мумкин. Биринчидан, симбиознинг иккала гуруҳи ҳам шерикларнинг сигнал муносабатига асосланади, сигналлар эса бевосита генлар экспрессиясига таъсир кўрсатади. Бунинг натижасида симбиотик тузилмаларнинг морфогенези ва ўсимликлар билан бактерияларнинг метаболитик узвий интеграциясига олиб келадиган шериклар генларининг мувофиқлашган бошқарилуви ва дифференциал экспрессияси кузатилади. Иккинчидан, ҳар иккала тизимда ҳам ўзаро муносабатларнинг асосий самараси – азотфиксация ва симбиоз тузилмалари тараққиёти турли ген тизимлари билан назорат қилинади ва уларни генетик усуллар орқали алоҳида-алоҳида таҳлил қилиш мумкин.

Шу билан бирга кўриб чиқилган тизимлар ўртасида қатор фарқлар мавжудлиги ҳам равшандир. Биринчи фарқ шундан иборатки, цианобактериялар азотни тоза културада фототрофлик билан мувофиқлаштирган ҳолда ўзлаштира, ризобийларнинг кўпчилиги тоза културада азотни ўзлаштира олмайди, фототроф ҳам эмас. Шунинг учун ҳам цианобактерияларда азотфиксация қилувчи ҳужайра шакли – гетероциста ҳосил қилишнинг махсус механизми мавжуд, унда фотосинтез амалга ошмайди, нитрогеназининг ҳимояси эса қалин ҳужайра девори орқали таъминланади. Цианобактерияларда гетероцисталарнинг ихтисослашувини

таъминлайдиган мураккаб генлар тизими мавжуд, у диазотроф яшашга мосланиш орқали шаклланган бўлиб, бироқ симбиотик тизимда фойдаланилади. Ризобийларда цитодифференциалланиш одатда фақат *in planta* шароитида амалга ошиб, нитрогеназининг кислороддан химоя қилиш билан боғлиқ эмас.

Азотфиксация қилувчи симбиозларнинг келиб чиқиши ва эволюцияси ҳақидаги масала ғоятда муҳимдир. Сўнгги йилларда дуккаклиларнинг симбиотик генлари молекуляр структураси ҳақидаги маълумотлар бу масалага ойдинлик киритиш имкониятини беради. Масалан, лядвинец (*Lotus japonicus*) да *nif* гени аниқланган бўлиб, ундаги мутациялар тугунакларнинг Ҳосил бўлмаслиги (инфекция иплари тараққиётини тўсиб қўйилиши) га олиб келади, бироқ ўсимликларнинг бошқа аъзолари тараққиётига таъсир кўрсатмайди. Бу геннинг оқсил маҳсулоти азот етишмаслиги (азотли очлик) шароитида гаметогенезни назорат қиладиган *Mid Chlamydomonas* омилига ўхшаш бўлиб чиқди. Шундай қилиб, мазкур ген симбиотик тизимда эволюцион қадимги, яъни, метаболитик стресс (азот етишмаслиги) таъсирида амалга оширадиган тараққиёт жараёнларини бошқариш вазифасини сақлаб қолганлиги аниқланди. Шунга ўхшаш турли нодулинлар ва Nst-оқсиллари синтези тизимлари ҳам эволюцияга учраган бўлиши мумкин. Тугунаклар ҳосил қилмайдиган кўплаб ўсимликларда леггемоглобин генларининг ўхшашлари аниқланган бўлиб, бу ген маҳсулотлари леггемоглобин сингари кислородни боғлаб олиб, унинг сенсори вазифасини бажаради. Деярли барча нодулинларнинг гомологлари, шунингдек, С - (углеродли) ва N- (азотли) метаболизмнинг тугунакка хос ферментлари, тугунаклар ҳосил қилмайдиган ўсимликларда аниқланган ёки дуккакли ўсимликларнинг ер устки қисмларида фаолият юритади. Бундан келиб чиқадики, молекуляр генетик жиҳатдан симбиоз эволюцияси симбиоз билан боғлиқ бўлмаган функцияларни бажарадиган анцестрал генларни ўсимлик-микроб муносабатлари бошқарув тизимига жалб этилиши сифатида қараш мумкин.

5.6-жадвал.

Азотни ўзлаштирувчи ўсимлик-микроб симбиоз муносабати икки хил
типининг қиёсий таҳлили

Белгилар	Дуккакли ризобиал симбиоз	«Цианобактерия -ўсимлик» симбиозлар
Микроорганизмларга дастлабки ўсимлик сигналлари таъсири	Nod-генларнинг (ўсимлик флавоноидлари таъсири остида) фаоллашуви	Ҳаракатчан гормогонийларнинг шаклланиши
Микросимбионтларнинг цитодифференциаллашуви	Фақат ўсимликларда (бактероидлар)	Ўсимликларда ва тоза културада (гетероцисталар)
Нитрогеназанинг кислороддан ҳимояланиши	Бактериялар билан (NifA ва FixJ оксиллари) ўсимликлар орасида (легоглобин, тугунак тўқималарида диффузион тўсиқ)	Фақат бактериялар билан (гетероцисталар)
Микробларни азотфиксацияга ўтишида <i>nif</i> - генлар ташкил- лашувининг ўзгариши	Аниқланмаган	Аниқланган
Ўсимликлардаги морфогенетик жараёнларни микросимбионт томонидан индукцияланиши	Пўстлоқ хужайралари митотик реактивацияси ёки дуккакли ўсимлик илдиз бошланғичининг тугунакка қадар ривожланиши индукцияси	Симбиотик безнинг ўсиши
Микросимбионтнинг	Одатда мавжуд эмас	Мавжуд

диазотрофлик ва фототрофлик хусусияти		
Симбиознинг иккала шериклар учун ҳам зарурийлиги	Иккала шериклар учун факультатив	Микроблар учун факультатив, хўжайин организмлар учун облигатив (Azolla) ёки факультатив (Gunnera)
Ўзаро муносабатнинг ўзига хослиги	Дуккаклилар оиласида чегараланган	Nostoc учун ер юзи ўсимликлари турли типларини ўз ичига олади

Сўнгги йиллардаги муҳим ютуқлардан бири азотфиксацияловчи симбиознинг арбускуляр микориза (АрбМ) билан узвий алоқасини аниқланиши ҳисобланади. Дуккакли ризобиал симбиознинг тараққиёти ва АрбМ бир қатор «умумий» генлар орқали назорат қилинишини формал ва молекуляр генетик усулларни қўллаш билан кўрсатиб берилди. Бу симбиозлар гомологик ўсимлик маҳсулотлари, шу қаторда перибактероидли ва периарбускуляр мембрана оксиллари, шу билан бир қаторда баъзи нодулинлар синтези билан бирга кечади. АрбМ ва тугунакларнинг ҳосил бўлиши билан ўсимликларни патогенлардан ҳимояланишига хос реакциялар содир бўлиши алоҳида аҳамият касб этади. Бошқарув характериға кўра, бу реакциялар бир-биридан фарқ қилади. Бу эса антагонизмда микроорганизмларнинг инактивацияси ва улар фаоллиги (микдори)нинг мутуализмдаги регуляцияси билан боғлиқ бўлиши мумкин. АрбМ нинг бошқа типдаги ўсимлик-микроорганизм муносабатларига нисбатан эволюцион жиҳатдан қадимийлигини инобатга олиб, шуни тахмин қилиш мумкинки, ўсимликларнинг дастлабки ҳимоя воситаларидан бири *in planta* шароитида эндомикоризали замбуруғлар тараққиётини бошқариш бўлган.

Ўсимликларнинг кейинги эволюцион ўзгаришлари натижасида бу тизимлар патогенлардан ҳимоя вазифаси, ҳатто азотфиксацияловчи симбионтларни кўллаб-қувватлашни назорат қилиш вазифасига эга бўлган бўлиши мумкин.

Тугунаклар ҳосил бўлиши ва АрбМ шаклланиши учун замбуруғларнинг хужайра деворини асосий компоненти хитинга яқин бўлган рецепция ва ризобиал Nod-омиллари процессинги генлари компоненти умумий бўлиши ҳам мумкин. Тугунак ҳосил бўлишини фаоллаштирадиган Nod-омиллар микоризацияни мўътадиллаштирадilar. Дуккаклиларда Nod-омилларни парчалайдиган хитиназалар синтези эса ризобийлар, АрбМ-замбуруғлар томонидан ҳам индуцирланади. Бу маълумотлар шуни кўрсатадики, ризобийлар ўсимликлар билан коэволюция даврида микоризали замбуруғлар сингари сигнал омилларни синтез қилишни «ўрганиб» олишган.

Шундай қилиб, тугунаклар ҳосил бўлишини назорат қилувчи генетик тизимнинг сезиларли қисми ўсимликларнинг АрбМ-замбуруғлар билан коэволюцияси даврида пайдо бўлган. Шунинг учун АрбМ ҳосил шаклланишига олиб келадиган хусусиятни ўсимликларнинг азотфиксация қилувчи симбиоз ҳосил бўлишида шарт-шароит яратадиган асосий қайта мосланувчи (переадаптация) деб қараш лозим. Бироқ дуккаклилар ва ризобийлар коэволюцияси жараёнида ўзаро муносабатларнинг янги босқичлари пайдо бўлди (улардан энг аҳамиятлиси - эндоцитоз ва автоном симбиосомаларнинг шаклланишидир). Улар шерикларнинг чуқур функционал интеграцияси ва морфологик тизимларининг мураккаблашувини таъминлайдилар.

Симбиотик азотфиксациянинг барча тизимлари учун хос умумий белги, мазкур жараённинг интенсивлиги иккала шериклар генлари орқали мувофиқлаштирилишидир. Шунинг учун азотфиксацияловчи симбиозларни яхшилаш, бошқа хил ўсимлик-микроб муносабат тизимлари сингари микроорганизм ва ўсимликлар билан мувофиқлаштирилган ген муҳандислиги ва селекцион тадқиқотлар олиб боришни тақозо этади. Ўсимликлар ва бактерияларнинг кучли интеграциялашган симбиотик

генлари функциялари ташкиллашувини аниқламасдан туриб, симбиотик тизимни яхшилаш, ҳатто янги симбиозлар ҳосил қилиш тўғрисида сўз очиш мумкин эмас. Бу маълумотни инобатга олиб ўсимлик-микроорганизм азотфиксацияловчи тизимида максимал синергетик самарага эришиш учун селекцион тадқиқотлар олиб борилмоқда. Ҳозирги кунга келиб, амалда самарадор микроорганизм штамлари ва дуққакли ўсимлик навларининг оптимал уйғунлашган вариантлари олинган.

Юқори специфик таниб олиш хусусиятини ҳосил қилишда ва ўсимликларнинг метаболитик ҳамда ҳимоя тизимлари билан микросимбионтларнинг ўзаро мувофиқ келишини яхшилаш йўлида жиддий ишланмаларни ишлаб чиқиш талаб қилинади. Кўплаб симбиозларнинг катта энергия талаб қилишини инобатга олиб, ўсимликларни энергия билан таъминлаш тизимлари, биринчи навбатда, фотосинтез аппарати билан эндосимбионтларнинг муносабатини тартибга келтириш, оптималлаштириш масаласи долзарб масала ҳисобланади. Бу борадаги фундаментал ва амалий муаммоларнинг ечими турли соҳа мутахассислари иштирок этадиган соҳалараро тадқиқотлар олиб боришни тақозо этади. Табиатдаги симбиотик тизимларни ўсимлик ва микроблар борасида юксак билим ва амалий кўникмаларга эга олимлар жамоаси – «илмий симбиози» фаолияти натижасида ўрганиш мумкин. Бундай жамоаларнинг ташкил этилиши жуда муҳим масала бўлиб, унда замонавий фаннинг молиявий ва ташкилий имкониятлари ишга солиниши мумкин.

Тупроқ унумдорлигини оширишда микробиологик препаратлар ишлаб чиқариш технологияси

V бобга доир назорат саволлари:

1. Ўсимликлар билан симбиоз муносабатга кириш хусусиятига эга бўлган микроорганизмларнинг асосий вазифаларини тавсифлаб беринг.

2. Нитрогеназа комплексининг асосий хусусиятларини таърифлаб, унинг микроб-ўсимлик муносабати тизимидаги ўзига хосликларини кўрсатиб беринг.

3. Дуккакли-ризобиал симбиозда шерикларни таниб олишга хизмат қиладиган сигнал молекулаларнинг табиати қанақа?

4. Қайси генетик тизимлар тугунак бактериялар ва ўсимликлар томонидан сигнал муносабатларни назорат қилади?

5. Дуккакли ўсимликларда тугунаклар ҳосил бўлишини назорат қиладиган генларнинг асосий гуруҳларини тавсифлаб беринг.

6. Нодулинларнинг тузилиши ва вазифаларини ўрганиш услубиятининг мазмуни нимадан иборат?

7. Дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактерияларнинг С-ли ва N-ли метаболизм тизимлари интеграцияси механизмлари қандай?

8. Ўсимликда тугунак ҳосил бўлишини бошқариш механизмлари ва даражаларини таърифланг.

9. Ўсимликларнинг ризобийлар ва цианобактериялар билан симбиозлари ўртасидаги ўхшашлик ва фарқлар нималардан иборат?

10. Симбиотик азотфиксациянинг эволюцияси ва келиб чиқиши қандай йўллар билан амалга ошган бўлиши мумкин?

11. Азотни ўзлаштирувчи микроорганизмлар ва ўсимликларнинг симбиотик жуфтлари селекциясини симбиотик муносабатлар самарасига таъсирининг ўзига хос хусусиятлари.

V бобга доир тест саволлари

1. қуйида берилган прокариотларнинг қайси гуруҳлари орасида азотфиксаторлар учрайди?

А) эубактериялар, цианобактериялар, актиномицетлар, архебактериялар

В) актиномицетлар, миксомицетлар, яшил сувўтлари

С) грамманфий ва граммузбат бактериялар

Д) симбиотик микроорганизмлар

- Е) барча жавоблар тўғри
2. Нитрогеназа ферменти фаоллигини қайси усул билан таҳлил қилиш мумкин?
- А) электрофорез
 - В) ацетиленли усул
 - С) нитрогеназа оксидини шаклланишини назорат қилиш
 - Д) гель-хроматография
 - Е) радиовтография
3. Генларнинг махсус гуруҳи *nif* B, *nif* E, *nif* N, *nif* V қайси омил синезини назорат қилади?
- А) Mo-Fe
 - В) N-O
 - С) тўғри жавоб берилмаган
 - Д) Mg-O
 - Е) Mo –Zn
4. Nod омиллар симбиознинг қайси босқичларини инициациялайди?
- А) симбиоз шаклланишининг охириги босқичларини
 - В) симбиознинг барча босқичларини
 - С) симбиоз шаклланишининг дастлабки босқичларини
 - Д) симбиознинг оралиқ босқичини
 - Е) ўсимлик турига кўра мос келадиган босқичларни
5. Барча симбиотик ўзаро таъсирларнинг ўзига хослигини маълум даражада аниқлайдиган сигналлар бу...
- А) Nod омиллардир
 - В) Nif омиллардир
 - С) Инфекция ипининг ҳосил бўлиши
 - Д) нодулинларнинг шаклланиши
 - Е) леоглобин синтези
6. Нитрогеназа ферментининг тугунакларда фаолият юритиши қандай шароит зарур?

А) нитрогеназининг молекуляр кислороддан ҳимоя тизими шаклланиши

В) нитрогеназа комплексининг энергетик эҳтиёжлари кондирилиши

С) азотфиксация маҳсулотлари ассимиляцияси

Д) А, В ва С жавоблар тўғри

Е) тўғри жавоб берилмаган

7. Ризобийларда азотфиксацияни бошқарилишини қайси генлар идора қилади?

А) *nif* генлар, *fixL*, *fixJ* ва *fix K* генлари *dct ABD*

В) *nod*-генлар, *Nod* оқсиллар

С) *Sym* генлар *itf* генлари

Д) *Bad* генлари, *iti* генлари

Е) *Ith*, *Nac*, *Ntd* генлари

8. Дуккакли ўсимликларда тугунак ҳосил бўлиши авторегуляцияси қайси омиллар орқали амалга ошади?

А) эндосимбионт микроорганизм

В) ризобиал бактерия

С) бундай восита мавжуд эмас

Д) дуккакли ўсимликнинг ер устки қисмлари

Е) дуккакли ўсимликнинг ер остки қисмлари

9. Азотфиксациянинг фаоллиги ва симбиознинг самарадорлигини ошириш учун қандай чора кўриш мумкин?

А) *dct* -генларини қўшимча киритиш

В) *nif* – генларини киритиш

С) *nod*- генларини киритиш

Д) *sym*-генларини қирқиб ташлаш

Е) бундай воситалар мавжуд эмас

10. “Амидли” типдаги дуккаклиларга қуйида берилган ўсимликнинг қайси бири мисол бўла олади?

А) ловия

В) соя

С) вигна

Д) беда

Е) бундай дуккакли ўсимлик мавжуд эмас.

11. Шоли етиштиришда қандай тизимдан фойдаланиш азот манбаи сифатида юқори самарадорликка эга?

А) “Nostoc-Gunnera”

В) “Azolla-Anabaena”

С) “Nostoc-Anthoceros”

Д) “Nostoc-Anabaena”

Е) “Nostoc-Azolla”

12. Anabaena цианобактериясининг аэроб шароитларда ҳам азот ўзаштиришига сабаб нима?

А) цианобактериянинг тартибсиз жойлашган хужайралари

В) гетеротроф озикланиши

С) гетероцисталар ҳосил қилиши

Д) ўсимлик билан симбиоз муносабатга кириши

Е) ўсимлик тўқимаси ичида фаолият юритиши

Фойдаланилган адабиётлар:

1. Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. – М.: Наука, 1994.
2. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н. и др. Генетика развития растений / Под ред. С.Г.Инге-Вечтомова. – СПб.: Наука, 2000.
3. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973.
4. Муродова С.С., Давранов К. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике // Biotechnologia Acta. - V. 7, № 6. — 2014. — С. 92-101.

5. Муродова С.С. Маҳаллий ризобактериялар штаммлари асосида ғўзанинг стресс шароитларга чидамлилигини оширувчи янги, рақобатбардош микроб препаратларини яратиш ва уларнинг амалий аҳамиятини баҳолаш. 03.00.12 дисс... [ЎЗРФА микробиол ва ЎЗМУ]. – Тошкент. 2008. –243 б.
6. Симаров Б.В. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий. – Л.: Агропромиздат, 1990.
7. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. – СПб.: Наука, 1998.
8. Проворов Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе. Журн. Общ. Биол. 2001, Т., 62 №6, с. 472-495.
9. Феоктистова Н.В., Марданова А. М., Хадиева Г.Ф., Шарипова М.Р. Ризосферные бактерии // Ученые записки Казанского университета 2016, Т. 158, С. 207–224.
10. Spaink H., Kondorosi A., Hooikaas P.J.J. The Rhizobiaceae. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ. 2001. 566 p.
11. Stacey G., Burris R.H., Evans H.J. Biological Nitrogen Fixation. New York, London/ Chapman and Hall. 1992. 755 P.

XV БОБ. БАКТЕРИАЛ ЎҒИТЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

Микроорганизмлар ассоциацияси асосидаги биопрепарат ишлаб чиқаришнинг принципиал жиҳатлари. Биотехнологик жараёнлар хилма-хил бўлиб, асосан бешта босқични ўз ичига олади. Бу босқичлар олинadиган мақсадли маҳсулотнинг турига ишлатиш соҳасига, олиниш усулларига қараб бир-биридан фарқ қилиши мумкин.

Биотехнологик жараёнларни асосий босқичлари қуйидагилардан иборат: озуқа муҳитини тайёрлаш, экув материални олиш, продуцент-микроорганизмларни ўстириш, ферментация, мақсадли маҳсулотни ажратиб олиш ёки тозалаш.

Биотехнологик жараённинг асосий элементи сифатида продуцент-микроорганизмлар ассоциацияси хизмат қилди.

Продуцент микроорганизмларнинг потенциал имкониятлари уларни технологиябоплиги биотехнологик чизманинг иқтисодий кўрсаткичларини белгилаб беради.

Ўстириш босқичи миқдор ва сифат жиҳатидан таърифланиши мумкин бўлиб, миқдорий кўрсаткич—ҳажмий самарадорлик граммлар (килограммлар)да 1м^3 ферментацион қурилмада 1 соатда ишлаб чиқарилаётган маҳсулотга нисбатан ифодаланиб, жараённинг умумий мезони ҳисобланади ва маҳсулотнинг таннархини белгилаб берувчи асосий мезонлардан бири ҳисобланади. Биопрепаратлар ишлаб чиқаришнинг охириги босқичларида маҳсулотни ажратиб олиш ёки мақсаддан келиб чиққан ҳолда уларни тозалаш ишлари амалга оширилади. Бу босқичларнинг асосий мақсади- керакли маҳсулотнинг товар шаклини тайёрлашга қаратилади.

Биопрепарат ишлаб чиқаришни такомиллаштиришга қаратилган биотехнологик жараёнларнинг асосий вазифаси, микробиологик синтез давомида ҳосил бўлган ҳужайра ичида ёки ҳужайра ташқарисида тўпланадиган мақсадли маҳсулотни иложи борица камроқ йўқотишдан иборат бўлади.

Товар кўринишидаги маҳсулот саноатда 3 хил шаклда ишлаб чиқарилади, қуруқ маҳсулот (кукун, гранула, майда дисперсион бўлақлар), пастасимон ва суюқ ҳолда (концентрат 50 % гача қуруқ модда сақлайди.

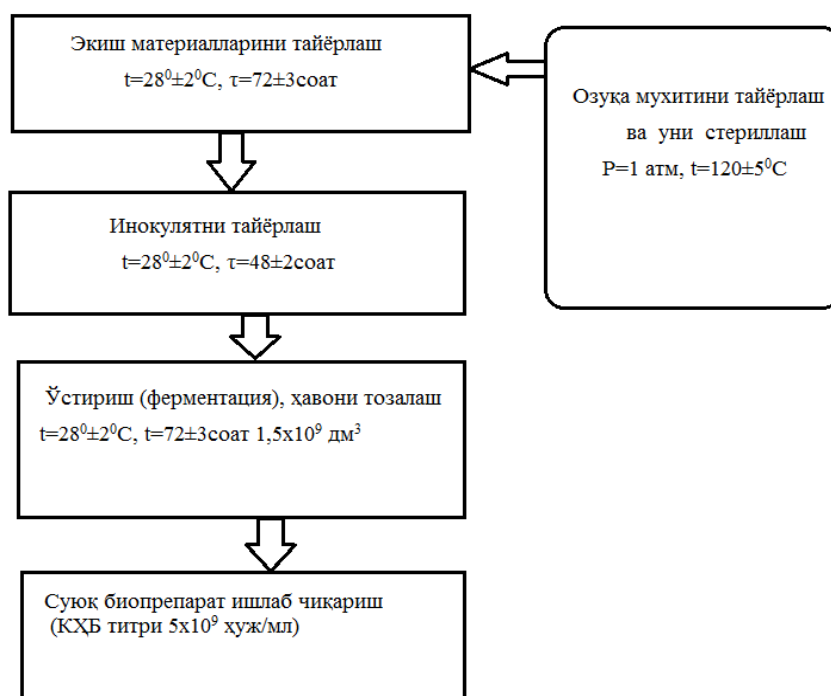
Микробиологик синтезда қўлланиладиган озуқа муҳитларининг таркиби жуда хилма-хилдир. Бу продуцент-микроорганизмларнинг озиқланишига боғлиқ бўлиб, у ёки бу модданинг биосинтезини таъминлашда мувофиқ келадиган озуқа муҳитини танлаш имконини беради. Ҳар қандай озуқа муҳити таркибига сув, углерод, азот, фосфор, бирикмалари ва бошқа минерал моддалар, витаминлар киради. Микроорганизмларнинг у ёки бу бирикмаларга эҳтиёжи штаммнинг физиологик хусусиятлари билан боғлиқ бўлади. Тўлиқ таркибли озуқа муҳитлари турли хил миқдорда (10^{-3} - 10^{-4} М) минерал элементларни ҳам сақлайди. Мақсадли маҳсулотни олишга мўлжалланган хом-ашё қиммат ва ноёб бўлмаган, осон топиладиган,

маҳсулот бўлиши мақсадга мувофиқ ҳисобланади. Кўпинча озуқа муҳити компонентлари сифатида озиқ-овқат саноати чиқиндиларидан кенг фойдаланилади.

Озуқа муҳитларини тайёрлашда асептика қоидаларига риоя қилиш талаб этилади. Биотехнологияда озуқа муҳитларини зарарсизлантришда термик ва бошқа замонавий ишлов бериш усуллари (автоклавлаш, мембрана фийлтларидан ўтказиш, стериллаш, қайнатиш ва ҳ.к) дан фойдаланилади. Микроорганизмларнинг споралари юқори ҳароратга ўта чидамли, шунинг учун айнан бактериал спораларнинг бор ёки йўқлиги озуқа муҳитини стериллашда ҳарорат режимини белгиловчи омил бўлиб ҳисобланади.

Ҳавони стериллашда фийлтрлаш ва ультрабинафша нурлардан ҳам фойдаланилади.

Бопрепаратни тайёрлашда юқорида келтирилган талаб ва босқичларга риоя қилинган ҳолда тажриба тадқиқотлари олиб борилади. Ризобактериялар штаммларининг консорциумидан иборат биопрепаратнинг суяқ шаклини ишлаб чиқаришнинг процессуал (вақтга боғлиқ равишда ўзгарадиган жараёнлар) схемаси 5.9- расмда келтирилган (Замин-М биопрепарати мисолида):



5.9-расм. Биопрепаратнинг суюқ шаклини ишлаб чиқаришнинг принципиал чизмаси.

Нитрагин препаратини ишлаб чиқариш. Нитрагин – препарати *Rhizobium* туркуми бактерияларининг тоза культурасини сақловчи препаратдир. Туганак бактериялари – аэроб, кичик, спорасиз таёқчадир. Маълум бактерия штаммлари бир биридан ўсимлик билан симбиоз ҳолда атмосфера азотини ўзлаштириш фаоллиги билан фарқ қилади (фаол, кам фаол, фаол эмас). Буларнинг аниқ турлари атмосфера азотини фиксация қилиш қобилиятини фақатгина аниқ хўжайин–ўсимликдагина намаён қилади.

Россияда нитрагиннинг уч тури: тупроқли, торфли ва курук препаратлари ишлаб чиқарилади.

Тупроқли нитрагинда туганак бактерияси культуралари стерил тупроқда ривожланади. Нитрагин ишлаб чиқариш технологияси етарли даражада самарали эмас, чунки бунда юқори сифатли препарат олиш имконияти йўқ.

Курук нитрагин ўзида туганак бактериялар билан қўшимчаларнинг (торф, бентонит) биргаликдаги кукунини мужассамлаштиради. Тупроқли нитрагинга нисбатан курук нитрагин препарати юқорироқ самарадорликка эгадир. Курук нитрагин ишлаб чиқариш технологияси микробиологик ишлаб чиқариш технологиясидаги асосий характерли босқичлардан иборат (1-чизма).

Ҳар бир дуккакли ўсимлик тури учун мувофиқ туганак бактерия туридан ўстирилиб курук нитрагин препарати тайёрланади. Агарли озиқада ўстирилган дастлабки туганак бактерия культурасидан экиш материални олиш учун уни суюқ озиқа муҳитида 28–30⁰С ҳароратда 24–48 соат давомида ўстирилади. Суюқ озиқа муҳити таркиби бактерияни барча босқичларда ўстириш учун бир хилдаги таркибга эга бўлади: меласса, маккажўхори ита бактери минерал тузлар (NaHCO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 , K_2HPO_4 , темир тузи, молибден ва ҳ.к.).

Ўстирилган культуралар 1 мл да 8–10 млрд. хужайра сақлаганда уларни сифими 100–150 л бўлган ўстириш инокуляторларига экиш мумкин. Ўстириш

30⁰С ҳароратда доимий аралаштириш ва аэрацияда 18–24 соат давомида олиб борилади. Тайёр экиш материали 1 мл да 2 млрд. хужайра сақлайди ва шундан кейингина уни саноат ферментёрига экиш учун йўналтириш мумкин.

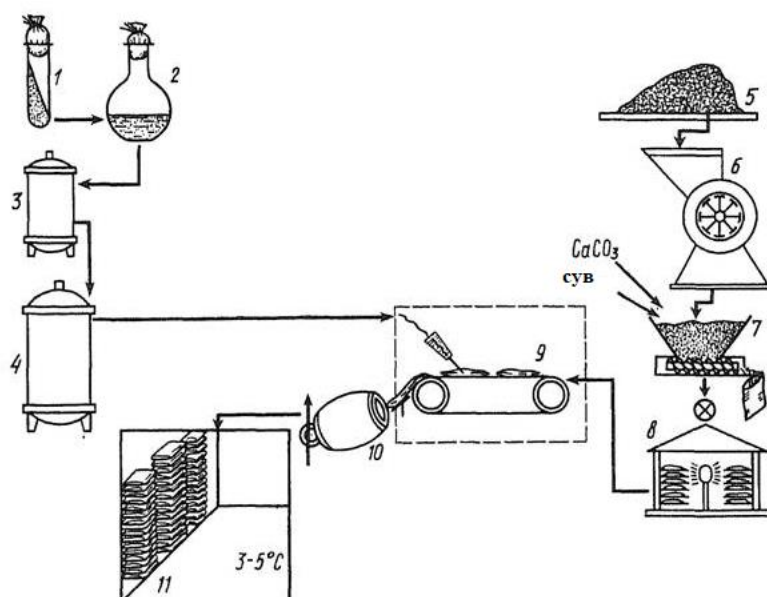
Ферментёрда ферментация жараёни 28–30⁰С ҳароратда интенсив аралаштириш ва аэрацияда 48–72 соат давомида олиб борилади. Ферментация жараёнидан кейин культурал суюқлик 1 мл ида 10 млрд. хужайра титри сақлайди. Ферментация жараёни тугаллангандан сўнг культурал суюқлик сепараторга узатилади.

Биомасса 70–80% намликдаги паста кўринишида олинади. Қуритишдан олдин паста, 20% меласса ва 1% тиомочевина сақловчи ҳимоя муҳити билан аралаштирилади.

Биомассани сублимацион қуритиш -30–35⁰С ҳароратда, секинлик билан бериладиган 10–13 кПа босим вакуум остида амалга оширилади.

Қуритилган биомасса қўшимчалар (бентонинт, каолин ва торф каби) билан шундай аралаштириладики, натижада 1 г. Препарат 9–10 млрд. Туганак бактериялар сақлаши лозим. Қуруқ нитрагин препарати полиэтилен қопчаларга жойланиб, герметик беркитилади ва ҳарорати 15⁰С дан юқори бўлмаган жойларда сақланади.

Дуккакли ўсимликлар уруғи ерга экилмасдан нитрагин препарати билан бевосита ишлов берилади. Бундай ишлов бериш натижасида илдиздаги туганаклар ита билан бир вақтнинг ўзида ўсимликда азот миқдори ошиб ҳосилдорликнинг юқори бўлишини таъминлайди.



5.10-расм. Ризоторфин ишлаб чиқариш схемаси: 1 – косяк, 2 – колба, 3 – ферментер (экиладиган), 4 – ферментер (ишчи), 5 – торф, 6 – майдалаш ускунаси, 7 – қадақлаш ускунаси, 8 – гамма-стерилизация камераси, 9 – инокуляция, 10 – аралаштириш, 11 - термоомбор

Азотобактерин препарати ишлаб чиқариш. Азотобактерин – препарати ўзида атмосферадан азот ўзлаштириш қобилиятига эга бўлган тупроқ микроорганизмларидан бири *Azotobacter chroococcum* культурасини сақлайди. *Azotobacter* бактерияси аэроб ва спорасиз бўлиб тупроқда эркин яшайди. Ўғит сифатида ушбу бактерия тупроқда тўпланганда тупроққа биологик фаол моддалар (никотин ва пантотен кислоталар, пиридоксин, биотин, гетероауксин, гибберлин ва бошқалар), ўсимлик ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи моддалар, шунингдек, анисомицин гуруҳидан фунгицидли моддалар ҳосил қилади, улар эса баъзи бир ўсимлик ризосферасидаги зарарли микроскопик замбуруғларнинг ривожланишини чегаралаб туради.

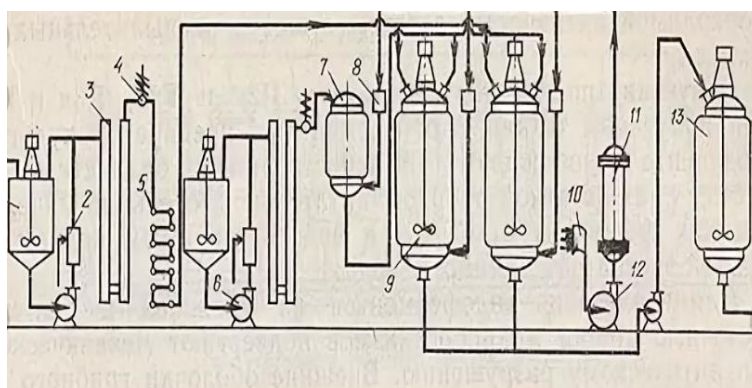
Азотобактернинг барча турлар – қатъий аэроблардир. Бу микроорганизмлар озика муҳитидаги органик ва ноорганик бирикмалар кўринишидаги фосфорга ўта сезгир бўлиб, унинг юқори миқдори озикада мавжуд бўлса жуда яхши ривожланади.

Фосфор етишмаганда уларнинг азот ўзлаштириш қобилияти ва ривожланиши кескин сусаяди. Азотобактерларнинг кўпчилик турлари эса муҳитда азот мавжуд бўлгандагина азот ўзлаштириш хусусиятларини намайиш қиладилар. Культураларнинг азот ўзлаштириш қобилиятини аммиак пасайтиради, аммо молибден бирикмалари ва баъзан ванадий эса ошишига таъсир кўрсатади.

Микробиологик саноат асосида азотобактернинг бир неча турлари ишлаб чиқарилади: куруқ, тупроқли ва торфли.

Куруқ азотобактерин олиш технологияси. Куруқ азотобактерин ишлаб чиқариш технологияси нитрагин ишлаб чиқариш босқичларига жуда ўхшаш бўлганлиги учун баъзи бир фарқ қилувчи хусусиятларигагина тўхталиб ўтамиз.

Куруқ азотобактерин ўзида қуритилган ита бактерий хужайрасининг фаол культураси ва қўшимчани мужассамлаштиради. 1 г куруқ препаратда 0,5 млрд. ҳаётчан хужайралар мавжуд бўлиши лозим. Ушбу культуралар ***Rhizobium*** хужайралари ўстириладиган суюқ озик муҳитида ўстирилади. Бунга қўшимча сифатида темир сульфат, марганец, шунингдек, молибден кислотаси мураккаб тузлари қўшилади. Ўстиришда рН муҳити 5,7-6,5, аэрация эса 1 ҳажм ҳаво 1 ҳажм озикка 1 минутда берилади.



5.11-рasm. Биопрепаратлар ишлаб чиқаришда микроорганизмларни чуқур ўстириш технологик чизмаси ҳамда азотобактерин препаратининг кўриниши (<https://yandex.ru/images/>) 1-озука муҳитини аралаштиргич; 2-стерилизатор; 3-ушлаб тургич; 4-редукцион клапан; 5-иссиқлик алмаштиргич; 6-марказдан қочувчи насос; 7-инокулятор (оналик материал

учун); 8-индивидуал ҳаво филтри; 9-ферментатор; 10-ҳаво филтри; 11-умумий ҳаво филтри; 12-ҳаво пуркагич; 13-тайёр культурани йиғувчи.

Ферментация жараёни культура ўсишининг стационар фазасигача олиб борилади, чунки шу фазада ҳужайрадан биологик фаол моддалар ажралади ва культурал суюқликда қолади. Бунда туғиладиган хафв шундан иборатки, уларнинг ҳужайрадан кўплаб чиқиши оқибатида тупроққа тушгандан сўнг, ҳужайранинг атмосфера азотини ўзлаштириш хусусияти йўқолиши мумкин. Биологик фаол моддалар тўлиқ ёки қисман ҳужайрани қуритиш жараёнида йўқотилади, бироқ анабиоздан чиққан азотобактернинг ҳаётчан ҳужайраларида яна биологик фаол моддалар ҳосил қилиш хусусияти тикланади.

Қуритилган культура зарур қўшимчалар билан стандартланади ва полиэтилен қопчаларга 0,4-2 кг дан қадокланади. Қопчалар герметик ҳолатда 15⁰С ҳароратдан ортиқ бўлмаган ҳароратли хоналарда 3 ойгача сақланади.

Торфли ва тупроқли азотобактерин олиш технологияси. Бу турдаги азотобактерин препарати ўзида, қаттиқ озиқа муҳитида ривожланган фаол азотобактер культурасини намоён қилади ва 1 г. Препаратда 50 млн. Дан кам бўлмаган ҳаётчан ҳужайраларни сақлайди.

Уларни тайёрлаш учун серҳосил тупроқ ёки яхши уваланадиган торфдан нейтрал муҳит реакцияси билан фойдаланилади. Экиш учун олинган қаттиқ субстратга 2% гача оҳак ва 0,1% суперфосфат қўшилади. Олинган аралашма 500 г. Дан 0,5 л. Ҳажмли шиша идишларга жойланади ва 40-60% ҳажмда сув билан намланиб, оғзи пахта тиқин билан ёпилади ва стерилланади.

Экиш материали 2% гача сахарозалар ва минерал тузлар сақловчи агарли озиқа муҳитида тайёрланади. Культуралар 27⁰С ҳароратда 3-5 кун атрофида ўстирилади. Жараённинг тугалланганлиги агар сиртини жигарранг, шилимшиқ масса қоплаганлигига қараб баҳоланади. Олинган экиш материали агар сиртидан стерил ҳолатда сув билан ювиб олинади ва тайёрланган субстратга ўтказилади. Шиша идишларга солингандан сўнг яхшилаб аралаштирилади ва 25-27⁰С ҳароратда термостатда сақланади.

Ўстириш жараёни 1 г. Тупроқ ёки торфда бактериялар миқдори 50 млн. бўлгунча давом эттирилади. Бу усулда олинган препарат ўз фаоллигини 2-3 ойгача сақлайди.

Азотобактерин препаратларидан фосфор ва микроэлементлар сақловчи (молибден, ванадий, бор ита.к) серхосил тупроқда фойдаланиш тавсия этилади. Азотобактерин уруғ, кўчатлар ва компостлар бактеризацияси учун қўлланилади. Бунда ўсимлик илдизи озиқланиши ошиб, бошоқли, техник ва сабзавот культураларида ҳосилдорлиги ошади.

Қуруқ азотобактердан фойдаланиш усули экиш материали хусусиятига боғлиқ бўлади. Бошоқлилар уруғига қуруқ препаратни суркаш механик усулда 1 гектарга етадиган уруғга 100 млрд. хужайра ҳисобида амалга оширилади.

Картошка, сабзавот кўчатларининг илдиз тизимига эса препаратнинг сувли суспензияси сепилади. Бунда 1 гектарга етарли суспензия меъёрини тайёрлаш учун препарат (300 млрд.хужайра) 15 л. Сувда суюлтирилади.

Фосфобактерин ишлаб чиқариш. Фосфобактерин – *Bacillus megaterium var. phosphaticum* микроорганизми спораларини сақловчи бактериял ўғитдир.

Бу бактериялар мураккаб фосфоорганик бирикмалар (нуклеин кислоталар, нуклеопротеидлар ва бошқ.) ва қийин ўзлаштириладиган минерал фосфатлар (пирофосфатлар, полифосфатлар)ни ўсимлик ўзлаштиришига қулай ҳолатга айлантириб бериш хусусиятига эгадир. Бундан ташқари, биологик фаол моддалар ишлаб чиқарадилар (тиами ва бошқ.), булар эса ўсимликлар ўсишини бошқаришда, айниқса дастлабки ўсиш босқичларида катта аҳамият касб этади.

Фосфобактерин фосфор ўғитлари ўрнини эгалламайди ва уларсиз таъсир ҳам этмайди. Препаратнинг асосий самарадорлиги ўстириш хусусияти билан белгиланади. *Bacillus megaterium var. phosphaticum* морфологик хусусиятига кўра кичик, грамммузбат, аэроб спора ҳосил қилувчи таёқчалари ўлчами (1,8-2,0)×(5-6) мкм бўлади. Хужайра ита миқдорда фосфор бирикмаларини

сақлайди. Бу хужайралар дастлаб ҳаракатчан ита таёқча бўлиб ривожланиши охирида $0,7 \times 1,2$ мкм ўлчамдаги эндоспоралар ҳосил қилади.

Бу микроорганизм асосида олинадиган препарат асосан спорадан ташкил топади, шунинг учун ҳам ўстириш технологияси ҳам спора ҳосил қилишга қаратилгандир. Бироқ фосфобактерин ишлаб чиқариш технологияси нитрагин, азотобактерин каби препаратлар ишлаб чиқариш технологиясидан кам фарқ қилади.

Фосфобактерин олиш технологияси. *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* культураси барча босқичларини саноат асосида ўстириш, суюқ озиқа ичига экиш орқали амалга оширилади.

Дастлабки лиофиллаб қуритилган культура қуйидаги таркибли озиқа муҳитида ўстирилади (% ҳисобида): маккажўхори экстракти - 1,8; меласса - 1,5; аммоний сульфат - 0,1; Ca_2CO_3 - 1; сув – 1000 мл. Ўстириш ферментёрда қатъий асептик шароитда, доимий аралаштириш ва спора ҳосил қилиш жараёнигача аэрацияда олиб борилади. Жараённинг асосий кўрсаткичлари: ҳарорат $28-30^\circ\text{C}$, муҳит pH 6,5-7,5, ўстириш давомийлиги 1,5-2 кун.

Биринчи озиқа муҳитида ўстирилганда тайёр культурал суюқликда хужайра титри 1 мл. да 2,7-3 млрд. спора, 2-озиқа муҳитида эса 1 мл. да 4,3 млрд. спорани ташкил этади.

Ўстириб олинган хужайра биомассаси центрифугалаш орқали алоҳидаланиб, пуркаб қуритгич мосламада $65-70^\circ\text{C}$ ҳароратда 2-3% намлик қолгунча қуритилади. Қуритилган споралар қўшимча (каолин) билан аралаштирилади. Бу усулда тайёрланган препарат 1 граммида 8 млрд. дан кам бўлмаган хужайраларни сақлайди. Улар 50-500 г. дан намликни сақлаб турадиган, герметик қопчаларга жойланади. Фосфобактерин, азотобактерин ва нитрагиндан сақлашга бўлган чидамлилиги билан фарқланади. Булар 1 йил сақлангандан сўнг хужайранинг ҳаётчанлигини йўқотиши 20% дан ошмайди.

Саноат асосида фосфобактерин ишлаб чиқаришда шундай омил борки, бу бактериал ўғит олишда культуранинг фаголизиси ва ўсмайдиган споралар

ҳосил бўлишига сабаб бўлади.

Культуралар фаголизиси шу билан изоҳланадики, бир томондан *Bacillus megaterium* штаммлари бактериофаглар таъсирига жуда сезгир ва фаголизис натижасида зарарланган культура нобуд бўлади, иккинчи томондан эса дастлабки культура ўзига ўзи мутаген ҳисобланади яъни ўзида маълум шароитда фаоллашадиган профаг сақлайди.

Комплекс корхоналарда фаголизисга қарши курашиш учун ишлаб чиқаришнинг барча босқичларида ўстиришнинг асептик шароитини ушлаб туриш, фагга чидамли штаммларни саралаш ва селекция қилиш ҳамда культуранинг ўсишига таъсир қилмайдиган микдорда органик кислоталар тузини озиқага қўшиш (одатда 0,075-0,1% атрофида) каби чора тадбирлар қўлланилади.

Ўсимлик уруғини препарат билан ишлов беришда механик усулдан фойдаланилади, бунда фосфобактерин ва қўшимча нисбати 1:40 ни ташкил этади. Картошка туганагига мўтадил ишлов берилиши учун эса 15 г. препарат 15 л. сувда суюлтирилади. Бу микдор 1 гектар ерга етадиган экиш материалига сарфланади.

Фосфобактерин қўлланилиши ҳосилдорликни 10% ва ундан ҳам ортиқроқ оширади.

Ризосфера микроорганизмлари асосида биопрепаратлар ишлаб чиқариш

Ўсимликлар ризосферасининг типик вакиллари бўлган фойдали микроорганизмлар асосида олинган, комплекс таъсирга эга бактериал препаратлар ўсимликшуносликдаги анъанавий ёндошувларни маълум даражада ўзгартириш имконини беради. Бундай препаратлар тупроқнинг илдиз яшовчи қатламини соғломлаштириш, ундаги фитопатогенларнинг микдорини камайтириш, тупроқнинг органо-минерал балансини тартибга солишга ёрдам беради. комплекс препаратларнинг деярли қўпчилиги учун асосий хусусиятлар қуйидагилардан иборат: ўсимликларнинг ўсиши ва

ривожланишини тезлаштириш; азотофиксация; минерал азотни ўзлаштирилиш; органик моддалар ҳосил қилиб тупроқни бойитиш; калий ва фосфор бирикмаларини осон ўзлаштириладиган шаклга ўтказиши; аминокислоталар, микро ва макроэлементларни ҳосил қилиш; бутун вегетация даври давомида қишлоқ хўжалик экинларини, барча тупроқ, айниқса, шўрланган майдонларда органик моддаларни ўзлаштириб, минерал шакли билан таъминлаш; сунъий минерал ўғитлар ва ўсимликларни ҳимоя қилишнинг кимёвий воситаларидан фойдаланишни чеклаш орқали экологик тоза қишлоқ хўжалик маҳсулотларини етиштириш; сифати яхшиланган ва узоқ вақт сақланадиган, тез бузилмайдиган маҳсулотлар етиштириш. Қуйида улардан баъзилари тўғрисида маълумотлар берилган.



5.12-расм

Экстрасол препарати – *Pseudomonas* ва *Bacillus subtilis* асосида тайёрланган бўлиб, кўп йиллик қишлоқ хўжалик экинларини етиштиришда самарали ҳисобланади. 1 грамм торфли препарат таркибида 6 млрдан кам бўлмаган бактерия хужайраси бўлса, 1 мл суяқ препаратда 10 млрдан кўп тирик хужайра сақлайди. Препарат уруғ ва туганакларга экиш олдидан ишлов бериш учун, тупроққа кўчат экиш олдидан ва экишдан кейин ишлов бериш, ўсимликларни вегетация даврида озиқлантириш мақсадида қўлланилади. Турли хил тупроқ иқлим шароитларида картошка етиштириш учун қўлланилганда яхши натижа берган. Бунда ҳосилнинг 20-30% гача, баъзи жойларда 40-60 ц/га ошишига эришилган. Лекин препаратни унумдорлиги паст қумлоқ тупроқлардаги самараси кўшимча равишда органик моддалар берилмаганда пасайиб кетиши мумкинлиги аниқланган. Картошкани эртанги ва ўртача эртанги навларини тупроқ ҳарорати паст бўлганда ҳам экилганда, препарат билан ишлов бериш самарали натижаларни кўрсатган. Экстрасол сабзавотларнинг сақлаш давридаги бузилишининг олдини олиш учун сабзи, картошка

	ва карамда қўлланилганда ижобий кўрсаткичларга эга бўлган. Торфли шаклининг меъёри картошканинг экиш материаллини олиш учун 1 га ерга 3 кг, суюқ шакли -3 литрни ташкил этади.

Ризоарагин препарати – *Agrobacterium* (*A. radiobacter* 204 штамми) асосида шакллантирилган. 1 грамм препаратда 5-10 млрд бактерия хужайраси мавжуд. Штамм буғдой, шоли ва бошқа бир қатор қишлоқ хўжалик экинлари ризосферасига яшаб кета олиши аниқланган. Препаратдан фойдаланилганда кузги ва баҳорги буғдойдан 3-7 ц/га, арпадан 3-6 ц/га, шолидан 4-10 ц/га қўшимча ҳосил олишга эришилади. Буғдойда протеин миқдори 0,5-1 % га ортади. Препаратнинг сарф меъёри 1 га ерга экиш учун мўлжалланган уруғлар учун 500 граммни ташкил этади.

	Биоплант-К препарати <i>Klebsiella planticola</i> штамми асосида шакллантирилган. 1 грамм препарат таркибида 4-10 млрд бактерия сақлаб, намлиги 55-60% ни ташкил этадиган торфли массада иборат. Препаратни суюқ ҳолида ҳам ишлаб чиқарилади. Буғдой, арпа, сабзавот экинлари (помидор, бодринг, бақлажон, булғор гармдориси ва ем ҳашак экинлари)нинг ҳосилдорлигини ошириш учун мўлжалланган. Биоплант-К қўлланилганда сабзавот экинларида нитратлар миқдори камайганлиги қайд этилган. Олинган маълумотларга қараганда препаратлар билан ишлов бериш буғдой ва жавдарда
5.13-расм 	

5.14-расм

ҳосилдорликни 4-6 ц/га, помидорда 15-20%, бодрингда 20-25 % га ортишига сабаб бўлган. Биоплант-К ни, асосан, уруғларга экиш олдида ишлов беришда қўлланилади. 1 га ерга экиш учун мўлжалланган, намлантирилган (дастлабки оғирлигига нисбатан 2-2,5 % миқдордаги сув билан) уруғларга 600-900 грамм миқдордаги препарат билан ишлов берилади. Препаратни ишлатишда сабзаёт экинларининг уруғлари инокуляция қилинади ёки кўчатларини 1-2 минут давомида (1литр сувга 200 гр препарат солиб тайёрланган) препаратнинг суспензиясига ботириб қўйилади.



5.15-расм

Алирин –Б препарати *Bacillus subtilis* 10 (ВИЗР) штаммлари асосида шакллантирилган. Препарат фунгицид фаолликка эга бўлиб, таркибида микроб антагонистларининг тирик спораларини сақлайди. Ушбу препарат сабзаёт экинлари, манзарали –гулли экинларини очик ва ёпиқ дала шароитларида етиштириш ва резавор меваги дарахтлар учун ҳам мўлжалланган. Препарат замбуруғли табиатга эга патогенлар: илдиз чириши, бодрингнинг ун-шудринг, помидор ва картошканингнинг фитофтороз, бодринг ва помидорнинг аскохитоз, антракноз, куранг чириши ва

ҳоказо касалликларини кўзғатувчи замбуруғларни бартараф этишга хизмат қилади. Етиштириладиган қишлоқ хўжалик маҳсулотлари таркибидаги умумий оқсил миқдорининг ортишига, маҳсулотда нитратлар тўпланишининг камайишига хизмат қилади. сабзавот экинларида аскорбин кислотаси С-витаминининг миқдори 25-40% гача, ҳосилнинг 25-35 % гача ортишига сабаб бўлган. Унинг патогенларга қарши самарадорлиги 50-90% ни ташкил этади. Ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини тезлаштиради.



5.16-расм

Гамаир препарати - унинг асосий хусусиятлари бактериал табиатга эга бўлган ўсимлик касалликлари – помидор раки, илдизнинг юмшоқ чириши, поя ўзаги некрози, шуниндек замбуруғ табиатли касаллик кўзғатувчилари (ун шудринг, кулранг чириш ва ҳ.к.) ни ривожланишини тўхтатиш ва бартараф этишга сабабчи бўлиши билан белгиланади. У ўсимликларга нисбатан стимуляторлик хусусиятига эга бўлиб, 20-35% қўшимча ҳосил олиш имконини беради ва унинг ўсимлик касалликларига нисбатан биологик фаоллиги-50-80% ни ташкил этади.



5.17 -расм

Комплекс таъсир – биостимулловчи ва фунгицид таъсир спектрга эга микроорганизмларга Россияда ишлаб чиқарилаётган ***Псевдобактерин, Байкал, Бамил, Биоэнергия, Кюссей – ЭМ, Ризоплан, Кремнебактерин*** препаратларини мисол қилб келтириш мумкин. Шунингдек, ўсимликлар учун мўлжалланган яшил сувўтлари – хлорелла ва сценодесмусга қўшимча равишда пистия ва хара сувўтларининг 12-14:4-1:1-3 нисбатдаги суспензиясидан иборат комплекс биоўғитини мисол келтириш мумкин. Биоўғит минерал ўғитларнинг маълум даражада тежайди ҳамда экологик ва иқтисодий жиҳатдан юқори самародорликка эга.

Умуман олганда, ризобактериялар асосидаги биопрепаратлардан фойдаланиш органик деҳқончилик тизими олдида турган долзарб масалалардан бири ҳисобланиб, унинг истиқболли эканлиги нуқтаи назаридан чуқур илмий тадқиқотларни талаб этади.

Ўзбекистонда ишлаб чиқариладиган микробиологик препаратлар

Мамлакатимизда микробиологик ўғитлардан саноат миқёсида ишлаб чиқаришни йўлга қўйиш ва унинг ютуқларидан илмий – тадқиқот ишларида ҳамда амалиётда фойдаланиш масалалари ўтган асрнинг 70-80-йилларда шакллана бошлаган эди.

Бугунги кунга келиб тупроқ биотехнологияси соҳасидаги кўплаб илмий изланишлар ва амалий тадқиқотлар бир қатор олимлар, мутахассислар томонидан изчил давом эттирилмоқда.

Микробиологик ўғитларнинг бир қатор янги, экологик тоза, импорт ўрнини боса оладиган, экспортга мўлжалланган, рақобатбардош биологик ўғитлар “Ер малҳами”, “Замин-М”, “Фитобиосол”, “Бист”, “Псевдобактерин” каби биопрепаратларни ишлаб чиқариш технологиялари яратилди.

“Ер мадҳами” биопрепарати Профессор Қ.Давранов томонидан *Azotobacter chroococcum* А-2 штамми асосида яратилган. Препарат тупроқ микроорганизмлари асосида тайёрланган, тўпроқнинг биологик соғломланиши ва қишлоқ-хўжалиги ўсимликларининг ҳосилдорлигини оширишга ёрдам берувчи янги экологик тоза препарат ҳисобланади. «Ер малҳами М» препаратининг – техник иқтисодий кўрсаткичлари қишлоқ хўжалигида бошоқли экинлар, пахта, сабзавот экинларида олиб борилган кўп йиллик тажрибалар асосида, ҳамда унинг токсикологияси, гигиенаси ҳамда ишлатиш шароитидаги ҳавода, атмосферадаги ва яқин жойлашган сув ҳафзалари сувининг таркибини ўрганиш орқали ўрнатилган. «Ер малҳами М» – ўзининг таркибида тўпроқ микроорганизмлари тўпламини тутувчи ҳисобланади ва ўсимлик ўсишини тезлатувчи моддалар ажратиш билан бирга, органик моддалардан гумус ҳосил бўлишини ҳам амалга оширади. «Ер малҳами М» – очиқ майдонда ёки иссиқхоналарда ҳам қўлланилиши мумкин. «Ер малҳами М» – узоқ вақт таъсир қилиш имкониятига эга бўлиб, унинг таркибидаги микроорганизмлар ўсимликларни бутун ривожланиш даврида таъсир қилади, тўпроқ структурасини яхшилайдди, атмосферадан азот йиғиш, ўсимликнинг ўсишини тезлатиш ва шу билан бирга фитопатоген флора – ўсимлик касалликларини қўзғатувчиларини ҳосил бўлишини олдини олиш хусусиятига эгадир. Унинг сарфи тўпроқ ҳолатига ва етиштирилаётган ўсимликка боғлиқ равишда, гектарига 1 кг дан 4 кг гача ишлатилади.



"ЕР МАЛХАМИ-М"
биологик ўғити

5.18-расм. Ер малҳами биопрепарати

БИСТ» микробиопрепарати профессор Қ.Давранов томонидан тавсия этилган бўлиб, *Bacillus subtilis* B-1, *Bacillus megaterium* BM-1, *Azotobacter chroococcum* A-2, *Pseudomonas putida* PP-1, *Streptomyces* UZGIT -1штаммлари асосида тузилган бўлиб, унинг самараси микроорганизмлар ассоциациясининг – биологик фаол моддалар синтезлаши ҳисобига ўсимликларнинг илдиз орқали озикланишини яхшиланиши, вегетация даври давомида ўсимликларнинг баъзи касалликларига нисбатан ижобий профилактик таъсири билан изоҳланади.



5.19-расм “Бист” препарати.

«БИСТ» - ўсимликларни ризосферасида яшовчи микроорганизмлар ассоциацияси асосида тайёрланган биопрепарат бўлиб, қишлоқ хўжалигини замонавий агротехникасига ва Ўзбекистон республикасининг тупроқ-иқлим шароитларига мос ва самарадор; ўсимликларда касаллик қўзғатувчи замбуруғ ва бактерияларга қарши кенг спектрли препарат; атроф муҳит учун ҳавфсиз; ўсимликларни минерал озукланишига ёрдам беради; уруғни униб чиқишини ва ўсимликни ривожланишини тезлаштиради; тупроқ унумдорлигини оширади ва экологик ҳолатни яхшилайдди.

“Псевдоризобин” препарати нўхат ўсимлиги илдизидан ажраб олинган туганак бактериялар ва илдиз ризосфераси бактериялари асосида тайёрланган. “Псевдоризобин” - нухатга специфик, комплекс таъсирга эга бўлган янги экологик тоза биологик препарат бўлиб, нўхат уруғига экишдан олдин ишлов беришга мўлжалланган. Препаратдан фойдаланганда, унинг таркибидаги микроорганизмлар, нухатнинг ризосферасида фаол колониялар ҳосил қиладилар ва у билан тўғридан тўғри симбиоз ҳосил қилиб, атмосфера ҳавосидаги азотни ўзлаштириб, ўсимликни ўсишини тезлаштирувчи, ҳосилдорлигини ва иммунитетини оширувчи, фитопатоген микроорганизмларга қарши курашувчи биологик фаол модда – препарат нухат ҳосили таркибидаги нитратлар миқдорини камайтиради ва тупроқ структурасини яхшилайди.



5.20-расм. Нўхат ўсимлиги учун мўлжалланган “Псевдоризобин” микробиологик препарати.

Замин-М биопрепарати *Bacillus subtilis* СКБ 309, *Bacillus megaterium* СКБ 310 ва *Pseudomonas stutzeri* СКБ 308 ризобактерия штаммлари ягона озуқа муҳитида рақобатсиз муносабатда яшаш ва сақланиш хусусиятига эга ассоциатив тузилмадан иборат. Мазкур ризобактериялар хлорид ва сульфатли шўрланишнинг 200 мМ гача концентрацияларига чидамли културалардан танлаб олинган. Уларнинг шўрланишга чидамлилиги плазмид ДНК сининг компонент таркибини электрофоретик таҳлиллари асосида йирик ўлчамдаги, *Bacillus subtilis* СКБ 309 штаммида 13,3; 30 ва 48,5 м.ж.н; *B. megaterium* СКБ 310 штаммида 23,1 м.н.ж. плазмидларнинг мавжудлигига кўра изоҳланган. Препарат таркибига кирувчи штаммлар юқори даражада индолил 3-сирка кислотасини (ИСК) синтез қилади. Хромато-масс-спектрометрик усул *Pseudomonas stutzeri* СКБ 308 *штамми*

ИСК синтези жараёнида оралиқ бирикма сифатида кучли антагонистик фаолликка эга бўлган бирикма *1-бром-2-фталимидэтан* синтез қилиши аниқланган. Препарат тупроқ микрофлорасига ва тупроқ ферментлари (каталаза, инвертаза, уреаза, фосфатаза, пероксидаза, полифенолоксидаза) фаоллигига ижобий таъсир кўрсатади.



5.21-расм. “Замин-М” биопрепарати 3 хил микроорганизмлар асосида шакллантирилган «Замин-М» микробли омпозициясини чигитга ишлов бериш учун 2,5 л/т ва вегетация даврида 2,0+2,0 л/га меъёридаги микдоридан фойдаланиш тупроқ шўрланишига қараб, 5,4 ц/га дан 7 ц/га гача юқори ҳосил олиш имконини беради.

Замин-М биопрепаратини ишлаб чиқаришнинг технологик жараённинг босқичлари. Микроорганизмларни суяқ озуқа муҳитларида ўстириш қуйидаги босқичлардан иборат бўлади:

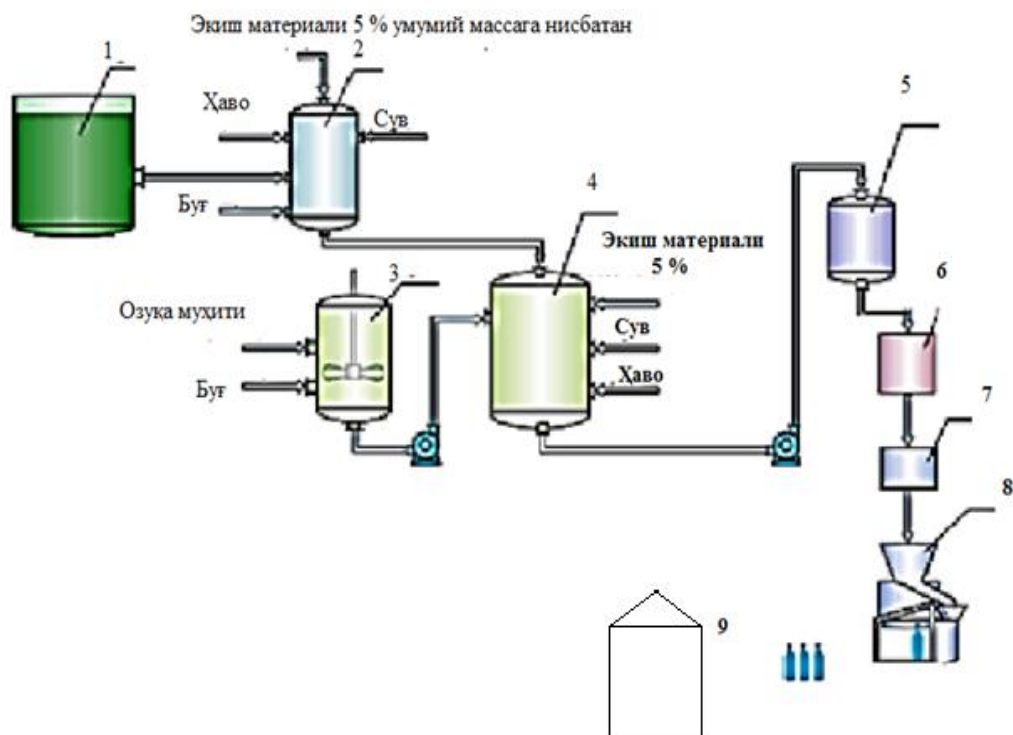
- Озуқа муҳитини тайёрлаш, стериллаш ва совутиш;
- Экув материални тайёрлаш;
- Продуцент микроорганизмлар штаммларини ўстириш;
- Биопрепаратларни қадоқлаш ва сақлаш.

Экув материални лаборатория шароитида амалга оширилди. Бу босқич икки қисмдан иборат бўлиб:

- 1) лиофил қуритилган штаммларни фаоллаштириш ва қаттиқ озуқа муҳитлари сиртида кўпайтириш (72 ± 2 соат давомида $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ҳароратда);
- 2) инокулятни тайёрлаш. Экув материални суяқ озуқа муҳитига кўчириб ўтказилиб, 48 ± 2 соат давомида $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ҳароратда ўстириш.

Тайёр экув материални таркибида 5×10^9 хуж/млдан дан кам бўлмаган продуцент-микроорганизмлар мавжуд бўлишига қадар ўстирилди. Тайёр биопрепарат озуқа муҳити билан бирга микроорганизмларнинг

култураларидан иборат бўлди. Кейин микроорганизмларнинг 5; 10; 20 л дан қилиб қадокланди ва сақлаш учун омборхонага ёки ишлатиш учун юборилди.



5.22 -расм. «Замин-М» препаратини суюқ шаклини ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси.

1. Озуқа муҳити тайёрлаш идиши
2. Дастлабки экув материалини ўстириш инокулятори
3. Асосий озуқа муҳитини тайёрлаш идиши
4. Асосий ўстириш ферментёри
5. Биомассани йиғиш идиши
6. Биомассани сақлаш идиши
7. Дозатор
8. Қадоклаш ускунаси
9. Омборхона.

XVI БОБ. ЎСИМЛИКЛАРНИ ҲИМОЯ ҚИЛИШДА БИОТЕХНОЛОГИЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

Шундай қилиб, мутахассисларни ўсимликларни ҳимоя қилиш борасида тегишли воситалардан фойдаланиш муаммоси қизиқтирса, биотехнологларни уларни ишлаб чиқаришни қандай ташкил этиш лозимлиги муаммоси қизиқтиради. Бу ерда шунини ҳам қайд этиш лозимки, бактерия ва

замбуруғларни ўсимликларни ҳимоя қилиш мақсадида етиштириш, турли хил моддалар, масалан, антибиотикларни олиш борасидаги ишланмалардан тубдан фарқ қилмайди. Шу билан бирга биотехнология ва ген муҳандислиги ўсимликларни ҳимоя қилиш воситаларидан фойдаланиш имкониятларини янада кенгайтиради.

Ўсимлик касалликларига қарши курашда биотехнологик усуллардан фойдаланиш истикболлари

Қишлоқ хўжалигида етиштирилаётган ўсимликларнинг катта қисми ҳар йили турли хил касалликлар ҳисобига нобуд бўлади. Ўсимлик касалликларини асосан уч тоифага мансуб паразит микроорганизмлар чақиради. Улар вируслар, бактерия ва замбуруғлардир.

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

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

Экиш материалларини соғломлаштириш ва уларни вирусли инфекциялардан ҳимоя қилишда ажратиб олинган тўқима ва органлардан фойдаланиш усули кенг имкониятлар очди. 1943 йилда тўқималар културасига асос солган олим Ф.Уайт тамаки вируси билан зарарланган ўсимликларнинг илдизлари учки қисмида вируслар учрамаслини айтиб ўтган

эди. Шунга ўхшаш натижалар бошқа муаллифлар томонидан ҳам келтирилган. Бу маълумотларга таяниб, Франция Миллий агрономик институти ходимлари томонидан георгина ўсимликларининг озиқа муҳитларида ўстирилаётган меристемаларидан соғломлаштирилган экиш материаллини олиш усуллари таклиф этилган. Улар ўсимликларнинг апикал меристемасидан вирусдан ҳоли етук ўсимликларни етиштиришга муваффақ бўлганлар. Картошканинг Бель де фонтене навининг зарарланган қисмидан ажратиб олинган ва сунъий озиқа муҳитида ўстирилган соғлом меристемаларидан фойдаланиб уни вирусдан батамом ҳоли қилишга эришилган.

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

Инфекциялардан ҳоли ўсимликларни олиш жараёнини қуйидаги босқичларга бўлиш мумкин:

- вируслар мавжудлигини аниқлашга ёрдам берадиган ўсимликлар ёрдамида соғломлаштириладиган намуналарнинг зарарланиш даражасини аниқлаш;
- термотерапия ва меристемаларни ўстириш;
- ўсимлик меристемаларидан олинган регенерация қилинган кўчатларда вируслар мавжудлигини текшириш.

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

Вируслардан ҳоли қилишда эксплантларга термик ишлов бериш усулидан ҳам фойдаланилади. 30-40⁰С ҳароратда ўсимликлар таркибидаги вируслар концентрациясининг кескин пасайиши, айниқса, бу ҳолат, ўсувчи қисмларида кузатилади. Мазкур усул бирмунча йирик, осон яшаб кета оладиган эксплантлардан фойдаланишда самара беради.

Ажратиб олинган тўқима бўлагини агарли муҳити солинган 3-4 мг ҳажмли пробирка юзасига кўчириб ўтказилади, кейин оғзини пахта тикин билан беркитилади. Ж.Морел картошка эксплантларини илдиз олиши учун озиқа муҳити таркибини таклиф этган. Бу озиқа муҳити, худди шу мақсадда тайёрланган озиқа муҳитларидан калий ва аммоний микдорининг кўплиги, ўсиш ва ривожланишни стимулловчи модда сифатида гиббереллин кўшилганлиги билан фарқ қилади.

Меристема ўтказилган пробиркаларни ҳарорати 25⁰С бўлган ёруғ хонага жойлаштирилади. Шундай сўнг ҳар йигирма-ўттиз кунда меристемалар алоҳида пробиркаларда поялар бера бошлайди. 3-4 см ли пояларни 0,5-1,0 см ли бўлақларга бўлинади. Уларнинг ҳар бири барг ва яширин куртакларга эга бўлиши керак ва илдиз ҳосил қилиши учун айнан ўша озиқа муҳитига экиб борилади. Шундан сўнг ўсимликларни тупроққа кўчириб ўтказилади.

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

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

Тўқималар култураси усулидан ташқари ўсимликларни вирусдан ҳоли қилишда ген муҳандислиги усуллари ҳам муҳим аҳамиятга эгадир. Масалан, нуклеин кислоталарни клонлаш ўсимлик тўқималаридаги вирусларни

аниқлаш ва зарарланган ўсимликларни ажратиб олиш имконини беради. Бу йўл билан АҚШ Қишлоқ хўжалик хизмати тадқиқот марказида картошканинг урчуқсимон вируси РНК си виroidи ажратиб олиниб, унга мос ДНК нусхасини тескари транскриптаза ёрдамида синтезлаб, клонлашга муваффақ бўлинган. Бу виroidдан қутулиш жуда қийин, уни картошка тугунакларида аниқлаш ҳосилни сезиларли даражада ошириш имконини беради. Фақат соғлом тугунаклардан фойдаланиш ҳам ҳосилдорликни кўтаришга ёрдам беради. Шундай қилиб, клонланган ДНК вирус ва виroidларга аниқ ва ишончли равишда ташхис қўйиш имконини бўлиб, у вирус РНК си билан гибридизация бўла олади.

Табиий шароитларда фитопатоген замбуруғлар - ўсимликларнинг касаллик чакирувчиларида бошқа замбуруғларнинг паразит ҳолда яшаб, кўпайиши ҳолатлари ҳам кўп учрайди. Бошқа паразит замбуруғларда ривожланадиган паразит замбуруғлар иккиламчи тартибдаги гиперпаразитлар деган ном билан юритилади. Агар биринчи паразит қайсидир касалликни чакирувчиси бўлса, иккинчисидан шу касаллик билан курашда фойдаланиш мумкин. Биотехнологиянинг вазифаси очиқ ва ҳимояланган ер шароитидаги фитопатогенларга қарши курашда ишлатиладиган микробиологик препаратларни ишлаб чиқариш жараёнларининг ишланмасини тузишдир.

Ўсимликларни касалликлардан ҳимоя қилишда микроорганизмлар ишлаб чиқарадиган антибиотик моддалар алоҳида ўрин тутди. Улар эволюция жараёнида микроорганизмларнинг бир-бирига нисбатан кучли кураш воситаси сифатида келиб чиққан. Ўсимликларни ҳимоя қилишда баъзи антибиотиклардан фойдаланиш биотехнологияда янги йўналишлар - турли хил агрохимикатлар, улар орасида микроблар асосида олинган гербицидлар, ҳайвонлардан олинадиган аттрактантлар, экизонлар, фитогормонлар ва бошқа хил моддаларни ҳам олиш йўллари ва қишлоқ хўжалигида қўллаш истиқболларини очиб берди.

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

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

Бундан ташқари фитопатоген бактерия ва замбуруғларга қарши қўлланиладиган антибиотиклар ўсимликлар ва улар билан озиқланадиган ҳайвонлар учун ҳам заҳарсиздир. Баъзан антибиотиклар ўсимликларнинг ўсиб ривожланиши учун ижобий таъсир кўрсатиб, уларнинг ҳосилдорлигини оширишга ёрдам ҳам беради. Сув ҳавзалари ёки тупроққа тушган антибиотиклар осон парчаланади улар қишлоқ хўжалигида қўлланиладиган сунъий препаратлардан фарқ қилади. Олимлар антибиотикларнинг деградациясининг тезлигини уларнинг синтезида иштирок этувчи фермент тизимлари билан боғлайдилар. Бу ферментлар иштирокида антибиотикларнинг парчаланиши амалга ошади. Кимёвий йўл билан синтезланган бирикмалар табиатда жуда қийин парчаланади, чунки уларни парчаловчи микроорганизмларда тегишли ферментлар учрамайди. Ўсимликшуносликда антибиотиклардан фойдаланишга бўлган қизиқишнинг

кескин ортишига сабаб, заҳарли кимёвий моддалардан фойдаланишнинг оқибатлари ва улар қўлланилган ўсимликлар билан озиқланадиган ҳайвонларнинг заҳарланиши билан боғлиқдир. Тупроқдан сув ҳавзаларига тушган заҳарли кимёвий моддалар сув ҳайвонларининг турли хил вакиллари ва бошқаларнинг ҳам нобуд булишига олиб келади.

Антибиотиклар биринчи марта ўсимлик касалликларига қарши баъзи Европа мамлакатлари ва АҚШда қўлланилган. Стрептомицин тетрациклин билан комбинацияда сабзавот ва полиз экинларининг бактериал касалликларига қарши қўлланилган. Кейинроқ айти шу мақсадда циклогексемид ва гризеофульвин ишлатила бошланди. Ҳорижий мамлакатларда ўсимликларни касалликлардан ҳимоя қилишда ҳозир ҳам тиббий мақсадларда фойдаланиладиган антибиотиклар ишлатилади. Масалан, агрисепт препарати 37% ли стрептомицин сульфат, фитомисин-20%ли стрептомицин нитрат, агримисин-10-15% ли стрептомицин ва окситетрациклиннинг 10:1 нисбати ва ҳоказолардан иборатдир.

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

Ўсимликларнинг турли касаллик ва зарақунандаларига қарши дунёнинг кўплаб мамлакатлари – Канада, Нидерландия, Австралия, Руминия, Польша, Миср, Покистон ва Филиппинда Японияда ишлаб чиқарилган

антибиотик ва синтетик фунгицидлар тутувчи комплекс препаратлар қўлланилмоқда.

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

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

Олинган тадқиқот натижаларининг кўрсатишича, фитобактериомицин ғўза гоммози, дуккакли экинларда фузариоз сўлиш, гармдорида вертициллёз сўлиш, қорақатда антракноз, бедада доғланиш каби касалликларга қарши курашда яхши самара беради.

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

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



6.1-расм. Фитолавин препарати.

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

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

Микроорганизмларда антагонизм хусусияти анча илгари аниқланган. Уларни 20 йилларда антибиотиклар кашф этилганга қадар фитопатоген микрофлорага қарши қўлланилган. Актиномицетлар ва миколитик

бактериялар зиғир, ғўза, сабзавот экинлари, данакли меваларнинг касалликларига қарши қўлланилганда ижобий самара берган.

Антагонист микроблардан тупроқни соғломлаштириш мақсадида ҳам фойдаланилади.

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

Антагонист – замбуруғлар орасида триходерма авлоди вакиллари кенг қўлланилади. Триходермани мевали дарахтлар куйдиргисига қарши қўлланилади. Ҳозирда АҚШда триходермани ерёнғоқ склеротиниясига қарши тупроққа бериш мақсадида ишлаб чиқариш усуллари тақомиллаштирилмоқда. Францияда узумнинг қўнғир чириш касаллигига қарши триходерма препаратлари билан ишлов бериш ижобий натижалар берган. Исроилда картошканинг ризоктониоз касаллиги ва бошқа касалликларига қарши препарат ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.



6.2-расм. Триходермин препарати.

Триходермин препарати триходерма замбуруғини турли хилдаги ўсимлик чиқиндилари ва бошқа субстратлар (нон мағзи, сомон, ғалла чиқиндилари, торф) да ўстириш асосида олинади. У тупроқда учрайдиган турли хил қишлоқ хўжалик экинларининг касалликлари - илдиз чириши, зиғир ўсимлиги касалликлари, ғўзанинг вертициллез сўлиши ва бошқаларга қарши қўлланилади.

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

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

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

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

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

XVII бoб. ЭНТОМОПАТОГЕН ПРЕПАРАТЛАР ИШЛАБ

ЧИҚАРИШ БИОТЕХНОЛОГИСИ

Бактериал препаратлар

Ҳозирги вақтда ўсимлик зараркунанда ҳашаротларига қарши қўплаб микроорганизмлар мажмуалари ўрганилган ва улар асосида микроб биопрепаратлари тайёрлашнинг илмий асослари яратилган. Саноат асосида қўплаб препаратлар ишлаб чиқарилмоқда ва амалиётда кенг қўлланилмоқда.

Бундай препаратларни тайёрлаш учун бактериялар, замбуруғлар ва вируслардан фойдаланилади. Препаратларни ишлаб чиқариш технологиялари ҳам хилма хилдир. Уларни ишлаб чиқаришда микроорганизмларнинг физиологияси ва биокимёвий хусусиятлари ва препарат нима мақсадда қўлланилиши эътиборга олинади. Микроб препаратларини ишлаб-чиқариш учун қўйидаги талаблар қўйилади:

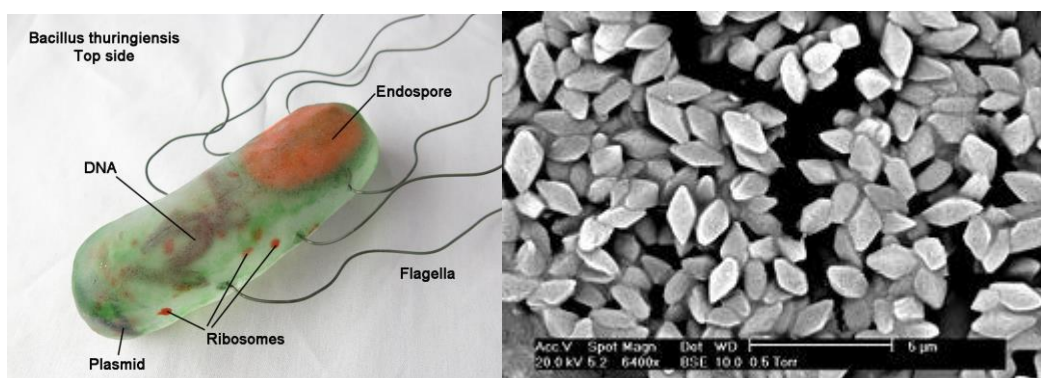
- уларнинг спецификлиги, фақат маълум турдаги заракунандаларга таъсир қилиб, фойдали ҳашаротларга зарарсизлиги;
- юқори самарали таъсир кучига эга бўлиши;
- ишлаб чиқариш ва қўллашнинг қўлайлиги;
- одам ва ҳайвонлар учун ҳавфсиз бўлиши;
- препаратнинг фойдали хусусиятларининг узоқ сақланиши;
- унинг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

Дунёда 50 га яқин ўсимликларни зараркунанда ҳашаротлардан ҳимоя қилиш учун микробиологик препаратлар яратилган.

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

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

Bacillus thuringiensis бактерияси жуда кўп муҳим хусусиятларга эга: тез кўпаяди; жуда кўплаб озиқа муҳитларида спора ҳосил қилади; вегетатив ўсиши тугагандан сўнг, фақат спора ҳосил қилибгина қолмасдан, зараркунанда ҳашаротларни нобуд қиладиган асосий восита – кристалл ҳолдаги эндотоксинни синтез қилади. Бу бактериянинг айрим штаммлари кристалл ҳолдаги эндотоксиндан ташқари ўзи ўсадиган муҳитга юқори ҳароратга чидамли, ҳашаротлар учун ўта зарарли β -экзотоксин ва ферментлар ажратиб чиқаради (4.3-расм).



6.3-расм. *Bacillus thuringiensis* ва унинг спора кристалларининг кўриниши.

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

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

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

Уларнинг ўлчамлари 0,5x1,3 дан 1x3,5 мкм гача ва ҳаттоки субмикроскопик кўринишигача кичик бўлиши мумкин, рН кўрсаткичи кучли ишқорий (рН 11,5 дан юқори) шароитда яхши эрийди. Кристаллар 100°C ҳароратда 30-40 минут қиздирилгандагина ўзининг заҳарлилик хусусиятини йўқотади.

Дунёда ушбу препаратларни ишлаб чиқаришнинг 20 га яқин саноат шакллари яратилган, уларнинг барчаси асосида *B. thuringiensis* нинг у ёки бу турлари ётади. Асосан саноат асосида қуйидаги турлардан фойдаланилади: *B. thuringiensis*, *var.thuringiensis*, *kurstaki*, *galleriae* *dendrolimus*, *israelensis*.

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

«Биокристалл» инсектицид биопрепарати ва ғўза заракунандалари ва касалликларига қарши AntibacUz биопрепаратлари яратилди ва препаратнинг дастлабки нусхалари лаборатория ва дала шароитида синовдан ўтказилиб муваффақиятли деб топилди.

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

Препарат эритмаси ўсимликка пуркаш йўли билан қўлланилади. Уни 2-5 кг/га миқдорда 300-1500 л/га махсус пуркагичли мосламалар ёрдамида ҳам, катта майдонларга самолёт ёрдамида ҳам сепилиши мумкин. Энтобактеринни қўллашнинг мўътадил ҳарорати 18-32⁰С дир.

Ҳозирги кунда шунга ўхшаш, турли хил номлар билан бир қанча препаратлар бутун дунёда ишлаб чиқарилмоқда ва ўсимлик зараркунанда ҳашаротларига қарши курашиш амалиётида кенг қўлланилиб келинмоқда. Масалан: *дентробациллин*, *битоксибациллин (БТБ)*, *БИП-биологик инсектицид препарат*, *гомелин*, *лепидоцид*, *бактокулицид*, *дипел*, *бактоспеин* ва бошқалар.



6.4 –расм. *Bac. thuringiensis* бактерияси асосида тайёрланган
энтомопатоген биопрепаратлар

Bac. thuringiensis бактерияси асосида тайёрланган биопрепаратлар юқори самарадорликка эга. Бу препаратларнинг барчаси *Bac. thuringiensis* бактерияси штаммлари асосида тайёрланган бўлиб, ҳашаротлар турига кўра таъсири, препаратни тайёрлаш технологияси, самадорлиги ва бошқа бир қанча хусусиятлари билан бир-бирларидан фарқ қилади.

Ўзбекистонда бу препаратларни етарли миқдорда ишлаб чиқариш ва кенг миқёсда қишлоқ хўжалик экинлари, мева ва сабзавот экинлари зараркунанда ҳашаротларига қарши қўллаш кимёвий инсектицидларга нисбатан истиқболли ва экологик ҳавфсиз чралардан бири бўлиб ҳисобланади.

Вирусли энтомопатоген препаратлар

Ҳамма энтомопатоген препаратлар ичида вирусли препаратлар хўжайин ҳашаротга нисбатан ўзининг спецификлиги билан характерланади. Улар одатда бир турдаги ҳашаротларгагина таъсир кўрсатади. Уларнинг тор доирадаги таъсирининг ўзи бу препаратларнинг инсон, флора ва фауна учун зарарсизлигини кўрсатади. Вируслар ноқулай ташқи таъсирлар (ҳарорат, намлик)га ўта чидамли бўлиб, улар ҳашаротлардан ташқарида, алоҳида ҳам 10-15 йилгача ўз таъсир кучини йўқотмайди.

Ҳашаротнинг вируслар билан касалланиши уларнинг озиқланиши орқали юз беради. Ҳашарот ичакларига тушган вирус танаси ишқорий муҳитда парчалана бошлайди. Ажралиб чиққан вирионлар ичак деворларидан ҳужайраларга ўтиб, ядроларда вируслар репликацияси рўй беради. Ҳужайралардан ажралиб чиққан вируслар бошқа ҳужайраларни ҳам зарарлай бошлайди ва оқибатда ҳашаротлар личинкаларининг нобуд

бўлишига олиб келади. Вирусларнинг ўзига хос белгилари уларнинг фақат тирик тўқималардагина кўпая олишидир. Бу эса ўз навбатида саноат миқёсида вирусли энтомопатоген препаратларни ишлаб чиқаришда бир мунча қийинчиликлар туғдиради, чунки вирусларни кўпайтириш технологияси жараёнида фақатгина тирик хўжайин-ҳашаротлардан фойдаланиш талаб этилади. Ҳозирги пайтда 3 хил вирусли энтомопатоген препаратларни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган: вирин-ЭКС (карам қуртига қарши), ЭНШ (ток ичак қурти касалига қарши), АББ (америка оқ капалагига қарши).

Ҳар қандай вирусли препаратни ишлаб чиқариш хўжайин ҳашаротни физиологик соғломлигини таъминловчи сунъий озиқа муҳитида ўстиришдан бошланади. Маълум бир ривожланиш фазасида (одатда вояга етган ҳашарот даврида) ҳашаротлар овқатига вирусли суспензия қўшиш йўли билан улар зарарлантирилади. Бунинг учун инокулят олдиндан бир қанча касалланган личинкалардан олиб тайёрланади. Ҳашаротлар зарарлангандан сўнг унинг тўқимасида максимал даражада вируслар тўпланишини таъминловчи қатъий аниқ шароитда сақланади.



MyShared

6.5-расм. Вирусли энтомопатоген препарат.

7-9 кундан кейин нобуд бўлган ва чалажон личинкалар йиғилади, 33-35⁰ С да улар қуритилади, механик усулда тўқималар йиғиндиси майдаланади. Ҳар

бир кўнғизга физиологик эритма ёки дистилланган сув 1 мл ҳисобида кўшилади, майдалангач, суюлтирилган тўқима филтрлаб ишлатилади.

Замбуруғлар асосида олинадиган энтомопатоген препаратлар

Замбуруғли энтомопатоген препаратлар зарарли ҳашаротларда микоз касаллигини туғдириш орқали уларнинг nobуд бўлишига олиб келади. Энтомопатоген бактериялар ва вирусларга нисбатан замбуруғлар қуйидаги ўзига хос хусусиятларга эга:

а) nobуд бўлиш овқат ҳазм қилиш йўллари орқали эмас, балки бевосита кутикула орқали руй беради;

б) ҳашаротлар ғумбак ва имаго ривожланиши фазасида nobуд бўлиб, бу бошқа микроорганизмлар билан бўладиган ўзаро муносабатларда кузатилмайди;

в) замбуруғлар нисбатан тез ўсиши ва жуда катта репродуктив қобилиятига эгаллиги билан характерланади, энтомопатоген фаоллигини пасайтирмасдан спора ҳолатида узок вақт табиатда сақланиши мумкин:

г) айрим ҳашарот турларини nobуд қилишда юқори даражада специфик бўлиб, уларнинг вирулентлиги қўлланиладиган замбуруғларнинг штаммига боғлиқ бўлади.

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

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

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

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

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

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

Ҳашаротларга таъсири юзасидан гонидиялар, конидиялардан қолишмайди, аммо ишлаб чиқариш шароитида гонидиялар асосида юқори фаолликка эга препаратлар олиш имкони йўқ. Чунки улар қуритиш босқичида конидийларга нисбатан юқори ҳароратли пуркаб қуритгич мосламаларда қуритилганда 20-50% кўп нобуд бўлади. Шунинг учун қуритилгандан сўнг споралар яшовчанлиги ва уларнинг вирулентлиги кўра боверин ишлаб чиқаришдаги асосий эътибор конидиоспора миқдори максимал даража юқори бўлишига йўналтирилган. *B. bassiana* Vuill замбуруғини суяқ озиқада ўстириш орқали конидиоспора олиш муаммоси фақатгина озиқа муҳитини ва ферментация шароитини тўғри танлаш муаммоси ҳал қилингандан сўнг ўз ечимини топди.

Ҳозирги вақтда қишлоқ хўжалик экинлари зараркундаларига қарши курашда замбуруғларнинг бошқа турлари, жумладан метаризиум, вертициллум, гирзутелла, гименостильбе, ашерсония, кониотириум, энтомофтора ва бошқалар ҳам жалб этилмоқда.

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

Ўсимлик зараркунада ҳашаротларига қарши курашда биологик фаол моддалардан фойдаланиш

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

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

Ҳаводаги концентрацияси 10^{-12} мг/л бўлганда улар эркак индивидларда да жинсий қўзғалиш реакциясини чақиради. 1980 йилларда 700 дан ортиқ ҳашаротлардаги феромонлар ўрганилиб, улардан 220 турининг кимёвий тузилиши аниқланди. Кимёвий табиатига кўра, феромонлар кимёвий

бирикмаларнинг бирор синфига киритилади. Тангача қанотлиларнинг жинсий феромонлари одатда 10-18 углерод атомли спирт, ацетат ва альдегидларга яқин бўлади. Улар алоҳида кимёвий бирикмалар сифатида ифодаланади, лекин биологик таъсири бир неча хил компонентларни ўз ичига олади. Одатда феромонларнинг биологик таъсири учун тур спецификлиги хосдир. Ҳашаротларнинг турли хил турлари феромонлар сифатида муайян кимёвий бирикмалар ёки муайян тартибдаги компонентлар аралашмасидан фойдаланади.

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

Кимёвий феромонларнинг ҳам спецификлиги паст бўлиб ҳисобланади, чунки кўплаб ҳашаротларнинг табиий феромонлари алоҳида кимёвий бирикмаларнинг йиғиндисидан иборат бўлиб, бир қатор феромонларнинг баъзи компонентлари бир неча ҳашарот турлари учун умумий бўлади. Юқори специфик феромонларни ишлаб чиқариш кимёвий тоза бирикмалар ва уларнинг муайян нисбатдаги комбинацияларини олишнинг қийинлиги сабабли, шунингдек, ҳашаротларнинг жуфтлашиш жараёнидаги ҳатти-ҳаракатларини бошқаришда жинсларнинг алоҳида ўрни тўғрисидаги маълумотларнинг йўқлиги каби кўплаб муаммоларга дуч келмоқда. Маълумки, шарқ мевахўрида жуфтлашиш тўрт босқичда амалга ошади: эркагини урғочига жалб қилиниши, унинг яқинлашиши, урғочининг ориентацияси ва копуляция. Ҳар бир босқич муайян кимёвий компонент таъсири билан тавсифланади.

Сунъий феромонларнинг самараси пастлиги сабабли ўсимликларнинг табиий аттрактантлар ҳосил қилишдаги ролини алоҳида қайд этиш лозим. Масалан, дарахтларнинг луб қаватини кемириб зарар келтирувчи лубхўр кўнғизнинг феромон комплексига мирцен киради, у ўсимликларда ҳам ҳосил бўлади. Ҳашаротлар ўсимликларнинг баъзи алкоидларидан жинсий

феромонлари синтезида оралик маҳсулот сифатда фойдаланадилар. Хўжайин-ўсимликларда учрайдиган α -пинен моддаси *Ips paraconfusus* кўнғизлари цис – вербеноли биосинтезида дастлабки бирикма сифатида хизмат қилади.

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

Ўсимликларни ҳимоя қилишда феромонлардан фойдаланишнинг уч хил йўли мавжуд;

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

Кимёвий ва табиий феромонларни зараркунанда ҳашаротларга қарши амалиётда қўллашнинг асосий йўлларида бири - уларнинг популяцияларини мониторингини ўтказиш, тутқич ёрдамида зараркунандаларнинг сонини аниқлашдан иборат. Оддий кузатувларни экин майдонларида олиб бориш заракундаларнинг учраш даражаси ва экин майдонларининг зарарланганлик ҳолати тўғрисида аниқ ва тўлиқ маълумот бера олмайди. Тутқичга тушган алоҳида ҳашаротлар маълум турдаги ҳашаротнинг яқин атрофда учрашидан далолат берса, тutilган ҳашаротларнинг сони уларга қарши кураш чоралари тўғрисида бир тўхтамга келиш имконини беради. Бундай тадқиқотлар натижасида, зараркунанда ҳашаротларга қарши кураш учун сарфланадиган ҳаражатларни кескин

қисқартириш, ҳашаротларнинг бошқа ҳудудларга тарқалмаслигини олдини олиш мумкин.

Феромонларли тутқичлар карантин зараркунандаларини топиш имконини беради. Ҳозирги вақтда карантин объектларини эрта аниқлашда феромонлардан дунё амалиётида кенг фойдаланилмоқда (шарқ мевахўри, картошка куяси, америка оқ капалаги, калифорния қалқондори ва ҳ.к.) 1976 йилда АҚШда биринчи марта йирик ҳажмдаги майдонларда 17 мингдан ортиқ тримедлор, кюлор ва метилевгенол феромони сақловчи тутқичлар қўйилиб мамлакат жанубидаги уч хил ҳавфли зараркунандалар: ўрта ер денгизи мева пашшаси, қовун пашшаси ва шарқ мева пашшасини топишга муваффақ бўлишган. Улар зараркунандаларни янги майдонларга ўрнашиб олмасларидан олдин топиш ва йўқотиш имконини беради. Зараркунандаларни бундай эрта аниқлаш уларни қириш учун ишлатиладиган ўта ҳавфли интродуцентларни қўллашга сарфланадиган миллионлаб долларларни тежашга шароит яратади. Бундай мақсадларда импорт маҳсулотлари олиб ўтиладиган портларда тутқичлар халқа шаклида қўйилади. Агар қайсидир зараркунанда ҳашарот жойлашиб олган бўлса, феромонли тутқичлар зараркунандалар жойлашган жойни аниқлаб, уларга қарши қўлланиладиган кимёвий инсектицидларни мўлжал бўйича қўллаш имконини беради ва табиатнинг ифлосланишни олдини олади. Масалан, 1956 йилда Флоридада ўрта ер денгизи мева пашшаси 0,4 млн га ерга тарқалиб кетади. Аттрактантлар билан қўлланилган тутқичлар зараркунанда ҳашарот жойлашган жойни аниқлаш ва ўрта ер денгизи мева пашшасини кимёвий инсектицидлар билан тўлиқ қириб ташлаш имконини беради.

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

Ўзбекистонда ҳам феромонлар заракунанда ҳашаротларга қарши курашда фойдаланилади. Феромон тутқичлар ўсимликнинг ўсув даврида химоя тадбирлари ўтказишнинг зарурати ва муддатларини аниқлаш мақсадида қўлланилади. Жумладан, Армигаль препарати (цис-11-гексадециналь+цис-9-гексадециналь) 2 гектарга 1 дона миқдорда ғўза тунламига қарши, атрактон (транс-10, транс -12, цис-14-гексадектриенил ацетат) тут парвонасига қарши қўлланилади.

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

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

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

АҚШда Конрел фирмасининг икки хил турдаги диспенсери ва уч қаватли полимер пластинкалар (Геркон фирмаси маҳсулот) дан фойдаланилади. Феромоннинг 1 га ерга бир мавсумда ишлатиладиган миқдори бир неча граммни ташкил этади. Зараркунанда ҳашаротларнинг физиологик фаол моддларидан фойдаланиш ҳам жуда истиқболли соҳа ҳисобланади.

Феромонлар билан бирга ўсимликларни химоя қилишда ҳашаротларнинг бошқа хил физиологик фаол моддаларини ҳам қўллаш мумкин. Ички секреция безлари турли хил гормонларни ишлаб чиқаради. Улар ичида энг кўп ўрганилгани ювенил (личинка гормони) ва туллаш гормони (экдизон)дир. Улар ҳашаротларнинг гормон бошқарилувида асосий

аҳамиятга эга. Ўсимликларни ҳимоя қилиш соҳаси мутахассислари бу гормонлардан ҳашаротлардаги нормал ривожланиш ва кўпайиш жараёнларини издан чиқаришда фойдаланишлари мумкин.

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

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

Бегона ўтларга қарши кураш усуллари

Ўсимликларни ҳимоя қилишдаги яна бир муҳим йўналиш – бегона ўтларга қарши кураш. Ҳозирги вақтда бегона ўтларга қарши кураш гербицидларни қўллашга асосланган кимёвий усулар билан олиб борилади. Замонавий ўсимликшуносликда гербицидларни қўллаш қишлоқ хўжалик экинларининг ҳосилдорлигини ошириш ва қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқариши самарадорлиги юқори кўтариш йўллари билан бириктирилади. Гербицидларнинг асосий камчилиги - уларнинг ҳайвон ва одам организми учун оз ёки кўп даражада заҳарлилиги билан боғлиқ. Шунингдек, оқава сувлар ва аэрозоллар ишлатилиши натижасида улар тупроқ ва сув

хавзаларига тушиши, ўсимлик озиқалари ва ҳайвон маҳсулотларида тўпланиб одам ва ҳайвонлар саломатлиги учун жиддий хавф туғдириши мумкин.

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

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

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

Японияда бегона ўтларга қарши *Streptomyces hygroscopicus* ва *S.viridochromogenes* актиномицетлари ажратиб чиқарадиган биалофос

гербицидидан фойдаланиш таклиф этилмоқда. Бу гербицид кенг спектрга эга бўлиб, бир қатор бегона ўтларга қарши униб чиқиш давридан бошлаб бутун ўсув даври мобайнида фойдаланиш имконини беради. Бироқ, биолофосни бевосита тупроққа киритилганда, унинг самараси деярли бўлмайди, бунинг сабаби юқорида келтирилган эди.

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

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

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

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

Гербицидсимон моддаларнинг истиқболли продуцентлари сифатида *S. toyocaensis*, ирпекс замбуруғлари (*Irex pacyodon*) кабиларни кўрсатиш

мумкин. Шунингдек, *Rhizobium japonicum* бактериясининг баъзи штаммлари 0,2 га/кг меъёрида гербицид таъсирга эга ризобитоксин ишлаб чиқариши ҳам маълумдир.

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

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

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

Ген ва ҳужайра муҳандислиги усуллари асосида касаллик, зараркунанда ва заҳарли моддаларга чидамлилик белгилари киритилган ўсимликлар тўғрисида юқоридаги бобларда батафсил маълумот берилган

бўлиб, мазкур йўналиш ҳам қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришида муҳим аҳамият касб этаётганлигини яна бир бор таъкидлаш жоиздир.

VI бобга доир назорат саволлари:

1. Ўсимликларни кимёвий ва биологик усулда ҳимоя қилишдан биотехнологик усулларнинг афзаллиги нимада?
2. Ўсимлик касалликларининг қандай турларини биласиз ва уларга қарши биотехнологик кураш чоралари нималардан иборат?
3. Ўсимликларни вируслардан ҳоли қилиш йўллари изохлаб беринг.
4. Қишлоқ хўжалик экинларини касалликлардан ҳимоя қилишда микроорганизмлар ишлаб чиқарадиган антибиотикларнинг ўрни қандай?
5. Антагонист микроорганизмлардан ўсимлик касалликларига қарши курашда фойдаланишнинг афзалликлари.
6. Қишлоқ хўжалик экинлари зараркунандаларига қарши курашда микроорганизмлардан олинадиган қандай препаратлар мавжуд?
7. Зараркунада ҳашаротларга қарши қўлланиладиган бактериал препаратларнинг қулайликлари ва камчиликлари нимада?
8. Вирусли ва замбуруғли энтомопатоген препаратларнинг ўзига хослиги.
9. Қишлоқ хўжалик экинлари зараркунандаларига қарши курашда қандай биологик фаол моддалар қўлланилади?
10. Феромонлардан фойдаланишнинг ютуқ ва камчиликлари нималардан иборат?
11. Бегона ўтларга қарши биотехнологик кураш чораларининг ўзига хослиги.
12. Ҳозирги вақтда микроорганизмлар асосида олинадиган қандай гербицид препаратлари мавжуд?

VI бобга доир тест саволлари:

1. Одам учун ҳавfli пестицидлар қандай табиатга эга ва нима учун ҳавfli ҳисобланади?

А) анорагник табиатга эга, ҳашаротларнинг нейтрал турларининг чексиз кўпайишига сабаб бўлади

В) органик табиатга эга, одамларда турли хил касалликлар чакиради

С) кимёвий табиатга эга, одамларнинг заҳарланиш оқибатида ҳалок бўлишларига сабаб бўлади

Д) хлорооргник табиатга эга; тупроқда одам ва ҳайвон тўқималарида тўпланади

Е) ҳавфсиз бўлгани учун шу пайтгача қўлланилиб келинмоқда

2. Ўсимликларни ҳимоя қилиш борасидаги биотехнолог олимларни қайси муаммо қизиқтиради?

А) кимёвий усуллардан фойдаланишни такомиллаштириш

В) тегишли ўсимликларни ҳимоя қилиш воситаларидан тўғри фойдаланиш

С) ўсимликларни ҳимоя қилиш воситаларини ишлаб чиқаришни қандай ташкил этиш лозимлиги

Д) ўсимликларни ҳимоя қилишда кимёвий воситаларини иложи борича камайтириш

Е) кимёвий ва биологик усуллардан уйғунлашган ҳолда фойдаланиш

3. нима учун ўсимликнинг вирусли инфекцияларига қарши курашиш қийин ва бунинг учун қайси усулдан фойдаланиш кенг имкониятлар очади?

А) облигат паразит бўлгани боис; вирусларнинг келиб чиқиши ва тарқалишини олдини олиш усули

В) облигат паразит ҳисобланади; амалда вируслар билан касалланган ўсимликларни тўлиқ даволаб бўлмайди

С) облигат паразит ҳисобланади; ажратиб олинган тўқима ва органларни соғломлаштириш усули

Д) факультатив паразит; вируслар мавжудлигини аниқлашнинг умумий усули

Е) вируслар паразит бўлгани учун; бундай усуллар бир нечта

4. Фитопатоген микроорганизмларга қарши курашда нима учун антибиотиклар бошқа воситаларга қараганда афзалликларга эга ҳисобланади?

- А) орган ва тўқималарга осон кириб боради
- В) таъсир этиш механизми ташқи муҳит омилларига жуда кам даражада боғлиқ бўлади
- С) нисбатан қийин парчаланиши
- Д) аъзолар бўйлаб тез тарқалади
- Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

5. Японияда ишлаб чиқариладиган фақат ўсимликларда касаллик туғдирувчи микроорганизмларга қарши қўлланиладиган антибиотикнинг номини кўрастинг

- А) фитобактериомицин
- В) фитолавин
- С) трихоцетин
- Д) касугамин
- Е) окситетрациклин

6. *Actinomyces lavendulae* актиномицетидан ажратиб олинадиган антибиотик препаратнинг номини кўрсатинг:

- А) фитобактериомицин
- В) бластицидин
- С) валидамицин
- Д) целлоцидин
- Е) тетранактин

7. Очиқ ва ҳимояланган ер шароитида етиштириладиган бодрингни ун шудринг касаллигида қўллаш яхши самара берадиган антибиотикли препаратнинг номи қандай?

- А) фитолавин -100
- В) фитобактериомицин
- С) никомицин
- Д) аурефунгин

Е) трихоцетин

8. Қайси препаратни ишлаб чиқаришда турли хилдаги ўсимлик чиқиндилари ва бошқа субстратлар (нон мағзи, сомон, ғалла чиқиндилари) дан фойдаланиш мумкин?

А) фитобактериомицин

В) фитолавин

С) трихоцетин

Д) тетранактин

Е) триходермин

9. Энтомопатоген бактерияларга кирувчи, таёкчасимон, спора ҳосил қилувчи, факультатив ва облигат аэроб ҳолда яшовчи, граммусбат микроорганизмнинг номи нима?

А) *Bacillus thuringiensis*

В) *Bacillus subtilis*

С) *Bacillus mycoedes*

Д) *Bacillus cereus*

Е) А ва С жавоблар тўғри

10. Дендробациллин, битоксибациллин, БИП, гомелин, лепидоцид, бактокулицид, дипел, бактоспеин препаратлари нимаси билан бир-биридан фарқ қилади?

А) барчаси бир турга мансуб бактериянинг турли штаммидан тайёрланганлиги билан

В) ҳашарот турига кўра таъсири билан фарқи қилади

С) препарат тайёрлаш технологияси билан фарқ қилади

Д) самарадорлиги билан

Е) барча жавобла бир-бирини тўлдиради

11. Вирусли энтомопатоген препаратларнинг бошқа препаратлардан фарқи нимада?

А) ноқулай шароитларга чидамли, узоқ вақт ўз таъсир кучини йўқотмайди, тор доирадага таъсир эга

В) ноқулай шароитга чидамсиз, узоқ вақт сақлаш мумкин эмас, кенг спектрга эга

С) ишлаб чиқаришни саноат миқёсида йўлга қўйиш қийин

Д) фақат тирик-ҳўжайин ҳашаротлар ичида кўпайтирилади

Е) В,С ва Д жавоблар тўғри

12. Замбуруғлар асосида олинадиган энтомопатоген препарат қандай аталади?

А) битоксибациллин

В) боверин

С) нитрофунгин

Д) дипел

Е) вирин

13. Ўзбекистонда қўлланиладиган феромон тутқичлар қандай мақсадларда фойдаланилади?

А) ҳашаротларга қарши курашда

В) ўсимликнинг ўсув даврида химоя тадбирлари ўтказиш зарурати ва муддатларини аниқлаш

С) зараркунанда ҳашаротлар жойлашган жойини аниқлаш

Д) зараркунанда ҳашаротларга қарши кураш учун сарфланадиган харажатларни қисқартириш

Е) Барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

14. Микроб гербицидлари ишлаб чиқаришнинг афзаллиги нимада?

А) гербицид синтезловчи микроорганизмларни ўстириш ускуналарининг универсаллиги

В) уларни ишлаб чиқаришдаги чиқиндиларининг атроф-муҳитга нисбатан зарари камлиги

С) микробли гербицидлар табиат учун бегона эмас

Д) табиатда заҳарли моддалар тўпланмайди

Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

15. *Streptomyces higrosporicus* актиномицетидан ажратиб олинган гербициднинг номини кўрастинг:

А) стрептомицин

В) гигромицин

С) стрептоцид

Д) биалофос

Е) атразин

16. Ўсимликлардан ажратиб олинган бактериоцид, фунгицид ва шу билан бирга гербицид таъсирга эга модда қандай аталади ва қайси ўсимликдан олинади?

А) ирпексин, шоли

В) метоксифенон, буғдой

С) агропирин, буғдойик

Д) ризобитоксин, соя

Е) нарамицин, икки паллали ўсимликлар

Фойдаланилган адабиётлар:

1. В.И.Артамонов.Биотехнология агропромышленному комплексу. М.«Наука»1989 157с.
2. Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы /Под ред. Шевелухи В.С. «Евразия» 2000 , 264с.
3. Бекер М.Е., Лиепиньш Г.К., Райпулис Е.П. Биотехнология./ Москва «Агропромиздат», 1990, 334 с.
4. Биотехнология Принципы и применение. Изд. «Мир» 1988-479 с.
5. Биотехнология в 8-ми книжках под редакцией Егорова Н.С. и Самуилова В.Д. М. «Высшая школа» 1987, 141 с.
6. Биотехнология сельскому хозяйству. Под редакцией А.Г.Лобанка. Минск «Ураджай», 1988 г, 199 с.
7. Н.А.Хўжамшукуров *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактериясининг мутант штаммлари асосида колорадо қўнғизига

(*Leptinotarsa desemlineata* Say L.) қарши инсектицид биопрепарат яратиш. (номзодлик диссертация ишининг автореферати).2002 й.

XVIII бoб. СЕЛЕКЦИЯ УРУҒЧИЛИКДА БИОТЕХНОЛОГИЯ Биотехнологик ютуқларни ўсимликлар селекциясида қўллаш истикқболлари.

Ҳужайраларни культуралашга ўтиш билан биологлар организмнинг ирсиятини тубдан ўзгартириш, янги шаклларни олиш, наслчилик, уруғчилик, ўсимликларни ҳимоя қилиш, тупроқ унумдорлигини ошириш, атроф-муҳитни ҳимоя қилиш ва бошқа технологияларни ривожлантириш учун самарали воситаларга эга бўлди.

Селекция уруғчиликда ҳужайра муҳандислиги ютуқларидан фойдаланишнинг асосий йўналишларини қисқача кўриб чиқамиз.

Селекция соҳасида ҳужайра даражасига ўтиш билан биотик ва абиотик стрессларга чидамлилиги бўйича ҳужайра ва гаметаларнинг селекциясини ўтказиш, чангланмайдиган ўсимликлардаги бу тўсиқни энгиб ўтиш ҳамда ядро ва ситоплазматик генларнинг турли тўпламларини олиб борадиган тубдан янги шаклларни яратиш, плоидия даражасини ўзгартириш, селекция жараёнини тезлаштириш, гаплоидлардан фойдаланиб, генофондни ҳужайра культураси сифатида суяқ азотда крёконсервация йўли билан сақлаш имкони пайдо бўлди. . Шунини ҳам таъкидлаш керакки, трансген ўсимликлар яратиш технологиялари ҳам одатда, in vitro да . ҳужайралар ва тўқималарни ўстиришни ўз ичига олади.

Уруғчилик соҳасида, вируслардан ва бошқа патогенларидан ҳоли вегетатив равишда кўпаядиган (картошка, мева, беррий, сабзавот, манзарали, ўрмон ўсимликлари). экиш материалларини этиштириш саноат тарққий топди.

3. Ўсимликларни ҳимоя қилиш соҳасида ген ва ҳужайра муҳандислининг ютуқларига асосланган ҳолда ҳашаротларга, вирусларга, касалликларга чидамли ўсимликлар олинган.

4. Атроф-муҳитни муҳофаза қилишда мутлақо янги имкониятлар очилмоқда. Ўсимликларнинг ген ва ҳужайра муҳандислиги асосида ифлослантирувчи моддалар (поллютантов) нинг максимал тўпланиши билан ифлосланган субстратлардан (тупроқ, сув) ўсимликлар ёрдамида уларни чиқариб олиш имконияти пайдо бўлади, бу моддалар минимал тўпланган жойда ўсимликлардан экологик тоза маҳсулот яратилиш олиш имкони пафйдо бўлади.

5. Биологик фаол моддаларнинг супер ишлаб чиқарувчилари (продуцентлари) - тиббиёт ва ветеринария дори-дармонларини яратиш ва ишлаб чиқаришдаги муаммоларини самарали ҳал қилишда янги ўсимликларни этиштириш ва янги препаратлар ишлаб чиқаришга имкон беради.

Селекцион жараёнларни енгиллаштириш ва қисқартириш

Бизга маълумки замонавий агробиотехнологиянинг асоси генетик ва уяли муҳандислиги ҳисобланади. Ўсимликларнинг ҳужайра муҳандислиги деганда ажратиб олинган қилинган ҳужайралар ва тўқималарни асептик атроф-муҳит шароитида организмдан ташқарида *in vitro* да културалаш – ўстириш , шунингдек улар билан турли хил манипуляциялар (термоядровий, кўпайиш ва бошқалар) тушунилади.

in vitro да ўсимликларнинг ҳужайрали ва тўқималарни културалашини учта принципга асосланади:

- 1) эксантантни она ўсимликидан ажратиш олиш;
- 2) эксплантни озиқа муҳитининг кимёвий таркиби, шунингдек физиологик шароити билан белгиланадиган бошқариладиган шароитда этиштириш;
- 3) ҳужайралар ва тўқималарни этиштириснинг барчасини стерил шароитларда амалга ошириш ўсимлик ҳужайраларини *in vitro* шароитида этиштириш, одатда, ирсий ўзгарувчанликни тўплашга олиб келади. Ушбу

хужайралардан олинган регенерант ўсимликлар асл ўсимликлардан фарк қилади. Австралия олимлари Ларкин ва Скаррофт, *in vitro* да тартибсиз ўсиш босқичидан ўтган ўсимликлар учун "сомаклонлар" атамасини таклиф қилишган.*in vitro* шароитида ўстирилган ўсимлик хужайраларида генетик ўзгарувчанлик тўпланиши натижасида янги ўсимлик шакллари пайдо бўлиши ҳодисаси соматоклонал ўзгарувчанлик деб аталади.

Ўсимликлар биотехнологияси. Ўсимлик биотехнологияси - бу ўсимликларни муайян эҳтиёжлар ёки имкониятларга мослаштириш учун ишлатиладиган техникалар тўплами. Кўп эҳтиёжлар ва имкониятларни бирлаштирадиган вазиятлар тез-тез учрайди. Масалан, барқарор озиқ-овқат ва соғлом овқатланиш, атроф-муҳитни муҳофаза қилиш, иш ва даромад олиш имкониятларини таъминлаш учун керакли ўсимликларни топиш ёки ривожлантириш одатда жуда мураккаб вазифадир.

Янги навлар ва белгиларнинг ривожланишига ёрдам берадиган ўсимлик биотехнологиялари генетика ва геномика, маркерлар ёрдамида селекция (МАС) ва трансген (генетик муҳандислик) экинларни ўз ичига олади. Ушбу биотехнологиялар тадқиқотчиларга генларни аниқлаш ва харитага олиш, уларнинг функцияларини кашф этиш, генетик манбалар ва наслдан наслга тегишли генларни танлаш ва ўзига хос белгилар учун генларни зарур бўлган ўсимликларга ўтказиш имконини беради.

- Генетик тузилиш ва механизмлар
- Трансген биотехнологиянинг усуллари (шунингдек, ген муҳандислиги деб ҳам номланади)
- Қишлоқ хўжалигидаги миллий ва глобал мақсадларга ҳисса қўшадиган белгилар ва генларни аниқлаш
- Ўсимлик геномининг кетма-кетлиги; молекуляр маркерлар ва биоинформатика
- Генларни таҳрирлаш / Геном таҳрирлаш
- Синтетик биология

Трансген экинлар бўйича оммавий тадқиқотларнинг аксарияти иккита умумий мақсадга қаратилган.

- Қўшилган генлар ёки нуклеин кислота молекулаларининг самарадорлигини, аниқлигини ва тўғри ифода этилишини ошириш учун трансген / генетик муҳандислик жараёнининг барча жиҳатларини яхшироқ тушуниш.
- Фойдали ва қимматли белгиларнинг кенг доираси, шу жумладан мураккаб белгилар.

in vitro шароитида ҳужайранинг генетик дастурини амалга ошириши-морфогенез натижасида - ўсимликларда органлар, тўқима ва ҳужайраларнинг жойлашиши, ўсиши ва ривожланиши рўй беради. Соматик ҳужайрада тотипотенция мавжуд бўлиб, у ўсимликнинг ривожланиш дастурини тўлиқ амалга ошириши ва яхлит ўсимлик пайдо бўлиш қобилятига эга. Ўсимлик ҳужайралари ва тўқималари дифференциацияси уларда ихтисослашув билан боғлиқ физиологик ва таркибий фарқлар келиб чиқади. Организмда бу жараёнлар онтогенезда зигота ҳосил бўлишидан табиий ўлимгача содир бўлади. *in vitro* культураларда морфогенез ўзига хос хусусиятга эга бўлади. Бу ўзига хослик биринчи навбатда эксплантни организмдан ажратиб олинган кейин унинг назоратдан бутунлай чиқиб кетиши билан боғлиқ

Бунда ривожланиш дастури ишга тушиб ҳужайралар ва тўқималар гуруҳидан яхлит ўсимликнинг тикланишига олиб келади.

in vitro морфогенезнинг бошқа йўллари ҳам мавжуд (илдиз ҳосил бўлиши - ризогенез, гул куртаклари – флорогенез, каллус- каллусогенез).

1. Органогенез - бу монополяр тузилмани, яъни алоҳида органларни меристемалардан (илдизлар, новдалар, баъзан гуллар ёки барглар) шаклланиши. Органогенез натижасида *in vitro* да қўшимча куртаклар ҳосил бўлиши кўпроқ кўп учрайди ва культураланадиган эксплантлардан соматик муртак ривожланишига қараганда яхшироқ бошқарилади. Органогенез орқали ўсимликларни олишнинг учта усули мавжуд: эксплантдан олинган каллусда қўшимча ўсимталарни

шакллантириш орқали; ўсимталарни тўғридан-тўғри эксантантдан шакллантириш орқали, каллус шаклланиш босқичи минималлаштириш орқали; апикал ёки яширин куртаклардан ҳосил бўлган поялардан ренерант-ўсимликларни шакллантириш орқали.

2. Соматик ёки жинсий бўлмаган эмбриогенез - бу соматик ҳужайралардан биполяр муртаксимон тузилмаларнинг шаклланиши. Бундай эмбрионлар кейинчалик зиготага ўхшаш босқичлар орқали регенерантларга айланади.

in vitro култураларида соматик эмбрионларнинг шаклланиши тўғридан-тўғри ёки билвосита йўл билан юзага чиқиши мумкин. Биринчи ҳолда, эмбрион экплант ҳужайраларидан, каллус босқичини босқичидан ўтиб ҳосил бўлади. Ушбу ҳодиса цитрус экинлари учун ҳосдир.

Соматик эмбриогенез сунъий уруғларни олиш учун, шунингдек ўсимликнинг клонал микрокўпайтириш учун ишлатилиши мумкин. Юқорида тавсифланган усуллардан бири ёрдамида ўсимликларни тиклаш ҳар қандай ҳужайра муҳандислиги техникаси ёки технологиясининг асосий бўғинидир. Ўсимликларнинг муваффақиятли регенерациясиз, соматик гибридизация, гаплоидия, ҳужайра селекцияси тажрибалари, , шунингдек ўсимликларнинг клонал микрокўпайтириш учун саноат усулларини ишлаб чиқишни амалга ошириб бўлмайди. Бу жараён трансген ўсимликларни яратишда ҳам муҳим рол ўйнайди.

Ўсимликлар селекциясида гаплоидиядан фойдаланиш

Ўсимликларни кўпайтириш самарадорлигини оширувчи хромосома муҳандислигининг муҳим усули - бу гаплоидия - генотипларни тоқ хромосомалар тўплами билан олиш ҳисобланади. Табиатда гаплоидлар ҳар 10^{-5} - 10^{-6} ўсимликлар учун битта гаплоиднинг частотаси билан ўз-ўзидан (спонтан равишда) пайдо бўлиши мумкин. Гаплоид ўсимликлар паст бўйли пояси, кеч пишиши ва одатда бепуштлиги билан ажралиб туради. Хромосомаларнинг дастлабки тўпламини қайта тиклаш учун

гаплоидларга колхицин билан ишлов берилади, бу эса барча аллел белгилари бўйича тўлиқ гомозигота бўлган насл берадиган (фертил) ўсимликларни олиш имконини беради. Пloidдик даражасини ўз-ўзидан спонтан равиёда ҳам тиклаш мумкин.

Ўсимликшуносликда гаплоидлардан фойдаланиш қуйидаги масалаларни ҳал қилишга имкон беради:

- ✓ Барча аллел генлар учун гомозигот бўлган гибридланишдан сўнг (F_2 да) гибридизациядан кейин тезда ажралиб кетмайдиган материални олиш. Бунда ўз-ўзини чанглатувчиларда селекция жараёнлари давомийлиги 3-4 йилга қисқаради. Ушбу ёндашув инцухт-линияларни олиш 5-6 йилгача чўзиладиган гетерозис селекцияси учун жуда истиқболли бўлиб ҳисобланади.
- ✓ самарали генотипларни танлашни амалга ошириш, чунки гаплоидларда доминантлик йўқ ва барча генлари фенотипик тарзда намоён бўлади. Летал (ўлимга олиб боровчи) ва ярим летал генларни ташувчи организмлар йўқ бўлиши –элиминациясига олиб боради.
- ✓ генетик хромосома муҳандислиги таҳлилларида фойдаланиш учун моносомал линияларни олиш.

Гаплоидларни яратиш жараёнида *in vitro* усуллари кенг қўлланилади. Бунда учта мумкин бўлган ёндашувлар мавжуд [7]:

1. Андрогенез - ажратилган чангчилар ёки микроспорлардан олинган сунъий озуқавий муҳитда гаплоид ўсимликларнинг ривожланиши ҳисобланиб, 250 дан ортиқ ўсимлик турлари учун, шу жумладан иқтисодий жиҳатдан аҳамиятли бўлган ўсимлик турлари турлари буғдой, гуруч, маккажўхори, арпа, зиғир, беда, узум, олма дарахтлари ва бошқалар учун қўлланилади.

Гиногенез – ажратиб олинган уруғкуртаклардан гаплоид ўсимликларнинг сунъий озуқа муҳитида ривожланиши, андрозис билан солиштирганда камроқ тарқалган бўлиб, лектин шунга қарамадан у қанд лавлаги, айсиёк, картошка, гуруч, буғдой,

маккажўхори, арпа, пахта ва бошқа ўсимликларнинг гаплоидларини олишда ишлатилади.

Партеногенез - гибрид эмбриондан гаплоидларнинг ривожланиши, бунда

ота-она хромосомаларининг номувофиқлиги туфайли оталик хромосомалари йўқолади (гаплопродюсерлар усули). Бу усул арпада энг муваффақиятли қўлланилади, бунда *Hordeum bulbosum*. турлари гаплопродюсер сифатида ишлатилади. Буғдой ва сулидан гаплоидларни олиш учун, гаплопродюсер сифатида маккажўхори ишлатилади.

Юқорида тавсифланган усуллардан бири билан олинган регенерантлар генотип бўйича (гаметоклонал ўзгарувчанлик)фарқ қилади. Бу ўзгарувчанлик гаплоидларни олиш учун турғун бўлмаган материалларни эмас балки F_1 дурагайлари ишлатилганда кучаяди. рекомбиногенези натижасида F_1 дурагайларида ҳосил бўлган гаметалар ота-она генларининг ҳар хил комбинацияларини ташийдди. Гаплоидларни диплоид даражасига ўтказиш доимий гаплоидларда ўзгарувчанликнинг кенг спектридан тез фойдаланишга имкон беради.

. Гаплоидлардан дигаплоидларни ўз-ўзидан-спонтан ёки колхицин ёрдамида олиш мумкин.

In vitro- да олинган гаплоидлардан селекция амалиётида тобора кўпроқ фойдаланилмоқда. Шундай қилиб, қисқа вақт ичида хитойлик селекционерлар чангчилар культураси ёрдамида янги юқори рентабелли гуруч ва буғдой навларини яратдилар.

АҚШда маккажўхори икки линияли турлараро гибридлари олинди. Гаплоидиядан селекцияда картошка, беда, жўхори, қанд лавлаги, сорго, кунгабоқар, карам, буғдой, тритикале ва бошқа экинларни гетерозисида фойдаланилади.

МДХда арпанинг иккита Исток ва Одесса 115 (Селекция ва Генетика институти, Одесса). навлари гаплопродюсерлар ёрдамида яратилган. -

Буғдой гаплоидларини олиш бўйича интенсив тадқиқотлар (Саратов давлат университети) ҳамда маккажўхорида (Молдова Фанлар академияси Генетика институти) олиб борилмоқда.

Беларусияда гаплоидлар бўйича тадқиқотлар Генетика ва цитология институти (тритикале, секалотритисум, буғдой, зиғир, картошка, канд лавлаги), Дехқончилик ИТИ да (арпа, рапс) да олиб борилади.

Соматик гибридизация

Соматик гибридизация деганда ўсимликлар соматик хужайраларидан ажратилган протопластлар орасидаги гибридланиш тушунилади. Одатда соматик гибридланиш учун барг ёки каллус тўқималари мезофил хужайраларидан олинган протопластлардан фойдаланилади.

Соматик дуругайларини ифодалаш учун жинсий дуругайланишни қайд этишда қабул қилинган $A \times B$ формуласи ўрнига $A + B$ ёки $A (x) B$ формулалари ёшланилади. Ота-оналардан фақат биттасининг ядро генларини, ҳар иккала ота-онанинг цитоплазматик (ядродан ташқари) генлари, ёки фақат бошқа ота онадан бирининг генларини ташувчи гибридни, "цитоплазматик гибрид" ("цибрид") атамасини ишлатилади. Иккала ота-онанинг алтернатив цитоплазматик генларни олиб юрувчи дуругайлар "цитоплазматик гетерозиготалар" ва "цитогеталар" деб номланади.

Поуер ва бошқалар томонидан 1970 йилда биринчи марта протопластларни қўшишга эришилган. Ўсимликларнинг соматик гибридланиши тўртта босқични ўз ичига олади: а) протопластларни ажратиб олиш; б) протопластларни қўшиш; в) ўсимликларни танлаш ва регенерация қили (тиклаш);

д) регенерант ўсимликларни таҳлил қилиш.

Ю. Ю Глеб, К. Н. Сйтник [4] таъкидлашича, соматик гибридизация тадқиқотчига қуйидаги имкониятларни яратади:

Оддий жинсий чатиштириш йўли билан чатишмайдиган филогенетик жиҳатдан узоқ бўлган ўсимликларни (организмларни) чатиштириш;

ота-оналардан бирининг генетик тўплами билан бирга бошқасининг бир канча хромосомаси (ёки бир нечта генлар билан, ёки фақат органеллалар ва цитоплазма)ини ташувчи асимметрик дурагайларни олиш,

бир вақтнинг ўзида уч ва ундан ортиқ ота она хужайралари қўшилишни ўз ичига оладиган гибридизация тизимини яратиш;

ядродан ташқари генлари (пластида ва митохондрия генлари) бўйича гетерозиготли ўсимликларни олиш;

Жинсий ва соматик дурагайлар ўртасидаги туб фарқлар қуйидагилардан иборат:

жинсий гибридланиш даврида она ва ота организмларининг ядролари ва она организмнинг цитоплазмаси қўшилиши содир бўлади.

. Соматик гибридизацияда иккала организм ядролари ва она ва отанин организм цитоплазмалари бирлаштириш мумкин. Бунда ядро ва цитоплазматик генларнинг мутлақо бошқача хил ирсийланиш типи содир бўлади. Соматик гибридизацияда иккала ота-она ёки улардан бирининг ядро генлари ирсийланиши кузатилса, жинсий гибридизацияда - фақат иккита ота-онадаги белгиларнинг бирга ирсийланиши кузатилади. Ядродан ташқари генлар соматик гибридизация пайтида ҳар икки ота-онадан ўтса, жинсий гибридизациядан одатда фақат онадан ирсийланади.

Протопластларнинг қўшилиши натижасида ўсимликлар регенерациясидан сўнг жинсий йўл билан олиш имкони йўқ ўсимликларни олса бўлади:

1. Ядроси ота-онанинг биридан, цитоплазмаси эса бошқасидан бўлган ўсимликлар (гибридлар).

2. Ядродан ташқари генлар бўйича гетерозигота ўсимликлар (цитогеталар

3. Ядродан ташқари генларининг бир қисми битта ота-онадан бошқа қисми бошқа ота-онадан ўтадиган ўсимликлар.

Гамета ва ўсимликларни зиготаси бўйича селекцияси

Гаметофитларни танлаш селекция жараёнининг усули сифатида яқинда таклиф қилинган. Назарий жиҳатдан, унг 1979 йилда Д. Малкэхи томонидан асос солинган. Муаллиф ушбу танловни таклиф қилган муайян экстремал омилларга чидамли микрогаметофитларни танлаш шунга ўхшаш бардошлиликка эга бўлган спорофитларнинг пайдо бўлишини таъминланиши мумкин. [8].

Гамета ва зигота бўйича селекцион тадқиқотларни ривожлантиришга муҳим ҳисса қўшган олимлар сифатида Молдовалик академик А.А.Жученко мактаби (А.В. Кравченко, В.А. Лях, Н.Н. Балашова ва бошқалар) ни мисол қилиб келтириш мумкин. Гаметофитларни танлаб олиш, параметрларни баҳолаш учун, *in vitro*, етиштириш техникасидан фойдаланиш шарт эмас, бироқ баъзан чангчиларнинг баъзи параметрларини аниқлаш учун махсус озуқа муҳитларидан фойдаланилади. Бироқ, гаметофит даражасидаги танлов битта ёки бир гуруҳ хужайраларни йўқотиш (элиминация) натижасида амалга оширилишини ҳисобга олган ҳолда, ушбу усулни *in vitro*, [9-11] да хужайралар селекциясига жуда яқин бўлган усулларга киритиш мумкин.

Нима учун гаметали селекция усулларига эҳтиёж мавжуд?

Селекционер учун анъанавий селекция спорофит даражасидаги танлаш ҳисобланади. Шу билан бирга онтогенезда ривожланишнинг репродуктив босқичларида ўсимликларда ноанъанавий ромбинант генотипларини йўқ бўлиш жараёни (элиминацияси) изчил равишда кечиб, стабилловчи танланиш хусусиятига эга бўлади.

Фақат генотипларнинг жуда кам қисми етук ўсимлик босқичига етади

А. А. Жученко ва А. Н. Кравченко маълумотларига кўра (9-11), рекомбинант гаметалар ва зиготаларнинг 90% дан ортиғи помидорнинг баъзи турлараро гибридларида гаметогенез, сингамия, эмбриогенез, шаклланиш ва уруғ униши босқичларида нобуд бўлади. Кўпгина ҳолларда, бу жараён селекционер томонидан назорат қилинмайди ва F_1 генотипларини ўстириш шароитида кечади.

Спора ривожланиши босқичида ва гаметофит (айниқса эркак) шаклланишининг бошланишида 30-40% ва ундан ортиқ рекомбинантлар йўқотилади. Етук гулчангларнинг ривожланишида, унинг ўсишини бошланишида ва чанг найчасининг ўсиб кириши, уруғлантиришда, эмбрионнинг ривожланишида, уруғларнинг шаклланиши ва ривожланишида катта аҳамиятга эга. Олинган материаллар селектив элиминациянинг юқорида келтирилган критик босқичларнинг барчасида биринчи навбатда, "ноанъанавий" рекомбинантларни йўқ қилиш юзага келади, бу стабиллаштирувчи танланиш натижасида асл генотиплардан бироз ўзгариб кетадиган (адаптив шакллар собит бўлган) генетик ўзгарувчанлик спектрининг сезиларли даражада торайишига ва рекомбинантларнинг танланишига олиб келади.

Генотипларнинг элиминацияси узокдан дурагайларни чатиштиришда алоҳида аҳамиятга эга. Бу селекцияда амалиётида мавжуд бўлган генетик ўзгарувчанлик доирасини торайтиради, генетик рекомбинациянинг индукцияси, рекомбинант гаметалар ва зиготаларни сақлаш, тез ажралиб кетадиган популяцияларда керакли генотипларни танлаш самарадорлигини оширишга асосланган мутлақо янги усул ва ёндашувларни ишлаб чиқирилишини талаб қилади.

Гамет танлови анъанавийга нисбатан бир қатор афзалликларга эга

1. Селекционер гулчанг ёки уруғчи гаметофит билан ишлайди, бундан ташқари биринчи ҳолда, селекцияга қилинадиган генотиплар сони миллионлаб деб ҳисобланади, масалан, бир маккажўхори рўвагида 25 миллионгача чанг доналари мавжуд.

2. Чангнинг кичик ўлчами бошқариладиган атроф-муҳит шароитларидан (фитотрон, иссиқхона) фойдаланиб, танлаш ишларини жуда кўп сонли ўсимликларни таҳлил қилишни лаборатория шароитида ўтказиш имконини беради.

3. Гаметофитнинг гаплоид генотиби ноёб рецессив аллеларни ва геномнинг мувозанатини аниқлашга имкон беради

4. Гаплоидлар атроф-муҳит омилларига кўпроқ сезгир бўлиб, бу биотик ва абиотик стрессларга чидамлилиги бўйича танлашга имкон беради. Гаметаларни танлаш қуйидаги даражада амалга оширилади:

1. Эркак гаметофитлар (етук гулчангларнинг ривожланиши, гулчангларнинг ўсиши ва гулчанг найчаларининг ўсиши босқичлари).

2. Уруғчигаметофитлари.

Энг кўп ишлатиладиган танлов эркак гаметофитлари даражасида амалга оширилади.

Стресс абиотик (ноқулай ҳарорат, шўрланиш), биотик (патоген токсинлар) ва антропоик (ифлослантирувчи) атроф-муҳит омилларини моделлаштириш орқали яратилиши мумкин. Шундай қилиб, ушбу ўсимликларни гаметик ва зиготик кўпайтириш усулларининг анъанавий усуллардан асосий фарқи бунда селекция объекти - ривожланишнинг дастлабки босқичидаги генотип ва унинг селекция мақсадларига яроқлилиги атроф-муҳит шароитларига қараб баҳоланади. Натижада узок турларни гибридлаш орқали вужудга келган ноёб рекомбинантларни сақлаб қолиш, шунингдек, яроқсиз генотипларнинг nobud бўлиши натижасида рекомбинация қилинадиган популяциянинг генотипик тузилмасини ўзгартириш мумкин. Гаметали ва зиготали танлаш усулларининг энг муҳим устунлиги уларнинг соддалиги ва қулайлигидир.

Ўсимликларни криосақлаш

Криоконсервация методологияси, ўсишни секинлаштириш усуллари.

Фойдали белгиларга эга бўлган хужайра линияларини олганимизда, ушбу белгиларнинг сақланишида муаммо туғилади. Ўсимликлар уруғларда генетик маълумот сақланиши мумкин, аммо бу манба тўлиқ ишончли емас, чунки вақт ўтиши билан мутациялар туфайли уруғларнинг униб чиқиши камаяди. Бундан ташқари, баъзи ўсимликлар фақат вегетатив тарзда кўпаяди. Бу *in vitro* ҳолатида материалнинг бир қисмини сақлаб қолишни талаб қилади. Бошқа томондан, баъзи ҳолларда кўп миқдорда иккиламчи

метаболитларни самаралироқ синтез қилувчи янги ҳужайра линияларини сақланиб қолиши керак бўлган тармоқларини олиш мумкин.

Тўқималардаги физиологик ва биокимёвий жараёнларни ўрганиш учун дастлабки стандарт культуралар ҳам талаб қилинади, бу эса кўп босқичли тажрибалар давом етганда маълум вақт давомида материални сақлашни талаб қилади. Буларнинг барчаси генофондни сақлаш муаммосини жуда долзарб эканлигини кўрсатади.

Албатта, ҳужайра культураларини пассирлаш ва трансплантация қилиш мумкин. Аммо бунда соматоклонал ўзгарувчанлик, мутациялар тўпланиши, ифлосланиш (бегона генетик материал билан инфекция) хавфи мавжуд. Шунингдек, у маълум молиявий ва меҳнат харажатларини талаб қилади (тез-тез тоза культурага ўтказиб туришга эҳтиёж, озуқа муҳити харажатлари ва бошқалар). Тадқиқотчиларнинг мақсади кўчириб ўтказишлар орасидаги даврни оширишдир. Экинларни сақлашга турли хил ёндашувлар мавжуд:

- консервация,
- ўсиш суръатларининг пасайтириш,
- қуритиш (пуркатиш ва лиофил) - микроорганизм ҳужайралари учун.

Криоконсервация

Криопресервация - ўта паст ҳароратларда музлатишдир. Одатда суюқ азотда -196°C ҳароратда амалга оширилади. Паст ҳароратда сақлашнинг муваффақияти бир қатор омилларга боғлиқ:

- ҳужайралар тури ва тури;
- суспензиядаги уларнинг концентрацияси,
- ҳужайраларнинг суспензиядаги концентрация,
- криоротекторнинг тури ва концентрацияси,
- совитиш ва иситиш режими,
- иситишдан кейин ҳужайраларни тиклаш усули.

Ҳужайраларни муваффақиятли музлатилишида уларнинг морфофизиологик ҳолати муҳим рол ўйнайди: ўсишнинг стационар

босқичидаги хужайралар ўсиш экспансионал босқичидаги хужайраларга караганда паст ҳароратли сақланишнинг зарарли таъсирига камроқ бардошлидир. Музлатиш учун хужайралар ўсиш эгри чизиғининг экспансионал босқичининг ўртасида танланади. Музлатилган суспензиянинг зичлиги ҳам бир хил даражада муҳимдир. 1 мл ичида $1 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ зичликдаги хужайра суспензиясини музлатиш орқали хужайраларни тиклаш учун мақбул натижалар олинган. Ўсимлик хужайралари кўпинча махсус шароитларда олдиндан ўстириш талаб қилинади. Озуқа муҳитига турли хил моддалар қўшилади, масалан:

- вакуолларнинг ҳажмини камайтириш учун 2-6% маннитол ёки сорбитол;
- аминокислоталар, биринчи навбатда, хужайрадаги сувни боғлаб туришга хизмат қилувчи пролин (концентрацияси 1 мол ёки 11,5%), аспарагин, γ-аминомой кислота;
- диметил сулфоксид (ёки ДМСО), цитоплазматик мембрананинг ўтказувчанлигини ошириш учун 48 соат давомида 2,5 дан 10% гача концентрацияда культуралашдан олдин озуқа муҳитга қўшилади;
- кўшимча равишда, ҳарорат кескин пасайтирганда совуққа чиниқтириш учун, сунъий равишда табиий кузги тайёргарлик жараёнига ва кишки тиним даврига тақлид қилган ҳолда (фақат мўътадил ўсимликлар учун) маъсус шароит. қўлланилади Хужайра културалари бир неча кун $+8 - +10^{\circ}\text{C}$ ҳароратда, кейин 1 -6 хафта давомида $+2 - +5^{\circ}\text{C}$ ҳароратда ушлаб турилади.

Ўсимлик хужайраларини ҳайвон хужайраларини музлатиш жараёнидан асосан ўстиришнинг дастлабки босқичи мавжудлиги билан ажралиб туради.

Криопротекторлар - бу криоконсервация пайтида физик-кимёвий омилларнинг зарарли таъсирини камайтирадиган моддалар. Буларга сахароза, декстран, этилен гликол, поливинилпиридон, диметил сулфоксид (ДМСО), глицерин кирази. Криопротектантнинг токсиклигини аниқлаш учун хужайралар хона ҳароратида турли концентрацияларда 30-50 дақиқа

давомида ушлаб турилади, шундан сўнг уларнинг ҳаётчанлигини аниқланади. Бундан ташқари, уларнинг ҳимоя хусусиятлари ҳужайраларни музлатиш ва эритиш билан баҳоланади. Кўпинча глицерин ва ДМСО крипротектантлар сифатида ишлатилади.

Молекуляр маркерлар ва уларга асосланган селекция

Ҳозирги вақтда молекуляр маркерларнинг ўрни каттадир. Молекуляр маркерлар нинг ёрдами билан батафсил ўнлаб ўсимлик турлари ва энг муҳим бўлган ҳайвонлар, организмларнинг ўсиши ва ривожланишини, морфологик белгилар, касалликларга ва бошқа хусусиятларга қаршилиқни белгилайдиган генларнинг молекуляр хариталари тузилган.

Молекуляр белгилар популяцион генетика, қиёсий генетика ва геномика, филогенетик тадқиқотларда кенг қўлланилмоқда ҳамда унга асосланиб ҳайвонлар зотлари ва ўсимлик навларини сертификатлаштиришнинг янада аниқроқ усуллари пайдо бўлмоқда. Молекуляр маркерлардан фойдаланиш селекция жараёнларини сезиларли даражада тезлаштиришга имкон беради.

Молекуляр маркерлар (ДНК маркерлари билан синоним) бу ДНК даражасида таҳлил қилинган генетик белгилардир. ДНК маркерлари учинчи авлод генетик маркерларидир. Улардан олдин протеин маркерлари, ва ундан ҳам олдинроқ - классик генетик маркерлар бўйича тадқиқотлар олиб борилган.

Биринчи марта генетик маркерлардан фойдаланишнинг назарий асосланиши ("сигналлар") тахминан бир аср олдин А.С. Серебровский томонидан маълум қилинган: ўрганилаётган трансрессив хусусият таъсир қилмасдан ва маълум бир тарзда таъсир қилиш, ушбу белгининг генетик таҳлилини осонлаштиришда менделча кузатишлар учун, кўпроқ ёки камроқ маълум бўлган локализацияга –жўйлашувга эга алтернатив генларни биз ўрганишимиз учун қулай "сигналлар" деб аталиб, улар хромосоманининг ушбу сигналлар жойлашган айна сигналлар жойлашган қисмини кузатишга имкон беради(Серебровский, 1970).

Классик генетик маркер аллеллари фенотип даражасида аниқ фарқларга эга бўлган генга мос келади.

Протеин маркери аллеллари (турли молекуляр оғирликларга) оқсил маҳсулоти даражасида фарқларга эга генга мос келади.

Молекуляр маркер ДНК даражасида турли хил вариантлари (аллелари) билан фарқланадиган генга ёки геномнинг кодланмаган қисмига мос келади

ДНК даражасидаги тафовутларни (ДНК полиморфизми) қўйидагилар асосида аниқлаш мумкин:

- нуклеотидларнинг муайян кетма-кетликларнинг гибридизация қилиш

- нуклеотидлар кетма-кетлигини секвенирлаш;

- полимераза занжири реакциялар (ПЗР) ёрдамида олинган бўлақларнинг узунлигини таққослаш;

- ДНКга рестрикцион эндонуклазалар ишлов бериш натижасида.

Ҳозирда молекуляр маркерларнинг бир нечта ўнлаб турлари бор. Энг кўп ишлатиладиган ДНК маркерлари - расмда келтирилган.

Улар асосий таҳлил усулига кўра уч гуруҳга бўлинади: (1) блот гибридизацияси, (2) ПЗР ва (3) ДНК чиплари асосида ўрганиладиган маркерлар.

Молекуляр маркерларнинг асосий синфлари:

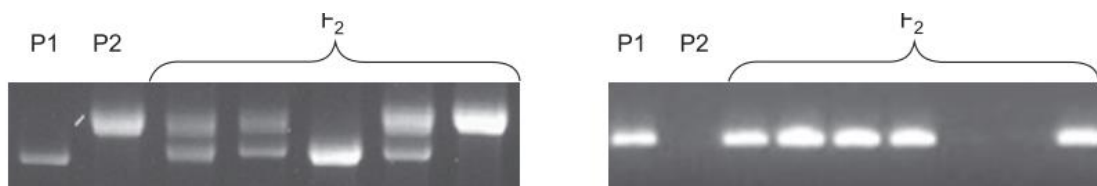
AFLP ((amplified fragment length polymorphism) - амплификацияланган бўлақ узунлиги полиморфизми .

CAPS (cleaved amplified polymorphic sequences) - бўлақларга бўлинган амплифланган полиморфик кетма-кетликлар

DArT (diversity array technology) – турли-туманликни ўрганиш учун ДНК чиплари технологияси.

IRAP (interretrotransposon amplified polymorphism) - бу ретротранспозонлар орасидаги амплификация қилинган кетма-кетликларнинг полиморфизми.

Агар маркерни таҳлил қилиш усули ҳар иккала аллелни аниқлашга имкон берса, ушбу маркернинг кодоминант ирсийланувчи тури (чапда) , агар битта аллел аниқланса - доминант ирсийланиш (ўнгда). ҳақида англанади.



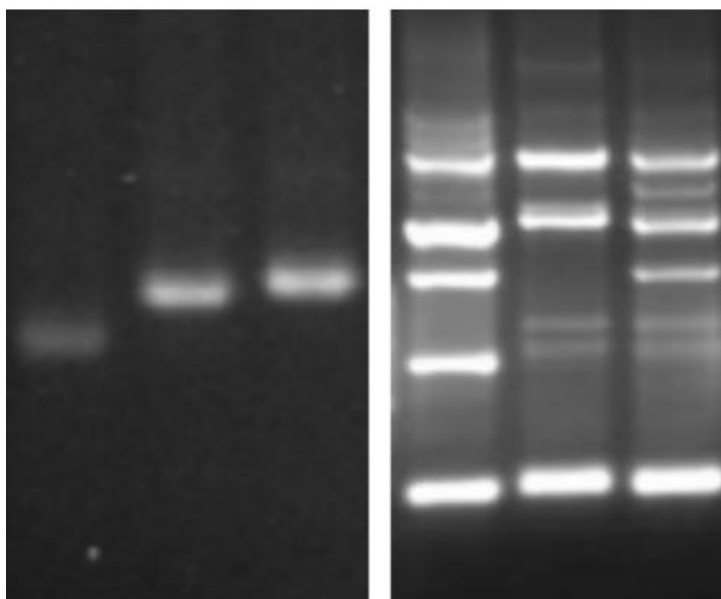
Ушбу тасниф жараёни ДНК маркерларининг "эволюцияси" акс еттиради.

Юқоридаги гуруҳларнинг учтасидан биринчиси 1980 йилларда кенг қўлланилган ДНК маркерларининг биринчи авлоди ҳисобланади. 90-йилларда муҳим ПСР маркерлари ўрин эгаллади. 2000-йилларда эса уларнинг ўрнини ДНК чипларидан фойдаланишга асосланган улар сезиларли даражада молекуляр маркерлар эгаллади. Сўнгги 2-3 йилда ДНК полиморфизмини таҳлил қилиш учун геном ёки унинг алоҳида қисмларини тўғридан-тўғри секвенирлаш усулидан фойдаланиш тобора кўпроқ ўз ифоласини топмоқда.

Классик генетик белгилар билан бир қаторда молекуляр белгиларни номлашда "Локус", "аллеле", "доминант", "кодоминант" атаималари ҳам қўлланилади.

. Молекуляр маркерлар монолокусли ва мултилокуслига бўлинади (2-расм).

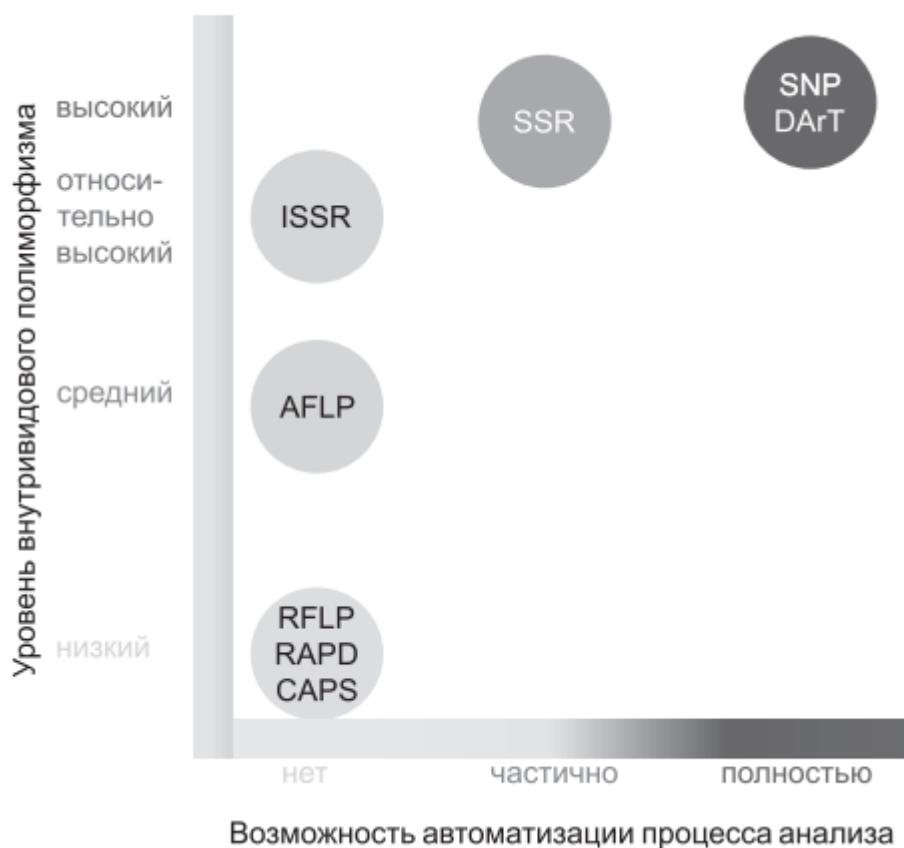
Монолокусли белгилар кўпинча кодоминант тип бўйича, мултилокуслилари доминант тип бўйича ирсийланади.



.Расм 2. Монолокусли маркерга (чапда) SSR маркерлар ва кўп локусли (ўнгда) RAPD-маркерга мисоллар. Мос равишда 5% ва 2% агарозали гелда ПЗР бўлакларини ажратиш. .

Молекуляр белгилар орасида маълум локализацияга эга бўлган маркерлар (маълум бир хромосома ёки хромосома участкасида, ёки маълум бир ген яқинида) ва жойлашуви номаълум бўлган маркерлар (одатда, мултилокусли белгилар) тафовут қилинади. Иккаласи ҳам ва бошқалари ҳам генетик тадқиқотлар ва селекцияда жиҳатдан ўзларининг қўлланилишини топадилар. Номаълум локализацияга эга молекуляр маркерларни муайян ген ёки хромосомалар аниқ белгилаш учун – нишонлаш учун ишлатиб бўлмайди, лекин уларни филогенетик тадқиқотларда ўсимлик навлари ва ҳайвонлар зотларини паспортизациялаш учун муваффақиятли қўлланилмоқда.

Баъзи мултилокусли маркерлар (DArT- и AFLP -маркерлари) генетик хариталарни яратиш учун, шунингдек, геном селекцияси учун (DArT) ҳам мос келади. ДНК маркерларини танлашда, маълум бир муаммони ҳал қилиш учун тегишли турдаги тур ичидаги полиморфизм даражаси ва ДНК полиморфизмининг таҳлил қилиш жараёнини автоматлаштириш каби хусусиятлар ҳам таъсир этади (3-расм).



Расм 3.тур ичидаги полиморфизм даражаси ва турли типдаги ДНК маркерларини таҳлил қилишнинг автоматлаштириш имконияти (Хлесткина, 2011).

ДНК маркерлари киритилиши билан бошқа йўналишлар ичида энг катта кўламга эга бўлган алоҳида хромосомалар ва геномларнинг молекуляр хариталарини тузиш, хариталаш каби, шунингдек, уларда генлар ва миқдорий белгиларнинг жойлашувини хариталаш катта аҳамиятга эга бўлди.

(QTL). 1980 йилда Девид Ботштейн (фотосурат 1)

Р. Уайт, М. Школник ва Р. Девис билан биргаликда у ДНК полиморфизмини таҳлил қилиш асосида (RELP –рестрикцион фрагментлари узунлигини полиморфизми) биринчи марта монолокусли генетик маркерларни ишлаб чиқишди ва уларни генетик хариталарни тузиш куриш учун ишлатилиши мумкинлигини намоиш қилишди (Botstein et al, 1980).

Ушбу кашфиёт кейинчалик турли хил ҳайвонлар ва ўсимлик турларининг RELP хариталарини яратишга сабаб бўлди. RELP –

маркерларнинг геномларни хариталашда қанчалик самарали прогрессга имкон берганлигини қуйидаги мисолда кўрсатилган.

Буғдой геномининг биринчи RELP харитасидаги локуслар (буғдой геноми (Liu, Tsunewaki, 1991 Тсуневаки, 1991) 1,5 баравар кўп бўлиб, ва бу кўплаб тадқиқотчилар бир неча ўн йиллар давомида эришилган ишларининг натижаси бўлган олдинги классик генетик картасига қараганда 1,2 баравар кўпроқ эди (Хлесткина, 2011).

Маълум бўлдики, қариндош турлар ва авлодларни геном таҳлилида битта тур учун яратилган ва ишлаб чиқилган RELP -маркерлардан фойдаланиш мумкин экан. Шундай қилиб, геномларни қиёсий хариталаш мумкин бўлди, бунинг ёрдамида алоҳида оилалар ичида ортологик генларни аниқлаш ва алоҳида турларнинг эволюцияси даврида умумий аجدоддан келиб чиққан геном тузилишининг шаклланишини ўрганиш имкони берди.

Ушбу тадқиқотлар қиёсий-солиштирма геномика соҳасидаги замонавий тадқиқотлар учун жуда муҳимдир (Moore *et al.*, 1995).

Монолокусли маркерлардан фойдаланишнинг асосий йўналишлари:

- хромосомалар ва геномларнинг молекуляр хариталарини тузиш;
- генлар ва QTL хариталаш;
- генлар, хромосомалар ва геномларнинг маркерлаш;
- солиштирма генетика ва геномика;
- селекцияда ДНК маркерлардан фойдаланган ҳолда танлаш;
- геном селекцияси (фақат SNP маркерлари);
- навлар/ зотларни молекуляр паспортизациялаш;
- касалликларнинг диагностикаси;
- атроф-муҳит мониторинги;
- генетик хилма-хилликни ўрганиш;
- филогенетик тадқиқотлар;
- популяцион генетика.

Мультилокусли маркерлардан фойдаланишнинг асосий йўналишлари:

- хромосомалар ва геномларнинг молекуляр хариталарини тузиш

(фақат AFLP ва DArT маркерлари);

- генлар ва QTL ни хариталаш (фақат AFLP ва DArT маркерлари);

- геном селекцияси (DArT маркерлари);

- навлар/зотларнинг молекуляр паспортизацияси;

- атроф-муҳит мониторинги;

- генетик хилма-хилликни ўрганиш;

- филогенетик тадқиқотлар;

- популяцион генетика.

Ген харитаси –геннинг бириккан гуруҳини ва хариталанадиган геннинг берилган хромосомадан бошқа генлар ва маркерларига нисбатан ҳолатини аниқлаш

QTL (quantitative trait locus) – миқдорий белгини аниқлаш билан боғлиқ локус.

Молекуляр маркерлардан фойдаланиш:
• селекция жараёнларини тезлаштириш; • селекцион материал эгаллаган майдонни камайитириш; • танлашнинг юқори аниқлигига эришиш; • меҳнат ва моддий ресурсларни тежашга эришиш имконини беради

ДНК маркерларига асосланган танлаш усуллари

ДНК маркерлари қўлланиладиган селекция усуллари Улардан фойдаланишда танлаш усуллари икки асосий гуруҳга бўлинади: МЁТ ва геном сеоекцияси.

МЁТ (маркерлар ёрдамида танлаш) мақсадли ген билан чамбарчас боғлиқ ДНК маркерлардан фойдаланишусулини ўз ичига олиб, фенотипик таҳлил ўрнига ёки у билан биргаликда олиб борилади. Мақсадли ген билан чамбарчас боғлиқ бўлган маркерлар фенотипни тахмин қилишда ишончли воситадир.

Мақсадли геннинг керакли аллелни танлаш у билан чамбарчас боғлиқ қўшни маркерли локус аллели асосида амалга оширилади. Танловнинг юқори аниқлигига маркерлар карама-қарши томонларда ген яқинида

жойлашган ва ундан узоқроқ (яъни, мақсадли генни фланкирлайдиган маркер- ген). жуфтлиги ёрдамида эришилади. Агар ген секвенирланган ва ушбу геннинг турли хил аллеллари нуклеотиднинг кетма-кетликлари орасидаги фарқлари кетма-кетликлари аниқ бўлса, "ички маркер" ларни ишлаб чиқиш мумкин.

**Фланкирлавчи қисмлар, фланкирловчи кетма-кетликлар
(инглиз тилида -flanking regions, flanking sequences) -Ён**

томонлар, ён томонларнинг кетма-кетлиги (ён томонлар, ён томонлар) қанот - ён, ён, қанот] - муаяйн бир локус, ген ёки бошқа нуклеотидлар кетма-кетлиги ҳар ("қўшни", "ён") икки томонида жойлашган ДНКнинг нуклеотидлар кетма-кетлиги ,; 5' - ва 3' -Ф оралиғи.

Бундай маркердан фойдаланиш керакли генотипларни энг юқори аниқлик билан танланг имконини беради.

МЁТ - маркерлар ёрдамида танлаш (MAC -MAS – markerassisted selection) ; синонимлари: MAC (маркерлар билан ассоциацияланган селекция) ва МБС -(маркер-билвосита / йўналтирилган селекция). Замоनावий селекцияда ўсимликлар ва ҳайвонларни генотип бўйича танлашда селекция қилинадиган ген билан чамбарчас боғлиқ ДНК маркерларидан фойдаланишга асосланган ёндашув.

Геном селекцияси (genomic selection) Белгига таъсир қилувчи генлар тўғрисида маълумотлар бўлмаганда геном бўйлаб бир текис тақсимланган ДНК маркерларидан фойдаланиб, ўсимлик ва ҳайвонларни генотипи бўйича танлашга имкон берадиган замоनावий селекция усули.

МЁТ асосида беккросс селекция (танлаш), marker-assisted backcrossing - селекция усули бўлиб, унда кетма-кет қайтар чатиштиришлар жараёнида 1-2 та мақсадли ген донор навдан реципиент нанга ўтказилади ва реципиент наг геномининг қолган қисмидаги генотипи тикланади , бунда ҳар бир кейинги чатиштириш учун ўсимликларни танлаш ДНК маркерлар ёрдамида амалга оширилади.

МЁТ асосида чизиқли танлов бир мартали
генотипирлашга асосланган

(single large scale marker assisted selection – SLSMAS)) – селекция усули бошқа анъанавий чизиқли танлов усуллардан фарқ қилиб, (ёки педигри усули) дастлабки авлодларнинг бирида маркерлар билан ўсимликлар кейинги селекциялар учун танланади, бу эса кераксиз генотипларни баъзи белгиларига кўра дарҳол чиқариб ташлашга имкон бериб, кейинги ишларнинг миқдори сезиларли даражада камайишига имкон беради. Масалан, танлов амалга ошириладиган битта асосий ген бўйича F_2 авлодида исталмаган генотипларнинг 75% ($3/4$), 2 та ген бўйича эса кераксиз генотипларнинг 94% ($15/16$), 3 та ген бўйича эса 98% ($63/64$). қўшимча таҳлилдан чиқариб ташлаш мумкин.

Ген пирамидаларини яратиш (marker assisted pyramiding). Бу танлов усулида ДНК маркерлари ёрдамида бир вақтнинг ўзида ўхшаш белгиларни белгилайдиган бир нечта генлар бўйича (одатда, бундай ҳолларда фенотип бўйича селекция қилиш қийин) танлаш амалга оширилади: масалан, бир хил патогеннинг турли расаларига чидамлилигини белгиловчи ёки айна бир органни заралайдиган турли патогенларга бардошлили бир нечта генлар бўйича селекция қилиш.

CRISPR технологияси

TALEN химерик оқсиллари тизими кашф қилинганидан икки йил ўтиб CRISPR геномни таҳрирлаш технологиясини 1 Cermak T, et al. Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. Nucleic Acids Res. 2011;39:e82. 2 Li T, Liu B, Spalding MH, Weeks DP, Yang B. High-efficiency TALEN-based gene editing produces disease-resistant rice. Nat Biotechnol. 2012;30:390–392. 39 фаол қўллаш ривожланди. 1 Бу технологиянинг элементлари кодирламайдиган РНК ва Cas (CRISPR-associated) оқсиллари ҳисобланади. TALEN химерик оқсилларидан фарқли равишда CRISPR/Cas тизими ёрдамида таниб олиш хусусияти нишонланган ДНК ва кодирламайдиган РНКларнинг ўзаро

комплементар боғланиши ҳисобига амалга оширилади. Бунда нуклеаза фаоллигига эга кодирламайдиган РНК ва Cas оқсилларидан иборат комплекс ҳосил бўлади. Баъзи бактерия генларида 1987 йилда сирли такрорлар аниқланган, уларнинг функциялари қарийб 20 йил давомида номаълумлигича қолди.

Бактерия генларининг секвенс қилиниши геномда аналогик нуклеотид кетма-кетлиги эга бўлган кўплаб микроорганизмларнинг аниқланишига сабаб бўлди, булар характерли структурага эга, яъни ноёб ДНК-спейсерларининг қисқа участкалари бирбиридан қисқа палиндром такрорлар билан ажралган (2-расм). Айнан ушбу хусусиятига кўра улар CRISPR деб номланди. 1 Wei Zhu et. al // CRISPR/Cas9 produces anti-hepatitis B virus effect in hepatoma cells and transgenic mouse. // Virus Research, 2016. 217, 125-132 40 Бундан ташқари бу каби CRISPR кассеталари бевосита оқсил маҳсулотлари нуклеаза ва хеликаза фаоллигига эга бўлган Cas генлари (CRISPR-associated- CRISPR билан ассоциацияланган) яқинида жойлашган бўлади.1 Бир-биридан беҳабар биоинформатикларнинг уч гуруҳи спейсер ДНК кўплаб фаг ва плазмидаларнинг ДНКсига гомолог эканлигини 2005 йилда маълум қилди. 2007 йилда CRISPR спейсер локусида мавжуд ва бактериофагга чидамли бўлиб бораётган *Streptococcus thermophilus* хужайралари бактериофагнинг геном ДНКсига комплементар эканлиги аниқланди. Шу тарзда CRISPR/Cas технологияси ноёб механизм бўлиб микроорганизмларни бегона ДНК киришидан ҳимоялаши ва рестрикция-модификация тизими билан бир қаторда фаол бўлиб генетик маълумотларни горизонтал кўчирилишини чеклаши аниқланди. CRISPR- тизимлари прокариот организмлар ўртасида кенг тарқалган: улар 87% архей ва 48% эубактерияларда аниқланган. Шунинг учун ҳар хил организм турларида геномдаги (1-18) CRISPR-кассеталари миқдори каби такрорларнинг миқдори (ўртача 60) ва ҳажми (ўртача 23-37 н.ж.), шунингдек спейсерларнинг сони ва ҳажми (17-84 н.ж.) ўзгарувчан бўлади. Бунда бир кассета ичидаги спейсерлар ва такрорларнинг узунлиги ўзгармас ва такрорлар кетма-кетлиги эса бир хил бўлади.2 Ҳимоя механизми

уч асосий босқичдан иборатдир (2-расм). Биринчи адаптация босқичида бактерия хужайрасига кирган бегона ДНКнинг кичик фрагменти янги спейсер ҳосил қилиб хўжайин геномининг CRISPR-локусига ўрнатилади. Вирус геномида бу фрагмент протоспейсер сифатида спейсерга комплементар ва қисқа (2-5 н.ж.) фланкирланган консерватив изчилликда мавжуд бўлади, бу PAM (Protospacer Adjacent Motif; протоспейсерга тегишли мотив) деб номланади. Янги спейсер доим CRISPR кассетаси олдида АТ га бой лидер кетма-кетлик тарафидан ўрнашади, худди шу жойда промотор 1 Zhan-Qi Dong et. al // Establishment of a highly efficient virus-inducible CRISPR/Cas9 system in insect cells. // Antiviral Research, 2016. 130, 50-57 2 Lichun Tang et. al // In vitro CRISPR-Cas9-mediated efficient Ad5 vector modification. // Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016. 474(2), 395-399. 41 элементлари ва регулятор оксилларнинг ўтказиш сайтлари жойлашган. Барча изланишларга кўра, айнан шу тарзда кўпчилик CRISPR/Cas-тизимларининг нишонлари ҳосил бўлади. Транскрипциянинг иккинчи босқичида барча CRISPR локуслари precrRNA (poly-spacer precursor crRNA; CRISPR РНКнинг ярим спейсерли ўтмишдоши) узунлигида транскрипцияланади (2-расм). Етилмаган транскрипциянинг етилган crRNA ҳолатига процессинг қилиниши CRISPR/Cas-тизимларида кўп ҳолларда Cas6 эндонуклеазалари томонидан амалга оширилади. 39-45 нуклеотид узунлигидаги қисқа crRNA (CRISPR РНК) бир спейсер кетма-кетлигига эга бўлиб охирларида стержень-бигиз структурасининг шаклланишида иштирок этувчи такрорлар жойлашган: гидроксил гурухига эга такрорнинг сўнгги саккиз нуклеотидлари 5' учида стержень ҳосил қилади, ва тўғноғичсимон структура 2', 3'-циклик фосфат билан 3'-учида илмоқли урчук (бигиз)ни ҳосил қилади. Учинчи босқич – бегона РНК ёки ДНКни интерференция (фаолиятини сусайтириш) қилиш, бу жараён crnA ва cas-оксиллари комплексининг ўзаро таъсири ҳисобига амалга оширилади. CrnA комплементар ҳолда протоспейсернинг кетма-кетлигини таниб олади ва cas-оксиллари уларнинг бузилишини таъминлайди (2-расм). ДНК-нишонларни

эффeктор мажмуаси билан дeградация қилиш учун *crnA* нуклеотидларининг ДНК-нишонлари билан ўзаро -2, -3, -4 позицияларда (агар +1 протоспейсернинг биринчи асосига қабул қилинса) комплементар бирикиши рўй бермаслиги керак. *CrnA* ва ДНК-нишонларнинг ўзаро комплементар бирикиши ушбу позицияларда эффектор мажмуасининг шаклланишини бузади, бу эса геном ДНКсини қирқишга ва унинг кейинчалик дeградацияга учрашига тўсқинлик қилади. Вируслар ва уларнинг хўжайин организмларининг узоқ коэволюцияси вирусларда *crISPr*-интерференцияларга қарши химоя механизмларининг пайдо бўлишига олиб келди. Бу бактерия ва архейларда *crISPr/cas*-тизимларининг катта хилмаҳилликларга эга эканлиги билан тушунтирилади. Биоинформатик тадқиқотлар барча *crISPr/cas*-тизимларини асосий уч типга (I–III) ва бу типларни яна камида 10 та гуруҳларга бўлади. Ҳозирги кунда булардан *S. Pyogenes* патогенидан ажратиб олинган II-A типининг *crISPr/cas*-тизими геном муҳандислигида фаол қўлланилади. Бу бактерияда *cas* генининг минимал тўплами аниқланган. Биргина полуфункционал *cas9* оқсили *pre-crnA* процессингини ҳамда бeгона ДНКнинг интерференциясини амалга оширади. *CrnA* процессинги кодирламайдиган кичик РНК - *tracrnA* (*transactivating crnA*; трансактивирующая *cr*РНК) билан ҳам боғлиқ бўлади. *TracrnA* молекулалари *pre-crnA* кетма-кетликларининг такрорлари билан дуплекс ҳосил қилиб комплементар боғланади, хўжайин хужайраларнинг рибонуклеазаларидан бири -РНКаза III, *cas9* иштирокида 5' учиди 20-нуклеотидли спейсер кетма-кетлигига эга бўлган етук *crnA* нинг ҳосил бўлиши билан дуплексни қирқади. Бутун локусга Mg^{2+} ионлари иштирокида *cas9* икки занжирли ажралиш киритади, бунда бу ферментнинг HnH нуклеаза домени *crRNA* га комплементар ДНК ипини қирқади ва RuvC -домени нокомплементар ипини қирқади. *Cas9 S. pyogenes* учун ДНК-нишон ўзида бевосита қирқиш амалга ошириладиган уч нуклеотиддан сўнг 5'-nGG-3' PAM ни тутмоғи лозим. II типининг *Cas9* учун *S. thermophilus* ва *Neisseria*

meningitidis нишонлари мос равишда бошқа консенсусга эга- 5'-nGGnG-3' ва 5'-nnnnGAtt-3'.

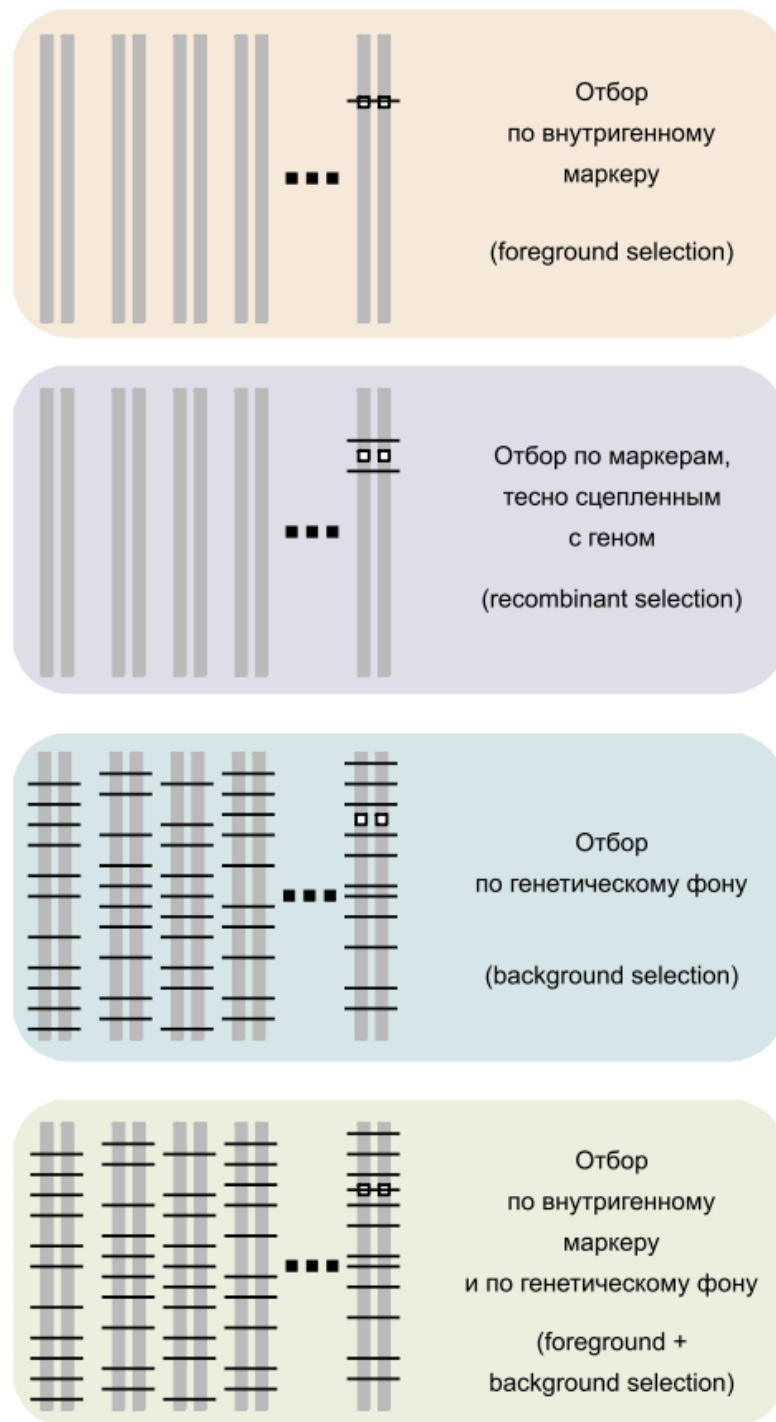
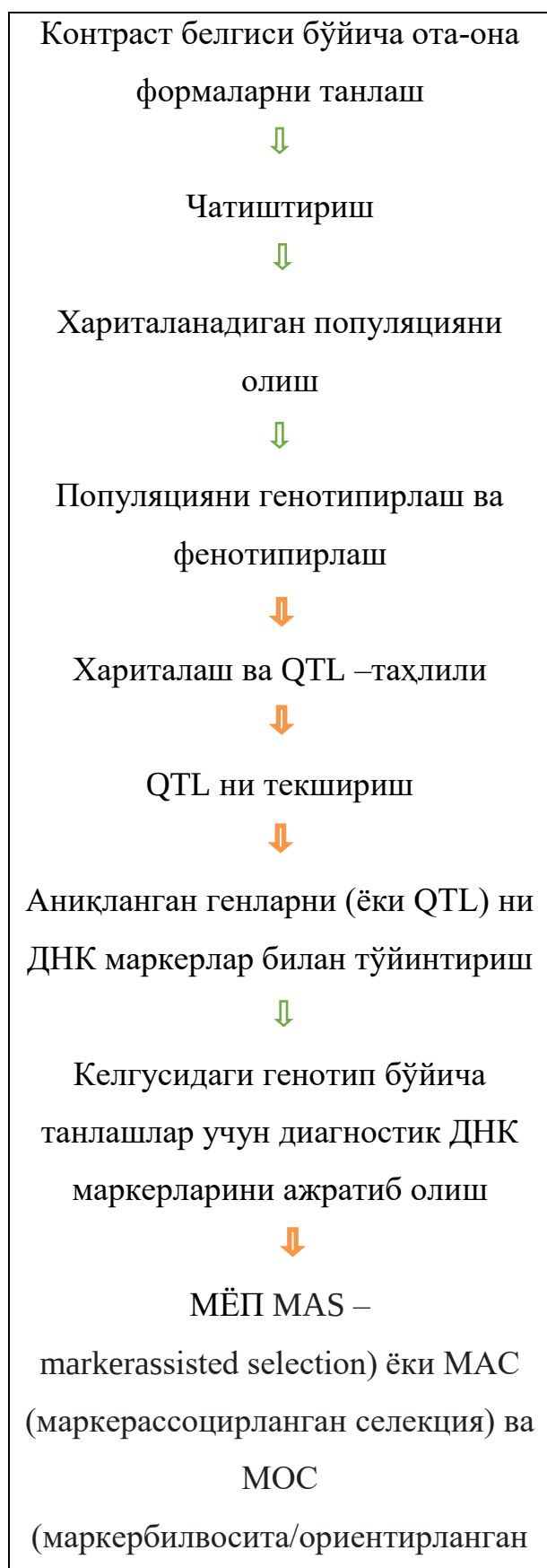


Рис. 4. Условное расположение ДНК-маркеров (обозначены черными линиями), используемых при различных вариантах беккроссной селекции, относительно селектируемого гена (белый прямоугольник).

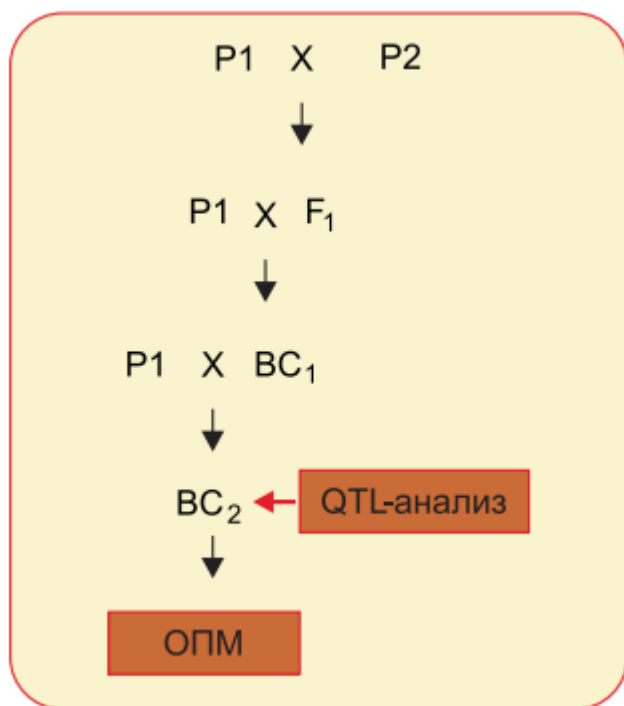
Серые линии – условное обозначение хромосом.

Геноми тўлиқ секвенирланган ўсимлик ва ҳайвонлар турларининг сони, (модел сифатида ҳам қишлоқ хўжалигида ишлатилаётган турлари ҳам) тобора ортиб бормоқда.



селекция).

Расм. МЁП усулини келгуси тадқиқотларда қўллаш учун тайёргарлик ишларининг схемаси.



Расм. Бекросс-таҳлилий чатиштиришни QTL селекция ва генотип бўйича танлашни биргаликда қўллаш схемаси (advanced backcross QTL analysis).



Қишлоқ хўжалиги ўсимлик ва ҳайвон турларининг тўлиқ геномли секвенирланишининг яқунлани.

Чапдан ўнгга пастдан юқорига: гуруч (2002); товук (2004); узум (2007); сигир, от, жўхори, маккажўхори, бодринг (2009); қуён, канакунжут, какао, соя, олма (2010); курка, қулупнай, шолғом, картошка (2011); чўчка, арпа, банан, помидор (2012).

ХІХ БОБ. ОЗИҚ ОВҚАТ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

Глюкоза-фруктоза сиропларини олиш

Сўнгги йилларда дунёда шакар ўрнини босувчи моддаларга, шу жумладан глюкоза, фруктоза, глюкоза-фруктоза сиропларига (ГФС) талаб ортиб бормоқда.

1957 йилда Р. Маршалл ва Н. Ковининг ксилоза изомеразаси кашфиёти ва 1960 йилда - глюкозани фруктоза ичига ферментатив изомерацияси жараёни янги шакар маҳсулотини - глюкоза ва фруктоза таркибидаги глюкоза-фруктоза сиропини ишлаб чиқариш учун асос яратди, шунинг учун унинг ширинлиги шакар билан бир хил. Ҳозирги вақтда таркибидаги фруктоза миқдори юқори бўлган фруктоза сироплари ҳам тайёрланмоқда.

Ушбу ферментни олишнинг арзон усулини ишлаб чиққан япон олимлари И. Таказак ва К. Яманака ва бошқалар ГФС ривожланиши ва технологиясига катта ҳисса қўшдилар. Глюкоза-фруктоза сиропи ёқимли таъмга, исталган ширинликка эга бўлиб, глюкоза фруктоза нисбатига боғлиқ, сувда яхши эрийди ва инсон танаси томонидан ноҳўя таъсирларсиз сўрилади. ГФС таркибида фруктоза моносакхариди мавжуд бўлиб, у энг юқори ширинликка эга - сахароза билан солиштирганда 173% юқори. Глюкоза ширинлиги сахарозанинг 74 фоизини ташкил қилади.

Масалан, қандолат маҳсулотларини тайёрлашда шакарни истеъмол қилиш сезиларли камчиликка эга: сахароза ишлатишдан олдин хамиртуруш уни парчалаши керак.

Бу ҳолда шакарни инверт сиропи билан алмаштириш газ ҳосил бўлишини кучайтиради, хамиртурушнинг кўтариш кучини оширади ва нон ишлаб чиқаришда хамиртуруш истеъмолини камайтиради учун зарур шарт-шароитларни яратади. Шу билан бирга, ноннинг сифат кўрсаткичлари яхшиланади: ўзига хос ҳажми, ғовақчилиги, таъми ва хушбўйлиги, ўғирлаш жараёни секинлашади.

Шакарнинг бир қисмини алмаштиришда нон маҳсулотлари узоқ вақт сақланиб қолади, истеъмол хусусиятлари яхшиланади (таъм, хушбўй ҳид,

қобиқ ранги, майдаланган ғоваклиги). Бунинг сабаби фруктоза гигроскопик модда бўлиб, майдаланган коллоидларнинг гидрофиллигига таъсир қилади. Натижада, маҳсулотлар юмшоқроқ, ғовак бўлади ва секин эскиради. Инверт шакари билан тўлиқ алмаштириш билан хамирнинг физик хусусиятлари пасаяди, бу эса маҳсулотларнинг шаклланиши ва сифатига салбий таъсир қилади. Юқори сифатли маҳсулотлар шакарни инверт билан тўлиқ бўлмаган алмаштириш билан олинади. ГФС сахароза эритмасидан (67%) нисбатан юқори концентрацияга эга бўлиши мумкин (77%). Тўйинган ГФСнинг ёпишқоқлиги тўйинган шакар сиропларининг ёпишқоқлигидан 20 дан 40% паст. Шунинг учун ГФСни ташиш ва сақлаш осонроқ. ГФС кристалланмайди, шунинг учун сув идишлари деворларида чўкинди ҳосил бўлмайди.

ГФС нинг юқори осмотик босими озиқ-овқат ва ичимликларнинг микробиал инфекциясини олдини олади. ГФС билан маҳсулотлардан фойдаланиш тиш кариесининг ривожланиши билан камроқ боғлиқ.

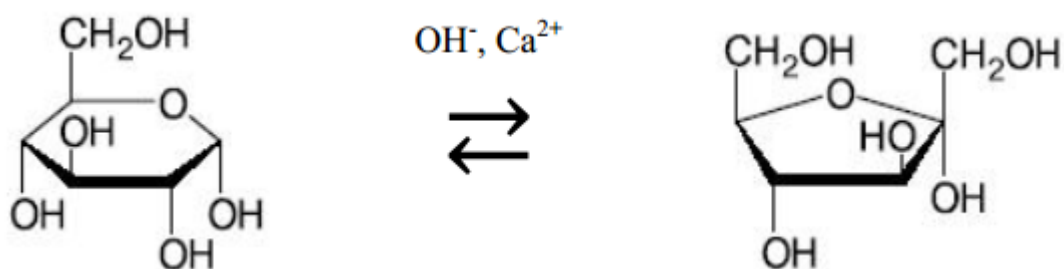
ГФС қандолат саноатида, масалан, мармелад, желе, новвойхонада, шарбатлар, мевали ичимликлар, ликёр-ароқ ишлаб чиқаришда қўлланилади.

Глюкоза-фруктоза сиропи таркибида беқарор моносакаридлар мавжуд, шунинг учун улар махсус шароитларда сақланади. Глюкоза кристалланишининг олдини олиш учун ГФС сақлаш ҳарорати 29-35 ° С бўлиши керак.

Ҳозирги вақтда таркибида 60-90% фруктоза бўлган ГФС ишлаб чиқарилмоқда, бу эса сиропдан глюкозани кристаллаштириш орқали олиб ташланади.

ТУ-18-8-52 ГФС талабларига мувофиқ оч сариқ рангга эга, ширин таъмга эга, таркибида СВ камида 71% вт., Шундан фруктоза 42% дан кам эмас, 0,1% дан кўп эмас, 0,1% дан кўп эмас, ранги йўқ. 0,1 оптик зичликка эга, эркин минерал кислоталари йўқ, рН 4.0 - 5.0. ГФС технологияси глюкоизомераза ферменти таъсири остида глюкозани фруктоза таркибига ферментатив конверсиялаш (изомеризация) га асосланган. Глюкоизомераза

бир неча турдаги микроорганизмлар томонидан ишлаб чиқарилади. Шуниси эътиборга лойиқки, изомеризация реакцияси пайтида қўшимча маҳсулотлар ажралиб чиқмайди.



Глюкозанинг фруктозага изомеризацияси

Глюкозанинг фруктоза ичига изомерланиши - бу қайтариладиган реакция. Мувозанат ҳолати фруктоза 48 - 52% таркибига киради ва реакция ҳароратига боғлиқ

Ҳарорат кўтарилгач, мувозанат ўнгга силжийди. Ушбу факт фруктоза юқори бўлган сиропларни олиш учун ишлатилади.

Глюкоза изомераза - бу металлоензим, яъни у фаол марказда турли хил металлларнинг катионларини ўз ичига олади, шунинг учун магний катионлари унга фаоллаштирувчи таъсир кўрсатади ва кобалт катионлари барқарорлаштирувчи таъсирга эга.

Юқори фруктоза таркибидаги ГФС олиш учун, дастлабки глюкоза сиропининг юқори сифати - 97 - 98% глюкоза миқдори 95 - 97% масс. Бундай сиропларни маккажўхори крахмалидан фақат ферментлар ёрдамида суюлтириш ва шакарланиш босқичидаги олиш мумкин.

ГФС ишлаб чиқариш технологияси глюкоза изомеразасини баъзи ноорганик моддаларга ва табиий ва синтетик келиб чиқадиган полимерларга иммобилизация туфайли қайта-қайта ишлатилишига асосланади. Ушбу фермент ташувчилар иссиқликка бардошли, этарли механик кучга эга бўлиши, сувга яқинлиги (гидрофилик) ва шаклланган ўзига хос сирт майдонига эга бўлиши керак.

Иммобилизация қилинган шаклда фермент юқори барқарорликка ва фаолликка эга бўлиши керак, бу уни қайта-қайта ишлатишнинг иқтисодий

мақсадга мувофиқлигини таъминлайди. Глюкоза изомераза ферментининг фаоллиги 60°C дан юқори ҳароратларда (глюкоза сиропларини термал стерилизация қилиш учун), СБ концентрацияси камида 80 wt% бўлган глюкоза эритмаларида pH 6,5 дан паст (глюкозанинг изомеризациясини камайтириш учун) зарур даражада сақланиши керак. Бундан ташқари, фермент углевод гидролизатидаги бошқа моносахаридларни изомеризация қилмаслиги керак.

ГФС ишлаб чиқариш технологияси

35 дан 40% ваттни ўз ичига олган крахмал суспензияси. СБ, α -амилаза ферменти ферменти таъсирида 60°C да pH 4,5 гача кислотага айланади, глюкоамилаза ферменти билан ПБ таркибидаги 97 - 98% мас. Ёғ-оқсил аралашмалари ва азотли бирикмаларни ажратиш учун олинган гидролизат вакуум филтрларида олдиндан қопланган қатлам билан филтрланади.

Бўёқ, турли хил катионлар ва анионлар, аминокислоталар, сироплардаги қолдиқ аралашмаларни олиб ташлаш учун, фаоллаштирилган углевод рангсизланади, филтрланади ва ион алмашинадиган қатронлар билан ишлов берилади, одатда катион алмашинуви қатронлар - анион алмашинадиган қатронлар схемасига мувофиқ.

Таркибида 35% мас бўлган КБ таркибидаги тозаланган сироп. буғланиш мосламасида қалинлашади, СБ 40 - 45% мас. Олинган сироп 65°C га қадар иситилади, pH 6,5 - 8,5 гача нейтралланади, тузлар (кобальт магний сульфатлари) қўшилиши билан фаоллаштирилади, натрий гидросулфитни киритиш орқали стерилизация қилинади ва изомеризация босқичига юборилади.

Ферментатив изомеризация даврий ва узлуксиз режимда ўтказилиши мумкин. Узлуксиз изомеризация билан сиропдаги фруктоза таркиби унинг реактор орқали ўтиш ҳажмини ўзгартириш орқали бошқарилади.

Даврий жараён катта ҳажмли (50 - 125 м³) реакторларда, аралаштириш мосламаси ва маълум ҳарорат режимини сақлаб туриш тизимига эга. Глюкоза сиропи ферментнинг ҳисобланган дозасини 20 дан 24 соатгача 42% фруктоза

миқдорига киритиш орқали изомерланади. Изомераза фаоллигини камайтирадиган ферментнинг кислород билан алоқасини истисно қилиш учун реакторнинг юқори қисмига азот этказиб берилади.

Изомеризациядан сўнг сироп ҳал бўлади, иммобилизация қилинган шаклдаги фермент чўқади ва кейинчалик изомеризация циклида қўлланилади. Фермент 20 дан 24 кунгача қайта ишлатилади. Ферментнинг фаоллиги бошланғич даври 30% гача камайганда, у реактордан чиқарилади. Олинган суюқ глюкоза-фруктоза сиропи хлорид кислотаси билан рН 4,5 га кислоталанади ва катион алмашинадиган катронлар - анион алмашинадиган катронлар - фаол углерод схемаси билан тозаланади, сўнгра икки босқичли филтрлаш амалга оширилади. Тозаланган сироп СБ 71 - 74% мас бўлгунга қадар вакуум камераларида қайнатилади.

Топинамбур (ер нок) асосида ГХФС ишлаб чиқариш технологияси, илдиз таркибидаги инулиннинг кислотали гидролизига асосланган. Бироқ, юқори сифатли ва биологик аҳамиятга эга бўлишига қарамай, Топинамбур (ер нок) сиропининг нархи жуда юқори бўлиб қолмоқда. Бундан ташқари, Топинамбур (ер нок) ҳали кенг миқёсда етиштирилмаган.

Фруктоза олиш

Бугунги кунда фруктоза антидиабетик қандолат маҳсулотларини ишлаб чиқариш учун энг истиқболли хом ашё ҳисобланади. Фруктоза биринчи марта асалдан олинган ва дастлаб "левоглюкоза" деб номланган.

Фруктоза ёки левулоз, мева ёки мева қандлари кетозлар деб номланган моносахаридлар гуруҳига киради. Фруктоза кўплаб мевалар ва меваларда (олма, нок, помидор) учрайди, асал асалининг бир қисми, олигосаккаридлар, рафиноза, сахароза, стахиоз, табиий полисахарид - инулин ва бактериал полисахарид - леван.

Фруктоза жуда яхши сўрилади, аммо глюкозадан фарқли ўлароқ, инсулин мавжудлигини талаб қилмайди ва шунинг учун диабет касаллиги билан оғриган беморларга 1 кг тана вазнига 0,5 - 1,0 г миқдорида тавсия этилади. Фруктоза глисемик индекси глюкоза кўрсаткичидан 4,6 марта,

сахароза кўрсаткичидан 2,8 барабар паст. Фруктоза бир қатор дорилар ва болалар учун озиқ-овқат маҳсулотларини тайёрлаш учун, хусусан, танаси глюкоза ва галактозани қабул қила олмайдиган болалар учун мўлжалланган. Кўп миқдорда фруктоза истеъмол қилиш инсон саломатлигига салбий таъсир кўрсатмайди. Фруктоза тиш емирилишига олиб келмайди.

Фруктоза бошқа шакар ўрнини босадиган моддаларга қараганда энг катта ширинликка эга. Сахароза билан солиштирганда фруктоза ширинлиги 1,3 дан 1,5 барабар кўп; глюкоза билан - деярли икки барабар кўп. Бундан ташқари, фруктоза глюкоза ва сахарозага қараганда кислоталарга, ишқорларга ва ҳароратга нисбатан мойилдир. У тезда ҳалокатга учрайди. Ўртача кислотали (яъни рНқиймати) фруктоза парчаланиш маҳсулотларини, айниқса қиздирилганда тўпланишига катта таъсир кўрсатади. Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, фруктоза эритмаси $pH = 7,1$ билан тўлқин узунлиги 270 - 300 гача, оптик зичликнинг ортиши, $pH = 3,2$ да оптик зичликнинг қиймати бир неча барабар катта. Бу шуни кўрсатадики, фруктоза эритмаларини иссиқлик билан ишлов бериш шароитида иккиламчи парчаланиш маҳсулотлари олинади ва кислотали муҳитда иккиламчи парчаланиш маҳсулотлари миқдори деярли 2 барабар кўпаяди. Сувдаги фруктоза эритувчанлиги глюкоза ва сахароза эритмасидан юқори бўлиб, тўйинган эритмалардан фруктоза жуда секин кристалланади.

Фруктоза юқори гигроскопик хусусиятга эга ва атроф-муҳит ҳавосидан намликни яхши қабул қилади

Аминокислоталар рацемизацияси

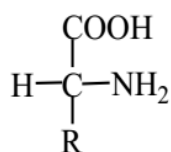
50 дан ортиқ турли хил пиридоксалфосфат ферментларининг функциялари аниқланди. Шундай қилиб, улар а-аминокислоталарни а-токсик кислоталар билан трансаминациясини амалга оширадилар [257–2591, а- ёки П-карбоксилик аминокислоталар парчаланиши билан декарбоксилланиш 1260–261], гидрокси, аминокислоталар ва сульфидрил гуруҳларининг ажралиши, п нинг ажралиши. -оксик- ва т-кетто-а-аминокислоталар, А-аминокислоталарнинг П-гидрокси гуруҳларини

алмаштириш, аминокислоталарнинг рацемизацияси [262] ва бошқа реакциялар (20-жадвал). [с.362]

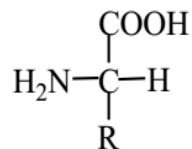
Оқсилларни кислоталар билан гидролиз қилиш жараёнида аминокислоталарнинг рацемизацияси рўй бермайди, яъни аминокислоталар / -амино кислоталар шаклида олинади. Бу кислота гидролизининг гидроксиди устидан афзаллиги. Кўпгина аминокислоталар қайнаб турган минерал кислоталарга чидамли. Истисно тариқасида, бундай гидролиз билан бутунлай йўқ қилинган триптофан ва қисман йўқ қилинган гидрокси аминокислоталар - серияли ва треонин. Триптофаннинг парчаланиш маҳсулоти, триптофаннинг индол ядросини гидролиз қилиш жараёнида ҳосил бўлган алдегидларнинг оз миқдори билан конденсацияланиши натижасида ҳосил бўладиган хуминларнинг ҳўмини деб аталадиган қуюқ жигарранг моддаларга айланади [1]. Хуминларни қўшиб олдини олиш мумкин.

Агар оқсилларнинг гидролизланиши кислоталар билан эмас, балки каустик ишқор ёки барит билан суюлтирилган қайноқ сув билан олиб борилса, триптофани йўқ қилишнинг олдини олиш мумкин. Ушбу пойдеворлар жуда кучли гидролитик таъсирга эга бўлганлиги сабабли 4 Н оқсилнинг тўлиқ гидролизланиши. барий гидроксиди эритмасига 10 соат ичида эришилади. [4]. Ишқорли гидролизатлар рангсиз ва хумлардан холи. Ишқорий гидролизнинг камчиликлари гидроксиди билан даволаш аминокислоталарнинг рацемизациясига олиб келади. Бундан ташқари, гидроксиди билан қайнатилганда, баъзи аминокислоталар деаминацияланади, аргинин орнитин ва карбамидга бўлинади ва систин ва систеин йўқ қилинади. [п.24]

Айниқса, аниқ қизиқиш уйғотадиган аминокислоталарнинг рацемизацияси айниқса чуқур ўрганилган. Табiiй ант-енантиомерни олиш учун ўтказилган ирсiiй аминокислоталарни (кўпинча энзиматик усул билан) кенг миқёсда ажратишда, иккинчи антипод фойдасиз чиқиндилар сифатида тўпланади. О-изомерини рацемизацияга топшириш билан, сиз яна керакли изомер ишлаб чиқаришда иштирок этишингиз мумкин. [п.70]



D-изомер



L-изомер

М-ацетил-нинг рацемизациясига катта аҳамият берилди (М-ацил-аминокислоталар ва пептидларнинг умумий ҳолати. Маълумки, асетиласён сувли юқори ишқорий муҳитда [161] ёки сирка кислотасида асатик анҳидрит ёрдамида амалга оширилган ва реакция учун битта ангидрид ишлатилган. [159], аминокислотанинг катта ракемизацияси рўй бермайди, аммо агар анҳидритнинг ортиқча миқдори ишлатилса ва реакция асатик кислота муҳитида ўтказилса [160] ёки агар сувли муҳит ссл ёки деярли нейтрал бўлса, унда ирқий лотин одатда олинади

Пептид синтези ва О-аминокислоталар қолдиқларини ўз ичига олган табиий пептидларни таҳлил қилиш жараёнида аминокислоталарнинг расемизация даражасини аниқлаш усули сифатида оптик изомерларнинг (айниқса энантиомерларнинг) хроматографияси алоҳида қизиқиш уйғотади. Бундай изомерларни газ хроматографик ажратиш учун оптик фаол стационар фаза қўлланилади ёки таҳлил қилинган лотин молекулаларига иккинчи ассиметрик марказ киритилади ва шу тариқа диастереомерлар жуфтлиги олинади. [п.79]

Полимер-субстратнинг ўзаро таъсири газ хроматографияси ёрдамида ўрганилди, маълумотлардан аминокислоталар ва бошқа табиий бирикмаларнинг ракемизация даражасини аниқлаш учун фойдаланилди. Барча ҳолатларда, аминокислоталарнинг расемис аралашмасининг о-енантиомери б-аминокислотадан (полимер) фазадан 1. шаклга қадар элутланган. Анжирдан 5.14 шундан келиб чиқадики, асосан битта энантиомер ўзаро таъсир қилади. Полимернинг қабул қилувчи юзаси ва субстрат ўртасида бундай қулай истифлеме, агар субстрат о-со-конфигурациясига эга бўлса. Димецилсилоксаннинг қиймати (с. 300)

Тенглама (3-8) билан тўғридан-тўғри боғлиқ бўлиши мумкин бўлган биокимё соҳасидан мисол аминокислоталарнинг расемизацияси. L-аминокислоталар эритмаси аммиак кислотасининг 50% O шаклидаги ва 50% L шаклидаги махсус размаза ферменти ёрдамида осонликча расемик аралашмага айлантирилиши мумкин ва бу жараён сўрилиш ёки иссиқлик ҳосил бўлиши билан бирга бўлмайди. Шундай қилиб, $\Delta Y = 0$ ва тизимнинг ягона ўзгарувчан параметри - бу энтропия. Биз тоза изомерни K. деб белгилаймиз. Расематнинг 1 мол нол молекулалари иккала конфигурациянинг биттасида бўлиши мумкинлигини ҳисобга олсак, биз ирқий аралашмани ёзишимиз мумкин.

Амидид гуруҳининг интрамолекуляр нуклеофил ҳужуми оптик фаол аминокислоталарни расемизациялашда муҳим рол ўйнайди. Кислород билан амид (1) L-акилин аминокислоталари мушак ичига. углеродли углерод атомини (5) ўзига жалб қилади, бу эса ХХни олиб ташлайди ва охазолон 10.18га олиб келади (Схема (10.28)). Пойдевор таъсирида оксазолон 10.18 схемада (10.29) кўрсатилгандек, резонанс туфайли қўшимча стабиллашадиган тегишли анионга айланиб, C-4 углерод атомида протонни осонликча йўқотади. Шунинг учун анионни ракемизациялаш жуда осон. Омсазоло Ишининг шаклланиши турли усуллар билан исботланган ва аминокислоталарни ракемизациялашнинг муҳим йўналиши ҳисобланади. Шунини таъкидлаш керакки, тўғридан-тўғри бўлиниш ирқчиликка олиб келади.

Полипептид синтези пайтида юзага келадиган жиддий муаммолардан бири бу синтез пайтида аминокислоталарнинг расемизацияси. Аминокислоталарнинг фаоллашиши уларнинг озлактонлар деб аталадиган қисман конверсиясини келтириб чиқаради (масалан, ораликдан ДСС билан реакция натижасида).

Карбобензилоксилацияда бўлгани каби, бу усулда аминокислоталарни рацеизация қилиш ҳам содир бўлмайди.

Изоҳ Протеин тўлиқ гидролизланиши керак. Аммо, агар гидролиз жараёнида аминокислотанинг қисман ракемизацияси рўй берса, у ҳолда

таҳлил қилинадиган маълумотлар кам ҳисобланади, чунки Ла тоба иллуc арабиносус фақат муҳим аминокислоталарнинг табиий шаклларидаⁿ фойдаланиши мумкин.

Ушбу гуруҳга киритилган реакциялар битта аминокислотанинг аминокислотасини бошқа аминo кислотанинг карбоксил гуруҳига амид (ёки пептид) ҳосил қилиш учун боғлаш жараёнлари. Амидлар одатда аминни кислота хлорид, эфир ёки кислота ангидрид билан реакциялаш орқали тайёрланади. Кўпинча, охи^rги иккита вариант қўлланилади, чунки кислота хлоридидан фойдаланиш аминокислоталарнинг расемизациясининг кўпайишига олиб келади.

Парчаланиш билан. Бу эрда кўрсатилган усулни қўллашда аминокислоталар ракемиз бўлмайди ва уч мол хлорид кислотаси иштирокида ўзига хос оптик фаолликка эга бўлади $[\alpha]_{26} = -\varphi 8,0^\circ$. Қайта ишлаб чиқарилган маҳсулот одатда аналитик жиҳатдан тоза бўлиб, Ван-Сликe азотни аниқлаш тўғри натижаларни беради. Баъзида аналитик жиҳатдан тоза маҳсулотни олиш учун яна бир кристалланиш талаб этилади.

Биринчи босқич. Омин ёки карбоксил гуруҳларини вақтинча ҳимоя қилиш аминокислоталар қолдиқларини керакли кетма-кетликда бирлаштиришга имкон беради, шунингдек аминокислоталарни амфотер хусусиятларидан маҳрум қилади. Дикарбоксилик аминокислоталар учун иккинчи карбоксил гуруҳининг қўшимча ҳимояси, аминокислоталар учун қўшимча здцит, амфилловчи сулфидрил гуруҳлари бўлган аминокислоталар учун ушбу гуруҳларнинг ҳимояси талаб қилинади. Ҳимоя гуруҳлари синтез шароитида барқарор бўлиши керак ва уларнинг киритилиши аминокислоталарнинг рационализациясига олиб келмаслиги керак. Қуйидаги гуруҳлар аминокислоталарни қайтариладиган ҳимоя учун жавоб беради.

Улар бошқа пиридоксалик ферментлар билан биргаликда азот метаболизмида катта рол ўйнайди, аминокислоталар ва кето кислоталар ўртасидаги трансаминланиш реакцияларида, аминокислоталарнинг

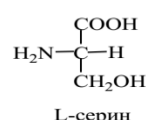
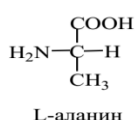
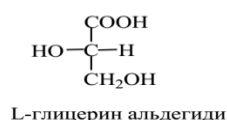
декарбоксилланиши ва ракемизацияси, бир қатор аминокислоталарнинг ажралиши ва конденсацияси ва ҳоказоларда иштирок этади.

Протеолитик ферментлар ёрдамида сут таркибидаги оқсил гидролизатлари папаин, бромелин, замбуруғлар ёки бактериялар протеиназаларини парчалаш орқали олинади. Улар, масалан, беморлар ёки болалар учун осон ҳазм бўладиган сут маҳсулотларини ишлаб чиқарадилар. Сигир ёки эчки сути 50-60 ° С ҳароратда протеаз препаратлари билан иситиш орқали гидролизланади, лимон кислотаси ва фосфат тузлари ("а + ёки К +) кўшилади, кальцийнинг бир қисмини натрий ёки калий билан алмаштиради. Зардоб учун зарур бўлган оқсил гидролизатлари, махсус парҳезлар ва Гўшт, балиқ ёки сут оқсилларини чуқур ферментатив протеолизини ўтказиш орқали олинadиган озуқа, углеводлар сингари, ферментатив ажратиш кислота ёки ишқорга нисбатан афзалликларга эга ва техник жиҳатдан содда ва аминокислоталарнинг парчаланишига ёки ракемизациясига олиб келмайди. ротеаза, бундан ташқари, сиз сутда (панкреатин) оксидланиш ҳидини олдини олишингиз ва қуюлтирилган сутни турғунлаштиришингиз мумкин (турли хил келиб чиқадиган протеолитик ферментлар).

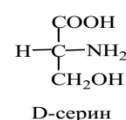
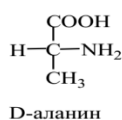
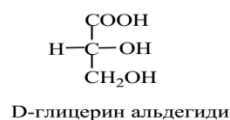
50 дан ортиқ турли хил пиридоксалфосфат ферментларининг функциялари аниқланди. Шундай қилиб, улар а-аминокислоталарни а-кето кислоталари билан трансаминациясини, а ёки п-карбоксил аминокислоталарнинг парчаланиши билан декарбоксилланишни, гидрокси, аминокислоталар гуруҳларини парчалашни, В-кето-а-аминокислоталарда П-гидроксиясини парчалашни, а-аминокислоталарнинг п-гидрокси гуруҳларини Аминокислоталарнинг рацемизацияси, шунингдек, мис ионлари иштирокида нитрософенолни келтириб чиқаради. Ракемизация оддий механик ҳаракатлар билан ҳам амалга оширилди - тўп тегирмонида оптик фаол леусин талк ёки бошқа ноорганик материаллар билан аралаштирилганида. Молекуляр даражадаги жараёнларга сўл таъсирининг чиндан ҳам ажойиб намунаси

Бир қатор муаллифлар батафсил ўрганиб чиқдилар ва Кеглнинг нормал ва зарарли тўқималарнинг оқсиллари аминокислоталарнинг рационга кириш

даражаси кислота гидролизатларида бир-биридан фарқ қилади деган фикрни рад этдилар Кичик ракемизация барча оқсилларнинг кислотали гидролизида кенг тарқалган. оқсил гидролизи натижасида олинган аралашмаларнинг оптик шаклини ўрганишда катта аҳамиятга эга бўлган изотоп усули билан ҳам ўрганилди. Биз деярли расемис фенилаланинни кислота жун гидролизатидан ажратиб олдик. алмаштириш, аминокислоталарни расемизация қилиш ва бошқа реакциялар.



D-аминокислоталар эса аксинча конфигурацияга эга.



Ишқорий ишлов бериш билан бир каторда, кислота билан ишлов бериш пептид занжирида аминокислоталарни эркин ҳолатда бўлишидан кўра осонроқ ракемизацияга олиб келмаслиги ҳақида усул мавжуд. ферментларни қўллаш ёки гидролизатнинг дастлабки босқичларида иссиқлик таъсирини йўқ қилиш орқали.

Лактозасиз сут

Лактоза бўлмаган сут (тартибга солувчи номи лактоза қўшилмаган сутни қайта ишлаш маҳсулоти) - бу сутни қайта ишлаш маҳсулоти бўлиб, унда лактоза гидролизланади ёки олиб ташланади [1].

Маҳсулот лактоза интолерансидан азият чекадиган одамлар учун мўлжалланган. У оддий сутдан фақат лактоза йўқ ёки кам бўлган тақдирда фарқ қилади (масалан, Россия қонунларига кўра, 1 литр тайёр маҳсулотга 0,1 г дан ошмаслиги керак). Шу билан бирга, ишлаб чиқарувчилар маҳсулотнинг

таъми ва ичимлик сутининг бошқа хусусиятларини сақлашни таъминлайдиган технологияларни танлайдилар.

Лактозасиз сут маҳсулотларини ишлаб чиқариш Ғарбий эвропанинг кўпгина мамлакатларида, Аргентина, Австралия, Канада, Япония, Малайзия, Янги Зеландия ва АҚШда ўзлаштирилди [2].

Лактозасиз сут ишлаб чиқариш технологиялари икки тоифага бўлинади - анъанавий ва лактоза ферментатив деградацияси ёрдамида.

Анъанавий тарзда пастеризация қилинган сутнинг махсус аралашмаси аччиқ сутли ачитқи билан ачитилади, шу билан бирга таркибий қисмлар сутнинг таъминини сақлаб қолиш учун танланади.

Лактозани энзиматик ҳазм қилиш *Аспергиллус нигер* ва *Аспергиллус орийзае* замбуруғларидан лактазани тижорат ишлаб чиқариш ёки *Клуйверомйесес фрагилис* ва *Клуйверомйесес ластис* хамиртурушидан ажратиб олиш ва уни сутга қўшишни ўз ичига олади. Сут таркибидаги лактоза 98 фоизгача ферментни парчалайди. Агар оддий сутнинг таркибида тахминан 50 г лактоза бўлса, у ҳолда фермент қўшилгандан кейин у 1 г дан ошмайди [3]. Бу имконият 1970-йилларда, лактоза гидролизи учун биринчи сотувда мавжуд бўлган ферментлар олинган пайтда пайдо бўлди. Натижада пайдо бўлган паст лактоза сути ширин ва қаймоқли таъмга эга.

2001 йилда Валио томонидан ишлаб чиқилган мембранани филтрлаш технологияси лактоза миқдори 0,01% дан кам бўлган маҳсулотни олиш имконини беради. Жараённинг асосий босқичи мембранада ультрафилтрация бўлиб, унинг натижасида лактоза қисми сутдан чиқарилади, шундан кейингина лактоза ферменти қўшилиб, лактоза қолдиқларини олиб ташланади, шу билан бирга тайёр маҳсулотнинг ширинлиги унчалик аниқ эмас, чунки гидролиз босқичида лактоза концентрацияси камаяди.

Қиёсий тавсиф

Таркиби:	Оддий сут	Лактозасиз сут

Энергетик кувваи (ккал)	46	39
оқсиллар(г)	3,2	3,3
Углеводлар (г)	4,8	3,1
Лактоза (г)	4,8	0,01
Ўғ(г)	1,5	1,5
Кальций (мг)	120	120

Сутдан лактоза олиш учун, аввало, ундан ажратгичлар ёрдамида ёғ олинади, сўнгра казеиноген оқсили олинади, бу сутга қўшилган ренин ферментининг таъсири билан ҳосил бўлади, унинг таъсири остида казеиноген коагуляцияланади ва флокуляцион чўкма шаклида чўкадиган казеинга айланади. Ушбу чўкинди олиб ташланади ва у пишлоқ тайёрлашга ўтади. Қолган суюқлик, сут қандлари ва оз миқдордаги оқсил моддаларни ўз ичига олган зардоб, иситиш орқали бўшатилади ва вакуода буғланади. Бундай ҳолда сувда кам эрийдиган лактоза кристалланади. Лактоза кристаллари ажратилади ва кристалланиш орқали тозаланади.

Сут шакар (лактоза) сутда (сигирда 4-5%, аёлларда 5-8%) мавжуд. Сут қандини олиш учун сутдан ёғ ўва оқсил олиб ташланганидан кейин қолган зардобдан фойдаланинг.

Лактаза сутни лактоза ҳолда ишлаб чиқариш учун ишлатилади. Бундай қайта ишлашдан кейин у энг яхши таъмга эга бўлади. Бундан ташқари, аҳолининг бир қисми аллергия реакцияга сабаб бўлган лактоза мавжудлиги сабабли сутни аниқ истеъмол қила олмайди. Лактаза ёрдамида кўп миқдордаги лактоза бўлган зардобдан шакар (глюкоза, галактоза) олинади.

Лактоза олиш учун одатда зардобдан фойдаланилади, ёғ ўва казеиндан озод бўлган суюқ деб аталадиган суюқлик қаймоқни олиб ташлаганидан кейин сутда қолади ва қаймоқли сутни пишлоқ ичига олади. Сут шакарининг деярли барчаси ва сутнинг бошқа ноорганик таркибий қисмлари зардобда

мавжуд Сут шакар буғланиш пайтида кристалланади ва кристалланиш натижасида тозаланади.

Ҳисобот даврида гидроксиди катализаторлар (натрий ва калций гидроксидлари) иштирокида сут шакар ва зардоб эритмаларида лактоза мутаротациясининг кинетик тузилиши ўрганилди. Спрейи қуришти ёрдамида п-лактоза юқори миқдори ва рН 10,5-11,5 дан юқори бўлган концентратлар олиш принциплари асослидир.

Сут зардобидан шакар олиш

Реннин ёрдамида ёғ ва оксилни сутдан ажратгандан кейин пишлоқ фабрикаларида қоладиган зардобдан сут шакарини оламиз. Бу озгина лойқали сувли эритма бўлиб, унда оз миқдордаги оксил, шакар ва минерал тузлар мавжуд. Катта чинни идишда 300 мл зардобни (ёки бироз кўпроқ) буғланади. Бироз вақт ўтгач, қолган протеин жойлашади. Биз уни филтрлаймиз ва сут шакар кристалланмагунча филтрнинг буғланишини давом эттирамиз. Совутгандан сўнг, биз олинган сут кристалларидан сут шакарини ажратамиз - энг яхшиси Бюхнер воронкасида олишдир. Кейинги тозалаш учун чўкиндени яна иссиқ сувда ҳам олинниши мумкин.

Лактоза ишлаб чиқариш учун хом ашё пишлоқ заводларида қолган зардобдир. Зардоб буғланганда биринчи навбатда сут албуминлари чиқарилади, шундан сўнг сут шакар кристалланади.

Пишган сут, қаймоқ ва пишлоқ учун мўлжалланган асбоб-ускуналарнинг таснифи биотехнологик хусусиятларни ҳисобга олган ҳолда келтирилган, унда сут шакарини ферментация, оксилларни гидролизлаш ва сут ёғини парчаланиш жараёни мавжуд. Биринчи гуруҳ сутни коагуляция қилиш ва олинган пхтани қайта ишлаш ускуналари. Бунга пишлоқли ванналар, зардобни ажратувчи воситалар, шунингдек пресслаш машиналари киради.

Ғалла устига қўйгандан сўнг, улар казеинни қуриштишни бошлайдилар, бу буғлаш ёки зардобни қуйиш ва қиздирилган шаклда иссиқ сув ёки бир хил зардобни қўшиш орқали идишдаги ҳароратнинг аста-секин кўтарилиши билан таъминланади. Зардобни сув билан суюлтириш мақсадга мувофиқ

эмас, чунки у чорва учун ем ёки албумин, глобулин ва сут шакарига киради. Аввал зардобни олиб ташлаш керак, сўнгра қўшиб казеин донини қуритишни бошлаш керак.

Жуда фойдали маҳсулотлар - бу ацидофил-хамиртурушли сут ва ундан тайёрланган творог. Творог ишлаб чиқариш технологияси қуйидаги босқичларни ўз ичига олади. 2% шакар бўлган сутда хамиртурушнинг кундалик маданияти 3% ни ташкил қилади ва 14-17 соат давомида 32-33 ° С ҳароратда инкубация қилинади. Олинган нордон сут сутга қўшилади ва 33 ° С ҳароратда 5-6 соат давомида ивиб қолгунча даволанади. Бу творог Бж, Б2, С витаминларига бой ва ҳоказо. 14 турдаги андида хамиртурушининг вакиллари витамин ва оқсилга бой биомассани олиш учун сут зардобдан фойдаланадилар. Баъзи турдаги хамиртуруш (*Rhodotorula glutinis*) каротиноидларни ишлаб чиқариш қобилияти озиқ-овқат рангларини ишлаб чиқаришда қўлланилган.

Сут шакар. Икки монос молекуласидан сув чиқиши билан ҳосил бўлган сут шакар, қамиш шакар, малтоз ва бошқа бирикмалар, мураккаб полиозлардан фарқли ўлароқ, биослар деб аталади. Қамиш шакаридан фарқли ўлароқ, сут кумуш оксиди билан ижобий реакцияни таъминлайди, бу ундаги алдегид шаклланишининг осонлигини кўрсатади. У, табиий углеводлар сингари, ферментлар иштирокида сувнинг ҳаракати билан осонгина ўзгартирилади. Сут шакари узоқ вақтдан бери маълум. 1798 йилда у сутдан ажратилган ва сут шакар деб номланган. Бу қамиш шакарига қараганда камроқ ширин. Оқсил моддалари коагуляциядан кейин пишлоқ тайёрлашда зардобдан олинади. Худди шу муваффақият билан, уни мойли сутдан казеин олганда зардобдан олиш мумкин. Сут қандини парҳез ўрнига парҳез маҳсулот сифатида ишлатилади.

Глюкоза-фруктоза сиропи ва глюкозадан фруктоза ишлаб чиқариш. 2. Расемик аралашмаларидан оптик фаол β-аминокислоталарни олиш. 3. Фумар кислотада β-аспартик кислота синтези. 4. Фумар кислотада молик кислота синтези. 5. Рационсиз лактоза сутини ишлаб чиқариш. 6. Зардобдан шакар

олиш. 7. Пенициллин сериясининг ярим синтетик антибиотикларини кейинчалик ишлаб чиқариш учун оддий пенициллин (пенициллин О) дан 6-аминопенициллан кислотасини (пенициллин ядроси) олиш.

П-галактозидаза (лактаза) ёрдамида лактоза ёки сут шакарини сингдира олмайдиган кўплаб одамлар учун жуда зарур бўлган парҳез маҳсулоти олинади. А. нигер дан п-галактозидаза (лактаза) дан фойдаланиш пишлоқ ишлаб чиқаришнинг қўшимча маҳсулоти - зардоб - ширинликлар олиш учун ишлатилиши мумкин, улар кейинчалик нон ва қандолат саноатида ва музқаймоқ ишлаб чиқаришда ишлатилади.

Пишлоқ заводларида кирувчи сут нормаллашади, пастеризация қилинади, совутилади ва пишлоқга қайта ишланади. Нормаллаштириш натижасида олинган крем сариёғ ишлаб чиқаришга юборилади. Пишлоқ зардобини сут шакарига қайта ишланади.

Кислотали зардоб шу тарзда тайёрланади, казеин ёғингарчилик натижасида олинган зардоб илиқ хонада баррелга қуйилади, у эрда сут сути тугайди, зардобдаги қолган шакар сут кислотасига айланади, бу зардобнинг кислоталигини оширади.

Сут саноатида зардобни қайта ишлаш учун ультрафилтрация кенг қўлланилади, яъни пишлоқ ишлаб чиқаришда сут ивишидан кейин қолган суюқлик. Қон зардобини йўқ қилиш, юқори биокимёвий кислородга бўлган эҳтиёж билан боғлиқ бўлиб, қон зардобидида органик моддаларнинг паст концентрацияси туфайли қийинчиликлар туғдиради. Ультрафилтрация орқали зардобдан лактоглобулин ва лакталбумин каби оқсиллар ва лактоза каби шакар олиш мумкин. Кўп йиллар давомида зардоб рикотта пишлоқини олиш учун буғланиб кетган ва шу мақсадда ультрафилтрациядан фойдаланиш катта (50% гача) энергия тежаш имконини беради. Зардобни даволаш учун ишлатиладиган мембраналар ҳам целлюлоза ацетатидан, ҳам целлюлоза бўлмаган материаллардан тайёрланиши мумкин. Биринчисининг ўтказувчанлиги катта, аммо гидролизга сезгир ва осонгина тикилиб қолади.

Мураккаб углеводларни ҳазм қилиш жараёнида бир қатор ферментлар - углеводлар ошқозон шарбатлари билан овқат ҳазм қилиш тизимига киради. К. таркибига туприк безлари ва ошқозон ости безида ҳосил бўлган ва ингичка ичак шиллиқ қаватининг безларида ҳосил бўладиган ва бу безлар, малтаза, сахароза ва лактаза сирлари билан ажраладиган амилаза киради. Одамлар ва ҳайвонларда целлюлоза ошқозон-ичак трактида целлюлоза тозалайдиган микробиал ферментлар таъсирида парчаланadi. Бу эрда симбиоз ҳодисаси мавжуд, яъни ҳайвонлар микробларни целлюлоза билан озиқ-овқат сифатида таъминлайди, микроблар эса ҳайвонлар томонидан ишлатиладиган маҳсулотлар ҳосил бўлиши билан целлюлозани парчалайди.

Ҳозирги кунда ферментатив жараёнлар турли соҳаларда кенг қўлланилади. Пишириш саноатида крахмалнинг гидролизини тезлаштириш ва хамирнинг сифатини яхшилаш учун амилазалар қўлланилади. Углеводлар ва оксилларни ҳазм қилишни энгиллаштириш учун болалар овқатини тайёрлашда бошланғич маҳсулотлар амилаза ва протеиназалар билан ишлов берилади. Протеиназалар ва пектин ферментлари виночиликда ва шарбат тайёрлашда ишлатилади. Улар шарбатни олиб ташлаш ва шарбатни тозалашни тезлаштиришга ҳисса қўшадилар. Пишлоқ тайёрлашда улар абомаумда ҳосил бўлган ренин ёки химосин - ёш ёшдаги бузоқлар ва кўзиларнинг ошқозонининг тўртинчи қисмида фойдаланадилар. Амилазалар тўқимачилик саноатида оқартириш ва бўяшдан олдин пахта толасини (крахмал аралашмаларини олиб ташлаш) ишташ учун ишлатилади. Севимли жинсиларингизга олижаноб, бежирим кўринишни бериш учун, деним (деним) амилаза ва целлюлоза билан биокимёвий усулда даволанади. Данийни ферментатив қайта ишлаш механизми крахмалнинг энзиматик гидролизи жараёнида юзага келадиган механизмга ўхшайди, чунки крахмал сингари целлюлоза (пахта толасининг асосий таркибий қисми) полисахаридлар синфига киради. Бундан ташқари, ферментлар индиго рангли сирт толалари билан ҳаракат қила бошлайди, натижада бу толаларнинг мато юзаси билан алоқаси сусаяди ва аста-секин матода оқ

ямалар пайдо бўлади. Махсус протеиназлар чарм саноатида сочларни теридан мулойимлик билан олиб ташлаш учун ва технологияда филмни янгилаш учун ишлатилади. Синтетик ювиш воситаларини ишлаб чиқаришда липазлар билан бирга ишқорли протеазлар ҳам қўлланилади.

Стилман ва Сегалов чўчкаларда ФШни тозалаш ва тавсифлаш бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижалари ҳақида хабар беришди. Улар таклиф қилган тозалаш усули аммоний сульфат билан фраксиялаш, панкреатин билан даволаш ва ДЕАЕ целлюлозасида хроматографиядан иборат. Протеолитик даволаниш, эҳтимол, препаратни тозалаш пайтида фаолликни йўқотмаслик учун керак. Ушбу усул билан тозалашдан сўнг, якуний маҳсулот маҳаллий гормон ҳазм қилиш маҳсулотларига ўхшаш моддadir, деб тахмин қилиш мумкин. Мақолада айтилганидек, электрофорезга кўра тозаланган тайёргарлик бир ҳил бўлган. Амино кислотаси таркиби тез-тез учрайди, юқори цистин миқдори (6,5%) бундан мустасно.

Вояга этган ҳужайралардаги ҳужайра деворларининг ўзгаришини ўсимликнинг бир қисмини, масалан, ўлик барғни терлаш пайтида юз берадиган жараёнлар мисолида ҳам кўриш мумкин. Бир барғ ўлганда, ҳужайрали полимерлар парчаланади ва шакар, аминокислоталар ва ионлар ўсимлик томонидан қайта ишлатилади. Бундан ташқари, қариш варағи оз миқдордаги этилен газини чиқаради. Япроқ баргининг пиёзи ва илдизи (ажратувчи қатлам) орасидаги ҳудудда ҳужайралар этилен ва бошқа эндоген ўсимликлар ўсишини тартибга солувчи мураккаб ва ҳали ҳам яхши ўрганилмаган бирикмаларга жавоб беради ҳужайра деворини (пектиназа ва целлюлоза) йўқ қиладиган ферментларнинг шаклланиши ва секрецияси. Ушбу ферментлар маълум бир жойда локал равишда ҳаракат қиладди ва ажратиш қатламидаги ҳужайра деворларини қисман эритиб юборади. Шу билан бирга, сув ўтказмайдиган суберин ферментатив ҳазм қилиш натижасида барғ ажратиб олингандан кейин ҳосил бўлган ярани ҳимоя қиладиган, ҳужайралар қатламига ётқизилган.

Целлюлозани парчаловчи ферментлар

Водород алоқалари оксиллар, ферментлар, целлюлоза каби биологик муҳим табиий моддаларда, шунингдек синтетик полиамидларда катта аҳамиятга эга.

Целлюлозанинг энзиматик гидролизланиши целлюлоза комплексини ташкил этадиган бир неча ферментларнинг кетма-кет параллел ҳаракатланиши натижасида юзага келади. Целлюлоза ферментларининг табиий целлюлозага таъсирининг умумий кинетик схемасини қуйидаги соддалаштирилган шаклда кўрсатиш мумкин.

Целлюлоза, амилоза, амилопектин ва гликоген - фақат о-глюкоза қисмларидан ташкил топган полисахаридлар бир-бирларидан фақат гликозид алоқаларининг позицияси ва стереоқимёсида фарқланади. Ушбу бирикмаларнинг ферментатив бўлинишини таққослаш ферментларнинг ажойиб хусусиятларини намоёниш этади.

Яқин вақтгача этил спирти ишлаб чиқариш озиқ-овқат хом ашёсига асосланган эди - баъзи бир дағал экинлар ва картошкадан крахмални ачитқи замбуруғлари томонидан ишлаб чиқарилган ферментлар ёрдамида ферментация. Ушбу усул ҳозирги кунгача сақланиб келинмоқда, аммо бу озиқ-овқат хом ашёсининг юқори харажатлари билан боғлиқ ва алкоголь истеъмолининг кўпайиши сабабли саноатни қондира олмайди. Ўсимлик материалларини қайта ишлашга асосланган яна бир усул - бу ёғочнинг гидролизи (гидролиз спирти). Ёғоч таркибида 50% гача целлюлоза мавжуд бўлиб, олтингугурт кислотаси иштирокида сув билан гидролизланганда, глюкоза ҳосил бўлади, кейинчалик у спиртли бижғишга учрайди.

Целлюлозанинг энзиматик гидролизланиши целлюлоза ферменти иштирокида амалга оширилади. Юқори ҳайвонлар целлобиоз ва целлюлозани ўзлаштирмайди, чунки улар ёмонлаштирадиган ферментга эга эмаслар. Целлюлоза ва целлобиоза ферментларини ўз ичига олган қуртлар, саянгозлар, тіртллар ва кўплаб микроорганизмлар целлюлоза ўз ичига олган ўсимлик тўқималарини парчалаши мумкин. Консентрланган кислоталар иштирокида целлюлоза гидролизида фақат П-глюкоза ҳосил

бўлади. Целлюлозанинг қисман гидролизланиши, икки глюкоза қолдиқлари орасида П-1,4-глюкозид алоқаси мавжуд бўлган камайтирувчи селобиоз дисакардининг ҳосил бўлиши билан ҳам мумкин. Целлюлоза билан озикланиши мумкин бўлган кавш қайтарувчи ҳайвонлар (масалан, сигирлар) ўзига хос хусусиятга эга, чунки уларнинг ошқозонининг бир қисмида целлюлоза ферменти ишлаб чиқарадиган бактериялар мавжуд. Ушбу фермент уни парчалайди ва уни О-глюкозага айлантиради. Глюкоза крахмал ва целлюлоза полисахаридларини (ферментлар ёки минерал кислоталар таъсирида) гидролиз қилиш натижасида олинади. У яхшиланган овқатланиш воситаси ёки доривор модда сифатида, тўқималарни безашда, нометалл ишлаб чиқаришда камайтирувчи восита сифатида ишлатилади.

Крахмал манбаи сабзавот маҳсулотлари - картошка, дон. Ферментлар хамиртурушда бўлади. Глюкоза целлюлоза гидролизи натижасида ҳам олинади. Целлюлоза оксидланиши. Бу жараён табиатда энг кенг тарқалган, чунки целлюлоза ўсимлик қолдиқларининг катта қисмини ташкил қилади. Яхши газланган тупроқда бу оксидланиш аэроб микроорганизмлар (бактериялар, замбуруғлар ва актиномицеталар) томонидан амалга оширилади. Улар целлюлоза ва глюкоза гидролизланишига олиб келадиган целлюлоза ва ферментларни ишлаб чиқарадилар (7.1.6га қаранг), кейинчалик у гидрокси кислоталари сифатида CO_2 ва H_2O га оксидланади.

Кислоталарнинг янада мўътадил таъсири билан, шунингдек маълум бир фермент таъсири остида целлюлоза гидролизланиб, селобиоз дисакардини ҳосил қилади.

Целлюлозанинг ферментлар томонидан парчаланиши алоҳида қизиқиш уйғотади. У ферментациянинг қуйидаги турларидан ўтиши мумкин: а) метан, CO_2 ва қуйи ёғ ўкислоталари олинadиган метан; б) H_2 , CO_2 ва қуйи ёғ кислоталари олинган водород ва в) метан- H_2 -водород, бунда метан, H_2 парчаланиш маҳсулотлари, CO_2 ва қуйи ёғ ўкислоталари. ҲЭС, шўрнинг ёпишқоқлигини яхши тартибга солувчи воситадир ва сув омборини очишда кенг қўлланилади. ҲЭС гидролизаторлари целлюлоза ферменти ва хлорид

кислотаси бўлиши мумкин. Кислота афзал кўрилади, чунки ферментларнинг мавжудлиги эритмаларнинг кейинги ифлосланишига олиб келиши мумкин. Оксидланиш воситаларини ёки эркин радикалларнинг генераторларини ўз ичига олган моддаларни киритиш орқали ХЭС нинг парчаланишига эришилади. Бундай реактивлардан (гипохлоритлар, пулсулфатлар) фойдаланганда, эркин бром ҳосил бўлишини истисно қилиш керак.

Целлюлоза ва крахмал таркибий қисмларининг ўзаро боғлиқлиги ўртасидаги фарқ нима? Шу сабабли, ушбу икки хил алоқаларни шаклланиши ва парчаланиши даврида ўсимликларда чалкашликлар бўлмайди. Ушбу жараёнларда қандай ферментлар иштирок этади?

Биологик полимерлар - оксиллар, нуклеин кислоталар, целлюлоза ва бошқаларни йўқ қилишни ўрганиш ушбу полимерларнинг таркиби ва тузилишини ўрганиш учун энг муҳим усуллардан биридир. Полимерларнинг парчаланиши табиий полимерлардан мономерларни олиш учун, масалан, аминокислоталар ва нуклеотидларни олиш учун ишлатилади. Ва ниҳоят, ферментлар таъсирида биологик полимерларни йўқ қилиш кинетикаси ва механизмини ўрганиш катта қизиқиш уйғотади, чунки бу жараёнлар тирик организмлар метаболизмида муҳим бўғин ҳисобланади.

Иммобилизация қилинган ферментлар озиқ-овқат саноатида бошқа эҳтиёжларга эга бўлди. Улардан бири целлюлозани чиқинди қоғоздан, ёғоч чиплари, шакар идишидан тозалаш, унинг глюкозага тушиши ва глюкозани крахмалга - озиқ-овқат маҳсулотига айлантиришдан иборат. Ушбу жараёнларнинг барчаси ферментлар ёрдамида амалга оширилади ва фермент технологиясидан фойдаланиш мумкин. Ферментнинг сувда эримайдиган ташувчига (целлюлоза, шиша, қоғоз, мато, пластмасса ва бошқалар) ковалент бириктирилиши. Шу сабабли сигирлар ва термитлар целлюлозани ҳазм қилиш қобилиятига эга, аммо улар зарур фермент - целлюлазани синтез қила олмайдилар.

Демак, целлюлоза ферментатив гидролизининг стационар режимида дастлабки субстратнинг оралиқ метаболитларга сезиларли ўзгариши

шароитида якуний реакция маҳсулоти ҳосил бўлиш тезлиги (137) формуладаги ϕ коэффициентига мос келадиган миқдордаги полиензим тизимининг биринчи таркибий қисмининг таъсир қилиш тезлигидан паст бўлади. Ушбу қонданинг жисмоний маъноси чеклов босқичининг э тизимидаги биринчи ферментнинг таъсиридан эр, эз ёки э таъсиригача ўзгариши билан белгиланади.

Хинин иштирокида гидросиан кислотаси билан конденсатланган бошқа алдегидлар ҳам 1 га айланадиган оптик фаол гидроксинитрилларини беради. Бу эрда оптик фаол катализатор аччиқ бодом таркибидаги фермент каби таъсир қилади, аммо фермент синтезларининг стереосептивлиги бекиёс даражада юқори. Аниқ таққослаш учун фермент иштирокида бир хил синтез натижалари /) - целлюлозада адсорбцияланган оксинитрил, мандрел кислотаси нитрилининг ҳосиласи 95%, оптик тозаллиги 97% эди.[

Юқори молекуляр бирикмалар таркибига оксиллар, ферментлар, целлюлоза ва унинг эстерлари, крахмал, декстринлар киради. пектинлар, милклар, ўсимлик шилимшиқлари ва бошқа юқори молекуляр оғирликдаги углеводлар, кўплаб табиий қатронлар ва бошқалар.

Бактериал целлюлозанинг шаклланиш шартлари ва хоссаларини тизимли ўрганиш Гусеманн ва Вернер томонидан олиб борилган ва уларнинг маълумотларига кўра бактериал целлюлозанинг молекуляр оғирлиги унинг синтезининг дастлабки кунларида табиий равишда ошиб боради ва синтез вақтининг янада ўсиши билан целлюлоза ҳосилдорлиги ҳам камаяди. Ушбу фактлар целлюлозани синтез қилишда ишлатиладиган бактериялар таркибида целлюлоза эмирилишини келтириб чиқарадиган целлюлоза ферменти мавжудлиги билан изоҳланади.

Кучли водород алоқалари карбоксилик кислоталарни ҳосил қилади (94 га қаранг). Хлороформда $\text{H} - \text{CCl}_3$, гидросиан кислотаси $\text{H} - \text{C} = \text{M}$. водород алоқаларининг этарли бўлмаган поларитеси туфайли заиф водород алоқалари аломатлари водород алоқалари оксиллар, ферментлар, целлюлоза каби биологик муҳим табиий моддаларда катта аҳамиятга эга. синтетик

полиамидлар. Протеинлар (ферментлар) целлюлоза липидлари углеводлар, вирусли каротеноид хлорофилл хумус моддалари (ўсимлик, ўтин ва тупрок экстрактлари) флора ва фауна моддалари томонидан ҳосил бўлган нуклеин кислоталарнинг токсинлари.

Полисахаридлар. Ушбу углеводлар моно- ва дисахаридлардан жуда фарқ қилади - улар ширин таъмга эга эмаслар, асосан сувда эримайдилар, мураккаб макромолекуляр бирикмалар бўлиб, кислоталар ёки ферментларнинг каталитик таъсири остида содда полисахаридларни ҳосил қилиш учун гидролизга учрайдилар, сўнгра дисахаридлар ва натижада. Натижада кўп (юзлаб ва минглаб) моносахарид молекулалари пайдо бўлади. Полисахаридларнинг энг муҳим вакиллари крахмал ва целлюлоза (тола) дир. Уларнинг молекулалари сув молекуласини йўқотган глюкоза молекулаларининг олти аъзоли циклик шакллариининг қолдиқлари бўлган - С₆H₁₀O₅-бирликларидан қурилган, шунинг учун крахмал ва целлюлоза таркиби умумий формула (C_nH_{10n}O_{5n}) билан ифодаланади. Ушбу полисахаридларнинг хусусиятларидаги тафовут уларни ташкил этувчи моносахарид молекулаларининг фазовий изомерияси билан боғлиқ. Масхмал а-, ва целлюлоза - / 3-шаклдаги глюкозадан ташкил топган.

Целлюлоза микрофибриллалари плазмалеманинг ташқи юзасида ҳосил бўлади. Ўсимлик хужайраларининг плазмалемасини электрон микроскопик тадқиқотлар шуни кўрсатдики, унинг ташқи юзаси қисман чўмилиб, квадратга ўралган сферик гранулалар билан қопланган. Ҳажмлари микрофибриллалар учун хос бўлган толалар улардан баъзиларидан ажралиб чиқади. Юқори ўсимликларда гранулаларнинг диаметри 15 нм, микрофибриллар диаметри 8,5 нм, яшил сув ўтларида 30 ва 18,5 нм. Ушбу гранулалар целлюлоза синтаза ферментининг агрегатлари деб ишонилади. Ферментли гранулалар, эҳтимол, икки томонлама рол ўйнайди, целлюлоза микрофибриллаларининг кенгайишини катализлайди ва уларга беради [с.29].

Полисахаридлар. Ушбу углеводлар МОНО ва дисахаридлардан жуда фарқ қилади - улар ширин таъмга эга эмаслар, аксарият ҳолларда улар сувда

эримайдилар, мураккаб юқори молекуляр бирикмалар бўлиб, улар кислоталар ёки ферментларнинг каталитик таъсири остида содда полисахаридларни ҳосил қилиш учун гидролизланади, сўнгра дисахаридлар ва , охир-оқибат, кўп (юзлаб ва минглаб) моносахарид молекулалари. Полисахаридларнинг энг муҳим вакиллари крахмал ва целлюлоза (тола) дир. Уларнинг молекулалари сув молекуласини йўқотган глюкоза молекулаларининг олти аъзоли циклик шакллариининг қолдиқлари бўлган бирликлардан ташкил топган.

Целлюлоза овқат сифатида ишлатилиши мумкин эмас. Термитлар ва кавш қайтарувчи ҳайвонлар (шу жумладан сигирлар) бундан мустасно, овқат ҳазм қилиш органларида целлюлозани қайта ишлайдиган микроорганизмлар мавжуд бўлиб, ҳайвонлар п-глюкозид алоқани йўқ қила олмайди. Унинг ёрилиши ферментлар катализациялашган жараён натижасида амалга оширилади ва тегишли ферментлар инсон танасида йўқ. 1967 йилда сунъий ун ишлаб чиқариш учун целлюлозадан фойдаланиш жараёни ишлаб чиқилган бўлиб, у крахмал унига ўхшаш пишириш учун яроқли бўлса ҳам, озуқавий аҳамиятга эга эмас. Улар диетадан фойдаланиш учун уни ишлатишга ҳаракат қилишди, аммо у тезда эскирган. (Ҳаёт журнали буни бемаъни деб номлади ва пулни ўз ихтирочисига тўлашни таклиф қилди.) Аммо, агар одам бирон бир тарзда симобиозда яшашни ўрганган бўлса, унинг ичакларига кирадиган микроорганизмлар билан яшашни ўрганган эди, деган фикр жуда жиддий бўлган.

Ферментлар ёки кислоталар таъсирида целлюлоза крахмалга ўхшаш гидролиздан ўтади. / Жар. ўлик ўсимликларнинг мети ини и целлюлозаси анаэроб равишда метандан ажралиб чиқади.

Минглаб ферментлар маълум ва улар тирик ҳужайраларда юз берадиган минглаб реакцияларни катализлайди - нафас олиш, метаболизм, кўпайиш пайтида ... Ферментларнинг жуда тез ишлаши жуда муҳимдир. К 1 ни ҳар қандай протеин ёки углеводни (крахмал, целлюлоза) унинг таркибий қисмларига сингдириш учун уларни бир неча соат давомида кислоталар ёки

ишқорларнинг кучли эритмалари билан қайнатиш керак. Овқат ҳазм қилиш шарбатининг ферментлари - пепсин, протеаз, амилаза ушбу моддаларни 37 ° С ҳароратда бир неча сония давомида гидролиз қилади.

Агар биополимер эрмайдиган бўлса, целлюлоза, гемицелулозалар, хитин, кўплаб ҳетерополисаккаридлар ва бошқалар бўлса, уларнинг йўқ қилинишида деполимераза ферментларининг субстрат юзасида адсорбцияси муҳим рол ўйнайди. Бу ҳолда адсорбциянинг роли нафақат эрмайдиган субстрат юзасида ферментлар концентрациясидан, балки фермент-субстрат комплексининг реактивлигини кескин оширишдан ҳам узоқдир. Бу ўзига хослик. Эрмайдиган биополимерларга нисбатан деполимеразаларнинг субстрат бўлмаган ўзига хослиги.

Шардоннай ипак, мис-аммиак ипак ва вискоз ипак кимёвий янгиланган, қайта тикланган целлюлоза ҳисобланади ва улар учун қайта ишлаш жараёнида целлюлоза дуч келган турли хил кимёвий таъсирларисиз улар бутунлай ўтиб кета олмайди. Улар бир оз ортиб борувчи пасайиш қобиляти, гигроскопиклиги ва бўёқларга нисбатан сезувчанлиги ошган ҳолда, баъзи бир саёз ажралиш белгиларини намойиш этади. Ушбу хусусиятларнинг баъзилари қисман сунъий ипакнинг жисмоний тузилиши табиий целлюлоза толасининг тузилишидан фарқ қилиши билан боғлиқ. Целлюлозанинг энг кичик зарралари, унинг меллеллари ёки кристаллитлари сунъий ипак ипларида кўпроқ ёки камроқ даражада тасодифий жойлашади ва табиий целлюлозада бўлгани каби толалар ўқи бўйлаб йўналтирилмайди. Эляфнинг физик хусусиятларига микселлар орасидаги алоқаларнинг сусайиши ва фаол сиртнинг кўпайиши таъсир қилади. Бу сунъий ипакнинг сув ва бўёқларга нисбатан адсорбция қобилятининг ошишига, шунингдек кимёвий ва механик кучнинг пасайишига олиб келади. Сунъий ва табиий целлюлоза толаларининг ферментларнинг таъсирига нисбатан турғунлиги бир хил эмас: Саянгозлар ва бошқа умуртқасиз ҳайвонлар таркибидаги целлюлоза таъсири остида сунъий ипак толалари нисбатан осон ва тўлиқ шакарга айланади, табиий толанинг (пахта) парчаланиши эса анча секинроқ.

Целлюлоза ўсимликларнинг асосий қурилиш материалidir. Ёғоч тахминан 50% целлюлозадан иборат, пахта иплари деярли тоза целлюлозадан иборат. Целлюлоза глюкоза қолдиқларидан қурилган занжирлардан иборат бўлиб, унинг молекуляр оғирлиги ўртача 500000 дан ошади. Целлюлоза таркиби сек. 12/25. Бир қарашда, у крахмалнинг тузилишига жуда ўхшаш. Бироқ, улар орасида муҳим фарқ бор, бу глюкоза қолдиқларини боғлаш усулида ётади. Ўйибор беринг, глюкоза Т-целлюлозада. Крахмални осонликча гидролизлайдиган ферментлар глюкозани гидролиз қилмайди. Шундай қилиб, сиз бир фунт (0,5 кг) целлюлозани ҳеч қандай калория сарфламасдан ютиб юборишингиз мумкин, аммо целлюлозанинг бир бирлик массасига тўғри келадиган калория қиймати крахмалнинг калорифик қийматига тенг. Целлюлозадан фарқли ўлароқ, бир фунт (0,5 кг) крахмал муҳим калория захирасини таъминлайди. Гап шундаки, крахмал глюкоза ичига гидролизланади, шундан сўнг энергия чиқиши билан оксидланади. Крахмалдан фарқли ўлароқ, целлюлоза инсон танасида бирон бир фермент томонидан гидролизланмайди ва шунинг учун ундан ишлатилмай чиқиб кетади. Кўпгина бактериялар таркибида целлюлозани гидролиз қиладиган целлюлазалар деб номланган фермент мавжуд. Ушбу бактериялар кавш қайтарувчи ҳайвонларнинг овқат ҳазм қилиш тизимида, масалан, отларда, целлюлозани озиқ-овқат учун ишлатади.

Нега табиат ўсимликларнинг қўллаб-қувватланадиган тузилиши учун целлюлозанинг кам турғун шаклини афзал кўриши савол очик қолмоқда. Келинг, бу ғайриоддийни таҳлил қилишга ҳаракат қилайлик. табиат танлови. Ҳақиқат шундаки, меркерланган ёки янгиланган целлюлоза маҳаллий (целлюлоза II) га қараганда целлюлолитик ферментлар томонидан кўпроқ хужумга учрайди. Шундай қилиб, агар ўсимликларнинг хужайра деворлари асосан целлюлоза III дан иборат бўлган бўлса, улар ташқи томондан микробиал хужумга нисбатан анча пастроқ бўлар эди. Кўринишидан, мен камроқ реактив целлюлозани танлаш тасодифий эмас эдим ва табиий селекция натижасида аниқландим.

Мултензимали целлюлоза тизимининг таъсири остида целлюлоза гидролизининг асосий йўллари акс эттиради. Тегишли фермент-субстрат комплексларининг шаклланиши ва ўзгариши, оралик метаболитлар ва гидролиз маҳсулотлари томонидан ферментларни инҳибе қилиш ёки фаоллаштириш, субстрат юзасида целлюлозаларнинг адсорбцияси (шу жумладан ноишлаб чиқариш) ва тегишли тартибга солувчи ҳодисалар бу эрда кўрсатилмаган. Ушбу қонунларни алоҳида ўрганиб, биз схема целлюлоза ферментли гидролизи учун, целлюлоза комплексларининг таркиби ва келиб чиқишига қарамасдан кенг тарқалган деган ҳулосага келишимиз мумкин.

ЛИЗОЦИМ - ҳайвонлар дунёсида кенг тарқалган оксиллар, ферментлар тирик организмнинг деярли барча тўқималарида ва суюқликларида, айниқса жигар, талоқ, тупурик ва кўз ёшларида учрайди. Л. маълум бактерияларнинг қобиғини эритиб, эритиб юбориш хусусиятига эга. Л. молекуласи битта полипептид занжиридан иборат бўлиб, улар орасида 127-130 аминокислота қолдиқлари мавжуд. Л. тухум оқидан кристалланиш, бентонитда адсорбция ёки ион алмашинадиган целлюлозада хроматографик ажратиш орқали осонликча ажралиб чиқади. Л. кўзлар, назофаренкс, куйишлар, яралар, акушерлик амалиётида, микробияларда яллиғланиш касалликларини даволашда қўлланилади. бактерияларнинг хужайра деворларини вайрон қилиш, балиқ тухумларини сақлаш, сақлаш ва яхши ҳазм қилиш мақсадида сутга қўшимча сифатида.

Китобда асосий эътибор полимер субстратларнинг деградациясини катализловчи деиолимераза ферментларининг таъсир қилиш хусусиятларига бағишланган. Бундай ҳолда, ферментатив реакциялар кинетикаси ва механизмларининг назарий позициялари асосан полисахаридларнинг конверсияси мисоллари билан тасвирланган. Бу учун бир неча сабаблар мавжуд. Биринчидан, полисаккарид субстратлари кўпинча ҳомополисаккаридлар билан ифодаланади, яъни улар бир хил қисмлардан қурилган ва бир хил занжирларда бир-бирига боғланган (глюкоза. Ва α -1,4

амилоза, глюкоза ва (3-1,4 целлюлозада боғланиш, Н). -асетилглюкозамин ва хитиндаги -1,4 боғланишлар ва бошқалар.)

Полисахаридларнинг гидролизи учун катализаторлар водород ионлари. Гидроксил ионлари бу реакцияни тезлаштирмайди, бунинг натижасида полисаккаридлар ишқорий муҳитда нисбатан барқарор ва кислотали муҳитда турғун эмас. Полисахаридларнинг гидролизи учун катализаторлар шунингдек, крахмал учун α -глюкозидаза ферменти ва целлюлоза учун β -глюкозидаза ферменти ҳисобланади. Глюкоза ишлаб чиқариш учун саноат усули сифатида крахмалнинг кислотали гидролизи қўлланилади. Ферментатив бўлиниш ва крахмалдан кейинги ферментация натижасида этанол олинади.

Бунга мисол целлюлаза бўлган полиензим тизимларида, индивидуал компонентлар учун стационар ҳолатни ўрнатиш одатда иккита мутлақо бошқа вақт шкаласида содир бўлади. Стационар ҳолат биринчи навбатда фермент-субстрат комплекслари томонидан ўрнатилади, уларнинг шаклланиши ва парчаланиш тезлиги ушбу ставкалар орасидаги фарқдан ошиб кетганда (бундан кейин кинетика тизимдаги ферментлар концентрациясига нисбатан ортиқча субстрат билан кўриб чиқилади). Қоида тариқасида, ушбу шарт дастлабки реакция даврида (иккинчи диапазонда ёки ундан ҳам тезроқ), умуман тизим оралиқ метаболитларда барқарор бўлмаганда бажарила бошлайди. Бутун полиензим тизимининг стационар ҳолатга ўтиши, унда оралиқ метаболитларнинг концентрацияси деярли вақт билан ўзгармайди (аниқроғи, уларнинг шаклланиши ва парчаланиш тезлиги бу тезликлар орасидаги фарқдан анча юқори), одатда анча секин содир бўлади (кўпинча стационар ҳолатга умуман эришилмайди), кўпчилик учун. реал шароитда целлюлолитик реакцияларни бир неча соат давомида ўрганишди. Бу бизга полиензим тизимларининг стационар кинетикасини таҳлил қилганда, фермент-субстрат комплексларидаги стационар ҳолат деярли бир зумда ташкил этилганлигини ва оралиқ метаболитларнинг шаклланиши ва парчаланиши одатий Майклис-Ментен тенгламасига

мувофиқ содир бўлишига имкон беради. Кейин, бошланғич субстратни саёз чуқурликка айлантириш шароитида, целлюлоза тизимидаги ферментлар ва субстратларни бир хил тарқалишини ҳисобга олган ҳолда ва трансформациялар амалда қайтарилмаслигини ҳисобга олсак, целлюлоза ферментли гидролизининг кинетикаси дифференциал тенгламаларнинг куйидаги тизими билан тавсифланади.

Бундан келиб чиқадиган муҳим хулоса шундан иборатки, целлюлозанинг лативе-гидролизи стационар режимида бошланғич субстрат саёз чуқурликка айланганда, охириги реакция маҳсулоти (глюкоза) ҳосил бўлиш тезлиги фақат кўп фермент тизимида биринчи фермент таъсирининг кинетик параметрлари билан аниқланади (чизиқли мултензимнинг аниқ ҳолати учун шунга ўхшаш мунтазамлик илгари олинган эди). занжирлар [12]). Бошқача қилиб айтганда, ушбу шароитларда гидролизланиш тезлигини чеклайдиган босқич бошланғич субстратни конверсиялашдир.

Целлюлоза гидролизланганда, макромолекуладаги элементар бирликлар ўртасида глюкозид алоқаси узилади, бундан ташқари, бу жараён кислоталар (H_2SO_4 , HCl , H_3PO_4) иштирокида осонроқ кечади. Асосан, реакцияни глюкоза шаклланишига олиб келиш мумкин, аммо одатда целлюлоза турига қурилган ёки ундан юқори молекуляр оғирликдаги маҳсулотларни ишлаб чиқарадиган оралиқ сахаридлар ҳосил бўлади. Гидролиз жараёни кўп жиҳатдан целлюлоза макромолекулаларининг тартибланиш даражасига боғлиқ. Ушбу буюртма қанчалик кичик бўлса, гидролизлаш воситаларининг ҳужумига учраган тартибсиз ҳудудлардаги макромолекула ҳудудларига кириш имконияти кўпроқ бўлади. Целлюлозанинг кислотали гидролизи турига кўра унинг микробиологик бузилиши табиий ферментлар таъсири остида давом этади. Ишқорлар таъсирида целлюлозанинг парчаланиши юқори ҳароратда давом этади ва реакция аллақачон давом этмоқда.

Крахмал, шунингдек, глюкоза полимидир, аммо анжирда кўрсатилган занжир билан. Крахмал стандарт шаклдадир, унда глюкоза

сақланади, у ўсимликларда озиқ-овқат манбаи сифатида ишлатилади ва қуёш энергиясининг асосий манбаи ҳисобланади. Крахмал ўсимлик жароҳатлайди, барглари, илдизлари ва уруғларида тўпланади. Барча организмларда крахмалнинг сўрилиши учун зарур бўлган ферментлар мавжуд. Ошқозонда ёки пиво найчасида бўлишидан қатъи назар, ферментациянинг биринчи босқичи крахмалнинг глюкоза таркибига кириши. Агар сиз оғзингизда нонни узоқ вақт ушлаб турсангиз, у ёқимли таъмга эга бўлади, чунки бизнинг тупурик ферментлари нон таркибидаги крахмални шакарга айлантириши мумкин.

Шакар ва крахмал инсон танасига асосий энергия этказиб берувчидир. Ҳар қандай мушак ҳаракати ёки ақлий фаолият энергиясиз имконсиздир. Бунинг асосий қисми шакар ва крахмални қайта ишлашдан келиб чиқади. Бузилишда ҳар бир грамм углевод 4 ккал энергия беради.

Таркибида ҳужайра ядроси бир хил протоплазмани ифодалайди, фақат зичроқ ва оз миқдорда фосфор бирикмалари қўшилиши билан. Бундан ташқари, ҳужайралар таркибида турли хил органик бирикмаларни ишлаб чиқариш ва конверсия қилиш амалга ошириладиган органик кимё лабораториясига ўхшаб махсус протеин - пластидларнинг тўпланиши мавжуд. Пластидларга, масалан, углеводород кислотасини сингдирадиган ва нурда уни таркибий элементларига ажратиш қобилятига эга бўлган ўсимликларнинг хлорофилл доналари киради, шу билан кислород ҳавога қайтади ва углерод сўрилади ва крахмал углеводлар, шакар ва ҳоказо шаклида ўсимликларга бирикади. углерод диоксидининг ажралиши [с.22] тенглама бўйича содир бўлади.

Умуман олганда, гидролиз пайтида крахмал молекулаларининг парчаланиши босқичма-босқич давом этади ва маълум шароитларда ёки маълум ферментлар таъсири остида турли хил мураккабликдаги маҳсулотларни олиш мумкин.

Овқат ҳазм қилиш тизимида, қонда ва одам ва ҳайвонлар ҳужайраларида юзага келадиган кўпгина кимёвий реакциялар каталитик

реакциялардир. Улар ферментлар томонидан тезлашади. Барча ферментлар протеинли моддалардир. Шундай қилиб, тупурик таркибида крахмалнинг шакарга айланишини катализловчи птяти ферменти мавжуд. Ошқозонда оқсилларнинг парчаланиши пепсин ферменти томонидан катализланади. Ферментлар фақат фаол катализаторлар бўлиб, уларнинг ҳаракатлари жуда селективдир.

Крахмал глюкоза қадар ферментатив деградацияга (деградацияга) осон сезгир. Бундан ташқари, оддий механик ишлов бериш орқали, ҳатто совук сувда эрийдиган крахмал модификациясини олиш мумкин. Ушбу хусусиятлар толада деярли мавжуд эмас. Крахмал сингари, целлюлозанинг молекуляр занжирлари глюкоза қолдиқларидан қурилган, аммо бу бирликларнинг фазовий жойлашувида крахмалдан фарқ қилади. Целлюлоза молекуласидаги глюкоза қолдиқларининг умумий сони ўртача 6000-12000 ни ташкил қилади. Тозалаш пайтида толани қайта ишлаш одатда унинг молекуласининг бир қисми парчаланиши билан бирга келади, шунинг учун саноат целлюлозаси 50000-150.000 молекуляр массага эга.

Крахмал ферментатив ҳазм бўлганда, эритмада камроқ ранг берувчи модда, гидроксиметил фурфурал ва кул ҳосил бўлади ва хом ашёнинг кислотали гидролизига нисбатан глюкоза миқдори сезиларли даражада ошади.

Йўқ қилиш бу макромолекуляр бирикмалар кимёсида жуда муҳим реакция. У юқори молекуляр оғирликдаги бирикмалар таркибини аниқлаш, шунингдек, табиий полимерлардан целлюлоза ва крахмалдан глюкоза каби паст молекуляр оғирликдаги моддаларни олиш учун ишлатилади. Баъзида бузилиш полимерларнинг молекуляр оғирлигини қисман пасайтириш учун уларни қайта ишлашни осонлаштириш учун ишлатилади. Ўзгартирилган полимерларни синтез қилиш учун полимерли макромолекулаларнинг бўлиниш жараёнлари, эркин макрорадикалларни шакллантириш билан давом этади.

Минерал кислоталар таъсирида шакар хусусиятларига эга бўлмаган полисахаридлар моносларга бўлинади. Кўпинча тўлиқ гидролизнинг якуний маҳсулоти О-глюкоза крахмал, гликоген, целлюлоза ва ликенин бўлиб, кислота тўлиқ парчаланиб, фақат узум шакарини ҳосил қилади. Шунга ўхшаш шароитларда бошқа мураккаб углеводлардан манноза, галактоза, фруктоза ёки пентоза ҳосил бўлади - арабиноза, ксилоза, фукоза. Ушбу гуруҳга тегишли бўлган шакарга ўхшаш бўлмаган полисаккаридлар гидролитик бўлинишнинг охириги маҳсулотларидан, масалан, манналар, галактанлар, араблар номларини олди.

Гомо ва гетрополисаккаридларнинг полисаккаридлари. Крахмал, кимёвий тузилиши, кимёвий ва физик-кимёвий хоссалари. Ёд билан реакция. Крахмалнинг парчаланиши. Пектин, амилоза ва амилопектин. Крахмалнинг биологик роли. Инулин, гликоген (ҳайвонларнинг крахмал). Целлюлоза глюкоза полимери сифатида. Целлюлоза ва крахмал ўртасидаги фарқ. Целлюлозанинг физик-кимёвий хусусиятлари.

Крахмалнинг кислоталар ва ферментлар томонидан аста-секин парчаланишини ёд билан реакцияда кўриш мумкин. Дастлабки эритма бинафша рангга ёд билан бўялган, гидролизнинг кейинги босқичларида олинган ёд ёд билан қизил-жигарранг ранг беради. Ушбу ранглار нисбатан юқори молекуляр оғирликдаги декстринларга хосдир. Кам молекуляр оғирликдаги декстринлар ёд билан сариқ рангда бўялган. Олигосаккаридлар ва моносаккаридлар (пастки декстринлар, малтоз ва глюкоза) ёд билан бўялган эмас.

Кристалли гидратланган глюкоза кислотали (хлорид кислотаси билан) ва кислота-ензиматик усуллар ёрдамида олинади. Крахмалнинг икки барабар энзиматик деградацияси усули ўзлаштирилди.

Картошка каби ўсимликларда ферментатив тизимлар мавжуд, улар ҳатто витро таркибида глюкоза-1-фосфор кислотасини углеводларга айлантириши мумкин, улар метилизация ва ёрилгандан сўнг табиий крахмал ёки амилоза ва амилопектин каби бўлакларни ҳосил қилади. Бошқа

хусусиятларда бу углеводлар амилоза ва амилопектингга жуда яқин (Хаинес, Хевортх). П-ферменти деб аталадиган амилозани картошкадан олиш мумкин, ва К-ферменти (картошкадан) кўп бўлса, амилопектин К-ферменти амилозанинг амилопектингга айланишига ҳам олиб келиши мумкин.

Биринчи вариантга кўра, гранўлланган шакар новдаларни 5-10 мм бўлакларга кесиб, шарбатни прессларга сиқиб, пулпани 1-3 мм ўлчамга қайтариб, шакарни иссиқ сув билан (60-70 ° С) олиш орқали олинади. Крахмал, ди-, трисакаридларни парчалаш учун амилолит, глюкоамилаза каби амилолитик ферментларнинг қуруқ моддасининг оғирлиги 0,05% бўлган сиқилган ва диффузия шарбатлари аралашмасига киритилади. Шарбат қуйилади, 20-30 ° С га қадар совутилади ва оҳақ сути киритилади.

Крахмал катаболизми энг яхши ўрганилган. А- (1 -> - 4) -гликозид бирикмаларининг ажралиши фосфоролиз натижасида содир бўлади ва фосфорилазалар билан катализланади. Фосфоролиз реакцияси натижасида чизикли занжирнинг қайтарилмайдиган учидан а-Д-глюкопия <раносил фосфат ажралиб чиқади. Бу реакция ўзгарувчан

Декстринларнинг ўзгарувчан мураккаблиги амилодекстрин ёд (амилоза ва эрийдиган крахмал) ёд билан реакцияси билан кўк рангга айланади, сўнгра кўпроқ гидролизланган эритродекстринлар - қизил-бинафша ва ниҳоят акрродекстринлар ранг бермайди. Гидролиз натижасида малтоза ҳосил бўлади, у фермент малтазаси таъсирида охирги ажратиш маҳсулотига - а-глюкоза киради.

Углеводдорларнинг парчаланишига ўхшаш реакция билан, аммо бошқа бактериялар ёрдамида крахмалдан К <% спиртли ичимликлар аралашмаси олинади. тило-го 60% н-бутил ва 30% ацетон.

Лактоза, малт шакар, крахмалдан диастатик ферментлар таъсирида ҳосил бўлади. Арпа, малт ва одатда уларни фақат шу ферментлар кўп. крахмал парчаланишида ишлатилади, ҳосил бўлган қанд пр

Изомалтоза. Ушбу ном остида бир нечта моддалар тасвирланган, уларнинг баъзилари крахмални ажратиш маҳсулотлари, бошқалари О-

глюкоза таркибидаги хлорид кислотаси таъсирида олинади. Волфрам амилопектиндан тоза изомалтозани тайёрлади ва уни 6-а-0-глюкопираносил>-глюкоза, деб аниқлади.

Кўпинча, энгил тозалаш усулларидаан фойдаланган ҳолда, полисахаридларнинг оралиқ парчаланиш маҳсулотларини қўлга олиш мумкин, масалан, крахмал гидролизи пайтида малтоз дисакариди ажралиб чиққан, целлюлоза гидролизи пайтида селобиоз дисакариди, битта трисакарид ва битта тетрасакарид ажралиб чиққан. Бу полисахарид молекуласидаги узум шакарининг қолдиқлари қандай боғлиқлиги тўғрисида биринчи тасаввурга эга бўлишга имкон беради.

Полисахаридларнинг гидролизи учун катализаторлар водород ионлари. Гидроксил ионлари бу реакцияни тезлаштирмайди, бунинг натижасида полисахаридлар ишқорий муҳитда нисбатан барқарор ва кислотали муҳитда турғун эмас. Полисахаридларнинг гидролизи учун катализаторлар шунингдек, крахмал учун а-глюкосидаза ферменти ва целлюлоза учун п-глюкосидаза ферменти ҳисобланади. Глюкоза ишлаб чиқариш учун саноат усули сифатида крахмалнинг кислотали гидролизи қўлланилади. Ферментатив бўлиниш ва крахмалдан кейинги ферментация натижасида этанол олинади.

Гликоген крахмалнинг амилопектин фракциясига жуда ўхшаш, аммо унинг молекулалари амилопектин молекулаларига қараганда кўпроқ таралган, метил гликогеннинг гидролизида 12-18 глюкоза қолдиқлари учун битта сўнгги гуруҳ мавжудлиги аниқланди. Амилопектиндаги каби, гликоген таркибидаги глюкоза қолдиқлари 12 1 нисбатида 1 4 ва 1 6 занжирлари билан боғланади, ёпишганда изомалтоза (6-а-Д-глюкозид-глюкоза) маҳсулотлардан ажралиб чиқиши мумкин.

Турли хил ферментларнинг фаоллиги, шунингдек тўқималарда содир бўладиган биокимёвий жараёнларнинг ўзига хос хусусияти маълум бир тор рН оралиғи билан чамбарчас боғлиқдир. Масалан, меъда шираси пепсин рН = 1.5-2.0 да фаолдир, тупурик таркибидаги птялин крахмални такрорий

тўлдириш жараёнини тезлаштиради, $pH = 6.7$, яъни деярли нейтрал муҳитда фаолдир. Ферментлар муҳитнинг pH даражасига қараб бутунлай бошқача реакцияларни катализлаши мумкин. Шундай қилиб, нейтрал катализга эга бўлган оксил синтезига яқин муҳит реакциясида ва кислота реакциясида унинг ажралиши тўқима катетерияси. Агар pH қиймати энг мақбул қийматлардан четга чиқса, тажриба шуни кўрсатадики, ферментларнинг фаоллиги сезиларли даражада пасаяди ёки ҳатто бутунлай тўхтайтиди, натижада танани ўлимга олиб келади.

Целлобиоза, крахмални ферментатив ажратиш натижасида олинган дисахарид, икки моддани бирлаштириш натижасида ҳосил бўлади.

Малтоза тахминан 80% крахмалнинг ферментатив ажратилиши (амилаза ферменти таъсирида) натижасида олинади. Ушбу дисахарид, чунки кислота ёки малтаза ферменти (α -глюкозидаза) томонидан гидролизланганда фақат О-глюкоза ҳосил бўлади, бу глюкозил глюкоза. Малтоза қандни камайтиради ва шунинг учун битта потенциал алдегид гуруҳига эга. Метилация малтозанинг 4-О- (α -О-глюкопираносил) -О-глюкопиранозанинг тузилишига эга эканлигини исботлади.

Замонавий ферментатив ката назариясида. ва "иНН" режасида ферментнинг нуклеофил ва электрофил функционал гуруҳларининг субстрат молекуласига йўналтирилган конжугатли хужуми принципи ривожланган кўринади. Амилазаларда электрофилик (протон-донор) гуруҳнинг функцияси карбоксил томонидан имида-зол, нуклеофил томонидан бажарилади. Ушбу жуфтлик крахмалнинг α -1,4-глюкозид билан боғланишида иш олиб борганда, электронлар имидазол бириктириладиган нуктага тортилади, карбоксил ии ион бириктирма жойидан чиқиб кетади ва натижада алоқалар ажралади.

Тез қиздирилганда крахмал формуланинг декстринларига бўлинади (СбНй05) х, бу эрда х - декстриндаги глюкоза қолдиқлари миқдори крахмал формуласига қараганда анча кам. Кислоталарнинг қўшилиши билан жараён тезлашади. Худди шу таъсир крахмалларни сувли эритмаларда ферментатив ёки кислота билан парчалаш орқали олинади.

Крахмалнинг ферментатив бузилиши учун амилаolitik фаоллиги (АС) бўлган 3000 амилосубтилин ПО х ферменти қўлланилади. 1 г препаратда. У суюлтирилади

Целлюлозанинг ферментатив бўлиниши

Целлюлоза материалларининг амалда муҳим хусусиятлари комплексининг кескин пасайишига олиб келадиган ферментатив ажратиш жараёнлари (бу материалларнинг чириши ёки моғор пайдо бўлиши натижасида йўқ қилиниши) кимёвий нуктаи назардан деярли ўрганилмаган. Хусусан, турли микроорганизмлар ва ферментларнинг таъсири натижасида целлюлоза СП нинг ўзгариши табиати аниқланмаган, целлюлозани ферментатив йўқ қилиш жараёнининг интенсивлигига турли омиллар ва дастлабки шароитларнинг таъсири аниқланмаган.

Энзиматик парчаланиш жараёнида, целлюлозанинг эмирилишининг бошқа усуллари сингари, СП хужайралари камаяди

Полимер занжирларини синдириш ва ёғочдан олинган тоза лигниннинг ароматик қолдиқларини йўқ қилиш учун катта энергия сарф-харажатлари талаб қилинади, шунинг учун кўпгина қўзиқоринлар уни қўшимча углерод манбаи ва целлюлоза, гемицеллюлоза, шакарнинг энергияси ёки метаболизмасининг паст молекуляр оғирликлари маҳсулоти бўлган тақдирда парчалайди. Лигнин полисаккаридларни утилизация қилиш билан бир вақтда йўқ қилинади ва целлюлозанинг ферментатив парчаланишини инҳибе қилади.

Қишлоқ хўжалиги ва саноатнинг лигноцеллюлозик ва целлюлоза чиқиндиларини микробларга айлантриришга асосланган протеин, этанол, органик кислоталар, метан ва бошқа қимматбаҳо маҳсулотларни олиш муаммоси кўриб чиқилади. Целлюлоза ва бир қатор табиий лигноселлюлозик материаллар таркиби ва хоссалари, ушбу материалларни биоконверсиялаш самарадорлигини ошириш мақсадида уларни дастлабки ўзгартириш усуллари тўғрисида маълумотлар келтирилган. Целлюлоза ва унга алоқадор полисахаридларнинг энзиматик парчаланиш механизмлари, шунингдек

биосинтез ва целлюлолитик ферментларни қўллашнинг баъзи жиҳатлари кўриб чиқилган. Ишда фойдаланилган маълумотларни умумлаштириш ва таҳлил қилиш асосида биоконверсия жараёнларини амалий равишда амалга ошириш имконияти тўғрисида хулосалар чиқарилади.

Целлюлоза ўз ичига олган субстратлардан микробиал протеин ишлаб чиқаришнинг кўпчилик усуллари уларнинг кислотаси ёки гидроксида гидролизи ва оддий шакарнинг чиқарилишига асосланади. Гидролиз, айниқса кислотали, юқори кислота истеъмоли, кислотага чидамли ускуналарга эҳтиёж, кировчи гидролиз маҳсулотларини шакллантириш ва бошқалар билан боғлиқ қатор камчиликларга эга. Буларнинг барчаси микробиал маҳсулотлар ишлаб чиқариш таннархига ва уларнинг сифатига маълум салбий таъсир кўрсатмоқда. Шунинг учун кислота гидролизини ферментатив билан алмаштириш истиқболли кўринади. Целлюлозанинг биологик ишлатилиши унинг глюкозага ферментатив парчаланишига асосланади.

Родионова ва бошқалар (1985) целлюлоза учун қуйидаги ферментатив ажратиш схемасини таклиф қиладилар: фақат эндоглюканазлар ўзларининг аморф ҳудудларида табиий целлюлозани ажратиб, озроқ тартибли ҳаракат қиладилар ва целлюлозага гидролиз қиладилар.

Сўнги ўн йилликда целлюлозанинг ферментатив бўлиниш механизмини ўрганишда эришилган ютуқлар яққол кўриниб турибди. Целлюлоза комплексларини ташкил этадиган целлюлолитик ферментлар субстрат ўзига хослиги, маълум кинетик параметрлар, сувда эрийдиган целлюлоза ҳосилалари бўйича адсорбцион изотермлар, иссиқлик барқарорлиги, уларнинг фаоллиги ва адсорбция қобилияти фаол марказнинг ионоген гуруҳларининг рН қийматига боғлиқлиги аниқланди.

Баъзи ҳолларда ферментатив бўлинишларни кўпайтириш мумкин. Шундай қилиб, целлюлоза гидролизланганда, С-целлюлозалар ажралиб чиқади, целлюлоза микрофибриллаларининг парчаланишини ва унинг эрувчан ҳолатига ўтишини катализлайди, целлюлозани икки дан бешгача моносахарид қолдиқларини ўз ичига олган селодекстринлар аралашмасига

айлантирадиган Сд-целлюлазалар ва улар селобаза ф-глюкозидазалари). хужайра таркибидаги глюкозага ажралиши.

Целлюлозанинг энзиматик парчаланишини бир неча тизимли изланишлардан бири целлюлоза ферментининг целлюлозага таъсирини ўрганган Одербеск ва Вермер. Илгари целлюлоза целлюлоза макромолекуласидаги п-гликозид алоқаларни танлаб йўқ қилиши кўрсатилган. Ушбу ферментнинг целлюлоза ва унинг ҳосилаларига таъсири 35°C ва $\text{pH } 4,62-4,65$ даражасида ўрганилди.

Каткевич Ю. Ю., Цинит А. А., Перконг С. Я. Ёғоч қипиғи таркибидаги глюкуроноксиланнинг ферментатив ажратилиши // Гемичеселлюлозалар кимёси ва улардан фойдаланиш. хужжат ИИ Бутуниттифок. соф., Одесса. - Рига Зинатне, 1978. - С. 84-85.

Уларда хужайрадан ташқари целлюлаза ёки бирон бир целлюлоза ажратиш маҳсулотлари топилмади. Ушбу бактерияларнинг хужайралари целлюлоза толаларига яқин жойлашган бўлиб, толалар ўқиға параллел жойлашган. Кўринишидан, улар целлюлозани фақат толалар билан яқин алоқада гидролиз қиладилар ва гидролиз маҳсулотлари дарҳол сўрилади. Целлюлоза ағарида йторНага колониялари ҳеч қачон целлюлозанинг ферментатив деградацияси маҳсулотлари жойлашган шаффоф зонаға ўралмайди.

Бугунги кунға қадар олиб борилган тадқиқотлар натижасида шубҳали ҳақиқат аниқланди, аммо ҳали ҳам секинлашиши мумкинлиги тўғрисида қониқарли тушунтириш берилмаган ва баъзи ҳолларда кам аралашган целлюлоза ҳосилалари (целлюлоза эфирлари ва эстерлари) ва пайвандланган кополимерларнинг синтези деярли мумкин. целлюлоза материалларининг энзиматик парчаланишини бартараф этиш. Масалан, препаратлар таркибида 2-3% алкоксил гуруҳлари (метил, этил целлюлоза) мавжуд бўлганда, целлюлозани йўқ қиладиган бактерияларнинг кўпайиши энди юз бермайди Сўнгги йилларда ушбу материалларнинг барқарорлигини ошириш учун қисман эстерлаш ёки 0-алкиляциялаш усули қўлланилмоқда.

микроорганизмларнинг таъсирига ва чириши (қисман асетилизация, сиянетилизация, этиласён ва бошқалар).

Целлюлоза 10-16% NaOH эритмаси билан ишлов берилгандан сўнг, ферментнинг толага тарқалиш эҳтимоли ва ферментатив ажратиш даражаси сезиларли даражада ошади, бунда 1-6% NaOH эритмаси билан олдиндан ишлов берилади, бунда целлюлоза макромолекулалари орасидаги водород алоқалари бузилмайди.

Целлюлозанинг энзиматик деградацияси муаммоси ҳозирги кунда дунёдаги кўплаб илмий-тадқиқот лабораторияларида мавжуд. Ушбу муаммонинг эчими микроорганизмлар ёрдамида оксил ва бошқа биологик фаол моддаларни олиш учун чексиз имкониятларни очиши мумкин.

Спитчен этил асетат - сирка кислотаси - пиридин - сув (7 1 5 3) тизимидаги целлюлоза билан пластинкаларга малтодекстринларни (5 даражагача) муваффақиятли равишда ажратди. Пектик кислотанинг энзиматик гидролизи натижасида олинган олигогалактурон кислоталарини ажратиш учун тижорат целлюлоза ва этил асетат - сирка кислотаси - сув хроматографик тизимидан фойдаланган ҳолда (4 2 3, ҳар бири 150 минутдан иборат иккита). А, Б ва С хондроитин сульфатларининг ферментатив ажратилиши натижасида олинган дисахаридлар ТЛС плиталарида бутанол-1 - сирка тизимида целлюлоза билан ажралиб чиқди.

Целлюлозанинг термал, кимёвий ва ферментатив деградацияси, шунингдек, унинг гидролизи ва кўп миқдордаги реактив зарраларнинг шаклланишига асосланади. 3- томонидан целлюлоза гидролизи. Целлюлоза гидролизи босқичидан оқиб ўтадиган кўп нарса охир-оқибат глюкоза ҳосил бўлишига олиб келади. Оксидланиш шунингдек ҳалокатли ёқимтой ҳисобланади ва оксидловчи таъсирига қараб танлаб олинадиган хусусиятга эга бўлиши мумкин. Қисман оксидланиш маҳсулоти гидрокси целлюлозадир. Бир нечта реактив гуруҳларнинг мавжудлиги нисбатан юмшоқ шароитларда оксидланишига имкон беради. Уни иситиш ва pH кучининг ўзгариши билан кучайтирилади.

Шахсий занжирлар тўпламлар шаклида жойлашиб, целлюлозанинг фазовий тузилишини яратади, улар водород алоқалари билан барқарорлашади. Кислотали ёки энзиматик гидролизда целлюлоза парчаланади) -глюкоза. Реаксия шартлари шундай ўзгариши мумкинки, олигосахаридлар, масалан, селобиоз, селотриоз, целлотроз ва бошқалар олинади. Сил-слик-гликозид бирикмаларининг ажралишига олиб келадиган амилаза ферменти таъсирида целлюлоза парчаланмайди. Одамнинг ташқи тикланишида п-гликозидик бирикмаларнинг ажралишига олиб келадиган ферментлар мавжуд эмас. Шунинг учун одам ҳайвонлардан фарқли ўлароқ целлюлозани ҳазм қила олмайди, аммо бу баласт моддасининг нормал овқатланиши учун зарурдир.

XX БОБ. ОРГАНИК ЧИҚИНДИЛАР БИОКОНВЕРСИЯСИ

Биоконверсия (лот. *conversio*) - бу тирик организмларда ферментлар иштирокида бирикмаларнинг бир гуруҳини бошқасига ўтказиш жараёни.

Биоконверсия (биотрансформация) - биотехнологиянинг бўлими, биологик хом ашёнинг баъзи органик бирикмаларининг ўсимлик, микроб ва ҳайвонот манбаларидан фермент тизимлари таъсири остида бошқаларга айланишини ўрганадиган фан.

Озиқ-овқат саноатида юқори сифатли ва рақобатбардош маҳсулотлар олиш ҳамда ташкил етиш мақсадида ўсимлик хом ашёсининг биоконверсион технологиялари асосида кам чиқиндили маҳсулотларни ишлаб чиқариш кенг қўлланилади.

Масалан, бундай озиқ-овқат чиқиндилари олма пўстлоғи, кунгабоқар саватчалари, цитрус пўстлоғи каби ишлаб чиқаришлардан селлйлазалар, гемицеллулазалар ва пектолитик ферментлар ёрдамида ферментатив гидролиз ёрдамида пектин олиш учун хом ашё сифатида фойдаланилади. Далачой ўсимлиги пояси, барглари, улардан эфир мойи ажратиб олингандан кейин қолган чиқиндиси бўёқлар олиш учун ишлатилади ёнғоқнинг қобиғи хом ашё сифатида қора бўёқ олиш учун ишлатилади.

Крахмал ўсимлик биополимерларидан биотехнологик нуқтаи назардан фарқ қилади: биринчидан, у фақат α -гликозид боғланиш билан бир-бирига боғланган глюкоза қолдиқларидан иборат; иккинчидан, бу алоқалар ферментатив ва кислотали таъсирида осонликча парчаланади

ферментланадиган моносахаридлар аралашмаси ҳосил бўлиши билан гидролиз -глюкоза ва оз миқдордаги (1-2%) дисахаридлар ҳосил бўлади. Улар орасида

Полимер миқдори юқори бўлган крахмалли ўсимликларга бир йиллик ўсимликлар таркибига киради: ҳар хил турдаги дон, картошка, жўхори,

ширин картошка ва касава. Айнан шу тоифадаги субстратларда амилазалар билан крахмални олдиндан ферментатив гидролиз қилиш йўли билан кейинги ферментация натижасида бундай миллий ичимликлар ишлаб чиқарилади,

Ўсимликлардаги бўёқлар флавоноидлар, каротеноидлар, хлорофиллар ва бошқалар Флавоноидлар, молекуладаги бириктирувчи учта углерод бўлаги тузилиши ва оксидланиш даражасига боғлиқ.

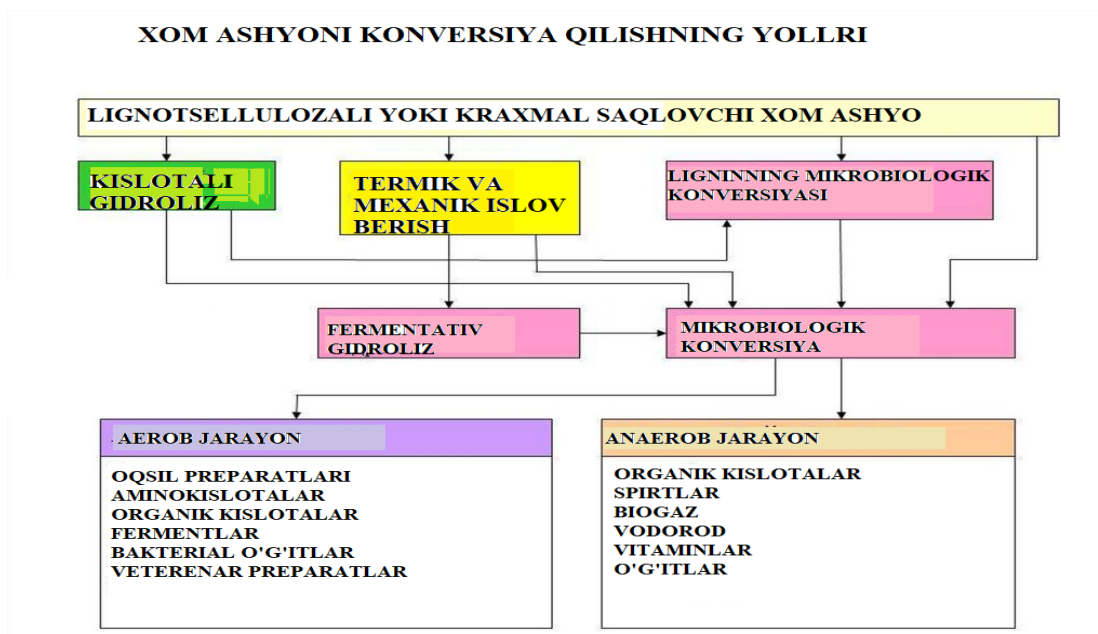
катехинлар, лейкоантоцианидлар, флаванонлар, флаваноллар, антосиянидинлар, флавонлар, флавоноллар ва бошқалар камайтирилган бирикмалар - катехинлар, энг оксидланган - флавоноллар.

Катехинлар осонгина оксидланадиган рангсиз бирикмалар бўлиб, улар давомида турли хил рангларга ега бўлади. Масалан; мисол учун, чойнинг турли хил ранглари (қора, қизил, сариқ), чой барги таркибидаги катехинларнинг оксидланиш даражага боғлиқ. Катехинларнинг бир нечта шакллари мавжуд: энг оддий катехин ва мураккаброқ галлокатечин, галлокатечин галлат ва бошқалар.

Микроорганизмлар томонидан целлюлозанинг парчаланиши микробиал ҳужайрадан ташқаридаги целлюлолитик ферментлар мажмуаси таъсирида содир бўлади. Бу мураккаб ва секин кечадиган жараён бўлиб, унга кўплаб омиллар масалан, лигнин ва унинг қисман гидролиз маҳсулотларининг реакция муҳитида мавжудлиги халақит беради,

Биоконверсия нафақат баъзи табиий моддаларнинг бошқаларга айланишини, балки озиқ-овқат хом ашёсини қайта ишлаш ва озуқа ва овқатга айлантириш, озиқ-овқат ва озуқани зарарсизлантириш, чиқинди сув ва табиий объектларни (тупроқлар, сув ҳавзаларини) биологик тозалаш каби мураккаб жараёнларни ўрганади).

Биоконверсия учун энг муҳим соҳа озиқ-овқат саноатидир. Озиқ-овқат биотехнологиясида биоконверсия жараёнлари озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқаришнинг барча босқичларида қўлланилади.



Биосонверсиянинг назарий асослари. Биосинтез маҳсулотларининг замонавий саноат ишлаб чиқариши - бу кетма-кет босқичлар ва операциялардан иборат бўлган, уларнинг сони ва хусусиятлари ишлаб чиқарилган маҳсулот турига ва унинг сотиладиган шаклига боғлиқ бўлган ягона биотехнологик тизимдир. Биотехнологиянинг тузилиши ва хусусиятлари индивидуал операцияларни ёки бутун жараёни қамраб олиши мумкин. Биотехнологик жараёни такомиллаштириш янги таркибий бўлинмалар яратилишига ва ескирганларини йўқ қилишга олиб келиши мумкин. Бу ҳолда белгиладиган омиллар қуйидагилардир: - ишлатилган биологик агент (объект); - субстрат ва унинг биокимёвий ва биофизик хусусиятлари; - кузатув ва бошқариш тизимларини ўз ичига олган аппарат дизайни; - технологик режим ёки амалга ошириш усули; - технологик жараёнлар, жиҳозлар, бинолар, маҳсулот сифати ва уни қадоқлаш стандартлари талабларига мувофиқлиги. Биотехнологик тизимнинг биологик агенти (объекти) ҳужайра (прокариот, эукариот) ёки вирусли заррача бўлиши мумкин. Субстрат ҳужайраларни етиштириш учун озуқа воситаси бўлиб, маҳсулот ҳужайралар, вируслар ёки ҳужайралар томонидан синтез қилинган биомассадир, бу тегишли ишлов бериш билан сотиладиган кўриниш беради. Биотехнологик жараён аппаратининг асосий элементларидан бири бу

биореактор (култиватор, ферментатор). Муайян параметрлар ва режимлар билан биореакторларда етиштириш, сиз деярли ҳар қандай ҳужайраларни ўстиришингиз мумкин.

Сўнгги ўн ярим йил ичида қишлоқ хўжалиги чиқиндиларида қўзиқорин етиштириш бўйича юзлаб тадқиқотлар олиб борилди, аммо уларни тизимлаштириш ва таҳлил қилиш деярли амалга оширилмади.

Ўсимлик хом ашёси бу одамлар томонидан ҳар хил саноат тармоқларида ишлатиладиган ўсимлик организмлари (яхлит ўсимликлар ёки уларнинг қисмлари)

.Фойдаланиш мақсадига қараб озиқ-овқат, озуқа, доривор ва техник хом ашё ажратилади.

Озиқ-овқат ўсимлик материаллари етиштириладиган турларга бўлинади табиий ва ва ёввойи.

Етиштириладиган хом ашёга мева ва сабзавотлар анъанавий ва генетик жиҳатдан ўзгартирилган мева ва сабзавот, дон ва уни қайта ишлаш маҳсулотлари ўтчил (анъанавий ва генетик жиҳатдан ўзгартирилган), табиий - анъанавий ва доривор ўсимликлар, мева ва сабзавотлар киради.

Pleurotus spp етиштириш учун 26 та субстрат ишлатилиши хабар берилган шарҳни[76] еслатиб ўтишимиз мумкин. 8 та субстрат ва ушбу субстратларнинг 44 та комбинацияси, *Pleurotus sajor-caju* етиштириш учун 3 та қўшимчалар. *Pleurotus spp* етиштириш учун ишлатилиши мумкин бўлган асосий субстратлар қайд этилган. булар: тахта қириндиси, буғдой, гуруч ва бошқа турдаги сомон турлари, гуруч пўстлоғи, мангонинг чиқиндилари, жекфрут, кокос ёнғоғи, қоғоз, маккажўхори сўтаси, пахта чиқиндилари, банан барглари ва поялари, сув гацинти ва бошқалар. Шунингдек, қўзиқоринларни етиштиришга асосланган микроремедиация технологиясининг ютуқлари ва ҳозирги ҳолатига бағишланган адабиётларда *Lentinus connatus*, *L. edodes*, *L. tigrinus*, *P. eous*, *P. ostreatus*, *P. tuber-regium*, *Volvariella volvacea*) чиқиндиларни қайта тиклаш учун кўплаб ўсимлик чиқиндиларидан фойдаланиш мумкинлиги айд этилган.

Аввало, агар биз чиқиндиларни йўқотишнинг мураккаб муаммосини ҳал қилиш ва дунё аҳолисини озиқ-овқат билан таъминлаш ҳақида гапирадиган бўлсак, етиштириш бўлган қўзқоринларнинг чиқиндиларни биоконверсия қилиш ва шу билан бирга максимал миқдордаги маҳсулотни ишлаб чиқариш қобилиятини таҳлил қилиш керак. жуда кўп миқдордаги биологик фаол моддаларни (БФМ) ўз ичига олган мева таналар ёки мицелий. Шунингдек, қуйидагиларни аниқлаш муҳим: маҳсулот (РР), биологик самарадорлик (БС), маҳсулотларнинг морфологик параметрлари, биологик фаол моддаларнинг миқдорий ва сифат таркиби, субстратларнинг кимёвий таркиби. Дунёда ишлаб чиқарилиши етакчи ўринга эга бўлган қўзқоринлар энг катта қизиқиш уйғотмоқда. *Agaricales* оиласи вакиллари, шу жумладан *Agaricus bisporus*, турли хил чиқиндиларни биоконверсия қилиш қобилиятини намоёиш этади (-жадвал). Шунини таъкидлаш керакки, баъзи тадқиқотларда чиқиндилар ва агросаноат чиқиндилари бўлмаган субстрат компоненти ёки назорат вазифасини бажарадиган бўлса, жадвалда агросаноат чиқиндилари номлари келтирилган.

Жадвал

Замбуруғ тури	Чиқинди тури	Максимал самага	Ҳавола
Agaricus bisporus (J.E. Lange) Imbach	Мош сомони; дуккакли ем ҳашак экинлари, ловия сомони ловия жоми гуруч сомони; гуруч кепаги; товук гўнги	Сомон (УР = 2,56 кг/10 кг), мош сомони + дуккакли ем ҳашак экинлари = 3:1 (УР = 2,51 кг/10 кг) *	Поспелов, 2015

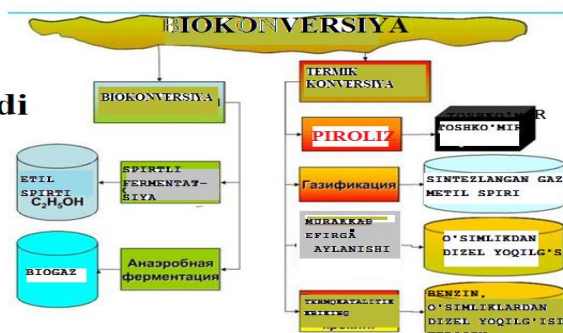
	КОКОС ТОЛАСИ; гўнг; тахта қириндиси вермикомпост; қум	КОКОС ТОЛАСИ + вермикомпост + гўнг тахта қириндиси + қум (1:1:1:1:1)	
Agaricus bitorquis (Quel.) Sacc.	Шоли пояси; шоли кепаги; товуқ гўнги		Peng J.T., 2010
Agaricus flocculosipes R.L. Zhao, Desjardin, J. Guinbertau & K.D. Hyde пшеничная	Сомон пояси От гўнги	УР = 1,04 г/кг	

Демак, хулоса қилиб айтадиган бўлсак, биоконверсининг афзалликларни қуйидаги чизма кўринишида ифода этиш мумкин.

Biokonversiyaning afzallikari ("kimyoviy" ga nisbatan)

1) Katalizatorlar mikroorganizmlar tomonidan bir boqichda sintezlanadi

2) Biokonversiya kimyoviyga nisbatan samarador va tejamlidir



5

Адабиётлар

1. Поспелов С.В., Самородов В.Н. Итоги изучения представителей рода эхинацея (*Echinacea* Moench.) в Полтавской государственной аграрной академии // Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали четвертої Міжнародної науково-практичної конференції. – Полтава, 14–15 травня 2015 р. – Полтава, 2015. – С. 63–79.
2. Peng J.T. Agro-waste for cultivation of edible mushrooms in Taiwan. Food and Fertilizer Technology Center Publication Database. – 2010. – URL: http://www.agnet.org/library.php?func=view&id=20110725155730&type_id=4 (Дата обращения: 01.01.16).
3. «Биоконверсия отходов агропромышленного комплекса»: монография; [под ред. В.Ю. Барштейна]. Новосибирск: Изд. АНС «СибАК», 2016. — 88 с.
4. Макарова Екатерина Ивановна. Биоконверсия непищевого целлюлозосодержащего сырья: энергетических растений и отходов АПК: диссертация ... кандидата технических наук: 03.01.06 / Макарова Екатерина Ивановна; [Место защиты: Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности], 2015.- 161 с.
5. Сушкова В.И., Воробьева Г.И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества. Издательство: ДеЛи принт., 2008 — 216 с.
6. Использование ферментных систем препарата целлюлазы для биоконверсии растительного сырья / В.К. Мамыкин, Н.С. Мазур, Т.М. Бершова и др. // Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья, 1998. № 5. С. 46.
7. Селиванов А.С. Малоотходная технология биоконверсии растительного сырья: Автореф. дис. ... канд. техн. наук. М., 1992. 27 с.
8. Селиванов А.С. Комплексная переработка целлюлозосодержащих отходов лесоперерабатывающих и сельскохозяйственных предприятий на основе биоконверсии // Биотехнология на рубеже веков: проблемы и перспективы. Киров, 2001. С. 89-91.

XXI-БОБ. АГРАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШДА БИОТЕХНОЛОГИЯ ВА БИОМУҲАНДИСЛИК ЮТУҚЛАРИДАН ФОЙДАЛАНИШ

Умумий қоидалар:

Биотехнологик ва биомуҳандислик усуллари фан ва ишлаб чиқаришнинг жуда кўплаб тармоқларида қўлланилмоқда. Айниқса, ген муҳандислигида улардан фойдаланиш, мамлакат агросаноат комплекси тараққиётига сезиларли таъсир кўрсатиши мумкин. Дунёнинг етакчи биотехнолог ва иқтисодчи олимлари ҳисоб китобларига кўра, юқорида номлари келтирилган фан йўналишлари ва ҳозирги кунга қадар эришилган ютуқлари асосида дунё бозоридаги умумий товар айланмасининг 20-25% ини биотехнологик маҳсулотлар ҳисобига ортиши тахмин қилинмоқда.

Селекция ва ўсимликшунослик

Биотехнология ва биомуҳандисликда ўсимликлар селекцияси муҳим ўрин тутди. Ҳозирги вақтда дунё биотехнологларининг асосий эътибори янги генотипга эга белгилари бирмунча яхшиланган қишлоқ хўжалик экинларининг алоҳида, бир гуруҳ ёки комплекс равишда ташқи муҳитнинг биотик ва абиотик стресс омилларига чидамли ва шу билан бир вақтда ҳосилдорлик ва сифатини ўзида сақлаб қолган янги навларини яратишга қаратилган. Кейинги вақтларда ҳосилнинг қарийб 30% (баъзан ундан ҳам ортиғини) нобуд бўлишига сабаб бўладиган, қишлоқ хўжалик экинларининг кенг тарқалган ҳавфли замбуруғли, вирусли ва бактериал касалликларининг эпифитотик характерда бўлиши, дунёнинг кўплаб мамлакатларида анъанавий селекция ва биотехнологиянинг янги усуллари билан уйғунликда қишлоқ хўжалик экинлари заҳираларини янгилашга эҳтиёж сезилмоқда.

Дунё мамлакатларининг қишлоқ хўжалик экинлари экиладиган ката майдонларида буғдой, арпа ва бошқа донли экинлар комплекс касалликлар - илдиз чириши, занг, септориоз, гельминтоспориоз, ун шудринг ва бошқалар билан зарарланиши жуда кўп кузатилмоқда. Кузги буғдойнинг бошоқ фузариози (*Fusarium nivale*) билан касалланиши буғдой донида инсон ва

хайвон организми учун ҳавф туғдирувчи микотоксинлар тўпланишига сабаб бўлади. Бу касаллик билан баъзи намлик юқори бўлган йилларда йиғиштириб олинган ҳосилнинг ярми ҳам зарарланиши мумкин. ҳарорат паст ва намлик юқори бўлган йиллари кунгабоқарнинг склеротиния ва фомопсис билан касалланиш эҳтимоли 50% ва ундан юқори даражага ошади. Картошка ва помидор ўсимликлари фитофтороз билан касалланиши оқибатида бу қимматли озиқа экинларининг ҳосилдорлиги пасаяди ва уларни сақлаш даврида анча йўқотишларга сабаб бўлади. Переноспороз эса деярли ҳар йили катта майдонлардаги бодринг ва пиёз экинларини нобуд бўлишига олиб келади.

Узоқ давом этадиган сув танқислиги юқори бўлган қурғоқчилик йиллари ғалла ва бошқа экинларнинг зарарланиши, нобуд бўлиши, қишлоқ хўжалик экинларидан олинадиган ялпи ҳосилнинг кескин пасайишига сабаб бўлади. Саноат корхоналари томонидан заҳарли бирикмаларни атмосферага чиқарилиши, ҳаво, сув ва тупроқнинг оғир металл тузлари ва бошқа хилдаги техноген табиатга эга маҳсулотлар билан заҳарланиши экин майдонларининг зарар кўришига, уларда одамлар учун ҳавфли бирикмаларнинг тўпланишига олиб келади.

Селекционер мутахассисларнинг қишлоқ хўжалик экинларини комплекс хусусиятга эга нав ва гибридларни яратишдаги фақат анъанавий селекцион усулларга асосланган барча уринишлари ҳам кутилган натижаларни бермади. Узоқ турларни гибридизациясига асосланган трансгрессив селекциядан фойдаланиш ташқи муҳитнинг стресс омилларига чидамли маданий ўсимликлар олишдаги айрим муаммоларни ҳал этиш имконини берди. Бироқ бу муаммо ҳанузгача долзарблигича қолмоқда. Келажакда иқлимнинг кескин ўзгаришлари тахмин қилинаётган бир даврда у янада жиддий тус олиши мумкин.

Мазкур йўналишда биотехнологлар – хужайра ген муҳандислари амалда қандай ишларни олиб боришмоқда ва нималарга қодир?

Улар янги ва энг янги биотехнологик усулларида фойдаланиб, яхшиланган ёки таъмига янги сифатларга эга ташқи муҳитнинг биотик ва абиотик омилларига чидамли яққа, бир гуруҳ, камдан кам ҳолларда комплекс белгиларга эга қатор ўсимлик генотипларни ишлаб чиқишди.

Бу муаммонинг ечимини топишда генетик, биотехнолог ва селекционер олимларнинг ҳатти ҳаракатлари ташқи муҳитнинг биотик ва абиотик стресс омилларга чидамлилиқни белгиловчи асосий белгиларни детерминацияловчи самарали генларни аниқлашга қаратилган. Мазкур мураккаб вазифани дунёнинг кўплаб генетик тадқиқотлар олиб бориладиган марказлари ва лабораториялари мутахассислари, жумладан ЎзРФА Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси («Биолог» илмий-ишлаб чиқариш маркази), Ўзбекистон Пахтачилик илмий-тадқиқот институти («Пахта» илмий-ишлаб чиқариш маркази), Ўзбекистон ғўза селекцияси ва уруғчилиги илмий-тадқиқот институти, Ўзбекистон шолчилик илмий-тадқиқот институти, Ўзбекистон сабзаёт-полиз ва картошқачилик илмий-тадқиқот институти, Шредер номидаги Ўзбекистон мевачилик, узумчилиқ илмий-тадқиқот институти, Ботаника ИЧБ, Тошкент Давлат аграр университети, Самарқанд қишлоқ хўжалиқ институти олимлари ўсимлик ресурсларини тўплаб, уларни ўрганиш ва улардан фойдаланиш асосида бажариб келмоқдалар. Бунинг учун биринчи навбатда ўсимликларнинг чидамлилиқ белгилари аниқланган ва ўрганилган манбалар ва селекция марказларида аниқланган ва яратилган донорларидан фойдаланилади.

Ўзбекистонда биотехнология ўсимликлар селекциясининг асосий усуллари билан бирга замонавий усуллар, ген муҳандислиги, молекуляр хариталаш, хўжалиқ аҳамияти қимматли генларни ажратиб олиш, ҳужайра ва тўқималар култураси каби соҳалар асосида ривож топмоқда.

Ўзбекистонда олиб борилаётган биотехнологияга оид тадқиқотларда ғўза ўсимлиги асосий ўринни эгаллайди. Бу борада мазкур ўсимликнинг уруғмуртак ва ҳужайралар културасидан фойдаланиб, *in vitro* шароитида янги самарадор навларини олишда фундаментал, амалий тадқиқотлар амалга

оширилмоқда. Ғўза ўсимлигига хўжалик аҳамиятига молик қимматли белгиларни киритиш орқали қуйидаги вазифаларни ечиш масаласи қўйилган:

1. Ғўзанинг алоҳида хужайралари ва каллус тўқималарини олиш учун ген муҳандислиги реципиент тизимларини яратиш.

2. Регулятор элементларни аниқлаш.

3. Қимматли хўжалик аҳамиятига молик белгиларини кодирлайдиган нишон белгиларини молекуляр клонлаш.

4. Ғўза ўсимлигига трансформация қилиш учун бир қатор вектор молекулалари конструкцияси тузиш.

Бу борада қатор изланишлар олиб борилиб, сезиларли натижаларга эришилди.

Жумладан, регулятор элементларни аниқлаш учун ғўза геномининг молекуляр тизимини тадқиқ этиш борасида бир қатор мувффақиятларга эришилди. Бу мақсадда ғўзанинг бир неча минг алоҳида генлар банки олинган. Ғўза геномининг клонларидан иборат муайян ДНК бўлақларининг нуклеин кислоталари кетма-кетлиги аниқланди.

Қимматли хўжалик аҳамиятига молик белгиларини кодирлайдиган нишон белгиларини молекуляр клонлаш борасида ҳам бир қанча ютуқларига эришилди.

Ғўза ўсимлигига трансформация қилиш учун бир қатор вектор молекулалари конструкцияси тузилган ва сезиларли натижаларга эришилмоқда. *Tn5* –бактерия транспозонини клонлаш амалга оширилди. У ўсимликлар трансформациясида нишон (маркер) сифатида фойдаланилди, шунингдек, баъзи генларнинг терминатор ва промотор қисмлари учун ҳам маркер бўлиб хизмат қилади.

Шунингдек, ғўза ўсимлигига *Agrobacterium tumefaciens* нинг канамицинга чидамлилиқ генини сақловчи *Ti*-плазмидаси асосидаги вектори трансформация қилинган.

Ўсимликларга генларнинг трансформацияси бўйича илмий тадқиқотлар борасида профессор Т.Ю.Юсуповнинг ишларини алоҳида таъкидлаш лозим.

У ғўза ўсимлигидан плазмидасимон тузилмаларни ажратиб олишга муваффақ бўлган. Шунингдек, у шогирдлари билан бирга *pCaVItoxneo* плазмидасини ғўза ўсимлиги чангчисига, мош ўсимлиги тугунак бактерияларига киритиб, заракунанда хашаротларга чидамли трансген ўсимликлар олиш мумкинлигининг назарий асосини ишлаб чиққан.

Трансформация қилинган каллус тўқимасини ва хужайра суспензиясини селектив шароитларда ўстириш борасида тадқиқотлар олиб борилмоқда.

Ўсимликлар генетикаси ва экспериментал биологияси институтида ғўзанинг турли навлари геноми фрагментларига тегишли ДНК бўлаklarини киритиш мақсадида рекомбинант молекулаларнинг бир қанча вариантлари конструкцияси тузилмоқда. Шунингдек, бир неча йиллардан бери ғўзанинг трансформант хужайраларини етук даврига қадар ўстириш борасида изланишлар олиб борилмоқда.

Ќўза ўсимлиги геномидан микросателлитларни ажратиб олиш, уларнинг тузилишини ўрганиш ва клонлаш борасида ҳам замонавий селекцияга асосланган илмий – тадқиқот ишлари олиб борилмоқда. Шунинг учун кейинги ўн йиллар давомида ғўзанинг ассоциатив селекцияси учун маркер сифатида микросателлитларнинг янги коллекциясини яратиш устида изланилмоқда.

Бу борада ғўзанинг *G.hirsutum* L. геномидан ажратиб олинган янги микросателлитлар, уларнинг нуклеотид кетма-кетликлари аниқланган, уларни молекуляр клонлаш ишлари амалга оширилган.

Ќўзанинг янги микросателлитларининг нуклеотид кетма-кетликлари модел ўсимлик *Arahidopsis thaline* нинг илгари тўлиқ ўрганилган геноми билан таққослаш ишлари олиб борилмоқда. Ќўза геномини таҳлил қилиш учун ҳар бир микросателлит учун ПЗР (Полимераза занжир реакцияси) специфик жуфт праймераларини тузиш борасида ҳам бир қатор изаланишлар олиб борилмоқда. Энг йирик ютуқлар сифатида ғўза геномидан 10 мингдан

ортиқ фрагментларни ажратиб олинганлигини кўрсатиш мумкин. Уларнинг баъзиларини махсус векторларга клонланганлигини кўрсатиш мумкин.

Шунингдек, биотехнологияда бир қатор қишлоқ хўжалик экинлари: бўғдой помидор, шоли, помидор, сабзи, сабзавот-полиэ экинларининг янги навларини яратиш борасида тадқиқотлар олиб борилмоқда. Ўзбекистон биотехнологиясининг олдида турган истиқболли муаммоларнинг асосийлари қишлоқ хўжалик экинларинининг генофондини тузиш, уларни сақлаш усуллари ишлаб чиқиш, шунингдек турли хил касаллик ва зараркунанда ҳашаротларга чидамлилик, ташқи муҳитнинг турли хил стресс омиллари: қурғоқчилик, шўрланиш, юқори ва паст ҳароратга бардошлилик каби комплекс белгиларга эга трансген навларни яратишдан иборат.

Дунёнинг кўплаб мамлакатлари, жумладан, Ўзбекистонда ҳам самарали генларнинг замонавий банкини яратиш устида ҳам тадқиқотлар олиб борилмоқда.

Ўсимликлар генетик трансформациядаги ишларнинг муҳим босқичларидан бири генларни ажратиб олиш ва уларни клонлаш, улар асосида донор хужайрадан реципиент – хужайраларга бегона генларни кўчириб ўтказиш учун векторлар яратишдир. Плазмида, транспозон, вирус, пневмобаллистик ва бошқа хилдаги вектор тизимларидан фойдаланиш мутахассисларга ўсимлик генотиплари трансформациясини амалга ошириш ва қўшимча ёки ўзининг белгисига ўхшаш ҳамда сифат белгиларига эса трансген (модификация) қилинган ўсимликлар олиш имконини беради.

Ген муҳандислиги технологияларига асосланган дунёнинг етакчи марказ ва лабораториялари, асосан АҚШ, Аргентина, Канада, Хитой, Япония, Германия, Голландия, Франция, Ҳиндистонда гербицид ва зараркунанда ҳашаротларга чидамли: соя, маккажўхори, ғўза, қанд лавлаги, рапс, картошка, помидор ва бошқа ўсимликларнинг, шолининг – перекуляриоз; картошканинг колорадо қўнғизи ва фитофторага; бўғдойнинг – шўрланиш, занг ва бошоқ фузариози, септориоз, қанд лавлагининг – циркоспороз, ризомания, рапснинг – ҳашаротлар ва замбуруғ

касалликларига бардошли шакллари олинган. Ҳозирги вақтда ўсимликларнинг трансген нав ва гибридлари экиладиган экин майдонлари дунё бўйича 50 млн га майдонни эгаллаган ва йилдан йилга ортиб бормоқда. Ген муҳандислиги усуллари асосида олинган трансген ўсимликлар ва организмларни амалиётга жорий этишдаги қатъий тақиқлашлар уларнинг ҳавфсизлиги ва ишончлилигини юқори даражада назорат қилувчи давлат назорати сақланиб қолган ҳолда секин-аста кучсизланмоқда. Дунёнинг кўплаб мамлакатлари органлари, раҳбариятининг қўллаб қувватлаши натижасида кейинги йилларда ген муҳандислиги борасидаги тадқиқотларнинг ўсиш суръати илгарилаб, трансген экинлар экиладиган майдонларининг кенгайтирилишига олиб келди.

Трансген экинлар экиладиган асосий майдонлар тўртта мамлакат – АҚШ, Аргентина, Канада ва Хитойда тўпланган. Барча экиладиган трансген экинларининг қарийб 80% и соя ва маккажўхори ўсимликларига тўғри келади. Трансген экинлар экиладиган майдонларнинг деярли барчасини гербицидларга чидамли (71%) ва зараркунанда ҳашаротларга чидамли гибрид ва навлар эгаллаган. 1997 йилда трансген экинлар экиладиган майдонларнинг ҳажми ер юзида 4 марта, 1998 йилда 2 марта, 1999 йилда 1,5 марта ошганлиги қайд қилинган.

Чорвачилик

Чорвачилик соҳасида анча олға силжиган ишлар қаторига уруғланган тухум ҳужайралар ва эмбрионлар трансплантациясини киритиш мумкин. Бундан мақсад, юқори маҳсулдор, қимматли генотипларга эга (она линияси бўйича) ҳайвонларни етиштиришдир. Мазкур усул бугунги кунда йирик шохли қорамоллар қўй, чўчқа ва паррандаларнинг юқори маҳсулдор зотларини етиштиришда қўлланилади. Ҳозирги вақтда овуляция жараёнларини стимуллаш технологиялари, зиготаларни шакллантириш ва ажратиб олиш, уларни *in vitro* уруғлантириш, уруғланган тухум ҳужайралар ва эмбрионларни реципиент ҳайвонлар жинсий аъзоларига кўчириб ўтказиш, бир тухумли эгизакларни олиш учун гаструлани бўлиш технологиялари

пuxта ишлаб чиқилган ва амалиётда фойдаланилмоқда. АҚШ, Англия, Германия, Франция, Австралия ва бошқа кўплаб дунёнинг ривожланган мамлакатларининг кўплаб фирма ва илмий ташкилотлари бундай тадқиқотларни нафақат ўз мамлакатларида, балки чорвачиликни ривожлантириш борасидаги илмий лойиҳа ва буюртмаларни бажаришда шартномалар ва битимлар тузиш орқали ривожланиб келаётган мамлакатларда чорвачилик тараққиётига ҳисса қўшмоқдалар.

Ўзбекистонда ҳайвонлар трансплантациясини амалга ошириш билан боғлиқ усуллар Чорвачилик институти ва наслчилиқ станцияларида амалга оширилади ва жорий қилинмоқда. Юқори маҳсулдор чорва ҳайвонлари эмбрионлари трансплантацияси борасида амалга оширилаётган ишлар дунёнинг етакчи мамлакатларидаги тадқиқотларига нисбатан анча орқада қолган. Бунинг асосий сабаби сифатида чорвачиликни ривожлантириш борасида олиб борилаётган ишларнинг қониқарли даражада эмаслиги, барча турдаги чорва ҳайвонлари бош сонининг бир неча ҳисса камайиши, чорва ҳайвонларида нобуд бўлиш кетиш сони ортиши, озиқа ишлаб чиқаришнинг камайиши ва сифатининг пасайиши, наслдор зотларни яратиш борасида олиб борилаётган ишларнинг сустлиги, умуман, чорвачилик соҳасидаги деградациянинг тезлашуви деб кўрсатиш мумкин.

Бундай шароитларда қишлоқ хўжалигининг чорвачиликка ихтисослашган якка тартибдаги, хусусий юридик мақомдаги хўжаликларида илмий фаолиятни иқтисодий фаолият билан уйғунликда олиб боришга тўғри келади.

Келажакда чорвачиликда истиқболли, ундаги муаммоларнинг ечимини топишда биотехнолог олимларнинг селекционерлар, ветеринарлар ва бошқа мутахассислар билан ҳамкорликда фаолият юритишлари зарур бўлади. Бундай муаммоларнинг энг асосийлари йирик шохли қорамоллар, қўй, чўчқа, қуён ва паррандаларнинг ҳавfli вируслар ва бошқа инфекцияларга чидамлилиги билан ажралиб турадиган трансген зотларини олишдир.

Кейинги муаммолар ечими эса лейкоз, ўпка сили, бруцеллез ва бошқа касалликларга чидамли трансген ҳайвонлар олишга қаратилиши зарур.

Чорвачиликда мутлақо янги йўналиш инсон организмидаги баъзи касалликларни даволашда қўлланиладиган трансген аъзолар – донор аъзо ва тўқималарни олиш ҳисобланади. Бундай мақсадларни амалга ошириш учун бугунги кунда тегишли ген конструкциялари мавжуд бўлиб, инсон организми учун трансплантация қилишда фойдаланиладиган аъзоларини олиш учун трансген чўчқаларни олиш бўйича изланишлар олиб борилмоқда. Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари геномига кўчириб ўтказиш (интеграция) қилиш мақсадида эритропоеэтин, инсулинсимон омил, одам инсулини ва ҳоказо генларнинг конструкцияси тузилган ва такомиллаштирилмоқда.

2007 йилда одам инсулини гени киритилган йирик шохли қорамолларининг бузоқларини олишга муваффақ бўлинди. Улар асосида инсулин гомони сақловчи сут соғиб олиш олиш кўзда тутилмоқда.

Масалан, Россияда парррандачиликда биринчи марта турли хил ген конструкцияларига эга трансген товуқ ва беданалар олинган. Шунингдек, товуқларнинг саноат миқёсида ва шахсий ишлаб чиқариш шароитларида касалликларга чидамли ва юқори маҳсулдор зот ва янги линияларини яратиш борасида янги имкониятлар очилмоқда.

Чорвачиликда биотехнология ютуқларидан самарали фойдаланишнинг аниқ натижаси сифатида мутлақо янги биостимуляторлар, яъни қорамолнинг рекомбинант ўсиш гормони - соматотропин ва чорва молларининг маҳсулдорлигини оширувчи бошқа хил моддалар шунингдек, йирик шохли моллар, чўчқалар ва мўйнали ҳайвонларга самарали таъсир кўрсатувчи химер оқсил препаратлари кенг спектри асосида соматостатинни иммунокоррекция қилувчи моддалар олиш ва ишлаб чиқариш ишланмасини кўрсатиш мумкин.

Амалиётда ҳайвонларни генетик клонлаш, дастлабки даврдаги эмбрионларни хирургик майдалаш йўли билан кўпайтиришнинг асосий принциплари ишлаб чиқилган ва қўлланилмоқда.

Ветеринар тиббиёт

Ветеринар биотехнология ва тиббиётда, микробиологияда ҳайвонларни ветеринар ҳавфсизлигини таъминловчи чорва ҳайвонлари ва қушларни турли хил касалликлардан ҳимоя қилишдаги профилактик ва терапевтик муаммоларни ҳал этишда сезиларли ютуқларга эришилган.

Ветеринария соҳасида мутахассислар билан ҳамкорликда ген муҳандислиги усуллари билан олинган терапевтик таъсирга эга препаратлар ва бир валентли, кўп валентли профилактик зардобларни олиш ва саноат миқёсида ишлаб чиқариш усуллари ишлаб чиқариш ташкил этилган.

Биофабрикаларда вирус ва ҳужайраларни кенг миқёсда ўстириш усуллари ҳам ишлаб чиқилганки, бу ўта ҳавфли вирусли инфекциялар - кутуриш, инфекцион ринотрахеит вируси, ўлат, шунингдек, бактериялар ва замбуруғлар чақирадиган бошқа касалликларга қарши 40 турдан ортиқ вакциналарни ишлаб чиқариш имконини беради.

Амалиётга ИФТ (иммуно фермент таҳлили), ДНК –зондлар, ПЗР – полимер занжир реакцияси (ПЗР) усуллари жорий этиш асосида юқори сезувчан диагностика препаратлари яратилган ва қўлланилмоқда. Гибридома технологиялари усуллари асосида олинган моноклонал антитаналардан фойдаланилмоқда. асРНК генини тутувчи, лейкозга чидамли генетик трансформация қилинган, шунингдек интерферонининг альфа-2 гени кўчириб ўтказилган қуёнларнинг трансген шакллари олинган. Чечак вектори асосида йирик шохли молларнинг лейкоз касаллигига қарши рекомбинант вакцина ишлаб чиқилган. Ҳужайралар културасида антиген олинмоқда ва йирик шохли молларнинг лейкоз касаллигига ташхис қўйиш амалга оширилмоқда.

Бугунги кунда дунёнинг кўплаб мамлакатларида етиштириладиган чорва молларини эмлаш учун зарур миқдорда оқсим ва сибир яраси касалликларига қарши ген муҳандислиги усулида олинган вакциналарни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Қишлоқ хўжалик микробиологияси

Фаннинг бу соҳасида ва биотехнология, биомухандислик амалиётида бугунги кунда қуйидаги тўртта асосий йўналиш шаклланган:

1. Тупроқда азотни ўзлаштирувчи эркин ва симбиоз яшовчи микроорганизмлардан фойдаланишнинг самарасини оширишнинг генетик асосларини ўрганиш.
2. Ўсимлик ва ҳайвонларни химоя қилишда юқори самарадор ва экологик ҳавфсиз янги микробиологик препаратларни яратиш.
3. Ген муҳандислиги усуллари асосида янги ветеринар препаратларни яратиш.
4. Ҳайвонлар ичак тизимида яшаб иммуномодуляция қилувчи моддалар, биологик фаол моддалар, оксил синтезловчи ва азот тутувчи янги штаммаларни олиш.

Ўзбекистонда Россия қишлоқ хўжалик академияси қишлоқ хўжалик микробиологияси институти билан ҳамкорликда ризобиял бактерияларнинг коллекцияси тўпланган. Соя, беда, мош каби ўсимликлар ҳосилдорлигини оширувчи, тупроқ унумдорлигини оширувчи микробли ўғитлар олиш ишланмаси яратилган ва амалиётда синов ишлари олиб борилмоқда. Буғдой, ғўза ва бошқа ўсимликлар ҳосилдорлигини оширишда ЎЗР ФА Микробиология институти олимлари томонидан азотни эркин ўзлаштирувчи микроорганизмларни тадқиқ этиш борасида ҳам бир қатор изланишлар олиб борилмоқда. Азот тўпловчи микроорганизмлар асосида 1999 йилда «Ер малҳами» препарати яратилиб, Давлат Кимё комиссияси рўйхатидан ўтиб, қишлоқ хўжалик амалиётида фойдаланиб келинмоқда.

Қишлоқ хўжалик маҳсулотларини сақлаш ва қайта ишлаш

Биотехнологик усуллар ва ёндошишлар маҳсулотларнинг таъм ва бошқа хил сифат хусусиятларини сақлаш ва яхшилашга қаратилган бўлиб, улар ўсимликлардан олинган ёки синтетик бирикмалардан олинган биологик компонент қўшимчалар – консервант ва таъм берувчи бирикмалардан

фойдаланишга, шунингдек маҳсулотларни узоқ вақт, ишончли сақлаш имконини берадиган трансген микроорганизмлар мембрана технологияларини қўллашга асосланади. Витаминлар, аминокислоталар, озиқа ва озиқ-овқат қўшимчаларини ишлаб чиқариш замонавий саноат биотехнологиясининг энг сўнгги ютуқларини ўз ичига олган усулларига асосланади. Бугунги кунда уларни ишлаб чиқариш ҳажми харидор корхоналар ва соҳаларнинг эҳтиёжини тўла қондира олмаёпти.

Умуман, бугунги кунда қайта ишлаш саноати муаммоли вазиятда турибдики, бу қишлоқ хўжалик маҳсулотлари хом ашёси келиб тушишини икки марта камайтириш имконини берадиган технологик асбоб ускуларни ўз вақтида янгиланмаётганлиги билан изоҳланади.

Ҳозирги вақтда ўсимлик ва ҳайвон маҳсулотларини қайта ишловчи корхоналар, заводларни тиклаш ва ривожлантириш билан боғлиқ катта вазифалар турибди, бу эса уларда энг янги биотехнологик усулларни қўллаш имконини берган бўлар эди.

Биоконверсия ва биоэнергетика

Ўсимлик маҳсулотлари етиштиришда ялпи маҳсулотнинг қарийб ярми-қишлоқ хўжалик экинлари сомони ва пояларига тўғри келса, қишлоқ хўжалик ишлаб чиқаришидаги органик чиқиндиларнинг 300 млн. т га яқинини гўнг ташкил этади. Сомоннинг ярми ва поя (палак)ларнинг 30% қисмигина чорва моллари озукаси сифатида фойдаланилади. Сомон ва палак поянинг қолган қисми деярли ишлатилмасдан, ёқиб юборилади ёки дала, вақтинчалик сақлаш жойларида чириб кетади.

Гўнгнинг қарийб ярми маҳаллий ўғитлар сифатида ишлатилса, қолган қисми сув ҳавзалари, аҳоли яшаш жойлари ва ҳоказоларга ташланиб, атроф муҳитни ифлосланишига сабаб бўлади. Органик чиқиндилардан фойдаланишдаги асосий вазифа уларни тупроққа киритиб, тупроқ унумдорлигини оширишга қаратилади.

Биотехнологлар ва биомуҳандислар уни биоконверсия қилиш – биогазга айлантириш усуллари тавсия этилади. Бир тонна куруқ гўнгдан махсус конверсион ускуналарда 400 м³ гача метан газини олиш мумкин.

Метаннинг ҳар бир кубометри ёқилганда 8 минг мЖ энергия беради. Гўнгни биоконверсияси натижасида қолган органик чиқиндилар таркибида углерод, фосфор, калий, кальций, микроэлементлар сақланганлиги боис уларни органик ўғитлар сифатида қўллаш мумкин. Гўнг ва бошқа органик чиқиндилар биоконверсияси тиклаб туриладиган доимий энергия манбаи бўлиб, қишлоқ хўжалигида истеъмол қилинадиган умумий энергиянинг 5 % га яқинини бера олади. Мамлакатимизда биоконверсия ускуналари баъзи фермер хўжаликлари ва хусусий корхоналардагина синовдан ўтмоқда.

Кичик биоконверсион ускуналарда гўнг ва бошқа хилдаги органик чиқиндилардан биогаз ишлаб чиқариш Хитойнинг кооператив ва шахсий қишлоқ хўжалик корхоналарида анча оммалашган. Олинган биогаз (метан) маиший ва саноат эҳтиёжлари учун ишлатилади. Ўзбекистонда бу усулда биогаз ишлаб чиқариш деярли йўлга қўйилмаган.

Биотехнологлар ва ўсимликшунос мутахассислар қишлоқ хўжалигида олиннадиган маҳсулотлар, технологиялар навларни энергетик самарадорлик кўрсаткичларига кўра баҳолашни тавсия этадилар.

Энергия сарфини ҳисоблаш асосида ишлаб чиқарилган маҳсулот бирлиги ва ҳақиқий олинган ҳосил бирлигидаги энергия миқдори нисбатига кўра баҳолаш усуллари ишлаб чиқилган.

Энергетик самарадорликни нисбий бирликларда қуйидаги тенгламага мувофиқ ифодаланади:

$$K_{\Phi} = \frac{E_c}{E_z}$$

K_{Φ} – энергетик самарадорлик коэффициенти;

E_c – ишлаб чиқилган маҳсулот бирлигидаги энергия миқдори;

E_z – ишлаб чиқилган маҳсулот бирлигига нисбатан сарф бўлган энергия миқдори.

Агар K_{ϕ} 2-3 ва ундан ортиқ бўлса, бундай нав технологиялар, ишлаб чиқариш тизимлари самарадор ҳисобланади.

$K_{\phi} < 1$ бўлганда, нав, технологиялар, ишлаб чиқариш тизимлари кониқарсиз бўлиб, синовдан ўта олмайди, чунки бунда маҳсулот бирлигини ишлаб чиқиш учун сарф қилинган энергия олинган маҳсулот бирлигига нисбатан юқори бўлади.

Илмий асосланган оптимал технологиялар асосида барча заҳиралар ва қишлоқ хўжалик экинлари гибрид-навлари, парранда ва ҳайвон зотларидан оқилона фойдаланиш ўсимликшуносликда қуёш энергиясидан фойдаланиш коэффицентининг ортиши (3% гача) ҳамда чорвачиликда озиқа конверсияси ортиши, пировард натижада қишлоқ хўжалик маҳсулоти ишлаб чиқаришнинг энергетик самарадорлиги коэффиценти юқори бўлишини таъминлайди.

Қишлоқ хўжалик ишлаб чиқаришида барча заҳиралардан оқилона фойдаланишнинг энергетик самарадорлигини баҳолашнинг биотехнологик усулларида фойдаланиш мамлакатда кичик ишлаб чиқарувчи цехларни шакллантиришдаги асосий вазифадир.

ХУЛОСА

Бугунги кунда биотехнология фан ва ишлаб чиқариш соҳасининг тармоғи сифатида дунёда тез тараққий этиб бормоқда. Биотехнологиянинг XXI асрдаги тараққиётини одамларнинг ҳаётий зарур эҳтиёжларини қондириш ва ҳавфсизлигини таъминлаш билан боғлиқ глобал муаммоларни ҳал этишга қаратилган деб изоҳлаш мумкин. XXI асрда Ер шари аҳолисининг асосий ресурсларга бўлган эҳтиёжларини қондиришда турли хил усул ва ёндошишлар мавжуд.

Инсоният ҳаётий эҳтиёжларининг ресурсларга боғлиқ ҳолатни инобатга олиб, шунингдек уларнинг сифат ва миқдорий кўрсаткичлари ўзгаришларини башоратига кўра, биринчи ўриндаги глобал муаммолар қаторига бу юз йилликда истеъмол қилинадиган энергиянинг 5-6 марта, озиқ-

овқат 2-3 марта, экологик ҳавфсизликни таъминлашга кетадиган сарф-харажатларни 10 мартадан кўп ортиши кабиларни киритиш мумкин. XX асрнинг охири XXI асрнинг бошларидаги кўрсаткичлар ҳажмига нисбатан, биотехнологиянинг иқтисодий аҳамияти ва бугунги, эртанги кун истиқболларини инобатга олиб дунёнинг кўплаб мамлакатлари биотехнологияни, биринчи навбатда биомуҳандисликни ривожлантиришга оид миллий дастурларини тасдиқлаган, соҳани ривожини таъминлашни давлат аҳамиятига олиб чиқилган, молиялаштириш ишлари эса албатта, бюджет ҳисобига амалга оширилмоқда.

VII бобга доир назорат саволлари:

1. Дунё аҳолисини озиқ-овқат маҳсулотлари билан таъминлашда генетик модификация қилинган ўсимликлардан фойдаланиш бўйича эришилган ютуқлар ва истиқболлар.

2. Ўсимликшуносликда экинлар ва экиш материалларини биотехнологик усуллар билан соғломлаштиришнинг ҳолати ва бу усулдан фойдаланишнинг истиқболлари.

3. Ўсимликлар селекциясида ташқи муҳитнинг биотик ва абиотик омилларига чидамли ўсимликлар олишда борасида биотехнология ва биомуҳандислик усуллариининг қўлланилиши.

4. Ветеринар тиббиётда биотехнология ва биомуҳандислик ютуқлари. Қишлоқ ҳўжалик ҳайвонларининг ҳавfli касалликларига чидамлилигини ошириш муаммосини ҳал этишдаги истиқболлари.

5. Чорвачиликда эмбрионлар трансплантацияси. Мазкур усулдан фойдаланиш борасида эришилган ютуқлар ва истиқболлар.

6. Қишлоқ ҳўжалик ҳайвонларини клонлаш. Ушбу усулдан фойдаланиш бўйича эришилган натижалар, муаммолар ва истиқболлар.

7. Трансген ҳайвонларни олиш – трансгенез усулини қўллаш орқали олинган натижалар, ҳал этилиши лозим бўлган муаммолар, трансгенез усулини қўллашнинг истиқболлари.

8. Микроорганизмлар селекциясида нитратредуктаза фаоллигини ошириш (биологик азот ўзлаштирилишини интенсивлаш) борасида биомухандисликдан фойдаланиш орқали олинган натижалар ва истиқболлар.

9. Қишлоқ хўжалик маҳсулотларини сақлаш ва қайта ишлашда биотехнологик усуллардан фойдаланиш орқали эришилган натижалар.

10. Қишлоқ хўжалик чиқиндилари биоконверсиялашда биотехнологик усулларнинг қўлланилиши. Фаолият юритувчи биогаз ускуналари схемаси ва типлари, конструкциясини ишлаб чиқиши .

11. Қишлоқ хўжалик технологияларининг энергетик самарадорлиги, қишлоқ хўжалигида фаол қайта тикланувчи энергия оқими - қуёш энергияси.

12. Инсониятнинг мўътадил тараққиётини таъминлаш учун заҳираларининг ўсишига нисбатан зарурий эҳтиёжлар.

VII бобга доир тест саволлари:

1. Дунёнинг етакчи биотехнолог ва иқтисодчи олимлари ҳисоб китобларига кўра, дунё бозоридаги умумий товар айланмасининг қанча қисми биотехнологик маҳсулотлар ҳисобига ортиши тахмин қилинмоқда?

А) 30-40%

В) 50-60%

С) 100%

Д) 20-25%

Е) тўғри жавоб берилмаган

2. Ўзбекистонда ғўза геномини ўрганиш боарсида эришилган энг йирик ютуқлардан бири сифатида нимани кўрсатиш мумкин?

А) рекомбинант молекулларнинг бир неча вариантларини олиш

В) микросателлитлар ажратиб олиш

С) микросателлиталарнинг нуклеотид кетма-кетлигини аниқлаш ва уларни клонлаш

Д) ғўза геномидан 10 мингдан ортиқ фрагментларни ажратиб олиниши

Е) барча жавоблар бир-бирини тўлдиради

3. Қайси усул ташқи муҳитнинг стресс омилларига чидамли маданий ўсимликлар олишдаги айрим муаммоларни ҳал этишга имкон берди?

- A) постгам чатишмасликни енгиш
- B) ўсимликларни белги ва сифат кўрсаткичлари бўйича аниқлаш
- C) анъанавий селекцион усуллардан фойдаланиш
- D) трансгрессив селекциядан фойдаланиш
- E) географик узоқ турларни чатиштириш

4. Ген муҳандислигида ўзининг белгисига ўхшаш ҳамда қўшимча сифат белгиларига эга трансген ўсимлик олишга имкон берадиган восита нима бўлиши мумкин?

- A) плазмида
- B) транспозон
- C) вирус
- D) пневмобаллистик вектор тизими
- E) барча жавоблар тўғри

5. Биотехнологияда бир тухумли эгизакларни бўлиш учун қайси технологиядан фойдаланилади?

- A) эмбрионларни реципиент ҳайвон жинсий аъзоларига кўчириб ўткази
- B) овуляция жараёнларини стимуллаш
- C) зиготаларни шакллантириш ва ажратиб олиш
- D) *in vitro* уруғлантириш
- E) гастролани бўлиш

6. Ҳозирги вақтда чорвачиликдаги мутлақо янги йўналиш қандай мақсадларни амалга оширишни ўз олдига қўяди?

- A) генларни кўчириб ўтказиш
- B) генларни клонлаш
- C) трансген аъзолар-донор аъзо ва тўқималарни олиш
- D) ген конструкцияларини яратиш
- E) трансген зотларни олиш

7. Ветеринар тиббиётда қўлланиладиган йирик шохли молларнинг лейкоз касаллигига қарши рекомбинант вакцинанинг асосини нима ташкил этади?

- А) интерфероннинг альфа-2 гени
- В) асРНК гени
- С) моноклонал антитана
- Д) чечак вектори
- Е) ДНК зонди

8. Ўзбекистонда азот тўпловчи микроорганизмлар асосида тайёрланган қандай препаратдан қишлоқ хўжалик амалиётида кенг фойдаланиб келинмоқда?

- А) нитроген
- В) азотобактерин
- С) КМЎ
- Д) Микробли ўғит
- Е) Ер малҳами

9. Гўнгни биоконверсия қилиш асосида қандай маҳсулот олиш мумкин?

- А) чиринди
- В) компост
- С) метан гази
- Д) пропан гази
- Е) ерни озиклантирувчи шарбат

10. Маҳсулот ишлаб чиқаришда энергетик самарадорликни ҳисоблаш формуласига кўра, энергетик самарадорлик коэффициентининг қандай миқдори ишлаб чиқариш технологиясини самарадор деб топишга асос бўлади?

- А) $K_{\phi} < 1$
- В) $K_{\phi} > 1$
- С) $K_{\phi} = 1$

Д) $K_f > 2,3$

Е) тўғри жавоб берилмаган.

Фойдаланилган адабиётлар:

1. С/х биотехнология. Под ред. В.С.Шевелухи. М.: «Высшая школа», 1998г.
2. Биотехнология. Сборник тезисов, Пушкино-2001г.
3. С/х биотехнология. Избранные работы. В 2-х т. Под ред. В.С.Шевелухи. М.: «Воскресенье», 2000г.
4. Эрнст Л.К., Прокофьев М.И. Биотехнология с/х животных. М.: «Колос», 1995г.
5. Состояние и развитие сельскохозяйственной биотехнологии. Материалы Всесоюзной конференции. Москва, 1986г., июнь. Ленинград-1986г.
6. Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихонович Т.И. и др. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. М.: Агропромиздат, 1990г.
7. Изучение генома и генетическая трансформация растений. Под ред. Р.К.Салаяева. Материалы Всероссийского симпозиума. 1999г., 23-27 августа. Иркутск, М.-2001г.

XXII бoб. БИОТЕХНОЛОГИЯ ВА БИОХАВФСИЗЛИК

Мутахассисларнинг баҳолашига кўра, жаҳон биотехнология бозори 2025 йилда 2 триллион АҚШ доллари даражасига етиши, мазкур бозорнинг айрим сегментларининг ўсиш суръатлари йилига 5-7% дан 30 фоизгача ортиши тахмин қилинмоқда. Дунё биотехнология саноатига киритилаётган инвестицияларнинг ўсиши 32 фоизни ва биотехнологик лойиҳаларга инвестиция киритган венчур компанияларининг ўртача даромадлилиги 27 фоизни ташкил қилади.

Ўзбекистон биотехнологик маҳсулотларни тадқиқ қилиш ва ишлаб чиқиш учун катта илмий салоҳиятга эга. Масалан, Геномика ва биоинформатика маркази, Илғор технологиялар маркази ҳамда Инсон иммунологияси ва геномикаси институти ДНК технологиялари ва молекуляр

биотехнологиялар бўйича тадқиқотларда катта тажрибага эга бўлса, Биоорганик кимё ҳамда Ўсимлик моддалари кимёси институтлари фармацевтика ва қишлоқ хўжалигида қўлланиладиган биологик фаол моддалар биотехнологияси соҳасида етакчилик қилмоқда, ўз навбатида Микробиология, Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси ҳамда Умумий ва ноорганик кимё институтлари микроблар биотехнологиялари билан шуғулланиб келмоқда.

Шу билан бир қаторда, юртимизда био-саноатнинг мавжуд эмаслиги кўплаб ишланмаларни тижоратлаштиришга тўсқинлик қилмоқда. Биотехнологик маҳсулотларни ишлаб чиқариш кичик партияларда лаборатория ускуналарида амалга оширилмоқда, тажрибавий ишлаб чиқариш ускуналари мавжуд эмас, саноат миқёсида ишлаб чиқариш корхоналари ҳақида эса умуман гапирмаса ҳам бўлади. Биотехнологик маҳсулотларни рўйхатдан ўтказиш ва сертификатлаш механизмлари кўзда тутилмаган меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатлар ҳам қайта кўриб чиқилиши зарур.

Биотехнологияларни ривожлантириш ва мамлакатнинг биологик хавфсизлигини таъминлаш соҳасидаги қонун ҳужжатларини такомиллаштириш

Ўзбекистон Республикаси Президентининг ПҚ 4899 сонли 25.11.2020 йилдаги Биотехнологияларни ривожлантириш ва мамлакатнинг биологик хавфсизлигини таъминлаш тизимини такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисидаги қарори// Қонун ҳужжатлари маълумотлари қайд этилган.

Ўзбекистон Республикасида хужайра технологияларини ривожлантириш, шу жумладан хужайраларнинг муомаласи ва улардан фойдаланиш, биобанкларни ташкил этиш ва юритиш тартиби ҳамда биоматериални сақлаш қоидаларини белгилаш, ўзак хужайралари соҳасида илмий тадқиқотларни ривожлантиришга доир чора-тадбирларни ишлаб чиқиш.

Биотехнологик хавфсизликни таъминлаш, шунингдек, биологик хавф-хатар даражасига қараб биотиббиёт тадқиқотларини ўтказиш ва чиқиндиларни хавфсиз равишда утилизация қилиш учун лабораторияларни лойиҳалаштириш ва қуриш, ушбу соҳадаги аниқ тиббий-биологик тадқиқотларни ўтказишга қодир малакали ходимларни тайёрлаш ва танлашга қаратилган тиббий-биологик тадқиқотлар тизимини такомиллаштириш чора-тадбирларини ишлаб чиқиш.

Биотехнология маҳсулотларини ишлаб чиқаришга халқаро стандартларни, шу жумладан биотехнология маҳсулотлари бўйича ISO 20387:2018, ISO 20391-1:2018, ISO 20391-2:2019, ISO 20395:2019, ISO 20688-1:2020 халқаро стандартларини жорий этиш.

Биотехнология усуллари қўллаган ҳолда олинган уруғлик экинларининг навлари ва гибридларини яратиш ва улардан тижорат мақсадларида фойдаланиш соҳасидаги норматив-ҳуқуқий базани такомиллаштириш.

Ўрмон фонди ерларида дарахтлар ва буталар уруғликларини етиштириш босқичида биопрепаратлардан фойдаланиш бўйича таклифлар тайёрлаш, шунингдек биопрепаратларни ишлаб чиқариш босқичидан уларнинг самарадорлигини баҳолаш босқичигача назорат қилиш тизимини шакллантиришни назарда тутган ҳолда ўрмонларни химоя қилиш бўйича қонун ҳужжатларини такомиллаштириш.

Биологик хавфсизликни таъминлаш соҳасида давлат назоратини такомиллаштириш, шу жумладан:

биологик жиҳатдан хавфли объектлар фаолиятини давлат томонидан назорат қилишнинг самарадорлигини ошириш;

биологик хавфсизликни таъминлаш соҳасида давлат органлари ва ташкилотларининг ваколатлари ва жавобгарлигини чегаралаш;

биотехнология маҳсулотлари ва биотехнология хавфсизлигини баҳолаш, инсон саломатлиги ҳамда атроф-муҳит ҳолатига салбий таъсир кўрсатишга қодир бўлган биотехнология маҳсулотларини ишлаб чиқиш, муомалага киритиш ва улардан фойдаланиш устидан назорат қилишни таъминлаш борасида баҳолаш тизимини ишлаб чиқиш;

биологик хавфсизлик талабларига риоя этмаслик, шу жумладан биологик жиҳатдан хавфли объектларни жойлаштириш, лойиҳалаштириш, қуриш, улардан фойдаланиш, консервациялаш, фаолият ихтисослигини ўзгартириш ва тугатиш қоидаларини бузиш, биологик агентлар ва материаллар ҳамда генетик модификацияланган организмларнинг ноқонуний муомаласи, биологик материалларни талон-торож қилиш ёки товламачилик қилиш учун жавобгарликни кучайтириш;

Ҳайвонот қабристонлари, биотермик ўралардан фойдаланиш, биологик чиқиндиларни йиғиш, утилизация қилиш ва йўқ қилиб ташлашда биологик хавфсизликни таъминлаш соҳасида қонун ҳужжатларини такомиллаштириш.

Республика, ҳудудий ва маҳаллий даражада ҳамда ташкилотларда биологик хавфларни бошқаришнинг замонавий механизмларини жорий этиш.

Биологик хавфсизликни таъминлаш соҳасида давлат ахборот тизимини жорий этиш, мансабдор шахслар, шунингдек, аҳолининг хабардорлигини ошириш мақсадида биологик жиҳатдан хавфли объектларнинг турғун ишлаш шароитларида ва уларда фавқулодда ҳолатлар вужудга келишида хавфларни бошқаришнинг инновацион телекоммуникация тузилмасини ривожлантириш, биологик хавфсизликни таъминлаш соҳасида маълумотларни ҳимоя қилиш воситалари, усуллари ва механизмларини ишлаб чиқиш ва жорий этиш.

Синтетик биология соҳасидаги ишланмаларни, шу жумладан синтетик биологик технологиялардан фойдаланиш орқали ишлаб чиқарилган маҳсулотларни мониторинг қилиш тизимини яратиш.

Хавфли биологик агентларни ишлаб чиқариш учун фойдаланилиши мумкин бўлган биотехнологиялар соҳасидаги илғор илмий-техник ютуқлар ҳақида хорижий мамлакатлар билан ахборот алмашиш соҳасида норматив-ҳуқуқий жиҳатдан тартибга солишни такомиллаштириш.

Ўта хавфли инфекциялар тўғрисида хабардор қилиш тартибини «Халқаро тиббий-санитария қоидалари — 2005»га мослаштириш.

ЖССТ ва Халқаро эпизоотик бюро тавсиялари, шунингдек, илғор мамлакатлар тажрибасини ҳисобга олган ҳолда биологик чиқиндиларни йиғиш, ташиш, сақлаш, зарарсизлантириш ва йўқ қилиш тартибини белгиловчи ветеринар-санитар нормаларни такомиллаштириш.

Халқаро стандартлар ва замонавий талабларга мувофиқлаштириш мақсадида ветеринария тадбирлари учун қўлланиладиган микроорганизмлар ва вируслар штаммлари, токсинлар ҳамда табиий ва ўсимликлардан олинадиган заҳарларни сақлаш, улардан фойдаланиш, шунингдек, уларни етказиб бериш тартибини такомиллаштириш.

Қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқарувчиларини давлат томонидан қўллаб-қувватлашда келиб чиқиши биологик тусга эга маҳсулотлар (шу жумладан ўғитлар ва ўсимликларни ҳимоя қилиш воситалари) мақомининг устунлигини таъминловчи механизмларни ишлаб чиқиш ва жорий этиш.

Қишлоқ хўжалиги экинларининг генетик модификацияланган навлари тўғрисида миллий маълумотлар базасини шакллантириш ва юритиш тартибини белгилаш.

Генетик модификацияланган организмлар ва уларнинг маҳсулотлари хавфсизлигини илмий экспертизадан ўтказиш тартибини белгилаш.

Биотехнология маҳсулотлари ва биотехнология намуналарини олиб кириш ва олиб чиқишнинг божхона тартиб-таомилларини соддалаштириш.

Тажрибавий ёпиқ цикли, шу жумладан персоналлаштирилган биологик қишлоқ хўжалиги, биоагрофермалар, биоёқилғи, чиқиндиларни қайта ишлаш элементларини камраб олувчи биотехнологик агрокластерни ташкил этиш тўғрисидаги таклифларни Вазирлар Маҳкамасига киритиш

ашланмалар бўйича технологик нормативларни босқичма-босқич кучайтиришга қаратилган, паррандачилик, ўсимликшунослик, озиқ-овқат саноати ҳамда нефть ва нефть маҳсулотлари, кўмир ва кўмир кимёсини ишлаб чиқариш, сақлаш, узатиш ва етказиб беришда ёқилғи-энергетика комплекси корхоналарининг чиқиндиларидан ишлаб чиқарилган биоэнергетиканинг техник маҳсулотларига талабни рағбатлантирувчи чора-тадбирларни ишлаб чиқиш.

Ўсимликларни кимёвий ҳимоялаш воситаларидан фойдаланишдан уларни биологик ҳимоялаш воситаларидан фойдаланишга ўтган ҳолда, ушбу воситаларни харид қилиш билан боғлиқ харажатларнинг бир қисмини субсидиялаш механизмини жорий этиш.

Қишлоқ хўжалигида инновацион биотехнология маҳсулотларини ўзлаштириш ва жорий этиш учун тажриба-синов корхоналарини ташкил этишни биргаликда молиялаштириш механизмларини ишлаб чиқиш.

Маҳаллий ачитқилар, бакконцентратлар, стартер ва пробиотик маҳсулотлар (микроорганизмлар), тўғридан-тўғри киритиш хамиртурушлари, юқори биологик қимматга эга оксилларни ишлаб чиқарувчи тажриба-синов ишлаб чиқаришларни ташкил этиш, шунингдек, маҳаллий маданий ўсимликларни қайта ишлаб чиқарувчи корхоналарни ривожлантириш бўйича таклифлар тайёрлаш ва Вазирлар Маҳкамасига киритиш.

Ўрмон биотехнологияларига ихтисослаштирилган илмий-ишлаб чиқариш марказини ташкил этиш

Амалдаги целлюлоза-қоғоз корхоналарини модернизация қилиш, шу жумладан чуқур қайта ишланган маҳсулотларни (биогаз, биодизель, биокимёвий воситалар) олишнинг янги технологик жараёнларида энергетик ва экологик самарадорликни ошириш, ёғоч ва чиқиндилардан комплекс ва тўлиқ фойдаланиш, маҳсулотларнинг янги турларини ишлаб чиқариш

Диагностикумлар, тўқима-муҳандислик конструкциялари ва биологик жиҳатдан мос келадиган тиббиёт материалларини яратишнинг саноат технологияларини ўзлаштириш учун тажриба-синов ишлаб чиқаришларни (прототиплаштириш марказлари) ташкил этиш бўйича таклифлар тайёрлаш

Ифлослантирувчи моддаларни чиқариб ташлаш ва оқизишни тозалаш, шунингдек, атроф-муҳитга антропоген таъсирни камайтириш учун биотехнологияларни жорий этаётган корхоналарни рағбатлантириш чора-тадбирларини ишлаб чиқиш.

Биотехнологик маҳсулотларни ишлаб чиқариш улушини ошириш, кимёвий синтезни биологик синтезга алмаштириш, чиқиндиларни биотехнологик ишқорлаш ва қайта ишлаш усулларини жорий этиш.

Биоремедиация йўналиши бўйича комплекс чора-тадбирларни белгилаш бўйича таклифлар ишлаб чиқиш

Биотехнологиялар усулларини қўллаган ҳолда олинган дарахт ва бута навларининг янги яхшиланган шакллари яратиш ва тижоратлаштиришни кенгайтириш.

Фанлар академияси, Соғлиқни сақлаш вазирлиги, Қишлоқ хўжалиги вазирлиги ҳамда Инновацион ривожланиш вазирлиги тизимидаги тегишли илмий-тадқиқот муассасаларида етук мутахассис кадрларни тайёрлаган ва малакасини оширган ҳолда, биологик коллекциялар тармоғи — ўзак ҳужайралари банки, ДНК биобанки, ҳужайра материали биобанки, вирусли ва бактериал патогенлар, биологик фаол моддалар банкларини ташкил этиш.

Мавжуд биологик тўпламларни хатловдан ўтказиш ва унинг натижалари асосида ягона реестр ва маълумотларнинг рақамли

базасини яратиш, халқаро маълумотлар базалари билан интеграциясини таъминлаш ва сақлаш учун тегишли илмий-тадқиқот муассасаларининг моддий-техник базасини мустаҳкамлаш.

Мамлакатдаги йирик биологик коллекцияларни хатловдан ўтказиш ва миллий биоресурслар марказлари этиб қайта ташкил этиш бўйича комплекс чора-тадбирлар ишлаб чиқиш

иосаноатни ривожлантириш бўйича прогнозларни тузиш, биотехнология соҳасида фойдаланиш тадқиқотлар ўтказиш ва устувор илмий йўналишларни белгилаш.

Биотехнологиялардан фойдаланиш учун илмий ёндашувни талаб этадиган муаммолар рўйхатини шакллантириш орқали биотехнологияларнинг устувор йўналишлари бўйича илмий-тадқиқот буюртмалари портфелини шакллантириш.

Генетик модификацияланган организмлар хавфини баҳолашнинг миллий тизимини яратишга қаратилган тадқиқотларни ўтказиш.

Халқаро стандартларга мувофиқ генетик модификацияланган организмларнинг экологик хавфини баҳолаш бўйича тадқиқотлар ўтказиш учун тажриба-синов майдонларини ташкил этиш.

Ўзгартирилган хусусиятларга эга ўсимликларнинг биотехнологик ва наслчилик шакллари, шунингдек, ўсимликларнинг биологик ҳимояси ҳамда ўстиришнинг стимуляция воситаларини узок муддатли дала синовларидан ўтказиш учун полигонлар яратиш.

Озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқариш, уларнинг истеъмоли ва инсон соғлиғига таъсирини ўрганишда фудомикс асосларини жорий этиш

Халқаро генетика муҳандислиги ва биотехнологиялар маркази (ICGEB) билан ҳамкорликни йўлга қўйиш

Мамлакатнинг биологик хавфсизлигини таъминлашга қаратилган локал лабораториялар, тажриба, илмий-ишлаб чиқариш ва саноат қувватларини ташкил этиш ва модернизация қилиш.

Атроф-муҳитда ва биологик муҳитларда хавфли биологик агентлар ва маҳсулотларни аниқлаш учун индикация воситаларини ишлаб чиқиш.

биологик хавфсизлик соҳасида кадрлар салоҳиятини мустаҳкамлаш ва мутахассисларни тайёрлаш тизимини такомиллаштириш, шу жумладан:

токсиколог, профпатолог, эпидемиолог, бактериолог, вирусолог, паразитолог, энтомолог ва эпизоотолог каби мутахассисларни тайёрлаш механизмларини такомиллаштириш ва ушбу мутахассисликларнинг жозибадорлиги ва нуфузини ошириш;

биологик жиҳатдан хавфли объектлардан фойдаланишда биологик хавфсизликни таъминлаш учун кадрлар, шу жумладан маъмурий-техник ходимларни тайёрлаш даражасини ошириш;

биологик хавфларни таҳлил қилиш, хавфларни бошқариш технологияларини қўллаш каби йўналишларда ўқув дастурларини ишлаб чиқиш;

идоралараро ўзаро ҳамкорлик қилиш, шу жумладан биологик тусга эга фавқулодда ҳолатларнинг оқибатларини бартараф этиш бўйича машқлар ва машғулотларни ўтказиш.

Биологик хавфсизлик соҳасида якка тартибда ва жамоавий ҳимоя қилиш воситалари, атроф-муҳитда хавфли биологик агентларни топиш ва уларни назорат қилиш бўйича автоматлаштирилган тизимни ишлаб чиқиш.

Бошқарув қарорлари қабул қилинишининг асосланганлигини ошириш мақсадида биологик хавфсизлик соҳасидаги ҳолатларни прогнозлаш ва тезкор баҳолаш учун дастурий таъминотни ишлаб чиқиш ва жорий этиш.

Биохавфсизлик миллий мувофиқлаштирувчи маркази фаолиятини ташкил этиш мақсадида унинг ходимларини бошқа мамлакатларнинг биохавфсизлик бўйича мувофиқлаштирувчи марказларида стажировкадан ўтказишни ташкиллаштириш.

Карантин ва ўта хавфли, шу жумладан янги ва қайталанадиган инфекциялар диагностикаси, даволаниши ҳамда профилактикасини амалга ошираётган тиббий ва ветеринар муассасалар ходимларини ўқитиш тизими ва дастурларини такомиллаштириш бўйича таклифлар тайёрлаш.

Хавфли биологик омиллар таъсиридан аҳолини ҳимоя қилиш ва атроф-муҳитни муҳофаза қилишнинг замонавий усуллари, воситалари ва технологияларини ишлаб чиқиш ва жорий этиш.

Қишлоқ хўжалигида фойдаланиладиган пестицидлар ва заҳарли кимёвий моддаларни, уларнинг озиқ-овқат маҳсулотларида мавжудлиги ҳамда товар маркировкасидаги маълумотларга мослигини назорат тестларидан ўтказиш тартиби, шунингдек, қишлоқ хўжалигида қўлланилаётган биоўғитлар ва биопрепаратлар, полимерли таркибга эга кимёвий ҳимоя воситаларини назорат тартибида харид қилиш ва уларнинг сифатини синовдан ўтказиш тартибини белгилаш.

Республикада барқарор санитар-эпидемиологик муҳитни издан чиқаришга қодир биологик омилларни аниқлаш ва бартараф этиш бўйича комплекс амалий чоратadbирларни қуйидагиларни иноватга олган ҳолда ишлаб чиқиш:

келиб чиқиши табиий бўлган инфекциялар, шу жумладан оммавий тарқалиш хавфига эга табиий-ўчоқли ўта хавфли инфекциялар (эпидемиялар, эпизоотлар) мавжудлиги;

янги кам ўрганилган инфекциялар вужудга келиши;

мамлакат ҳудудида зооноз инфекцияларнинг табиий резервуарлари мавжудлиги ва (ёки) фаоллашиши;

ҳисобга олинган ва ҳисобга олинмаган ҳайвонлар кўмилган жойлар (ҳайвонот қабристонлари) ва стационар-номақбул жойларнинг мавжудлиги ва (ёки) фаоллашиши;

замонавий тиббиёт имкониятларидан ўтиб кетган юқумли касалликлар, шу жумладан даволаш учун самарали терапия воситалари мавжуд бўлмаган вирусли инфекциялар сонининг ўсиши;

ижтимоий жиҳатдан аҳамиятли инфекциялар сонининг ўсиши («В» ва «С» гепатитлари, ИФА, ОИТС, туберкулёз);

лабораторияларда ички зарарланиш натижасида вужудга келиши мумкин бўлган касбий юқумли касалликлар;

хавфли биологик объектлар ва ишлаб чиқаришларда табиий ва техноген ҳалокатлар, авариялар учун шароитлар мавжудлиги;

биотехнологиялардан қонунга ҳилоф равишда фойдаланиш, шу жумладан хавфли биологик объектлардан рухсатсиз фойдаланиш ва диверсиялар билан боғлиқ хавфларнинг ўсиши.

Бунда:

Ветеринария ва чорвачиликни ривожлантириш давлат қўмитаси ҳамда Соғлиқни сақлаш вазирлиги томонидан тегишли маълумотни Экология ва атроф-муҳитни муҳофаза қилиш давлат қўмитасига тақдим этиш тартибини белгилаган ҳолда ўта хавфли инфекциялар ва бошқа биологик чиқиндиларнинг табиий ўчоқларини кўмиш ва зарарсизлантириш жойларини чиқиндиларни кўмиш ва утилизация қилиш жойлари давлат кадастрига киритиш.

Мамлакатнинг биологик хавфсизлиги тизимини такомиллаштириш юзасидан ва ушбу соҳадаги илғор халқаро стандартларни инобатга олган ҳолда «Озиқ-овқат маҳсулотларининг сифати ва хавфсизлиги тўғрисида»ги ҳамда «Аҳолининг санитария-эпидемиологик осойишталиги тўғрисида»ги қонунларга ўзгартиш ва қўшимчалар киритиш.

та хавфли инфекциялар табиий ўчоқлари ва ветеринар-санитар нуқтаи назардан хавфли деб топиш биологик чиқиндиларни кўмиш ва зарарсизлантириш жойлари бўйича, шу жумладан эпизоотологик вазиятни мониторинг қилиш имконини берувчи геоахборот тизимини яратиш. Янги бактериал инсектицидлар, ўсимликларнинг ўсишини таъминловчи стимуляторлар ва биоўғитлар ишлаб чиқариш технологиясини ишлаб чиқиш бўйича илмий-тадқиқот ишларини олиб бориш.

Кенг тарқалган ва потенциал хавфли фитопатоген организмларни ва қишлоқ хўжалиги чорвасининг касалликларини аниқлаш учун янги авлод молекуляр-биологик ташхислаш тест-тизимларини ишлаб чиқиш

Ген муҳандислиги ёрдамида яратилган экин навларининг биохавфсизлигини баҳолаш

Генетик ўзгартирилган навлар ва линияларнинг муҳим эквивалентлигини (генетик профили, асосий макронутриентлар (оксиллар, ёғлар ва углеводлар) ва баъзи ферментларнинг фаоллигини) баҳолаш.

Генетик ўзгартирилган навлар ва линияларнинг экологик хавфсизлигини баҳолаш. Ген муҳандислиги ёрдамида яратилган экин навларининг биохавфсизлиги ҳақида хулоса тайёрлаш.

Хулоса сифатида қуйидагилар биотехнологияларни ривожлантиришнинг устувор йўналишлари биологик хавфсизлик ва биологик материаллар устидаги назоратни амалга оширишнинг асосий йўналишлари ҳисобланади, деб кўрсатиш мумкин. **Улар қуйидагилардан иборат:**

- биотехнологияларни ривожлантириш учун зарур бўлган меъёрий-ҳуқуқий базани шакллантириш ва биологик хавфсизликни, айниқса ген муҳандислиги фаолияти хавфсизлигини таъминлаш;
- биотехнологик маҳсулотларни тадқиқ қилиш, жорий қилиш, ишлаб чиқариш ва сотиш учун инфратузилмани яратиш;
- биотехнологиялар соҳасидаги устувор инновацион ва инвестицион лойиҳаларни шакллантириш ва амалга ошириш;
- янги инновацион биотехнологик маҳсулотларни ишлаб чиқариш бўйича илмий тадқиқотлар даражасини ошириш, уларнинг глобал илмий маконга интеграциялашувини таъминлаш;
- биотехнологик маҳсулотларни ишлаб чиқариш, қайта ишлаш ва қўллашда биологик хавфсизликни таъминлаш;

- янги биотехнологиялар, биоинформатика, биофармацевтика, биотиббӣёт, фудомикс, метаболомикс, хеометрикс, катта ҳажмдаги маълумотларни таҳлил қилиш каби соҳаларда кадрлар тайёрлаш, қайта тайёрлаш ва уларнинг малакасини ошириш тизимининг барқарор ишлаши ва ривожланиши учун шароит яратиш;
- биотехнологик маҳсулотларнинг янги бозорларини шакллантириш, шунингдек, биотехнологик маҳсулотларни рўйхатдан ўтказиш ва сертификатлаш бўйича меъёрий-ҳуқуқий асосларни такомиллаштириш;
- ички бозорда ва ишлаб чиқариш соҳаларида биотехнологик маҳсулотларнинг истеъмолини ва қўлланиш ҳажмини ошириш;
- биотехнологиялар соҳасининг давлат томонидан қўллаб-қувватлашнинг замонавий механизмларини жорий этиш орқали барқарор ривожланишига кўмаклашиш;
- биотехнологияларни ривожлантириш бўйича мақсадли илмий дастурларни амалга ошириш ва мувофиқлаштиришни таъминлаш;
- биотехнологиялар соҳасида рақобатбардош, иқтисодий жиҳатдан самарали ечимлар, янги маҳсулотлар ва технологияларни яратишга йўналтирилган устувор илмий йўналишларни аниқлаш, қўллаб-қувватлаш ва ривожлантириш;
- тажриба-ишлаб чиқариш ва саноат корхоналари, стартаплар, акселераторлар, бизнес-инкубаторлар ва технопаркларни ўз ичига олган тўлақонли биотехнология саноатининг инфратузилмасини яратишда кўмаклашиш;
- биотехнологияларда инновацион лойиҳаларни шакллантириш ва амалга оширишга ёрдам бериш;
- биотехнологияларни иқтисодиётнинг реал секторларига кенг миқёсда жорий этишга кўмаклашиш;

- биотехнология усуллари ва воситалари билан мамлакатнинг тегишли ижтимоий-иқтисодий, энергетик, экологик ва бошқа муаммоларини ҳал этиш.

Адабиётлар

1. <https://mininnovation.uz/uz/news/1854>
2. Ўзбекистон Республикаси Президентининг ПҚ 4899 сонли 25.11.2020 йилдаги Биотехнологияларни ривожлантириш ва мамлакатнинг биологик хавфсизлигини таъминлаш тизимини такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисидаги қарори// Қонун ҳужжатлари маълумотлари миллий базаси, 26.11.2020 й., 06/20/4899/1558-сон)

АСОСИЙ БИОТЕХНОЛОГИК ТЕРМИНЛАР ЛУҒАТИ

Агар-агар-баъзи денгиз ўсимликларидан олинадиган маҳсулот; унинг энг муҳим таркибий қисми углеводлар қаторига киради, у совуқ сувга солинганида бўкади, қайноқ сувда батамом эрийди, эритмаси совиганда таъмсиз ва ҳидсиз, тиниқ, ивиқ чўкма ҳосил бўлади. Бу маҳсулот микроорганизмларга қаттиқ озиқа муҳити тайёрлашда, қандолатчиликда ширинликлар тайёрлашда ишлатилади. Турлари: ўт (сафро) суюқлиги ва бинафша ранг агар; жўхори уни қайнатмасидаги агар; пиво аталасидаги агар; ачитқи замбуруғли экстрактли агар; сув пептонли агар; глицеринли агар; узум шакарли агар; дезоксихолли агар; лактозали дезоксихолли агар; декстрозали агар; желатинали агар; сафроли агар; картошка ва қонли агар; крахмалли агар; қонли агар; лактоза-лакмусли агар маннитли агар; сут-пептонли агар; сийдикли агар; юмшоқ агар-микробларни икки қатламли озуқа муҳитида ундиришга ишлатиладиган агарнинг устки қатлами; гўшт-пептонли агар; озуқали агар; ярим суюқ агар; оддий агар; балиқ-желатинали агар; шакарли агар; қўрғошин-сиркали агар; қийшайтирилган агар; пиво аталали агар; зардобли агар; фенолфталейнли агар; фуксинли агар; тухум оксилидаги агар; тухум сариғидаги агар.

Агароза-денгиз сувўтларидан олинадиган полисахарид; электрофорез ва хроматографияда гелли муҳит сифатида фойдаланилади.

Агрегация-айрим организм ёки ҳужайраларнинг тўпланиши, ғуж бўлиб қолиши.

Агробактериоз-экин экиладиган ерларда яшайдиган организмлар йиғиндиси.

Адаптация-мослашиш-организмларнинг эволюция жараёнида юзага келган яшаш шароитига мослашуви.

Адвентив куртаклар-ўсимликлардаги куртаклар, улар одатда пайдо қилмайдиган ҳужайра ва тўқималардан ҳосил бўлади.

Аденилланиш- йўли билан ферментлар фаоллиги ўзгаришининг бир тури.

Аденин - (аминопурин)-азотли органик бирикма бўлиб, аденин нуклеотиди таркибига киради.

Азотобактерин- ушбу турга кирадиган бактериялардан ташкил топган бактериал ўғит.

Азотобактер-эркин ҳолда яшаб, ҳаводан азот тўпловчи бактериялар тури.

Акропетал транспорт-ўсимликда моддаларнинг поя апикал меристемаси йўналиши бўйича ташилиши.

Амплификация-хромосома ДНК кетма-кетлигининг қўшимча нусхасининг ҳосил бўлиши.

Анаэроблар-кислородсиз муҳитда модда алмашилиши ва кўпайишини давом эттира оладиган микроорганизмлар; фақат анаэроб шароитда ўсадиган микроорганизмлар; факултатив анаэроблар кислородли ёки кислородсиз шароитда ўса оладиган микроорганизмлар.

Андрогенез-микроспора ёки чанг дончаларидан соматик эмбриогенез ёки каллус ҳосил қилиш орқали ўсимлик ёки унинг органларининг ҳосил бўлиш жараёни.

Антагонист-рақиб-микроорганизмлар ҳаётини тўхтатувчи ёки бутунлай барбод қилувчи бошқа бир микроорганизм.

Антибиотиклар-микроорганизмлар ҳаёт фаолияти давомида ҳосил бўладиган кимёвий моддалар; жуда оз миқдори ҳам бошқа микроорганизмларга захарли таъсир этади. Антибиотиклар сони ҳозирда 2000 дан ортиб кетган бўлиб, уларнинг синтезланишида замбуруғлар (аспергиллар), шўъласимон замбуруғлар ва бошқа микроорганизмлар хизмат қилади; антибиотиклар ишлаб чиқаришнинг *Penicillium*, *Cephalosporium* ва *Streptomyces* авлодларига мансуб турларида ишлаб чиқариладиган пенициллинлар-асосий тижорат антибиотиклар ҳисобланади;

Антигенлар-иммун тизимда антителалар ҳосил бўлишини индуцирловчи, антитела пайдо бўлишига таъсир этувчи специфик ҳамкорлик қилувчи оқсиллар.

Антитела-иммун тизим томонида ёки патоген агентлар; оксилларни (антигенлар) йўқотувчи таъсирга эга оксиллар.

Апикал доминантлик-апикал меристемадаги гормонлар ёрдамида ён наваларнинг юқори меристемаси куртаклари ўсишини тўхтатилиши.

Аттрагирлаш хусусияти-стимулятор фитогармонларнинг озиқа моддаларни ўсувчи органга катта миқдорда ташилишини фаоллаш хусусияти.

Ауксотроф мутантлар-жинсий бўлмаган хромосомалар тўплами (1, 2, 3, ва ҳоказо сонлар билан белгиланади).

Базал-асосий, асосгатегишли; асосида ёки унинг тагида жойлашган- базал таначалар-эукариотик жониворлар (оддий жониворлар, сувўтлар) хивчинларини цитоплазманинг ташқи қаватига ёпишиб туришига ёрдам берадиган тузилма.

Базипетал транспорт-ўсимликдаги моддаларнинг илдизнинг апикал меристемасига транспорти.

Бактериофаглар-бактерияларни инфекцияловчи вируслар.

Бинар-икки қисмдан иборат; бинарли номенклатура-микроорганизмларда авлод ва тур номи билан аталиши; бинарли бўлиниш-хужайраларнинг қўпайиш вақтида иккига бўлиниши.

Биогенез-тирик организмлар томонидан органик бирикмаларнинг ҳосил бўлиши.

Биомасса-микроорганизмларни ўстирилганида хужайралари массаси ёки тирик организм массаси; фаол биомасса-биологик фаоллик кўрсатувчи масса; қуруқ биомасса-организмларнинг қуруқ биомассаси. У ҳўл биомассанинг 15-30% ини ташкил этади; ҳўл биомасса-сузиш ёки айлантриш, чўктириш натижасида суёқ озуқа муҳитидан ажратиб олинган хужайра массаси.

Биореактор-биологик реакцияларни амалга оширишга мўлжалланган сиғим. Бу атама аэроб ва анаэроб организм хужайраларини

ўстириш учун зарур бўлган сиғимларда ҳамда хужайра ва ферментларни тўплашда фойдаланадиган найчаларга нисбатан ишлатилади.

Биосинтез-ферментлар таъсирида тирик организмларда оддий бирикмалардан мураккаб органик моддаларнинг ҳосил бўлиши.

Биотехнология-тирик организмлар ёки биологик қонуният ва хусусиятларнинг саноат миқёсида ишлатилиши ҳақидаги фан йўналиши.

Вектор-генларни клонлашда фойдаланиладиган репликон. Табиий векторлар-кичик плазмидалар, вируслар ва бактериофаглар. Сунъий векторлар эса ДНК-лигаза ёрдамида ҳар хил манбалардан олинган ДНКни бирлаштириш асосида тузилади; ўрнини олиш вектори-клонлаштирувчи вектор; ўсимликларда клонлаш вектори-ўсимлик хужайрасига бегона ДНКни ўтказиш ва жойлаштириш билан шуғулланадиган ген муҳандислигида ишлатиладиган вектор; плазмида вектори-бегона, ёт ДНКдаги ген ёки бир неча генларни бу хилдаги генлари бўлмаган организмга ўтказиб қўйишида қатнашадиган плазмида.

Вируслар-бирорта тирик организмда ривожланиш қобилиятига эга бўлган, таркибида нуклеин кислоталар, оксиллар, айримҳолларда липидлар бўлган заррачалар. Вируслар заррачалардан ташкил топган бўлиб, улар нуклеин кислоталар ва оксиллар пўстлоқли ҳолда бўлади. Вируслар 1892 йилда Д. И. Ивановский томонидан очилган бўлиб, 1889 йилда “вирус” атамаси М. Бейеринк томонидан таклиф этилган. Вирус ҳамма тирик организмларда касаллик қўзғатади ва ҳамма ерда тарқалган.

Гаплоид-бир организм турига хос бўлган бутун тўпламнинг ярми, хромосомалар тўпламининг билан характерланувчи ядро, хужайра, организм.

Ген – генетик ахборотларнинг ягона структураси муайян регулятор функция, бир ёки бир неча полипептид занжирлар, ёки РНК молекуласи структурасини кодирловчи хромосома қисми (ДНК молекуласи).

Ген муҳандислиги – усуллар ва технологиялар; рекомбинант рибонуклеин ва дезоксирибонуклеин кислоталар олиш технологияси,

организмлардан генларни ажратиш, улар билан турли манипуляциялар ўтказиш ва уларни бошқа организмларга киритиш технологиялари.

Генетик код (ГК) – нуклеин кислоталар изчиллиги кўринишидаги нуклеин кислоталари молекулаларида наслий ахборотнинг ёзма тизими. ГК бирлиги бўлиб кодон ёки триплет хизмат қилади. ГК синтезланаётган полипептид занжирига аминокислоталарнинг бирикиш тартибини аниқлайди. Нуклеин кислоталари молекулаларида кетма-кетлик кўринишида “ёзилган” ирсий ахборотнинг тирик организмларга хос ягона тизими. Генетик коднинг бирлиги кодондир.

Генетик модификацияланган трансген организмлар (ГМО) – ген – муҳандислиги усуллари ёрдамида геномига бегона генларни киритилиши орқали ирсияти ўзгарган ўсимлик, ҳайвон, микроорганизм ва вируслар.

Генетик ҳавф-инсонлар ҳаёти ва соғлиги, атроф-муҳит учун ҳавфли бўлган кутилмаган ирсий ўзгаришларнинг геномда пайдо бўлиши ва организмлар сифатининг ўзгариши.

Генлар библиотекаси-бутун геномни тутувчи клонланган ДНК фрагментлари тўплами.

Генлар экспрессияси – генда рибонуклеин кислота, оксил ва фенотипик хусусиятлар шаклида ёзилган генетик ахборотларнинг юзага чиқиши.

Геном-мазкур организм протоплазмаси органеллаларида жойлашган хромосомалардан ташқари генларини тутувчи генлар йиғиндиси. Диплоид ҳолатдаги турлар гаметасида биттадан, соматик ҳужайраларда эса иккитадан геном бўлади.

Генотерапия-реципиент геномига бегона генларни киритиш ёки биологик объект тўқималарида генетик соғлом соматик ҳужайраларни олиш ёрдамида наслий касалликларини даволаш.

Генотип-асос генларининг тўплами. Ирсий асос–организмларнинг генетик (ирсий) конституциясининг ва унинг барча генларининг мажмуи.

Генофонд-организм турлари ёки популяциясидаги ҳар хил генлар турларининг сони ва тарихи.

Гетерозис – бир-биридан қатор хусусиятлар ва белгилари билан фарқланувчи бошланғич шакллари чатиштириш натижасида пайдо бўлган биринчи авлод дурагайлариининг яшаш қобилятининг ошиши.

Гибрид-дурагай-генетик жиҳатдан ҳар хил бўлган турларни чатиштириш натижасида ҳосил бўлган гетерозигота жинси. Ота-она ирсий белгиларини ўзида мужассамлаштирган организм.

Гиногенез – муртак халтаси ҳужайраларидан ўсимлик пайдо бўлиш жараёни.

Гифлар-ипчалар-замбуруғ танасини ташкил этувчи бир ёки бир неча ҳужайрадан ҳосил бўлган, микроскопда аранг кўриш мумкин бўлган иплар.

Гормон рецептор комплекс-гормон ва оксил рецепторининг бирикиши, гормон таъсири амалга ошишининг биринчи босқичи.

Гормон статуси – онтогенезда ўсимлик ва ҳайвон гормон тизимининг умумий ҳолати, эндоген ва экзоген таъсирларга нисбатан ҳосил бўлиш жараёнларида гормонлар миқдори ва улар орасидаги нисбати, ҳаракати, фойдаланилиш ва инактивацияси.

Деструкция – моддаларнинг парчаланиш орқали физиологик фаоллигини йўқотиши.

Дидифференция - ихтисослашган, бўлинмайдиган ҳужайраларнинг дифференцияланмасдан бўлинаётган каллус ҳужайраларига айланиш.

Диплоид – мазкур турга хос сонларни кўрсатувчи гомологик хромосомаларнинг иккита тўплами билан характерланувчи ядро, ҳужайра ва организм.

Диплоидлаш – хромосома тўпламини икки марта кўпайтирувчи модель. Хромосомаларнинг диплоид тўплами (автодигаплоид) ота ёки она хромосомаларини тутувчи иккита гаплоид хромосомалар тўплами.

Дифференциялаш – асосий ва янги ҳосил бўлган ҳужайралар орасида, шунингдек янги ҳосил бўлган ҳужайралар орасида фарқ юзага келтирувчи жараёнлар комплекси.

ДНК – дезоксирибонуклеин кислоталар молекуласи, нуклеотидлар (аденин, гуанин, цитозин, тимин), дезоксирибоза ва фосфор кислота қолдиқларидан ташкил топган.

ДНК бўшлиғи-ДНК занжирида битта ёки бир нечта нуклеотидларнинг етишмаслиги.

ДНК дуплексидаги узилиш – икки занжирли ДНКнинг занжирларининг биттасида ёнма-ён иккита нуклеотидлар орасидаги фосфодиэфир боғининг йўқлиги.

ДНК репликацияси – ферментлар тўплами (ДНК полимераза, лигаза ва бошқалар) ёрдамида ДНК нусхасини ҳосил қилиш орқали унинг молекулаларини иккиланиши (икки марта кўпайиши).

Ёпиқ тизим – ташқи муҳит билан фақат энергия орқали алмашинувчи тизим.

Ёпишқоқ учлар-комплементлар ҳолдаги ДНК молекуласининг битта ипли учи бўлиб, эндонуклеазалар ёрдамида кесиб олинади.

Жинсий жараён – эркак (спермия) ва урғочи (тухум ҳужайра) жинсий ҳужайраларининг қўшилиш, натижада диплоид ҳужайра (зигота) ҳосил бўлади ва асоснинг жинси белгиланади.

Жинсий хромосомалар – асоснинг жинсини белгиловчи хромосомалар (X, Y, W, Z ва бошқа ҳарфлар билан белгиланади).

Затравка – ДНКнинг битта занжири билан комплементар ҳамкорлик қилувчи қисқа изчиллик (кўпинча РНК); эркин 3 – ОН – уч ҳосил қилиб, у асосида ДНК-полимераза дезоксирибонуклеотид занжир синтез қила бошлайди.

Идентификация-айнан ўхшатиш, тенглаштириш-моддаёки микроорганизмлар тури ва хилларини аниқлашга қаратилган тадқиқотлар тури.

Иммобилизация (тўплаш) – мембраналарда хужайра, ферментларни тўплашда фойдаланиладиган физик ва кимёвий жараён.

Инвертирланган такрорий изчилликлар – Бир молекула таркибидаги бир-бирига қарама –қарши томонларда жойлашган бир хил изчилликнинг иккита нусхаси. Бир-бирларига ёнма-ён жойлашган инвертирланган такрорий изчилликлар палиндром ҳосил қилади.

Ингибитор-тўхтатувчи-ферментлар, фаоллигини тўхтатувчи табиий ёки синтетик модда (сунъий олинган).

Индуктор-репрессор билан қўшилиб, уни оператор билан қўшилиш хусусиятини йўқотадиган, нофаол ҳолатга ўтказадиган паст молекулали модда.

Индукция-фермент синтези, фаглар ривожланиши ва мутацияга ўхшаган биологик жараёни ҳаракатга тушириш.

Инициация-молекуляр биологиядаги трансляция жараёнининг биринчи босқичи.

Инкубация-ўстириш-маълум шароитда, ҳароратда микробларни ушлаб туриш, ўстириш.

Инокулят-кўпайтириш усули-тирик организмлар, масалан, микроорганизмлар суспензияси озуқа муҳитга ўтказилгандан кейин янги авлод беради.

Интрон – геннинг транскрибцияланаётган “сукунат сақловчи” процессинг жараёнида РНК молекулалари ажралиб чиқаётган ва кодонлар мавжуд бўлмаган қисми.

Иссиқлик шоки оксиллари (ИШО) - ҳароратнинг нормадан ошишига организм томонидан ҳосил бўладиган оксиллар.

Клон – битта хужайра ёки молекуладан олинган хужайра ва молекулалар йиғиндиси.

Клонлаш – популяцияларнинг органлари билан генетик бир хил хужайралар олиш.

Клонли микрокўпайтириш – *in vitro* жинссиз усул ёрдамида бошланғич ўсимлик билан генетик бир хил ўсимликлар

Кодон – муайян аминокислоталар ёки комплементар терминацияловчи сигнални кодирловчи нуклеотидлар триплети.

Компитенция – хужайра, тўқима, орган ва организмнинг индуцирловчи таъсирларни қабул қилиши ва унга ривожланишини ўзгартириш орқали специфик таъсирланиш.

Комплементар занжир – РНК ва унга ҳамкорлик учун мос келадиган нуклеотидларни синтезлан учун фойдаланиладиган ДНК занжирларидан бири.

Лигаза-ДНК занжиридаги узилган қисмни фосфодиэфирбоғ ҳосил қилиш ёрдамида бирлаштирувчи фермент.

Лигирлаш – ДНКнинг бир занжирдаги узилиш орқали ажралган асослар орасидаги фосфодиэфир боғларининг ҳосил бўлиши. Бу ибора тўмтоқ учларни бириктириш ҳолларида ва РНК боғлар ҳосил бўлишида ҳам қўлланилади.

Лизис-эриб кетиш, парчаланиш-ферментлар, кислоталар ва ишқорлар таъсирида хужайраларнинг парчаланиши; бактерия хужайрасида бактериофагларнинг кўпайиши натижасида унинг эриб кетиши.

Маркер (ДНК) –электрофорез гелида фрагментлар ўлчамини аниқлашда фойдаланиладиган маълум ўлчамдаги ДНК фрагменти.

Маркер ген – жойлашган жойи аниқланган ва аниқ фенотипик кўринишга эга ген.

Матрица. 1) маълум бир тана (шакл) бўлиб, унга қараб янги шаклнинг ҳосил бўлиши; 2) (молекулали биологияда) ДНК ва РНК ипларини комплементлар синтезланиши учун асос сифатида хизмат қиладиган ва нуклеин кислоталардаги азот асосларининг кетлиги.

Маҳсулдорлик жараёни – моддалар ҳосил бўлиши ва метаболизмнинг ўсимликда бир вақтда кечаётган физиологик, биокимёвий, биофизик ва бошқа жараёнларнинг йиғиндиси, донор-акцептор муносабатлар ва генетик

назорат асосида ўсимликларнинг ҳўжалик аҳамияти қимматли органларининг шаклланиши, иккиламчи алмашинишни таъминланиши.

Мейоз – хромосомалар сонини редукциясига ва генлар рекомбинациясига олиб келувчи жинсий ҳужайраларнинг бўлиниш жараёни.

Меристема – фаол бўлинаётган дифференцияланмаган ҳужайралардан иборат тўқималар.

Метаболизм- оралиқ алмашиниш, яъни моддаларнинг ҳужайра ичига тушган вақтидан охириги маҳсулотлар ҳосил бўлгунга қадар айланиши; катаболизм ва анаболизм жараёни йиғиндиси; қоронғуликда кечадиган метаболизм-микроорганизмларнинг (қирмизи бактериялар *Rhodospirillum*) қоронғида аэроб ҳолда ўсиш хусусияти. Бу хусусият бактерияларда нафас олиш занжирининг керакли қисмлари борлигидан далолат беради.

Метаболитлар-метаболизм жараёнида ҳосил бўладиган моддалар.

Микориза-юқори ўсимликлар илдизи билан замбуруғ ипчаларининг бирга яшаши.

Микроорганизмлар уюшмаси-ҳар доим бирга учрайдиган ва бири бири билан боғлиқ ҳолда яшайдиган микроорганизмлар бирлашмаси.

Микрофлора-ҳар хил турдаги микроорганизмларнинг маълум яшаш муҳитидаги тўплами; автохтон микрофлораси; сув микрофлораси; ҳаво микрофлораси; балчиқ микрофлораси; одатдаги микрофлора; организм микрофлораси; қўшимча микрофлора; тупроқ микрофлораси; ризосфера микрофлораси.

Митоз – эукариот соматик ҳужайраларнинг бўлиниш жараёни.

Мицеллий-замбуруғ тана-замбуруғ, жумладан шўъласимон замбуруғларнинг ўсадиган танаси бўлиб, бир ва кўп ҳужайрали ипчалар (гиф)дан иборат.

Модификация-микроорганизмларнинг фенотипик ўзгариши, яъни ҳужайранинг генетик аппаратларига алоқадор бўлмаган ўзгаришлар.

Морфогенез – орган (органогенез), тўқима(гистогенез) ва ҳужайраларнинг (цитогенез ёки ҳужайраларнинг дифференцияланиши)

шаклланиш жараёни. Организмларнинг ривожланиши жараёнида тизимларнинг табақаланиши.

Мутагенез-мутагенез ўзгаришнинг (мутагенезнинг) рўй бериши- организмда ирсий ўзгаришлар-мутацияларнинг вужудга келиш жараёни. Бу жараён асосида ирсий ахборотни сақловчи ва наслга ўтказувчи нуклеин кислоталар молекуласининг ўзгариши ётади.

Мутагенлар – ДНК молекуласида мутацияларнинг пайдо бўлиш частоталарини оширувчи омил. Ирсиятни ўзгартирувчилар-мутациялар ҳосил қилувчи физикавий ва кимёвий омиллар;

Мутация – ген, хромосомадаги нуклеотид изчиллик, геномнинг бирорта белгининг ўзгаришига ва уларнинг авлодларда сақланишига олиб келувчи спонтан ва индуцирланган ўзгариши.

Нишон - ҳужайра– у ёки бу фитогармон рецепторини тутувчи ва фитогармоннинг концентрацияси ўзгарганда метаболизмни ўзгартирувчи ҳужайра.

Нозерн-блот-РНК бўлакчаларини геллардан элюиция қилишда ишлатилади.

Нуклеин кислоталар – турли нуклеотидлар қолдиқларидан ташкил топган юқори молекуляр табиий бирикмалар (полимерлар). Ҳужайра мағзининг асосини ташкил қилади. Нуклеин кислоталарнинг икки тури: РНК, ДНК ҳужайраларнинг доимий компонентларидир.

Оперон – генетик регулятор структуранинг бирлиги, таркибида битта ёки бир нечта ўзаро бириккан структура, оперон ва регулятор қисмлар генларини тутади.

Органогенез – уюшмасдан ўсаётган каллус ҳужайраларида органлар (илдиз, бошланғич барглар ва ниҳоллар) ҳосил бўлиш жараёни.

Очиқ тизим – ташқи муҳит билан энергия ва моддалар билан алмашинадиган тизим.

Партеногенез – асоснинг фақат она ҳужайра генлари иштирокида ривожланиши.

Плазида – автоном репликацияланишга қодир, таркибида реципиентларнинг бегона генларини ва бошқа ДНК изчиллигини тутиш ва геномга киритиш хусусиятига эга, икки занжирли ҳалқасимон ДНК плазмид вектори асоси.

Полиадениллаш – полиаденил кислота изчиллигининг эукариот РНК 3-учига унинг синтези тугаганидан сўнг бирикиши.

Полиплоидия – организм гаплоид хромосомалар йиғиндисининг каррали ортиши билан боғлиқ бўлган ирсий ўзгарувчанлик.

Пролиферация – ҳужайра ва тўқималарнинг кўпайиш йўли билан ҳосил бўлиши.

Промотор – геннинг транскрипцияси бошланиши учун жавобгар қисми.

Пронуклеус – уруғланган тухум ҳужайра ядроси.

Протон помпаси – махсус оқсиллар ёрдамида протонларнинг ҳужайра мембранаси орқали ўтиш жараёни.

Протопласт – механик йўл билан ёки ферментлар ёрдамида ҳужайралар қобиғидан маҳрум қилинган, мембрана ёрдамида шаклини ушлаб турувчи ўсимлик ҳужайраси.

Профаг – бактерия хромосомасига ўрнашган фаг геноми. Лизоген бактериялардан яширинган, юқмайдиган шаклдаги мўътадил бактериофаг.

Процессинг – етилиш жараёни бўлиб, унда бирламчи РНК- транскрипт модификацияси учрайди ва етилган РНКга айланади.

Регенерация – ҳужайралар тикланиши.

Рекомбинант ген – турли генлар компонентларидан таркиб топган ген.

Рекомбинант ДНК – турли манбалардан олинган ДНК қисмларидан иборат ДНК.

Рекомбинация – кроссинговер натижасида ота-оналар генларининг қайта гуруҳланиши (табақаланиши).

Репарация-ДНКнинг синтези вақтида ҳамда ҳар хил физик ва кимёвий омиллар таъсирида ДНК молекуласи узилиб қолган ёки шикастланган молекулаларни тузатишга бўлган ҳужайраларнинг махсус вазифаси.

Репрессия-ген экспрессиясини ва ёхуд ўшанга тааллуқли фермент синтезини тўхтатиш механизми.

Репрессор-маълум оперонда РНК синтезини тўхтатадиган бошқарувчи оқсил.

Рестриктазалар - кесувчи ферментлар, рестрикция ферментлари, ДНКни маълум бир нуклеотидлар қаторида кесадиган ферментлар. Ген муҳандислигида қўлланиладиган восита.

Ривожланиш детерминацияси – бошқа йўналишлардаги ривожланиш имкониятининг чеклаш билан бир вақтда борадиган организм, орган, тўқима ва ҳужайранинг муайян йўл билан ривожланишга тайёргарлик ҳолати. Детерминация даврида ривожланишнинг янги йўналиши учун ички зарурий шароитлар яратилади.

Ривожланишнинг ювенил фазаси – уруғ ёки вегетатив куртақдан вегетатив органларнинг репродуктив органлар ҳосил қилишга қобилятини намоён бўлишига қадар ўсиши ва ривожланиши.

Ризосфера-илдиз атрофидаги тупроқнинг микрофлораси-микроорганизмларнинг кўплиги билан фарқланадиган 2-3 мм қалинликдаги илдиз атрофида жойлашган тупроқ қатлами.

РНК – таркибига нуклеотидлар (аденин, гуанин, цитозин, урацил), рибоза ва фосфор кислотаси қолдиқлари кирувчи рибонуклеин кислота молекуласи.

РНК блоттинги - РНКни агарозали гелдан нитроцеллюлда филтрига комплементар ДНК билан дурагайлаш учун олиниши.

Сайт-ўрин, жойланиш-генлар харитасидаги нуқтали мутация ўрни.

Саузерн бўйича ДНК блоттинги-денатурланган ДНКни комплементар нуклеотид кетма-кетлик билан дурагайлаш учун агарозали гелдан нитроцеллюлда филтрга олиниши.

Сегмент-карж, бўлак.

Секвенирлаш-кетма-кетликни аниқлаш, секвенирлаш-оқсилдаги аминокислота қолдиғини ва нуклеин кислоталардаги нуклеотидларнинг кетма-кетлигини аниқлаш.

Селекция-танлаш-хайвон, ўсимлик ва микроорганизмларнинг янги зотлари, навлари ва штаммларини яратиш усули.

Синергизм – моддалар, жараёнлар ва бошқа омилларнинг ҳамкорликдаги таъсирини оширувчи самара.

Скрининг-битта хужайрадан клон олиш йўли билан микроорганизмларнинг аралаш популяциясидан керагини ажратиш.

Сомаклонал вариабеллик – култураланган соматик хужайралардан регенерацияланган ўсимликлардаги хусусиятларнинг ўзгариб туриши.

Сомаклонлар – бошланғич шаклларида муайян фарқлар билан фарқланувчи соматик хужайралардан олинган регерант ўсимликлар.

Соматик дурагай – соматик хужайралар қўшилиши (дурагайланиши) орқали олинган регерант ўсимлик.

Соматик дурагайлаш – жинсий жараёндан ташқарида ядро ва органеллалар генлари ва хромасомаларни генетик рекомбинацияга чақириш жараёни.

Соматик эмбриогенез – хужайра ва тўқималар културасида муртаксимон структуралар (эмбрионидлар) ҳосил бўлиш жараёни.

Стимуляторлар -ўсимликларнинг ўсишини кучайтирувчи омил-ўсимликларнинг ўсишини, хужайраларнинг бўлинишини тезлаштирадиган, кучайтирувчи моддалар.Улар табиий ёки синтетик ҳолда бўлиши мумкин. Табиийлари ауксинлар, гибберелинлар ва цитокининлар.

Стресс оқсиллар – ноқулай шароитларда организм томонидан синтезланувчи ва стресс омилларнинг организмга зарали таъсирини камайитириш имконини берувчи махсус оқсиллар.

Суббирлик – оқсил молекулаларини ташкил этувчи (тўртламчи структураси) оқсил глобулалари.

Субкултуралаш – трансплантларни (инокулумларни) бошқа културал идишга янги озиқа муҳитига ўтказиш.

Субстрат-озука муҳит-микроорганизмларнинг ўсиши учун керак бўлган озука муҳити.

Термодинамик тизим – энергияни ютиш, қайта ҳосил қилиш, тўплаш ва фойдаланиш хусусиятига эга ўзаро боғлиқ элементлар комплекси.

Тотипотентлик – муайян ўстириш шароитида ўсимликлар соматик ҳужайраларининг ўзининг онтогоник ривожланиши ирсий дастурини тўлиқ амалга ошириш.

Трансгенез – турли векторлар ёрдамида донор, бегона генларни реципиент ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар ҳужайрасига киритиш жараёни. Трансдукцияга мойил фаглар ёрдамида генетик ахборотни бактерия ҳужайрасидан эукариотлар ҳужайрасига сунъий йўл билан ўтказиш.

Трансдукция-бактериофаглар ёрдамида генетик материални донор ҳужайрадан реципиент ҳужайрага олиб ўтиш.

Транскрипция – РНК полимераза ферменти ёрдамида ДНК матрицасида РНК-нусхасининг ҳосил бўлиши.

Трансляция – ахборот, транспорт РНКси ва бошқа омиллар иштирокида рибосомаларда оқсиллар синтези.

Трансплант (инокулюм) – каллус (супензияли) културасининг бошқа янги озиқ муҳитига кўчириб ўтказишда фойдаланиладиган қисми.

Транспозонлар-ДНКнинг бир бўлаги бўлиб, молекула ичида бир жойдан иккинчи жойга ва бир молекуладан иккинчисига ўтишга қодир.

Трансформация-алоҳида ажратилган ДНК ёрдамида ҳужайрага генетик ахборотни киритиш. Трансформация ёрдамида олинган ҳужайрада ва ундан кейинги авлодларда янги белгилар ДНК ёрдамида олинган манбадагига ўхшаган бўлади.

Урацил-РНК таркибига кирадиган пиримидин асоси.

Ўсимликларни гормон тизими – фитогормонлар, уларнинг рецепторлари ваиккиламчи воситачиларидан иборат регулятор комплекс.

Фаглар-микроорганизмлар ичига кириб, унда кўпайиб, кейин уларни эритиб юборувчи вируслар.

Фаоллаштириш-1) фаолликни кўзғатиш ва кучайтириш; 2) молекулалар фаоллигини кўзғатиб кимёвий реакцияга киришни тезлатиш.

Фенотип-организмларнинг ривожланиши жараёнида юзага келган ҳамма белги ва хусусиятлар йиғиндиси.

Ферментер-айрим хомашёларни микроорганизмлар ёрдамида бижғитиш учун ишлатиладиган ҳамма томони берк асбоб.

Ферментлар-биологик тезлаткичлар, энзимлар-оксилнинг ўзига хос тури; тирик ҳужайраларда ҳам тезлаткич ролини бажаради.

Фитоалексинлар – ўсимликларнинг касалликларга қарши чидамлилиқ тизимининг патогенлар ривожланишини пасайтирувчи генотипик ва реал компонентлари.

Фитогормонлар биосинтези йўлларининг ажралиши – ташқи шароит комплекси билан аниқланган бир неча фитогормонлар учун асос бўлган ораликдан у ёки бу фитогормоннинг бир неча фитогормонларнинг ферментатив биосинтези йўли.

Фиторегуляторлар – ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишига таъсир этувчи, ўғитлар ва гербицидлар таъсирига эга бўлмаган табиий ва сунъий препаратлар.

Фосфобактерин-фосфор органик бирикмаларни парчалаш хусусиятига эга бўлган бактериялардан ташкил топган бактерияли ўғит.

Фотосинтез-ёруғлик энергияси иштирокида ўсимликлар, сувўтлари ва айрим бактериялар ҳужайраларида CO_2 дан органик моддалар ҳосил бўлиш жараёни.

Фрагментлар-парчалар, қисмлар.

Хемосинтез-айрим микроорганизмларга хос бўлган озикланиш тури. Улар айрим анорганик моддалар (масалан, водород сульфат)ни оксидланиш натижасида ҳосил бўлиб, энергия ҳисобига анорганик моддалардан (масалан, кўмир кислотаси ва сув) органик моддалар ҳосил бўлади.

Хромосомалар – ДНК ва оксиллардан иборат хужайра ядросини генетик структура ҳосиласи. Хромосомаларда организмнинг ирсий ахбороти берилган.

Хужайралар селекцияси – селектив шароитлар ёрдамида генетик модификацияланган мутант хужайралар ва сомоклонал вариантлар ажратиш усули.

Центрифуга-ажраткич, чўктиргич-марказдан қочиш кучига асосланган турли хил аралашмаларни қисмларга ажратувчи асбоб; аналитик (лаборатория) ажраткич; тебранувчи ажраткич; горизонтал ажраткич; буғлантирувчи ажраткич; чўктирувчи ажраткич; тиндирувчи ажраткич; препаратив ажраткич; ўз-ўзини бўшатадиган ажраткич; сузиш йўли билан ишлайдиган ажраткич; кўп бўлимли ажраткич; ўта тез айланадиган ажраткич; табақалаштирувчи, тафовутли ажраткич.

Цитозин-ДНК ва РНК таркибида бўлган пиримидин асоси.

Эксплант – озиқа муҳитида инкубация қилинаётган тўқима ёки орган, ёки каллус тўқимаси олиш учун фойдаланиладиган фрагментлар.

Электропорация – хужайра мембранасида қўшимча тешикларни ҳосил қилишга ёрдам берувчи электр токи ёрдамида хужайрага генларни киритиш усули.

Электрофорез-электр майдони ёрдамида аралашмаларнинг бир жойдан иккинчи жойга ўтиши, бўлақларга ажратиш.

Эндонуклеазалар-фосфодиэфир боғларининг ўзига хос бўлмаган парчаланиши орқали нуклеин кислоталарини парчаловчи ферментлар. ДНКни пурин ёки пиримидин қисмларидан кесувчи ферментлар.

In vitro – тирик материални пробиркада сунъий озиқа муҳитларда стерил шароитда ўстириш.

In vivo – тирик материални табиий шароитда ўстириш.

МУНДАРИЖА

КИРИШ	бет
I боб. Ген муҳандислиги асослари	
Молекуляр генетика ва молекуляр биология ген муҳандислигининг асосий пойдевори.....	
Ген муҳандислиги ферментлари.....	
ДНК бўлақларини қирқиш ва рестрикцион хариталарни тузиш (физикавий хариталаш).....	
Ген муҳандислигида замонавий технологиялар.....	
II боб. Ўсимликларнинг генетик муҳандислиги	
Агробактериялар асосида ўсимликлар трансформацияси.....	
Ўсимлик хужайралари трансформацияси усуллари.....	
Ўсимлик геномига бегона генларнинг экспрессияси.....	
Биотехнологияда ген муҳандислиги усуллари ёрдамида симликларнинг сифат кўрсаткичларини яхшилаш ва ҳосилдорлигини ошириш.....	
Стресс таъсирларга бардошли трансген ўсимликлар олиш.....	
Зараркунанда ҳашаротларга бардошли трансген ўсимликлар яратиш.	
Замбуруғ, бактерия ва вирусли инфекцияларга чидамли трансген ўсимликлар олиш.....	
Гербицидларга чидамли трансген ўсимликлар олиш.....	
Ўсимликлар ген муҳандислигининг ҳал этилмаган муаммолари.....	
III боб. Ўсимликшунослик ва селекцияда хужайра ҳамда тўқималар биотехнологияси	
Хужайра ва тўқимлар култураси.....	
Ўсимлик хужайра ва тўқималарини <i>in vitro</i> культурлаш техникаси.....	
Каллус тўқималари култураси.....	

Гормонга боғлиқ бўлмаган ўсимлик тўқималари.....	
Ҳужайралар суспензияси култураси.....	
Якка ҳужайралар култураси.....	
Каллусли тўқималарда морфогенез.....	
Иккиламчи синтез моддаларни олишда каллус ҳужайралари култураси.....	
Ўсимликларни клонли микрокўпайтириш.....	
Ўсимликлар селекциясида алоҳида ажратилган ҳужайра ва тўқималар култураси.....	
VI боб. Биотехнология ва ўсимликшуносликда фитогормонлар ҳамда ўсимликларни ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар.....	
Ўсимликларнинг гормон тизими.....	
Фитогормонлар классификацияси, структураси ва функцияси....	
Ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи сунъий регуляторлар.....	
Биотехнологияда ўсимликларни ўсишини ва ривожланишининг бошқарувчи фитогормон ва сунъий регуляторлар.....	
Гормон статуси ўзгартирилган трансген ўсимликлар олиш.....	
Фитогормон ва фиторегуляторларни олишнинг биотехнологик усуллари.....	
Ўсимликшуносликда фитогормон ва ўсишни бошқарувчи регуляторлар.....	
Ўсимликшунослик ва биотехнологияда фиторегуляцияни ўрганиш ва қўллашнинг ривожланиш истикболлари.....	
V боб. Тупроқ унумдорлигини оширишда биотехнология.....	
Қишлоқ хўжалиги амалиётида ризобактериялар асосидаги микроб препаратларидан фойдаланишнинг аҳамияти.....	
Тупроқ унумдорлигини оширишда микробиологик препаратлар	

ишлаб чиқариш технологияси.....	
Ризосфера микроорганизмлари асосида биопрепаратлар ишлаб чиқариш.....	
Ўзбекистонда ишлаб чиқариладиган микробиологик препаратлар.....	
Симбиотик азотни ўзлаштирилишида биотехнологиянинг генетик асослари.....	
Азотни ўзлаштирувчи тизимларнинг хилма-хиллиги ва ўзига хослиги.....	
Ўсимликларнинг цианобактериялар билан симбиоз муносабати...	
Азотни ўзлаштирувчи симбиотик биотизимлар генетик асослари ва эволюцияси концепцияси.....	
VI боб. Ўсимликларни химоя қилишда биотехнология.....	
Ўсимлик касалликларига қарши курашда биотехнологик усуллардан фойдаланиш истиқболлари.....	
Қишлоқ хўжалик экинлари зараркунанда ҳашаротларига қарши кураш усуллари. Бактериал препаратлар.....	
Вирусли энтомопатоген препаратлар.....	
Замбуруғлар асосида олинадиган энтомопатоген препаратлар.....	
Ўсимлик зараркунада ҳашаротларига қарши курашда биологик фаол моддалардан фойдаланиш.....	
Бегона ўтларга қарши кураш усуллари.....	
VI боб. Аграр ишлаб чиқаришда биотехнология ва биомухандислик ютуқларидан фойдаланиш.....	
Селекция ва ўсимликшунослик.....	
Чорвачилик.....	
Ветеринар тиббиёт.....	
Қишлоқ хўжалик микробиологияси.....	
Қишлоқ хўжалик маҳсулотларини сақлаш ва қайта ишлаш.....	
Биоконверсия ва биоэнергетика.....	

ОГЛАВЛЕНИЕ

Глава 1. Введение. Основы молекулярной биологии и молекулярной генетики.

Молекулярная биология и молекулярная генетика – фундаментальная основа генетической инженерии.....

Ферменты генетической инженерии....

Разделение фрагментов ДНК и построение рестрикционных карт (физическое картирование)....

Глава 2. Генетическая инженерия растений.....

Трансформация растений с помощью агробактерий.....

Методы трансформации растительных клеток.....

Экспрессия чужеродных генов в геноме растений.....

Улучшение качества и повышение продуктивности растений методами генной инженерии.....

Получение трансгенных растений, устойчивых к стрессовым воздействиям.....

Получение трансгенных растений, устойчивых к насекомым.....

Получение трансгенных растений, устойчивых к грибной, бактериальной и вирусной инфекции.....

Получение трансгенных растений, устойчивых к гербицидам.....

Нерешенные проблемы генной инженерии растений.....

Глава 3. Клеточная и тканевая биотехнология в селекции и растениеводстве.....

Култура клеток и тканей.....

Техника введения в культуру *in vitro* и культивирование изолированных клеток и тканей растений.....

Култура каллусных тканей.....

Гормононезависимые растительные ткани.....

Култура клеточных суспензий.....	
Култура одиночных клеток.....	
Морфогенез и каллусных тканях.....	
Култура каллусных клеток в получении веществ вторичного синтеза	
Клональное микроразмножение растений.....	
Култура изолированных клеток и тканей в селекции растений.....	
Глава 4. Фитогормоны и синтетические регуляторы роста и	
развития растений в биотехнологии и растениеводстве.....	
Гормональная система растений.....	
Синтетические регуляторы роста и развития растений.....	
Фитогормоны и синтетические регуляторы в биотехнологии растений.	
Биотехнологические методы получения фитогормонов и	
фиторегуляторов.....	
Фитогормоны и регуляторы в растениеводстве.....	
Перспективы развития исследований и применение фиторегуляции в	
биотехнологии и растениеводстве.....	
Глава 5. Биотехнология повышения плодородия почв.....	
Разнообразие и основные свойства азотфиксирующих систем.....	
Бобово-ризобияльный симбиоз.....	
Симбиозы растений с цианобактериями.....	
Концепция генетических основ и эволюции азотфиксирующих	
симбиотических систем.....	
Глава 6. Биотехнология в защите растений.....	
Перспективы применения биотехнологических методов в защите	
растений от болезней.....	
Методы борьбы против насекомых–вредителей сельскохозяйственных	
растений.....	
Бактериальные препараты.....	
Вирусные энтомопатогенные препараты.....	
Энтомопатогенные препараты грибного происхождения.....	

Использование биологически активных веществ в борьбе против насекомых-вредителей.....	
Глава 7. Применение достижений биотехнологии и биоинженерии в агропромышленном производстве.....	
Общие положения.....	
Селекция и растениеводство.....	
Животноводство.....	
Ветеринарная медицина.....	
Сельскохозяйственная микробиология.....	
Переработка и хранение сельскохозяйственной продукции.....	
Биоконверсия и биоэнергетика.....	

CONTENT

Chapter 1. Introduction. Molecular biology and molecular genetics foundation.....

Molecular biology and molecular genetics – Fundamental bases of genetic engineering.....

Genetic engineering enzymes.....

DNA fragments disintegration and creation of restriction maps (physical mapping).....

Chapter 2. Genetic engineering of plants.....

Transformation of plants using agrobacteria.....

Methods of plant cells transformation.....

Expression of foreign genes in genome of plants

Improvement of quality and productivity of plants using gene engineering methods.....

Development of transgene plants resistant to stress actions.....

Development of transgene plants resistant to insects.....

Development of transgene plants resistant to fungal, bacterial and virus infection.....

Development of transgene plants resistant to herbicides.....

Non – solved of plant gene engineering.....

Chapter 3. Cell and tissue biotechnology in plant breeding and plant production.....

Cell and tissue culture.....

Technique of introduction in culture and cultivating isolated cell and tissues of plants.....

Callus tissue culture.....

Hormone –independent plant tissues.....

Culture of cell suspensions.....

Culture of single cells.....

Morphogenesis in callus	
tissues.....	
Culture of callus tissues in obtaining substances of secondary synthesis.....	
Clonal micro-propagation of plants.....	
Culture of isolated cells and tissues in plant breeding.....	
Chapter 4. Phytohormones and synthetic regulators of plants growth and development in biotechnology and plant breeding.....	
Plants hormone system.....	
Synthetic regulators of plants growth and development.....	
Phytohormones and synthetic regulators in plants biotechnology.....	
Biotechnological methods of phytohormones and phyto regulators production.....	
Phytohormones and phyto regulators in plants breeding.....	
Perceptivity of investigations. Development and usage of phyto regulation in biotechnology and plants breeding.....	
Chapter 5. Genetic basics in symbiotic nitrogen fixation.....	
Diversity and properties of nitrogen fixation systems.....	
Leguminous – rhizoidal symbiosis.....	
Symbiosis of plants with cyanobacteria.....	
Concepts for genetic and evolutionary backgrounds of nitrogen fixation symbiotic biosystems.....	
Chapter 6. Biotechnology in plants protection.....	
Perceptivity of biotechnological methods of implementation in plants protection against diseases.....	
Methods of control against harmful in agricultural plants.....	
Bacterial preparates.....	
Virus entomopathogenic preparates.....	
Enhomopatogenic preparates of fungal origin.....	

Usage of biological active components in struggle against harmful insects.....

Chapter 7. Using achievements of modern biotechnology and bioengineering agro-industrial production.....

General aspects.....

Plant breeding and plant production.....

Animal husbandry.....

Veterinary medicine.....

Agricultural microbiology.....

Processing and storage of agricultural products.....

Bioconversion and bioenergy.....

Glossary.....