

R. ARTIKOVA, S. MURODOVA

QISHLOQ XO‘JALIK BIOTEXNOLOGIYASI



**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA
MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

RA'NO ARTIKOVA, SAYYORA MURODOVA

QISHLOQ XO'JALIK BIOTEXNOLOGIYASI

*O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi
tomonidan darslik sifatida tavsiya etilgan*

TOSHKENT – 2010

ik
ra
a,
ib
la
t,
k

i,
k
g.
ii

a
g
a
t
c
i

631.5
A-80

**R.Artikova, S.Murodova. Qishloq xo'jalik biotexnologiya:
Darslik. –T.: «Fan va texnologiya», 2010, 252 bet.**

Ushbu darslik qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlarining o'simlikl himoyasi va karantini, qishloq xo'jaligi ekinlari seleksiyasi va urug chiligi agrokimyo va agrotuproqshunoslik, agronomiya (dehqonchil mahsulotlari bo'yicha), qishloq xo'jalik mahsulotlarini yetishtiris saqlash va ularni dastlabki qayta ishlash texnologiyasi, kasb ta'lim o'rmonchilik va meva-sabzavotchilik bakalavr yo'nalishlari va magistr. tura mutaxassisliklari talabalari uchun mo'ljallangan.

Darslik O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lii vazirligining qishloq xo'jalik oliy o'quv yurtlari uchun Davlat ta'lii standartlari va o'quv dasturlariga mos yozilgan. Mazkur darslik Davl. tilida birinchi marta chop etilayotganligi sababli talabalarga ushb fandan nazariy bilimlarni va ma'ruza darslarini mustaqil o'zlashtirishig to'liq imkoniyat yaratib beradi.

Darslikda gen muhandisligi asoslari, o'simliklarning geneti muhandisligi, o'simlikshunoslik va seleksiyada hujayra hamda to'qi malar biotexnologiyasi, biotexnologiya va o'simlikshunoslikda fitogor monlar hamda o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvch sun'iy regulatorlar, tuproq unumdorligini oshirishda, o'simliklarn himoya qilishda biotexnologiyaga oid masalalar yoritilgan. Bundar tashqari darslikda olingan bilimlarni mustahkamlash uchun nazora savollari va ba'zi tayanch iboralar izohi keltiriladi.

Taqrizchilar: **A.Sh.Sheraliyev** – Toshkent Davlat agrar universiteti Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi va fitopatologiyas. kafedras. professori, biologiya fanlari doktori;
A.S. Imomxodjayeva – O'z RFA Botanika IICHM ilmiy ishlar bo'yicha direktor muovini, biologiya fanlari nomzodi

ISBN 978-9943-10-369-6

SamQXI Axborot
«Fan va texnologiya» nashriyoti, 2010.
resurs markazi
Inv No 360277

1. KIRISH

Biotexnologik jarayonlar qadim davrlardanoq insonning kundalik ehtiyojlari (non yopish, qatiq, pivo, vino, sirka kislotasi tayyorlash va h.k.) dan kelib chiqqan holda, bilib-bilmay ishlatilib kelingan bo'lsa-da, fundamental fan sifatida XX asrning ikkinchi yarmidan boshlab shakllanib bordi. Bugungi kunga kelib, biotexnologiya insoniyat oldida turgan eng dolzarb muammolarni (ekologiya, oziq-ovqat, tibbiyot, energetika va h.k.) yechimiga bog'liq barcha fanlarga yetakchilik qilmoqda.

Zamonaviy biotexnologiya bir necha fanlar: mikrobiologiya, molekular biologiya, genetika, biokimyo, organik, anorganik, analitik kimyo, muhandislik fanlari yutuqlari asosida dunyoga keldi. Shuning uchun ham u ko'ptarmoqli ilmiy-amaliy yo'nalish bo'lib, uning asosini biologiya va muhandislik fanlari tashkil etadi.

Zamonaviy biotexnologiya 1953-yilda Džeymz Uotson (AQSH) va Frensis Kriklar (Angliya) ning DNK molekulasini qo'sh spiralining fazoviy tuzilishi to'g'risidagi kashfiyotidan so'ng boshlandi. 1972-yilda Pol Berg rahbarlik qilib turgan laboratoriyada DNKning rekombinant molekulasi sintez qilingandan keyin biotexnologiyada yangi strategik yo'nalish paydo bo'ldi. Bu esa zamonaviy biotexnologiya fanida inqilobiy burilish yasadi.

Yuksak kashfiyotlar oralig'idagi tadqiqotlar mashhur olimlar G.Boyer, S.Koen, D.Morr, A.Bayev, A.Belozerskiy, O.Eyveri, G.Gamov, K.Koran, F.Jakob, J.Mono, J.Bekvist, Yu.Ovchinnikov, A.Spirin, R.Petrov va boshqalar tomonidan genlar va fermentlarning identifikatsiyasi, o'simlik, mikroob, hayvon hujayralaridan DNK molekulasini ajratish, genetik kodning o'qilishi, prokariot va eukariotlarda genlarning ekspressiya mexanizmlari, oqsil biosintezining kashf etilishiga bog'liq ishlar bilan to'ldirildi.

O'tgan asrning 50- yillariga kelib, biotexnologiyada yana bir muhim yangi yo'nalish – hujayra muhandisligi vujudga keldi. Uning asoschilari P.F.Uayt (AQSH) va D.Gotre (Fransiya)lardir. Ularning bu yo'nalishning davomchilari sifatida A.Kursanov, R.G.Butenkolar (Rossiya) tomonidan yaratilgan maktabga juda ko'plab yosh mutaxassislarni jalb

etish orqali amalga oshirilgan sohaga oid tadqiqotlarini ko'rsatish mumkin.

Gen va hujayra muhandisligi zamonaviy biotexnologiyaning asosiy yo'nalishlarini belgilab berdiki, undagi usullar o'tgan asrning 80-yillarida juda rivojlanib, fan va ishlab chiqarishning ko'plab sohalarida keng qo'llanila boshlandi.

Biotexnologiya fan sifatida mohiyatiga ko'ra, zamonaviy va an'anaviy (klassik) biotexnologiyaga bo'linadi.

[Zamonaviy biotexnologiya (biomuhandislik) gen va hujayra muhandisligi usullari orqali genetik transformatsiya (modifikatsiya) qilingan o'simlik, hayvon va mikroorganizmlardan ishlab chiqarishni jadallashtirish, turli xil maqsadlarga mo'ljallangan mahsulotlarning yangi turlarini tayyorlash texnologiyalarini yaratish va ulardan foydalanish to'g'risidagi fandidir.]

An'anaviy biotexnologiyani, oddiy, notransgen o'simlik, hayvon va mikroorganizmlardan (tabiiy va seleksion yo'l bilan olingan) foydalanib, tabiiy va sun'iy sharoitlarda qishloq xo'jalik va boshqa xil mahsulotlarni ishlab chiqarish, aqlash va qayta ishlash, ularni tashish va saqlash texnologiyalarini nazariy va amaliy jihatdan o'rganish va ularni qo'llashni o'z ichiga olgan fan deb ham qarash mumkin.

Zamonaviy biotexnologiyaning yirik yutuqi genetik transformatsiya yo'nalishi bo'lib, tabiiy va sun'iy yaratilgan donor genlarni kiritib, yangi xususiyatga ega bo'lgan belgi va xususiyatlarga ega transgen organizmlar yaratish uchun bog'liq. Mazkur yo'nalish o'z maqsad, mohiyati va ilmiy asoslariga ko'ra, kelajakdagi strategik yo'nalishlardan biri bo'lib hisoblanadi. U o'z tashqi muhitning noqulay, stress omillariga chidamli, qimmatli mahsuldor va sifatli o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar yaratish, tabiiy va ishlab chiqarishning barcha sohalaridagi ekologik va iqtisodiy bog'lanishtirish borasidagi mutlaqo yangi muammolarni ijobiy hal etish imkonini yaratadi.

Bunday maqsadlarga erishish ba'zi qiyinchiliklarni hal qilish bilan uzviy bog'liqdir. Bu eng avvalo, genlarni identifikatsiya qilish va klonlash, ularning xususiyatlarini yaratish, biologik obyektlarning belgi va xususiyatlarini poligen determinatsiyasi mexanizmlarini mukammal o'rganish, ishonchli va qimmatli mahsulotlarni yaratish va genlar ekspressiyasining yuqori darajada ta'minlaniligini ta'minlash kabi muammolarni bartaraf etishni talab etadi. Bunday muammolarda dunyoning ko'plab mamlakatlarining ixtisoslashtirilgan ilmiy va texnologiyalarida mutlaqo yangi xildagi

transgen o'simlik, hayvon va mikroorganizm turlari yaratilgan va tijorat maqsadlarida qo'llanilib kelinmoqda.

Hujayra biotexnologiyasi hujayralarning nodir xususiyati – ularning totipotentligi, o'stirishning ma'lum sharoitida somatik hujayrani o'z xususiyatini to'liq amalga oshirishi yaxlit o'simlik sifatida yetila olish xususiyati, shuningdek, yaratilgan o'simliklarni ikkilamchi sintez mahsulotlarini ishlab chiqara olish xususiyati; seleksiyada esa chidamlilik, hosildorlik va sifat uchun javobgar bo'lgan qimmatli genotiplarning ko'payishi; o'simliklarni virus va viroidlardan ozod qilish; tibbiyot va oziq-ovqat muammolarini yechishda qo'llaniladigan biologik faol preparatlarni tayyorlashda foydalaniladigan qishloq xo'jalik o'simliklarining yangi nav va liniyalarini yaratish imkonini berdi. Bu sohada anchagina qiyinchiliklar ham yuzaga keldi. Masalan, hujayralar qayta tiklanishi (regeneratsiyasi)ni kamaytib ketishi va organizmning normal ontogenezining buzilishi, somoklonal variatsiyalarning xilma-xilligini ortligi, organizmlarning muhim, qimmatli xo'jalik ahamiyatiga molik bo'lgan belgilar va ikkilamchi reproduktiv moddalarining sintezini nazorat qilish uchun genlar ekspressiyasining pasayib ketishi kabi jarayonlar shular jumlasidandir.

Dunyo fanida biotexnologiya bo'yidagi ilmiy yutuqlar o'tgan asrning 80-yillarida ro'y berdi. 1970-1980-yil yillarida ulardan ilm-fan va amaliyotda samarali foydalanishni ta'minlashni maqsad qildi. Ilmiy asoslarga ko'ra, XXI asrning boshlari yuqori dunyo bo'yicha kelib tushadigan mahsulotlar umumiy hajminin qariyb 50% ini biotexnologik mahsulotlar tashkil etadi.

Mamlakatimizda biotexnologiyani organik va unorganik qismlaridan ilmiy – tadqiqot ishlarida hamda amaliyotda foydalanish masalalari o'tgan asrning 70-80-yillarida shakllana boshlagan edi.

Bugungi kunga kelib qishloq xo'jalik biotexnologiyasi sohasidagi ko'plab ilmiy izlanishlar va amaliy tadqiqotlar bir qator olimlar, mutaxassislar tomonidan izchil davom ettirilmoqda.

Bu borada O'ZR FA Mikrobiologiya, Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi, O.S.Sodirov nomidagi Bioorganik kimyo instituti, M.Ulug'bek nomidagi Qizhekiston Milliy universiteti, Toshkent Farmasevtika instituti, Tashkent biotexnologiyalar instituti va boshqa bir qator o'quv yurtlari hamda Davlat ilmiy-texnikaviy va fundamental tadqiqotlar dasturlari doirasida mintaqamizda biotexnologiya, ayniqsa, o'simlik, hayvon biotexnologiyasi sohasida olib borilayotgan ilmiy izlanishlar mikroorganizmlarning tarqalish qonu-

niyatlarini o'rganish, ular orasidan xalq xo'jaligi uchun o'ta zarur bo'lgan turlari va turkumlarini ajratib olish orqali mikroorganizmlar to'plamini yaratish, ularning eng faol turlari asosida yangi raqobatbardosh biotexnologiyalar yaratish, mikroblar sintez qiladigan fiziologik faol moddalarni (antibiotiklar, vitaminlar, oqsil moddalar, fermentlar, fitogormonlar va h.k.) sof holda ajratib olish, ularning fizik-kimyoviy xususiyatlarini o'rganish bo'yicha chuqur ilmiy izlanishlar olib borilmoqda.

Bir qator yangi, ekologik toza, import o'rmini bosa oladigan, eksportga mo'ljallangan, raqobatbardosh biologik o'g'itlar «Yer malhami», «Bioo'g'it», «FMGK», «Mikrobl o'g'it», «Bist» kabi biopreparatlarni ishlab chiqarish texnologiyalari yaratildi va ular mamlakatimizda keng sinovdan o'tkazilib, qator ijobiy natijalarga erishildi.

Bundan tashqari, har xil o'simliklarni kasallantiruvchi (fitopatogen) mikroblarga qarshi, jumladan o'simliklar immun tizimini oshiruvchi hamda g'o'zani vilt, ildiz chirish va gommoz kasalliklaridan himoya qiluvchi bir qator biopreparatlar ishlab chiqarish ham yo'lga qo'yilgan. Biopreparatlar Toshkent, Andijon, Namangan, Qashqadaryo va Surxondaryo, Xorazm viloyatlari va Qoraqalpog'iston avtonom Respublikasi xo'jaliklarida sinab ko'rilgan va amaliyotga keng tatbiq qilish uchun tavsiya etilgan.

O'simliklarni zararkunanda hasharotlardan asrash bo'yicha, kolorado qo'ng'izi, barg o'rovchi hasharotlar, amerika oq kapalagi, har xil kuyalar, o'tloq parvonasi kabi o'ndan ortiq zararkunanda hasharotlarga qarshi bioinsektisidlar ishlab chiqarilgan va sinovdan o'tkazilgan.

Tuproq sho'rlanishi sabablarini aniqlash va uni bartaraf qilish uchun mikroorganizmlardan foydalanish, o'simliklar o'sishi va rivojlanishini boshqarish yo'llarini izlab topish va boshqa sohalar bo'yicha olib borilayotgan, katta salohiyatga ega bo'lgan ilmiy va amaliy izlanishlar fikrimizning dalilidir.

Seleksioner mutaxassislarning qishloq xo'jalik ekinlarini kompleks xususiyatga ega nav va gibridlarni yaratishdagi faqat an'anaviy seleksion usullarga asoslangan barcha urinishlari ham kutilgan natijalarni bermadi. Uzoq turlarni gibridizatsiyasiga asoslangan transgressiv seleksiyadan foydalanish esa tashqi muhitning stress omillariga chidamli madaniy o'simliklar olishdagi ayrim muammolarni hal etish imkonini berdi. Biroq bu muammo hanuzgacha dolzarbligicha qolmoqda.

Kelajakda iqlimning keskin o'zgarishlari taxmin qilinayotgan bir davrda u yanada jiddiy tus olishi mumkin.

Mazkur yo'nalishda biotexnologlar, hujayra, gen muhandislari amalda qanday ishlarni olib borishmoqda va nimalarga qodir?

Ular yangi va eng yangi biotexnologik usullardan foydalanib, yaxshilangan yoki tamomila yangi sifatlarga ega tashqi muhitning biotik va abiotik omillariga chidamli yakka, bir guruh, kamdan-kam hollarda kompleks belgilarga ega qator o'simlik genotiplarni ishlab chiqishdi.

Bu muammoning yechimini topishda genetik, biotexnolog va seleksioner olimlarning xatti-harakatlari tashqi muhitning biotik va abiotik stress omillarga chidamlilikni belgilovchi asosiy belgilarni determinatsiyalovchi samarali genlarni aniqlashga qaratilgan. Mazkur murakkab vazifani dunyoning ko'plab genetik tadqiqotlar olib boriladigan markazlari va laboratoriya mutaxassislari, jumladan O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi («Biolog» ilmiy-ishlab chiqarish markazi), O'zbekiston axtachilik ilmiy tadqiqot instituti («Paxta» ilmiy-ishlab chiqarish markazi), O'zbekiston g'o'za seleksiyasi va urug'chiligi ilmiy tadqiqot instituti, O'zbekiston sholichilik ilmiy tadqiqot instituti, O'zbekiston sabzavot-poliz va kartoshkachilik ilmiy tadqiqot instituti, Shreder nomidagi O'zbekiston mevachilik, uzumchilik ilmiy tadqiqot instituti, Botanika IChB, Toshkent Davlat agrar universiteti, Samarqand qishloq xo'jalik instituti olimlari o'simlik resurslarini to'plab, ularni o'rganish va ulardan foydalanish asosida bajarib kelmoqdalar. Buning uchun birinchi navbatda o'simliklarning chidamlilik belgilari aniqlangan va o'rganilgan manbalar seleksiya markazlarida aniqlangan hamda yaratilgan donorlaridan foydalaniladi.

O'zbekistonda biotexnologiya o'simliklar seleksiyasining asosiy usullari bilan birga zamonaviy usullar, gen muhandisligi, molekular xaritalash, xo'jalik ahamiyati qimmatli genlarni ajratib olish, hujayra va to'qimalar kulturasi kabi sohalar asosida rivoj topmoqda.

O'zbekistonda olib borilayotgan biotexnologiyaga oid tadqiqotlarda g'o'za o'simligi asosiy o'rinni egallaydi. Bu borada mazkur o'simlikning urug'murtak va hujayralar kulturasidan foydalanib, in vitro sharoitida yangi samarador navlarini olishda fundamental, amaliy tadqiqotlar amalga oshirilmoqda. G'o'za o'simligiga xo'jalik ahamiyatiga molik qimmatli belgilarni kiritish orqali quyidagi vazifalarni yechish masalasi qo'yilgan:

1. G'ozaning alohida hujayralari va kallus to'qimalarini olish uchun gen muhandisligi retsipient tizimlarini yaratish.

2. Regulator elementlarni aniqlash.

3. Qimmatli xo'jalik ahamiyatiga molik belgilarini molekular klonlash.

4. G'ozaga o'simligiga transformatsiya qilish uchun bir qator vektor molekulari konstruksiyasini tuzish.

Jumladan, regulator elementlarni aniqlash uchun g'ozaga genomining molekular tizimini tadqiq etish borasida bir qator muvaffaqiyatlarga erishildi. Bu maqsadda g'ozaning bir necha ming alohida genlar banki olingan. G'ozaga genomining klonlaridan iborat muayyan DNK bo'laklarining nuklein kislotalari ketma-ketligi aniqlandi.

Qimmatli xo'jalik ahamiyatiga molik belgilarini kodiraydigan nishon belgilarini molekular klonlash borasida ham bir qancha yutuqlarga erishildi.

G'ozaga o'simligiga transformatsiya qilish uchun bir qator vektor molekulari konstruksiyasi tuzilgan va sezilarli natijalarga erishilmoqda. Tn5 -bakteriya transpozoni klonlash amalga oshirildi. U o'simliklar transformatsiyasida nishon (marker) sifatida foydalanildi, shuningdek, ba'zi genlarning terminator va promotor qismlari uchun ham marker bo'lib xizmat qiladi.

Shuningdek, g'ozaga o'simligiga *Agrobacterium tumefaciens* ning kanamitsinga chidamlilik genini saqlovchi Ti-plazmidasi asosidagi vektori transformatsiya qilingan.

O'simliklarga genlarning transformatsiyasi bo'yicha ilmiy tadqiqotlar borasida professor T.Yu.Yusupovning ishlarini alohida ta'kidlash lozim. U g'ozaga o'simligidan plazmidasimon tuzilmalarni ajratib olishga muvaffaq bo'lgan. Shuningdek, u shogirdlari bilan birga pCaV1toxneo plazmidasini g'ozaga o'simligi changchisiga, mosh o'simligi tugunak bakteriyalariga kiritib, zararkunanda hasharotlarga chidamli transgen o'simliklar olish mumkinligining nazariy asosini ishlab chiqqan.

Transformatsiya qilingan kallus to'qimasini va hujayra suspensiyasini selektiv sharoitlarda o'stirish borasida tadqiqotlar olib borilmoqda.

O'simliklar genetikasi va eksperimental biologiyasi institutida g'ozaning turli navlari genomi fragmentlariga tegishli DNK bo'laklarini kiritish maqsadida rekombinant molekularning bir qancha variantlari konstruksiyasi tuzilmoqda. Shuningdek, bir necha yillardan

beri g'o'zaning transformant hujayralarini yetuk davriga qadar o'stirish borasida izlanishlar olib borilmoqda.

G'o'za o'simligi genomidan mikrosatellitlarni ajratib olish, ularning tuzilishini o'rganish va klonlash borasida ham zamonaviy seleksiyaga asoslangan ilmiy tadqiqot ishlari qilinmoqda. Shuning uchun keyingi o'n yillar davomida g'o'zaning assotsiativ seleksiyasi uchun marker sifatida mikrosatellitlarning yangi kolleksiyasini yaratish ustida izlanilmoqda.

Bu borada g'o'zaning *G.hirsutum* L. genomidan ajratib olingan yangi mikrosatellitlar, ularning nukleotid ketma-ketliklari aniqlangan, molekular klonlash ishlari amalga oshirilgan.

G'o'zaning yangi mikrosatellitlarining nukleotid ketma-ketliklari model o'simlik *Arabidopsis* ning ilgari to'liq o'rganilgan genomi bilan taqqoslash ishlari olib borilmoqda. G'o'za genomini tahlil qilish uchun har bir mikrosatellit uchun PZR (Polimeraza zanjir reaksiyasi) spetsifik juft praymeralarini tuzish borasida ham bir qator izlanishlar olib borilmoqda. Eng yirik yutuqlar sifatida g'o'za genomidan 10 mingdan ortiq fragmentlarni ajratib olinganligini va ularning ba'zilarini maxsus vektorlarga klonlanganligini ko'rsatish mumkin.

Shuningdek biotexnologiyada bir qator qishloq xo'jalik ekinlari: bug'doy, pomidor, sholi, sabzi, sabzavot-poliz ekinlarining yangi navlarini yaratish borasida tadqiqotlar olib borilmoqda. O'zbekiston biotexnologiyasining oldida turgan istiqbolli muammolarning asosiylari qishloq xo'jalik ekinlarining genofondini tuzish, ularni saqlash usullarini ishlab chiqish, turli xil kasallik va zararkunanda hasharotlarga chidamlilik, tashqi muhitning turli xil stress omillari: qurg'oqchilik, sho'rlanish, yuqori va past haroratga bardoshlilik kabi kompleks belgilarga ega transgen navlarni yaratishdan iborat.

Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi sanoatining rivojlanishi mamlakatimiz iqtisodiyotini ko'tarishga xizmat qilishiga shak-shubha yo'q. Bu fikr bir qator rivojlangan mamlakatlar misolida o'z ifodasini topgan. Mamlakatimizda bu sohani yanada rivojlanishi uchun barcha imkoniyatlar mavjud.

Biotexnologiya sohasidagi ilmiy izlanishlarni rivojlantirish maqsadida mamlakatimiz ilmiy tadqiqot institutlari va markazlari dunyoning Rossiya, AQSH, Germaniya, Italiya, Yaponiya, Hindiston, Janubiy Koreya, Xitoy kabi rivojlangan davlatlarning ko'plab ilmiy tadqiqot muassasalari bilan hamkorlik o'rnatilgan.

Gen muhandisligi, biomuhandislikning taraqqiy etgan sari bu vaqt mobaynida G'arbiy Yevropa, Amerika, Rossiya matbuotida jamoat-

chilikning sohaga oid qarshi fikrlari ham chop etib turiladi, bu borada hozirga qadar, turli, qarama-qarshi g'oyalar ham ilgari surilmoqda.

Jamoatchilikning gen muhandisligi rivojiga bo'lgan munosabati negizida biotexnologiyaning yangi yutuq va g'oyalarining mazmun mohiyatini chuqur anglab yetmasdan, undagi oqibatlardan hadiksirash, ya'ni muayyan, tabiati aniqlanmagan yangi kasalliklar o'chog'i paydo bo'lishidan qo'rqish va u orqali kelajakda amalga oshirilishi lozim bo'lgan ishlarning foydali va samarali tomonlarini yetarli baholay olmaslik yotadi. Biotexnologiya fani rivojidadagi bunday to'siqlarni bartaraf etishda keng jamoatchilik ommasini sohaga oid ma'lumotlar bilan tanishtirish, olib borilayotgan tadqiqot usullarini takomillashtirib, gen muhandisligi faoliyatidagi xavfsizlikni ta'minlashga oid me'yoriy-huquqiy akt va hujjatlar, qonunlarga qat'iy rioya etib olib borish kerak bo'ladi.

Qishloq xo'jaligida, ishlab chiqarish va xalq xo'jaligining turli sohalarida faoliyat yuritayotgan mutaxassislar biotexnologiya va biomuhandislik usullarini yaxshi o'zlashtirgan bo'lishi, bunday usullardan qishloq xo'jalik mahsulotlarini yetishtirish hajmini oshirish, sifatini yaxshilash, atrof-muhit ifloslanishining oldini olish va butun agrar ishlab chiqarishni samaradorligini yuqori ko'tarishda foydalana bilishlari lozim. Bunday maqsadlarni amalga oshirish borasida mamlakatimizda, jumladan, Toshkent Davlat agrar universitetida birinchi marta 1999-yilda Qishloq xo'jalik biotexnologiya kafedrasini tashkil etilib, soha bo'yicha ta'lim berila boshlandi.

Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi bo'yicha yozilgan mazkur darslik, biotexnologiya va biomuhandislik fanlarining dunyodagi hozirgi holati, uning fan sifatida, ishlab chiqarish sohasida eng yangi fundamental, amaliy va innovatsion yutuqlarni o'z ichiga qamrab olgan holda, shuningdek, xavfsizlikni ta'minlash maqsadida ishlab chiqilgan gen muhandisligi sohasidagi me'yoriy-huquqiy, qonun hujjatlari asosida tayyorlangan. Darslik mualliflari talabalarni biotexnologiya va biomuhandislikka oid ma'lumotlar bilan har tomonlama va chuqur tanishtirishga harakat qilganlar. Ushbu kitob mamlakatimizda Davlat tilida chop etilgan birinchi darslik bo'lib, xato va kamchiliklardan holi emasligi muqarrar. Shuning uchun mualliflar barcha o'rinli maslahatlarni qabul qilishga tayyor ekanligini bildirish bilan birga, hamkasblaridan darslikni har tomonlama boyitish bo'yicha fikr va mulohazalar kutib qoladilar.

I bob. GEN MUHANDISLIGI ASOSLARI

MOLEKULAR GENETIKA VA MOLEKULAR BIOLOGIYA GEN MUHANDISLIGINING ASOSIY POYDEVORI

Gen muhandisligining kelib chiqishi molekular biologiyaning taraqqiyoti bilan bog'liq. Bu sohada olib borilgan so'nggi yillardagi tadqiqotlar hujayraning tuzilishi va vazifalarini izohlashi bilan birga, ularda kechadigan jarayonlarning molekular mexanizmlarini organel-lalar darajasida aniqlash imkonini beradi.)

O'tgan asrning 60-yillari oxirida ko'plab tadqiqotchilar asosiy genetik jarayonlar – replikatsiya, transkripsiya, translyatsiya va ularni boshqarish tizimlari molekular mexanizmlari deyarli o'rganilib, molekular biologiyaning ustqurmasi, mantiqiy imorati qurib bo'lindi, deb taxmin qilishgan. Genetik axborotning bir tomonlama chizmasini ifodalovchi DNK→RNK→oqsil tartibi molekular biologiyaning asosiy aqidasi hisoblangan va qurilgan imoratning mustahkamligidan dalolat bergan. Bu chizmaning asosiy holati ichak tayoqchasi bakteriyasi *Esherichia coli* uchun ko'rsatib berilgan bo'lib, u haqiqiy yadrosi bo'lmaydigan prokariot organizm hisoblanadi. Biroq chizmaning mantiqiyiligi va soddaligi uni barcha tirik mavjudotlar, jumladan, yadroga ega eukariot organizmlar: odam va hayvonlar uchun ham qo'llash mumkin, degan fikrga olib kelgan. Bularga mezokariotlar (Mezokaryotes), zamburug'lar (Fungi), o'simliklar (planta) va hayvonlar (animalea) kiritilgan. Prokariot organizmlar molekular biologiyasining shubhasiz muvaffaqiyatiga qaramasdan, yuksak organizmlar genomini tahlil etish qiyin kechdi. Hujayraning umumiy biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish, hujayraning genetik tashkillanishning barcha tomonlarini aniqlash imkonini bera olmadi. Bunga asosiy sabab eukariot organizmlarning genomini juda kattaligi va shu sababli, ular ustida tajribalar olib borishning o'ta murakkabligi edi. DNK ni duch kelgan joydan bo'laklarga bo'lib «qirqish» emas, balki muayyan aniq joyidan, har bitta nukleotidga qadar aniqlikda amalgam oshirish muammoni yechishni eng oddiy yo'li edi. Ammo bu borada yana boshqa bir muammo – DNK tarkibidagi nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash imkoni mavjud emasligi kelib chiqdi. Shuning uchun birorta ham genni

aniqlash imkoni bo'lmadi. Ma'lumki, hatto, eng oddiy organizmlarning DNKsi ham juda uzun molekuladan (masalan, ichak tayoqchasining genomi $4,2 \times 10^6$ juft nukleotid – j.n.dan) iborat. Yuksak organizmlar – eukariotlar, jumladan, o'simliklar va sut emizuvchilar genomi 10^9 - 10^{11} j.n. dan iborat. Umuman, genomda bir necha o'n minglab genlar joylashadi.

↳ Hozirgi davrda gen muhandisligi nafaqat retsipient (genni qabul qilib oluvchi organizm) yadro apparatiga ushbu organizmga tegishli bo'lmagan, alohida yangi genlar va boshqaruvchi (regulator) ketma-ketliklarni kiritish, balki yaxlit xromosomalar, alohida organellalarni ham ko'chirib o'tkazish yoki hujayralarni bir-biriga qo'shishi orqali organizmlarning yangi shakllarini yaratish imkonini beradi. >

2 GEN MUHANDISLIGI FERMENTLARI

↳ Gen muhandisligi fermentlari DNK molekullari bilan turli xil muolajalarni o'tkazishga yordam berib, ularni tegishli joyidan qirqish, turli xil bo'laklarini ulash, tabiatda mavjud bo'lmagan yangi xildagi ketma-ketliklarni sintez qilishda qo'llaniladi. Quyida gen muhandisligida foydalaniladigan asosiy fermentlarni ko'rib chiqamiz.

DNK polimerazalar. Gen muhandisligida keng qo'llaniladigan fermentlardan biri *Ecoli* ning T4 fagidan ajratib olingan DNK polimeraza I hisoblanadi. DNK polimeraza I komplementar nukleotidlarni birlashtirish yo'li bilan DNK zanjirini 5' -3' yo'nalishida uzaytirish xususiyatiga ega. DNK polimerazaning bu xususiyati gen muhandisligida ikkinchi komplementar zanjirni hosil qilish: bir zanjirli matritsa –DNK siga qo'shilganda praymer ishtirokida ikki hissa ortishida kuzatiladi. Bu xususiyat *kDNK*-bibliotekalarini tuzishda qo'llaniladi. DNK polimeraza DNK zanjiridagi «bo'shliq» larni to'ldirishda ham foydalaniladi, masalan, 5'-uchli bo'laklarni tegishli tartibda ulanishida ham ishtirok etadi. DNK polimerazaning ekzonukleaza faolligidan DNK bo'lagiga radioaktiv nishon kiritishda qo'llaniladi. >

Maxsus termostabil DNK polimerazalar: Tth va Taq - polimerazalar issiq suv chiqadigan buloqlar (geyzerlar) da yashovchi bakteriyalardan ajratib olingan bo'lib, *polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR)* usuli yordamida DNKning istalgan bo'lagi ustida ko'plab ishlarni amalga oshirish imkonini berdi. PZR usuli asosida Taq - polimeraza yotadi, u gen muhandisligining eski usullarini nafaqat soddalashtirish, balki

alohida genlarni va yaxlit genomni ham molekular nishonlashni amalga oshirishga sharoit yaratdi.

Ba'zi viruslardan RNK ga bog'liq DNK polimeraza, ya'ni teskari transkriptaza yoki *revertaza* deb nomlanuvchi maxsus DNK polimeraza ajratib olingan. Revertazalar DNK ning komplementar zanjirini matritsa RNK sida ham sintezlay oladi. Revertazalar yordamida *kDNK-mRNK* ning DNK nusxalarini olish mumkin. *kDNK* genlarining tuzilishini o'rganish bu genlarning genomdagi to'liq nusxalarini aniqlash imkonini beradi.

DNK ligaza qo'shni nukleotidlar orasidagi fosfodiefir bog'larini tiklash orqali DNK bo'laklarini bog'lash kabi bitta asosiy vazifani bajaradi. Bu jarayon *ligirlash* deb ataladi. Gen muhandisligida ko'pincha ligirlash uchun T4 fagining DNK-ligazasidan foydalaniladi. T4 ligaza yordamida DNK ning har qanday bo'lagini «yopishqoq uchli» yoki «to'mtoq uchli» qismlari biriktiriladi. Bu eng ko'p qo'llaniladigan fermentlardan biridir.

Nukleazalar—nuklein kislotalar molekulari gidrolizi reaksiyalarini katalizlovchi fermentlarning yirik guruhi. DNK yoki RNK molekulari nukleazalar ta'sirida bo'laklarga yoki alohida nukleotidlarga parchalanib ketadi. Nukleazalarning hujayradagi dastlabki vazifasi—hayotiy jarayonning ayni vaqti uchun keraksiz bo'lgan molekulari (masalan, *mRNK* ni translyatsiyadan so'ng) degradatsiyasini va nuklein kislotalarni begona molekularlardan himoya qilish (bakteriyafag bilan zararlanganda fag DNK sini bakteriya nukleazalari tomonidan parchalab yuborilishi) dan iborat.

Nukleazalarni ularning ta'siriga ko'ra, guruhlariga ajratish mumkin. Nukleazalar nafaqat DNK molekulari (DNKazalar) yoki RNK (RNKazalar) molekulariga, shuningdek, DNK va RNK ga bir vaqtning o'zida (oltin rang loviya nukleazasi) bir xilda ta'sir etishi mumkin. Nukleazalar bir zanjirli (S1 nukleazasi) yoki qo'sh zanjirli (ekzonukleaza III) DNK molekulari, yoki gibrid DNK-RNK molekulari (ribonukleaza H) ga ta'sir etishi mumkin.

Bundan tashqari, nukleazalarni ikki tipga: ekzonukleazalar va endonukleazalarga bo'lish mumkin. Ekzonukleazalar, odatda, molekularlarni 5' yoki 3' erkin uchlardan boshlab gidrolizlasa, endonukleazalar DNK molekulari bo'lagi yoki halqasimon DNK molekularining ichki ketma-ketliklaridan boshlab parchalaydi.

Restriktazalar. Gen muhandisligida foydaliligi nuqtayi nazaridan maxsus endonukleazalar alohida guruhni tashkil etadi. Genlar ustida

bevosita muolajalar o'tkazish usullarining takomillashtirilishi restriksion endonukleazalar (restriktazalar)ning ochilishi bilan bog'liqdir. 1953-yildayoq aniqlanishucha *E.coli* ning alohida shtammi DNK si boshqa shtammi hujayrasi (masalan, B shtammi DNKsi C shtammi hujayrasi) ga kiritilganda, odatda, genetik faollik ko'rsata olmaydi. Chunki u maxsus fermentlar-restriktazalar bilan tezda bo'laklarga bo'lib yuboriladi. Hozirgi vaqtda turli xil mikroorganizmlardan mingdan ortiq har xil restriktazalar ajratib olingan. Gen muhandisligida 200 dan ortiq turi keng qo'llanilmoqda. Restriktazalar endonukleazalarning DNKni muayyan maxsus ketma-ketliklari **restriksiya saytlari** (nuqtalari) ni hosil qilib gidroliz qiladigan guruhi hisoblanadi. Har bir restriktaza o'zining restriksiya saytini taniydi va DNKni restriksiya sayti izchilliklari ichidan yoki uning atrofidan boshlab qirqadi (1.1-jadval). Shunday qilib, muayyan bir restriktaza ta'sirida bitta va aynan o'sha DNK ketma-ketligi har doim ham bir xildagi bo'laklar yig'indisini hosil qiladi. Restriktazalarni nomlashda ferment ajratib olingan bakteriya turining lotincha nomini bosh harflari va qo'shimcha belgilaridan foydalaniladi. Chunki bir turdagi bakteriyalardan bir necha xil restriktazalar ajratib olingan bo'lishi mumkin. *Escherichia coli-EcoR I*, *EcoR V*, *Haemophilus influenzae -Hinf I*, *Streptomyces albus - Sal I*, *Thermus aquaticus - Taq I*.

Restriktazalar nukleotid ketma-ketliklarini qirqishiga ko'ra, bir necha tipga bo'linadi. I-tipdagi restriktazalar restriksiya saytlarini taniydi, lekin tanib olgan saytdan ixtiyoriy masofada (bir necha o'ndan to bir necha yuz ming nukleotid juftlarga qadar) qirqadi. Bunday restriktazalarni gen muhandisligi muammolarini hal etishda qo'llab bo'lmaydi. III tipdagi restriktazalar ham I tipdagi restriktazalarga o'xshaydi, ular DNKni tanib olingan saytdan 20–35 j.n. masofada gidroliz qiladi, shuning uchun ham amaliy maqsadlarda kam foydalaniladi.

Rekombinant molekullar olish uchun asosan II tipdagi restriktazalar qo'llaniladi. Bunday restriktazalarning asosiy jihati shundaki, ularning tanish sayti va qirqish joyi bir-biriga mos keladi.

II tipdagi restriktazalar muayyan nukleotid ketma-ketliklarni DNKdan tanib oladi va uni restriksiya sayti izchilligi ichidan boshlab gidrolizlaydi. II tipdagi restriktazalarning restriksiya saytlari 180° aylanishdagi simmetrik ketma-ketliklar – palindromlardan iborat.

Ba'zi restriktazalar va ular tanib kesadigan nukleotidlar ketma-ketligi

1.1-jadval

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

5' GAATTC 3'

3' CTTAAG 5' EcoR I restriktazasining restriksiya sayti.

5' TAGA 3'

3' ATCT 5' Taq I restriktazasining restriksiya sayti

II tipdagi restriktazalar restriksiya saytlari o'Ichami va olinadigan DNK bo'laklari uzunligiga ko'ra, bir necha sinfga bo'linadi:

1) mayda bo'lakka bo'luvchilar – restriksiya saytlari 4 n.j;

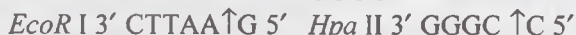
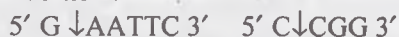
2) o'rta bo'lakka bo'luvchilar – restriksiya saytlari 6-8 n.j;

3) yirik bo'lakka bo'luvchilar – restriksiya saytlari 10-14 n.j.dan

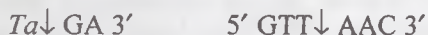
iborat.

II tipdagi restriktazalarning DNK ketma-ketliklarni bo'laklarga bo'lishiga qarab ikki guruhga kiritish mumkin. Biri tanlangan ketma-ketlikning simmetriya o'qi bo'ylab, boshqasi esa siljib, «pog'onalar» hosil qilib kesadi. Birinchi holatda «to'mtoq» uchlar hosil bo'lsa, ikkinchisida «yopishqoq» uchlar hosil bo'ladi; ya'ni bo'laklar o'z uchlarida bir zanjirli o'zaro komplementar qismlarga ega bo'ladi.

Restriktazalar bilan qir qilganda «yopishqoq» uchli bo'laklarning hosil bo'lishi:



Restriktazalar bilan qir qilganda «to'mtoq» uchli bo'laklarning hosil bo'lishi:



Bir xil «yopishqoq» uchlariga ega DNK bo'laklari bir-birlari bilan DNK ligazalar yordamida birlashtirilishi mumkin, bunda restriksiya nuqtalari qayta tiklanadi. «To'mtoq uchli» bo'laklar qanday restriktaza tomonidan hosil bo'lgan bo'lishiga qaramasdan bir-birlari bilan birika olmaydi. «Yopishqoq uchli» bo'laklar rekombinant DNK lar yaratishda juda qulaydir, chunki DNK ligaza bo'laklarini hech qanday istisnosiz bir-biriga birikishini ta'minlaydi.

Restriktazalarning ferment faolligi faollik birliklarida o'lchanadi. Bu optimal sharoitda λ fag DNK sining 1mkg miqdorini 1 soat ichida to'liq gidrolizlanishi uchun sarf bo'ladigan ferment miqdoriga tengdir. Restriksiyaning optimal sharoiti har bir restriktaza uchun alohida bo'lib, u pH, ion kuchi, tegishli ionlar mavjud bo'lishi, reaksiyani amalga oshirish haroratiga bog'liq bo'ladi. Restriktazalar gen muhandisligida qo'llaniladigan asosiy fermentlar hisoblanadi.

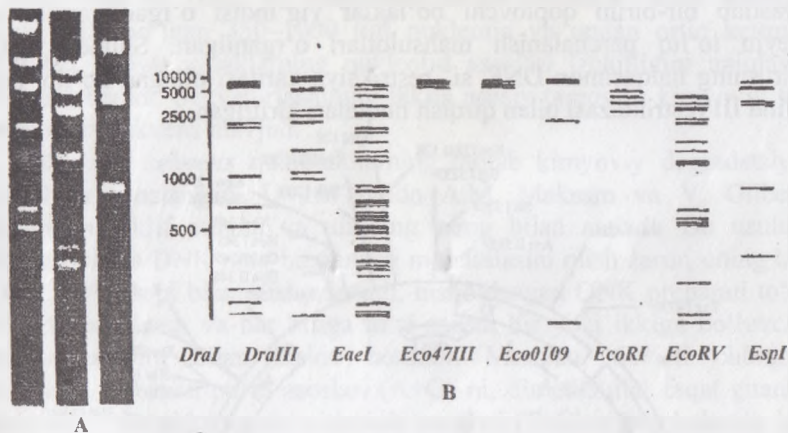
DNK bo'laklarini qir qish va restriksion xaritalar tuzish (fizikaviy xaritalash)

Restriksiya fermentlari ilmiy tadqiqotlar uchun asosiy qurolga aylandi. Ular juda yirik DNK bo'laklari (10^6 - 10^{11} n.j.) ni bir necha yuzdan bir necha ming nukleotid juftlarga qadar o'lchamdagi bo'laklarga bo'ladi. Agarozali gelda DNK elektroforezi usuli bilan bir-biridan o'lchami bo'yicha farq qiladigan DNK bo'laklarini oson ajratib olish va har bir bo'lakni alohida taqqiq etish mumkin. Elektroforez usuli elektr maydonida turli xil tezlikda harakat qilayotgan DNK molekularini (bo'laklarini) ajratishiga asoslangan. DNK eritmada anion

shaklida uchray, uning eritmasi elektr maydonida musbat zaryadlangan qutb (katod)ga tomon harakat qiladi.

DNK bo'laklarining ajralishi agarozda polimeri eritmasi hisoblangan tashuvchida amalga oshadi. Usulning nomi ham shundan kelib chiqqan. U elektroneytral va DNK ga nisbatan kimyoviy inert, shuning uchun har doim DNK ning zarur bo'lagini geldan biologik faolligini saqlab qolgan holda ajratib olish (ellyuitsiya qilish) mumkin.

Geldan elektroforez muhiti sifatida foydalanib, DNKni bo'laklarga bo'lish va undan muayyan bo'lakni ajratib olish mumkin (1.1-rasm).



1.1-rasm. Elektroforez yordamida restriktazalar ishtirokida hosil bo'lgan DNK bo'laklarining ajralishi.

A- λ HindIII fagi bo'laklari, ϕ X 174/HaeIII fagi DNKsi, pBR322/BstnI plazmidasi (-belgidan so'ng restriktaza fermenti nomi keltirilgan).

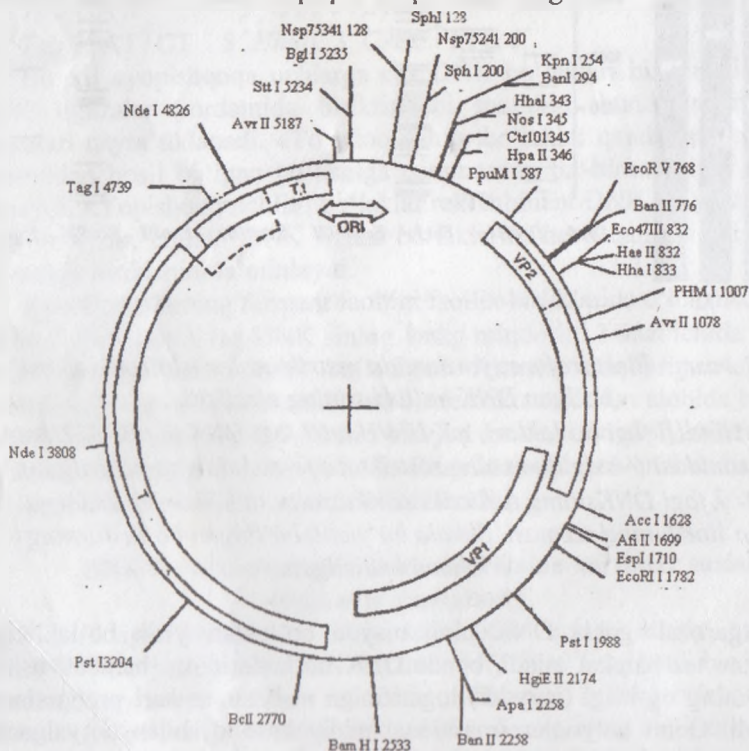
B- λ fagi DNKsining turli xil restriktazalar ta'sirida bo'laklarga bo'linishining sxemasi. Shkala bo'yicha bo'lingan bo'laklarning o'lchami keltirilgan.

Agarozali gelda DNK ning mayda bo'laklari yirik bo'laklariga nisbatan tez harakat qiladi, bunda DNK bo'laklarining harakati ushbu bo'lakning og'irligi (zaryadi) logarifmiga nisbatan teskari proporsional bo'ladi. Gelni bo'yoqlar (masalan, etidiy bromid) bilan bo'yalganda ular bo'yog' bilan biriktirib chiziqchalar to'plamini hosil qiladi, ularning har bir chiziqchasi bo'lakni tasvirlaydi. Fermentning molekular og'irligi ilgari aniqlangan DNK bo'laklariga nisbatan kolibrövka qilish

resurs markazi

Inv №360277

asosida aniqlanadi. Elektroforezdan restriksion fragmentlarni bo'lish maqsadida foydalanish **restriksion xaritalar** – turli restriktazalar uchun qirqish nuqtalari kiritilgan DNK ketma-ketliklari yig'indisini olish imkonini beradi (1.2-rasm). Bunday xarita birinchi marta 5423 juft asosga ega SV40 virusi uchun olingan. Bunda virusning halqasimon DNK sini 11 ta bo'lakka bo'luvchi Hind III restriktazasi qo'llanilgan. Ularning joylashish tartibi hosil bo'lgan bo'laklar yig'indisini tekshirish orqali o'rnatilgan. Birinchi qirqish molekulani halqasimon shakldan chiziqli shaklga o'tkazib, keyin yana mayda bo'laklarga bo'lgan. Dastlab bir-birini qoplovchi bo'laklar yig'indisi o'rganilgan bo'lsa, keyin to'liq parchalanish mahsulotlari o'rganilgan. Shunday qilib, virusning halqasimon DNK si restriksiya xaritasi olingan bo'lib, unga Hind III restriktazasi bilan qirqish nuqtalari kiritilgan.



1.2-rasm. SV 40 virusining genetik va restriksion xaritasi.
(ORI–replikatsiyaning boshlang'ich nuqtasi; raqamlar bilan restriksiya nuqtalarining holati ifoda etilgan.

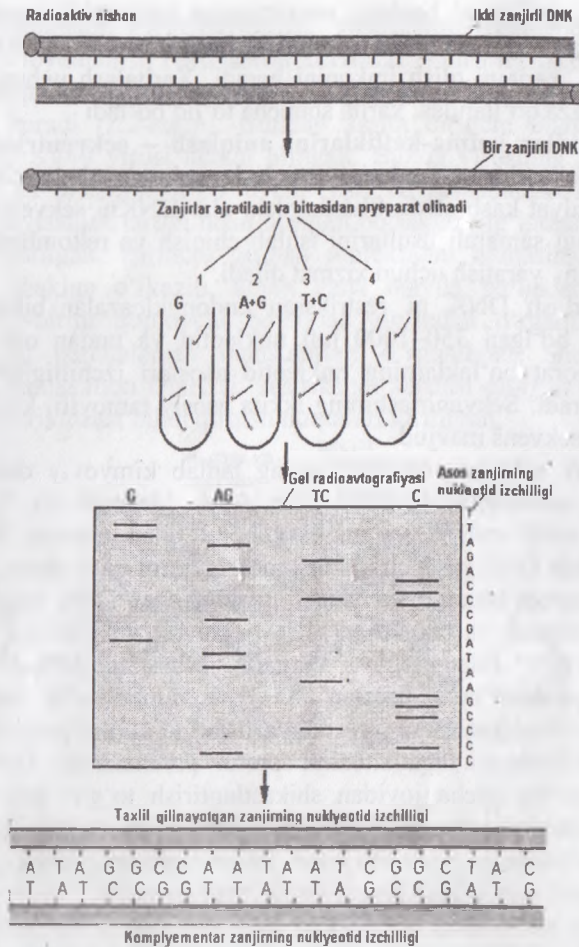
Bunday tajribalarni boshqa restriktazalar ishtirokida amalga oshirish bir necha xil restriktazalar uchun belgilangan restriksiya saytlaridan iborat to'liq xaritani olish imkonini beradi. Xaritalash uchun qancha ko'p restriktaza qo'llanilsa, xarita shuncha to'liq bo'ladi

Nukleotidlar ketma-ketliklarini aniqlash – sekvenirlash. DNK ning genetik muhim qismlarini aniqlash imkonini beruvchi usullar muhim ahamiyat kasb etadi. Shuningdek, ular DNKni sekvenirlashning mutlaqo yangi samarali usullarini ishlab chiqish va rekombinant DNK molekularini yaratish uchun xizmat qiladi.

Sekvenirlash DNK ni restriksion endonukleazalar bilan qirqish orqali hosil bo'lgan 350–1000 juft nukleotid va undan ortiq ketma-ketlikdan iborat bo'laklarning nukleotid asoslari izchilligini aniqlash imkonini beradi. Sekvenirlashning ikkita asosiy tamoyili: kimyoviy va fermentativ sekvens mavjud.

Kimyoviy sekvens nukleotidlarning tanlab kimyoviy degradatsiya qilinishiga asoslangan. U 1977-yilda A.M. Maksam va V. Gilbert tomonidan taklif etilgan va ularning nomi bilan ataladi. Bu usulda sekvenirlashda DNK ning bir zanjirli molekulasini olish zarur, uning bir uchini ^{32}P izotopi bilan nishonlanadi, nishonlangan DNK preparati to'rt bo'lakka bo'linadi va har biriga to'rt asosni bir yoki ikkiga bo'luvchi maxsus reagent bilan ishlöv beriladi. Masalan, 60%-li chumoli kislotasini qo'shish purin asoslari (A+G) ni, dimetilsulfat faqat guanin asoslarini; toza gidrazin esa pirimidin asoslari (T+C) ni parchalaydi, 1,5 N NaCl eritmasida esa faqat sitozinli asoslar parchalanadi. Har bir DNK molekulasiga bir necha joyidan shikastlantirish to'g'ri kelishi uchun reaksiyani amalga oshirish sharoitini tanlab olish muhimdir. Shikastlangan molekulalarga piperidin bilan ishlov berilganda DNK da uzilish u aynan azotli asos shikastlangan joyda hosil bo'ladi.

Natijada nishonlangan bo'laklar to'plami olinib, ularning uzunligi shikastlangan asosdan to molekulaning oxirigacha bo'lgan masofada aniqlanadi. To'rttala reaksiya natijasida hosil bo'lgan bo'laklarni denaturatsiyalovchi sharoitda akrilamid gelida to'rtta qo'shni yo'lakchalarga quyib chiqiladi. Shundan so'ng radioavtografiya amalga oshiriladi, natijada radioaktiv nishonga ega bo'laklar rentgen plyonkasida iz qoldiradi. Ularning joylashuviga ko'ra, nishonlangan qismdan shikastlangan asos qanday masofada joylashganini, buni o'rganish orqali ularning holatini aniqlash mumkin. Rentgen plyonkasidagi chiziqlar yig'indisiga ko'ra, tahlil qilinadigan DNK bo'lagining nukleotid ketma-ketligi aniqlanadi (1.3-rasm).



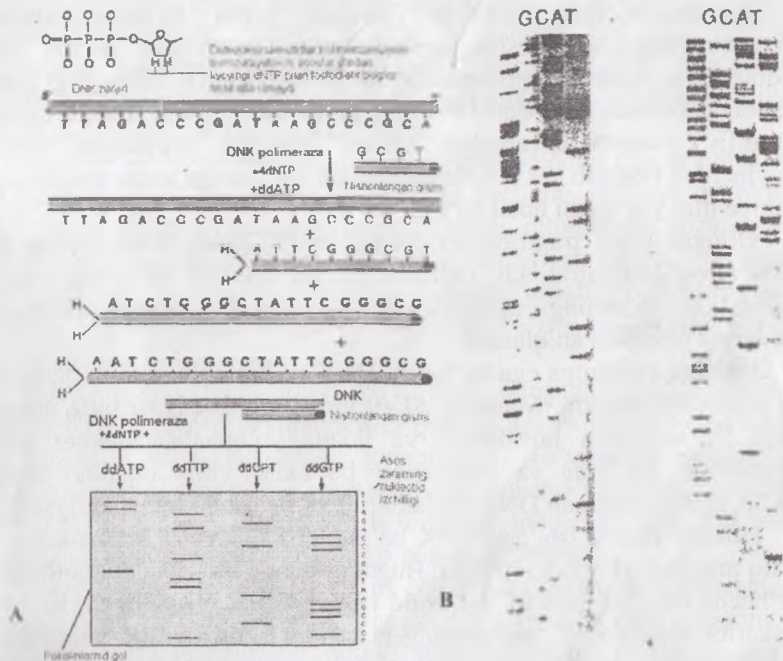
1.3-rasm. DNKni Maksam va Gilbert usuli bo'yicha sekvenirlash sxemasi.

Ushbu usul yordamida qisqa muddat ichida SV40 virusi, pBR322 plazmidasi va boshqa ko'plab organizmlar DNK ketma-ketliklarini to'liq aniqlashga muvaffaq bo'lingan. Biroq Maksam-Gilbert usuli muolajalarining sezilarli darajada qiyinligi va uzoq davom etishi bilan bog'liq bir qator kamchiliklarga ega. Hozirgi vaqtda kimyoviy degradatsiya yordamida sekvenirlash asosida nukleotid ketma-ketliklarni tez va mukammal aniqlash usullari ishlab chiqilgan bo'lib, qattiq fazali

sekvenirlash va aylanma fazali xromotografiyadan foydalanish orqali sekvenirlash shular jumlasidandir.

Fermentativ sekvenirlash Senger tomonidan 1977-yilda taklif etilgan (1.4-rasm) nukleotidi zanjirni terminatsiyasi (sintezni to'xtatib qo'yish) yo'li bilan sekvenirlash usuli keng qo'llaniladi. Senger usuli negizida (komplementar) DNK zanjirining replikasiyasi tamoyili yotadi. U DNK ketma-ketligi sintezi uzilgan, ya'ni zanjir o'sishi terminatsiyaga uchragan turli qismlarida amalga oshadi. Fermentativ sekvenirlashning asosiy xossasi tuzilayotgan zanjir sintezining terminatsiyasiga asoslanadi.

Replikasiyani to'xtatishga sabab bo'ladigan terminatsiya agentlari 2',-3'-didezoksitrifosfatlar (ddATP, ddGTP, ddTTP, ddCTP) hisoblanadi. Mazkur modifikatsiya qilingan azotli asoslar keyingi dezoksiri bonukleotid bilan fosfodiefir bog'larni hosil qilib olmaydi.



1.4-rasm. DNK ni Senger usuli bo'yicha sekvenirlash sxemasi (A) va tajriba natijasida olingan radioavtogramma (B).

Senger bo'yicha sekvenirlash negizida DNK ning replikatsiyasi yotadi, bunda asosiy ferment DNK polimeraza (asosan, DNK-polimeraza I hisoblanadi. Bir zanjirli DNK-matritsa kalta nukleotid praymer va komplementar nukleotidlar ishtirokida DNKning ikkinchi zanjiri sintezi amalga oshadi. Bunda zanjir uzayishi toki dezoksinukleotidga birikishiga qadar davom etadi, natijada oxirgisining birikishi sintezni to'xtatilishiga olib keladi.

Probirkalarga to'rtta bir xil tarkib: nukleotid ketma-ketligi oldindan aniqlab olingan DNK matritsaning denaturlangan bo'lagi, to'rtta dezoksinukleotid, DNK-matritsaga komplementar bo'lgan va undan DNK polimeraza I sintezini davom ettiradigan hamda DNK polimeraza I fermentining o'zi, radioaktiv nishonlangan qisqa praymer (16-24 n.j) dan iborat reaksiyon aralashma solinadi. Shundan so'ng har bir probirkaga didezoksinukleotidlardan biri qo'shiladi.

Har bir probirkada sintezlanadigan zanjir DNK polimeraza I didezoksinukleotidni biriktirib o'ladigan joyda terminatsiyalanadi. Didezoksinukleotid reksiya aralashmasiga qo'shilgan bo'lib, bitta probirkadagi sintez komplementar zanjirning ddATP bilan bog'lanishi hisobiga, ikkinchisida ddGTP hisobiga uziladi va h.k. Zanjir uzilishi tasodifiy nuqtalarda amalga oshishi hisobga olinadigan bo'lsa, praymerdan boshlab sekvenirlanadigan bo'lak oxiriga qadar uzunlikdagi fragmentlar yig'indisi hosil bo'ladi.

Olingan DNK fragmentlari poliakrilamidli gelda (bitta nukleotidga qadar aniqlikda) ajratiladi, radioavtografiya qilinadi va to'rtta probirkadagi bo'laklarning ajralishining ko'rinishiga asosan DNKning nukleotid izchilligi aniqlanadi.

Bunday axborotga ega bo'lgach, DNK ga biologik muhim qismlarini joylashtirish mumkin. Masalan, SV40 virusi replikatsiyasi bitta maxsus Hind III nuqtadan boshlanadi va ikkala yo'nalishda davom etadi. Restriksion xaritalar va restriksion bo'laklar virus oqsillari uchun mRNK sintezlanadigan DNK bo'laklarini xaritalashda foydalanilgan.

Hozirgi vaqtda istalgan DNK bo'lagining nukleotid ketma-ketligini to'liq aniqlash yechimi topilgan. Bugungi kunda pro- va eukariotlarning bir necha minglab genlari nukleotid ketma-ketligi o'rganilgan. Ko'plab prokariot organizmlar genomining nukleotid ketma-ketligi aniqlangan. Eukariotlardan achitqilar (*Sacharomyces cerevisiae*), nematodalar (*C.elegans*), arabidopsis, drozofilla pashshasi va odam genomini to'liq sekvenirlashga muvaffaq bo'lingan.

Sholi va sichqon genomining nukleotid ketma-ketliklari aniqlanmoqda. Bunday hajmdagi tadqiqotlarning olib borilishi sekvenirlash usullarini avtomatlashtirish va zamonaviylashtirishni talab qiladi. Yuqorida nomlari keltirilgan ikkala usulni ham avtomatlashtirish to'liq yo'lga qo'yilgan, bu esa sekvenirlashni soddalashtiradi, sarf-xarajatlarni kamaytiradi. Ayniqsa, nukleotid ketma-ketliklarini aniqlashning avtomatlashtirilgan fermentativ usulidan keng foydalanilmoqda. Terminatsiyalovchi nukleotidlar bilan bog'lanuvchi fluoressent bo'yoqlardan foydalanish barcha reaksiyalarni bitta probirkada olib borish imkonini beradi. Bundan tashqari sekvenirlashning mutlaqo yangi usullari, masalan, fiksatsiya qilingan oligonukleotid chiplari bilan gibridizatsiya orqali, ekzonukleazalardan foydalanish va boshqa usullar yordamida sekvenirlash ishlab chiqilgan. Mazkur usullarning barchasi DNK ni yirik qismlari, shuningdek, istalgan genomning sekvenirlash muammosini tezda hal etish imkonini beradi. Olingan natijalar ma'lumotlar bazasi-genlar bankiga kiritiladi. Eng yirik genlar banki Genbank (AQSH), EMBL(OE), DDBJ (Yaponiya) hisoblanib, yagona INSD tarmog'iga ulangan. Ushbu ma'lumotlar bankiga kiritilgan nukleotid ketma-ketliklari to'g'risida INTERNETdagi quyidagi manzillar: www.ddbj.nig.ac.jp, www.ebi.nas.uk, www.ncbi.nlm.gov. da tanishish mumkin.

Genning nukleotid ketma-ketligi va genetik kodini bilgan holda, u kodiraydigan oqsil aminokislotalari ketma-ketligini aniqlash mumkin. Ilgari oqsil tarkibini aniqlash uchun ajratib olingan va tozalangan oqsilning o'ta murakkab va ko'p mehnat sarflanadigan tahlilini o'tkazish talab etilar edi. Ko'pincha nukleotid ketma-ketliklarini aniqlash orqali oqsilning strukturasi aniqlash, oqsilning o'zini to'g'ridan-to'g'ri sekvenirlashga nisbatan oson kechadi.

Hozirgi kunda sekvenirlash yo'li bilan olingan nukleotid ketma-ketliklarning kompyuter tahlilini amalga oshirish ilgari aniqlangan nukleotid ketma-ketliklar bilan taqqoslash, gomologiya (o'xshashlik) darajasini aniqlash, maxsus (masalan, regulator-boshqaruvchi) izchilliklarni ajratib ko'rsatish, RNKning ikkilamchi tuzilmasini modellashtirish imkonini beradigan kompyuter dasturlarining ko'plab turlari mavjud.

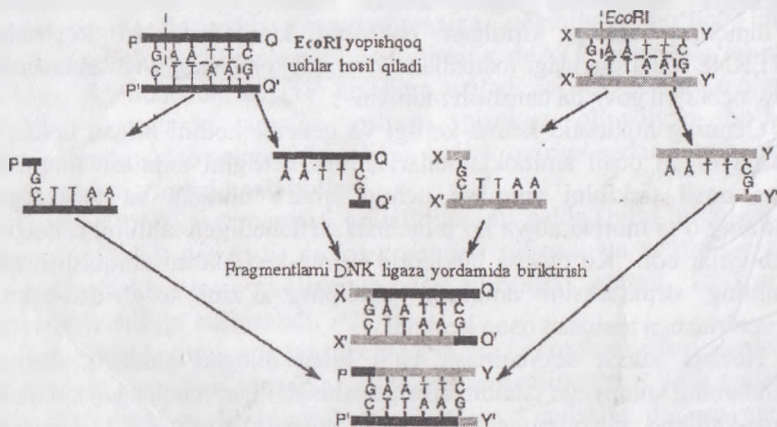
Sekvenirlashning tezkor usullari ishlab chiqilgach, oldindan belgilangan muayyan ketma-ketliklarga ega, nisbatan uzun oligonukleotidlarni sintez qilishning oddiy, tezkor usullari yo'lga qo'yildi. Hozirda 100 nukleotidga qadar ketma-ketliklarni oson sirtiz qilish mumkin. Bu jarayonni avtomatlashtirish esa sintezni yanada tezlashtiradi.

4

Rekombinant DNK konstruksiyasini yaratish

Turli biologik manbalardan ajratilgan ikki yoki undan ko'p DNK fragmentlarining birikishidan hosil bo'lgan DNK molekulasi *rekombinant* DNK deyiladi. DNKning muayyan fragmentlari, shuningdek, zarur genni tutuvchi fragmentlari restriktazalar yordamida olinadi. Restriktazalar «to'mtoq» uchli va «yopishqoq» uchli fragmentlar hosil qiladi. DNK fragmentlarini bitta molekulaga birlashtirish bu fragmentlarning qanday uchga ega ekanligiga bog'liq holda, turli usullar yordamida amalga oshiriladi.

Bir xil izchillikka ega «yopishqoq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli. Ba'zi restriktazalar, masalan *EcoRI*, DNK zanjirida tanib kesadigan sayt markazidan bir xil masofada zina hosil qilib, simmetrik uzish paydo qiladi. Bu bir-biriga komplementar uchastkalar asosining juftlashishi hisobiga yoki «yopishqoq» uchlari orqali birlashish tendensiyasiga ega bo'ladi (1.5 rasm).



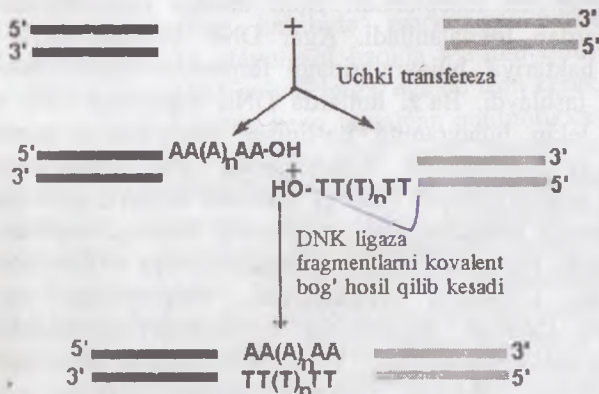
1.5-rasm. Bir xil izchillikka ega DNK fragmentlarini «yopishqoq» uchlari orqali birlashtirish.

Asoslarning juftlashishi faqatgina komplementar izchilliklar o'rtasida sodir bo'ladi, shuning uchun *EcoRI* ta'sirida paydo bo'lgan AATT-uchlar, masalan, Hind III tomonidan hosil qilingan AGCT-uchlar bilan qovushmaydi. Lekin bir restriktaza ta'sirida hosil qilingan har qanday DNK bo'laklari (kelib chiqishidan qat'i nazar) komplementar nukleo-

tidlarning bir zanjirli uchastkalari orasida vodorod bog'lari hosil qilish hisobiga birikishi mumkin.

Lekin bunday juftlashishdan so'ng ham DNK qo'sh zanjirining butunligi to'lig'icha tiklanmaydi va fosfodiefir bog'ida ikkita uzilish qoladi. Ularni tiklash, ya'ni tikish yoki ligirlash uchun DNK ligazadan foydalaniladi. Rekombinant molekularlar hosil qilish ishlarini ligaza fermenti yakunlaydi. Bunday tajribalar birinchi marta 1972-yilda (P.Berg, AQSH) bajarilgan va «yopishqoq» uchlar hosil qiluvchi restriktazalar bilan DNK ligazadan birgalikda foydalanish rekombinant DNK molekulari olishning umumiy usullarini yaratishda asos bo'lib xizmat qilishi ko'rsatilgan. Shu laboratoriyada birinchi marta SV40 virusi va *E.colining* galaktoza operonini tutuvchi λ bakteriyafagi rekombinant DNKsiga birlashtirilgan.

«To'mtoq» uchli fragmentlarni birlashtirish usuli. Restriksiya sayti ichida to'g'ri uzilish hosil qiluvchi restriktazalar ta'sirida «to'mtoq» uchli DNK fragmentlari paydo bo'ladi, ularni ham DNK-ligaza fermenti yordamida birlashtirish mumkin (1.6.rasm).



1.6-rasm. Bir xil izchillikka ega «to'mtoq» uchli DNK fragmentlarini birlashtirish.

Bunday hollarda ligirlash reaksiyasi o'ziga xos bo'lib, uning samara darajasi «yopishqoq» uchlarni birlashtirishga nisbatan bir oz pastroq. Ammo «to'mtoq» uchli fragmentlar birlashtirishining «yopishqoq» uchli fragmentlarni birlashtirishga nisbatan afzalligi shundaki, «to'mtoq» uchli bu fragmentlar qaysi restriktaza ta'sirida paydo bo'lishidan qat'i nazar, turli restriktazalar tomonidan hosil bo'lgan fragmentlarda oson birikadi.

«Yopishqoq» va «to'mtoq» uchli DNK fragmentlarni birlashtirish usuli. DNKning «yopishqoq» uchli fragmentlarini fermentativ yo'l bilan «to'mtoq» uchli DNK molekulasiga birlashtirish mumkin. Buning uchun «yopishqoq» uchlar «to'mtoq» uchlariga aylantiriladi, ya'ni DNKning faqat bir zanjirli uchastkalarini gidrolizlovchi S1 nukleaza fermenti yordamida «yopishqoq» uchlardagi nukleotidlar kesiladi yoki DNK polimeraza I yordamida bir zanjirli «yopishqoq» uchlaridan ikkinchi zanjir sintezlanadi, ya'ni qo'shimcha nukleotidlar qo'shiladi.

Shunday usulda «yopishqoq» uchli DNK fragmentlaridan «to'mtoq» uchli fragmentlar hosil qilinadi va u boshqa «to'mtoq» uchli DNK fragmentlariga DNK ligaza fermenti yordamida birlashtiriladi.

DNK fragmentlari probirkada birlashtirilganidan so'ng, ularni tirik hujayralarga kiritish kerak. Buning uchun maxsus vektor molekullardan foydalaniladi.

Vektor molekullar. Transformatsiya. Tarkibida qo'shimcha irsiy axborotlar tutuvchi rekombinant DNK molekullarini hujayralarga kiritish va uning barqarorligini saqlash gen muhandisligining asosiy kalit operatsiyasi hisoblanadi. Buni amalga oshirish uchun vektor molekullardan foydalaniladi. Agar DNK shundayligicha hujayraga kiritilsa, bakteriya hujayralaridagi fermentlar ularni nukleotidlarga parchalab tashlaydi. Ba'zi hollarda DNK hujayraga kirib o'rnamishi mumkin, lekin hujayraning bo'linishi jarayonida u nasldan-naslga berilmay yo'qolib ketadi. Rekombinant DNK hujayraning genetik apparatini tashkil qiluvchi qismiga aylanishi uchun u genomga birikishi (xromosomaga integratsiyasi) va shuning hisobiga replikatsiyalanishi yoki avtonom replikatsiyalanish xususiyatiga ega bo'lishi kerak.

Begona DNKning replikatsiyasi, ekspressiyasi va transformatsiyasini (boshqa organizmga ko'chishini) ta'minlovchi DNK molekulasi *vektor* deb ataladi. Vektor hujayraga qo'shimcha irsiy axborot kiritilishini amalga oshiradi. Vektor sifatida plazmidalar, bakteriofaglar, mobil elementlar va hayvonlarning viruslaridan foydalanish mumkin. Hozirgi vaqtda juda ko'p vektorlar yaratilgan bo'lib, ularni bir nechta tipga bo'lish mumkin:

1. Klonlash uchun vektorlar. Bunday vektorlarga birlashtirilgan DNK fragmentlarni replikatsiyalash orqali soni (amplifikatsiyasi) ni ko'paytirish uchun foydalaniladi. Bunday maqsadlar uchun bakteriya plazmidalari va faglar qo'llaniladi. Genomning katta o'lchamdagi fragmentlarini klonlash uchun esa bakteriya va achitqi xromosomalari asosida yaratilgan (BAC va YAC) sun'iy vektorlaridan foydalaniladi.

2. Ekspressiya vektorlar. Ulardan genlarning muayyan ketma-ketligini aniqlash va ularning oqsil mahsulotlarini tahlil qilish, muayyan oqsilni ishlab chiqishda foydalaniladi. Shuningdek, sutemizuvchilar, o'simliklar va achitqi hujayralarida genlar ekspressiyasini amalga oshiruvchi vektorlar ham yaratilgan. Eukariot organizmlar uchun ko'p sonli ekspressiya tizimlar yaratilgan ekspressiya vektorlar poliadenillanish sayti va mazkur organizmda ishlash qobiliyatiga ega promotordan iborat ekspressiya kasseta tutadi.

3. Transformatsiya uchun vektorlar. Bu vektorlardan retsipient genomiga begona DNK fragmentlarini kiritish uchun foydalaniladi. Bunday vektorlar odatda genomga integratsiyalanishiga yordam beruvchi maxsus izchilliklar tutadi. Zamonaviy vektor tizimlar polifunksional bo'lib, bir nechta funksiyani bitta vektorga jamlaydi. Birinchi tabiiy vektorlar bakteriyalardan ajratilgan bo'lib, ko'pchiligi tajriba maqsadidan kelib chiqqan holda (ekspressiya, klonlash uchun, transformatsiya uchun vektorlar) gen muhandisligi usullari yordamida qayta yaratilgan.

Vektor molekularining tarkibida marker gen bo'lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani haqida ma'lum qiluvchi fenotip berishi, ya'ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo'lishi kerak. Ko'pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamlilik genidan foydalaniladi. Bu genlarning oqsil mahsuloti-fermentlar antibiotiklarni modifikatsiyalaydi va ularning ta'sirini inaktivlashtiradi (kuchsizlantiradi). Masalan, nptII geni kanamitsin antibiotigini inaktivlashtiruvchi neomitsin fosfotransferaza genini kodirlaydi. Bakteriya hujayrasi nptII geni ishtirokida kanamitsinga nisbatan chidamlilik hosil qiladi va shu antibiotik oziqa muhitlarida o'sib, klon va hujayralar koloniyasini hosil qiladi. Odatda tarkibida nptII geni bo'lmagan hujayralar bunday oziqa muhitlarida o'sa olmaydi va nobud bo'ladi. Demak, vektor konstruksiya tarkibida nptII genini tutishi vektor ishtirok etayotgan hujayralarni aniqlash va ularni tanlab olish imkonini beradi.

E.coli hujayralariga vektor konstruksiyalar transformatsiyasi. Tarkibida begona DNK fragmentlari tutuvchi vektor konstruksiyalardan *E.coli*ning maxsus shtammlari hujayralariga transformatsiya qilish uchun foydalaniladi. Vektor plazmidalarning bakteriyalarga transformatsiyasi hujayralarning DNK molekularini qabul qilish qobiliyatiga asoslangan (kompetentligiga). *E.coli* hujayralariga transformatsiyalash atosan kassiy shoki yoki elektroporatsiya usullaridan birini qo'llash

orqali amalga oshiriladi. Ikkala holatda ham bakteriya membranasining DNK molekulalari uchun o'tkazuvchanligi oshadi.

Vektor molekulasi uchun quyidagi asosiy talablar qo'yiladi:

1) vektor begona DNK fragmentlarini o'ziga birlashtirishiga bir nechta restriktazalar uchun yagona restriksiya saytlari tutishi zarur;

2) vektor replikasiya boshlanish nuqtasining izchilligini tutishi hisobiga muayyan hujayralarda replikasiyalanishi shart;

3) vektor marker gen izchilligini tutishi zarur. Bu genlar vektor konstruksiyani tutuvchi hujayralar seleksiyasini yengillash tiradi.

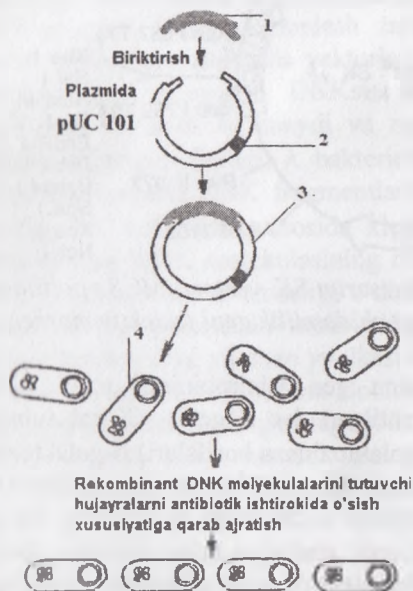
Bakteriya plazmidalaridan klonlashda foydalanish. Bakteriya hujayrasida xromosoma DNK sidan tashqari, ko'p nusxada halqasimon DNK molekulalari ham mavjud. (1-25 m.n.j.). Bunday halqasimon molekulalar *plazmidalar* deb ataladi. Ba'zi plazmidalar tarkibida antibiotikka chidamlilik genlarini tutadi. Hujayrada plazmidalarning ko'p nusxada hosil bo'lishi natijasida antibiotiklarni biokimyoviy neytrallovchi fermentlarning sintezi tezlashadi va hujayraning antibiotikka chidamliligi ortadi.

Yuqorida bayon etilganidek, kalsiy ionlari ishtirokida tarkibida plazmidasi yo'q bakteriyalar tomonidan plazmidalar oson yutiladi. Bakteriyalar hujayrasida faqat bir tipdagi plazmidalar ishtirok etishi mumkin.

Hujayradagi plazmidalar nusxasining soni o'zgarib turadi. Bu hujayraning va plazmidalarning irsiy xususiyatlariga bog'liq. Ba'zi turdagi plazmidalar hujayradagi soni 10–200 nusxa bo'lguniga qadar ko'payishni davom ettiradi. Boshqa turlari esa bakteriya xromosomasining ko'payish tezligida replikasiyalanadi. Bunday tipdagi plazmidalar hujayrada bir dona yoki bir nechta bo'lishi mumkin. Klonlash uchun faqat birinchi tipdagi plazmidalar asosidagi vektorlardan foydalanish maqsadga muvofiqdir.

Plazmidalardan vektor sifatida birinchi marta 1973-yilda P.Berg laboratoriyasida foydalanilgan. Tajribalar uncha katta bo'lmagan (~9 m.n.j.), tetratsiklinga chidamlilik geni tutuvchi *E.coli* plazmidasi pUC 101 da olib borilgan. Plazmida tarkibida faqat bir dona *EcoRI* restriktaza fermenti tanib kesadigan sayt (maxsus nukleotidlar izchilligi) bo'lganligi sababli, ferment plazmidaning halqasimon qo'sh zanjirini faqat bir joyidan kesib «yopishqoq» uchli ochiq halqa holatiga o'tkazadi. Plazmida pUC 101ning DNK si ichak tayoqchasi uchun begona DNKning *EcoRI*-fragmentlari bilan aralash tiriladi. DNK-ligaza fermentlari yordamida begona DNK fragmentlari va pUC 101 plazmida

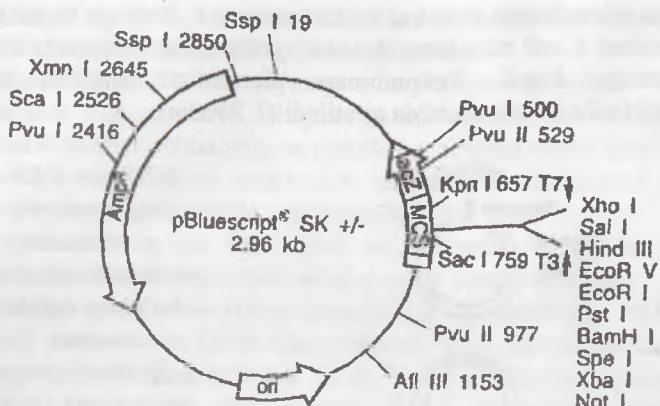
yangona rekombinant molekulaga birlashtiriladi. So'ngra bu rekombinant plazmidani *E.coli* ning kompetent hujayralariga qo'shilganda u bakteriya hujayrasiga kiradi. Rekombinant plazmidani tutuvchi hujayralar tetratsiklinli selektiv muhitda ajratiladi (1.7-rasm).



1.7-rasm. DNK fragmentlarini plazmidalar yordamida klonlash bo'yicha tajriba sxemasi.
1-Biriktirilayotgan geterologik DNK; 2-antibiotikka chidamlilik bo'yicha tajriba; 3-DNKning rekombinant molekulasi; 4-Rekombinant DNK ni bakteriya hujayrasiga kiritish.

Bu tarixiy tajriba gen muhandisligi ishlarining boshlanishiga asos bo'ldi. Pro- va eukariot hujayralariga turli DNK fragmentlarni kiritish va yangi xususiyatli hujayralar olish bo'yicha tajribalar o'tkazish imkoniyati yaratildi.

Hozirgi vaqtda tabiiy vektorlar asosida foydalanish qulay bo'lgan vektor konstruksiyalari yaratilgan. Ulardan *pUC* tipi vektorlari va ularning hosilalari (*pBluescript*, *pGEM*) keng tarqalgan bo'lib, ulardan klonlash uchun ham, shuningdek, ekspressiyalash uchun ham foydalanish mumkin. Uncha katta bo'lmagan *pUC* vektorlari (~2,7 m.n.j.) tarkibida replikasiya boshlanish nuqtasi izchilligini (*ori*-sayt) tutib, bu ularni bakteriya hujayrasida mustaqil replikasiyalanish imkonini beradi. *pUC* vektorida klonlashni osonlashtirish uchun ko'p foydalaniladigan restriktazalarda takrorlanmas restriksiya saytlarini aks ettiruvchi sun'iy sintezlangan *polilinker* izchilligi mavjud (1.8 -rasm).



1.8-rasm. Klondash uchun pBluescript SK vektori (MCS – polilinker izchilligi; Amp^R – ampitsillina chidamlilik geni (selektiv marker).

Polilinker vektordagi begona gen ishtirokining qulay markeri hisoblangan lac Z geniga o'rnatilgan. lac Z geni X-gal substratni parchalash xususiyatiga ega (β -galaktozidaza hosilalari) β -galaktozidaza genini kodiraydi. Bunda bakteriya hujayralari rangi oq rangdan moviy ranggacha o'zgaradi. Polilinkerning uncha katta bo'lmagan izchilligi (100-20 n.j.) β -galaktozidaza oqsili sinteziga ta'sir etmaydi. Begona DNK fragmentini klondash uchun lac Z geni ekspressiyasini nobud qiluvchi pUC-vektori polilinkeriga birlashtiriladi. DNK ulangan vektor tutuvchi hujayralar X-gal substratni parchalaydi va bunday bakteriya hujayralari boshqa gen ulanmagan bo'sh plazmidada vektor tutuvchi moviy rang hujayralardan farqli oq rangda qoladi. pUC vektorlar va ularning hosilalarining oq-moviy rang seleksiyasi klondash jarayonini ancha osonlashtiradi, chunki vektor plazmidaga begona genlarni ulash juda kam hollarda muvaffaqiyatli chiqadi. Aksariyat hollarda 10–30 ta ligirlangan molekulalardan faqat bittasi rekombinant bo'ladi, ya'ni o'zining tarkibida begona fragment tutadi va faqat moviy rang seleksiya yordamidagina rekombinant DNK tutuvchi bakteriya klondashni aniqlash mumkin.

pUC vektorlar tarkibida klondangan genlarning transkripsiyasini ta'minlovchi regulator izchillikdan iborat maxsus ekspression kassetalar tutadi.

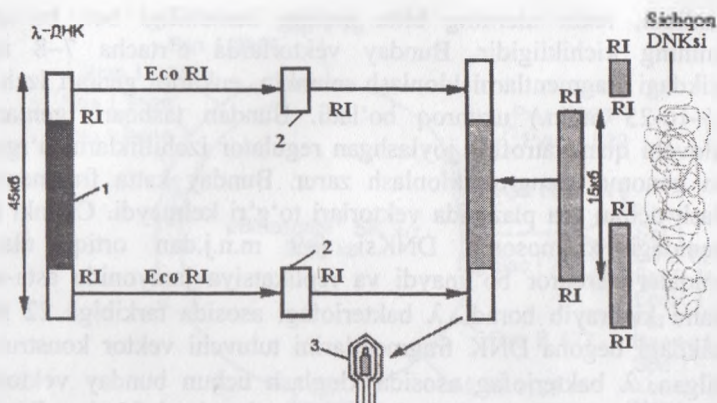
Faglar asosidagi vektorlar. Kosmidlar. Bac- va Yac- vektorlar. Bakteriya plazmidalari asosidagi vektorlar klondash uchun keng

qo'llaniladi, lekin ularning bitta muhim kamchiligi bor, bu uning sig'imining kichikligidir. Bunday vektorlarda o'rtacha 7–8 m.j.n. uzunlikdagi fragmentlarni klonlash mumkin, eukariot genlari izchilligi esa (~10–25 m.j.n.) uzunroq bo'ladi. Bundan tashqari, genlarning kodirlovchi qismi atrofida joylashgan regulator izchilliklarni o'rganish uchun genomni kengroq klonlash zarur. Bunday katta fragmentlarni klonlash uchun esa plazmada vektorlari to'g'ri kelmaydi. Chunki katta o'lchamdagi xromosoma DNKsi (~9 m.n.j.dan ortiq) ulangan plazmidalar barqaror bo'lmaydi va replikasiya jarayonida asta-sekin o'lchami kichrayib boradi. λ bakteriofagi asosida tarkibiga 22 m.j.n. uzunlikdagi begona DNK fragmentlarini tutuvchi vektor konstruksiya yaratilgan. λ bakteriofag asosida klonlash uchun bunday vektorlarni yaratishda fag DNK molekulasining markaziy qismi fagning *E.coli* da ko'payishi uchun zarur emasligi e'tiborga olingan holda restriktazalar yordamida fag genomidan kesib olinganda replikasiya uchun zarur bo'lgan fagning o'ng va chap yelkasi o'zgarmasdan qolishi kerak. Fag yelkaları boshqa fragmentlardan alohida ajratilib, klonlash uchun vektor sifatida qo'llaniladi. Kesilgan fag DNK si o'rimga o'lchami 9–21 m.j.n. bo'lgan begona DNK ulanadi. Bakteriyalarda faqat fagning ikkala yelkasi va begona DNK tutuvchi faglar ko'payadi (*I.9-rasm*). Bunda olingan fag rekombinant DNK si 30 m.j.n. dan kam bo'lmashligi kerak.

Ularning plazmidalar kabi replikasiyalanishi uchun imkon yaratiladi. Kosmidlarning o'lchami fag vektorlarinikiga nisbatan kichkina, hammasi bo'lib 5 m.j.n., kosmidlarga 30–45 m.j.n. uzunlikdagi genlarni ulash mumkin. Bunday rekombinant DNK tutuvchi fagning boshchalari faglar kabi ko'paya olmaydi. Ular bilan *E.coli* hujayralari transformasiyalanadi. Eukariot DNKsini tutuvchi cos-sayt o'rnatilgan dumigay molekula *E.coli*da plazmidalar singari ko'payadi va har bir fag zarrachalari individual bakterial transformant koloniyasini hosil qiladi.

100 m.j.n.dan ortiq uzunlikdagi DNK fragmentlarini klonlash maxsus yaratilgan BAC va YAC vektorlarida amalga oshiriladi.

BAC- vektorlar bakteriyaning F-plazmidasi asosida olingan bo'lib, bu plazmidalarning bakteriya hujayralaridagi replikasiyasi va nusxasining ko'payishiga javobgar genlarni va klonlashni osonlashtiruvchi qator qo'shimcha nukleotid ketma-ketliklarni tutadi. VAC – vektorlar sig'imi o'zining uncha katta bo'lmagan o'lchamida (~7 m.j.n) juda katta -100–300 m.j.n. bo'ladi. Uning sig'imi genom bibliotekasini yaratishda klonlar sonini ko'p marta kamaytirish imkonini beradi.



1.9-rasm. Bakteriofag λ asosidagi vektorda DNKni klonlash:
 1- fagning replikasiyasi uchun zarur bo'lgan DNK fragmenti;
 2-fagning bakteriya hujayralarida replikasiyalanishi va fagning keyingi taxlanishi uchun javobgar genlarni tutuvchi DNK fragmentlari;
 3-begona DNK fragmentlarini tutuvchi bakteriofag.

YAC-vektorlar ham katta o'lchamdagi DNK fragmentlarini klonlashda foydalaniladi, achitqining sun'iy minixromosomasini namoyon qiladi. YAC-vektor sentromer, telomer va replikasiya boshlanish nuqtasiga ega. Bunday vektorga begona DNK ning 100 m.j.n., dan ortiq uzunlikdagi fragmentlarini ham ulash mumkin. Bunday minixromosoma achitqi hujayrasiga kiritilganda replikasiyalanadi va mitoz bo'linishda o'zini boshqa achitqi xromosomalari kabi tutadi.

Genom bibliotekasi (genlar banki) – organizmning DNK izchilliklari to'liq to'plamining vektor tarkibida klonlanishidir. Butun genomni alohida qismlarga ajratish (fragmentatsiyalash) gen muhandisligi ishlarini yengillashtiradi, alohida izchilliklarni, turli genomlarning muayyan qismlarini qiyosiy tahlil qilish va eng asosiysi alohida genlarni ajratish hamda ular bilan ishlash imkonini beradi.

Genom DNKsining fragmentlari yuqori molekular massaga ega bo'lgan xromosoma DNK sini restriktazalar yordamida bo'laklarga bo'lish – gidrolizlash yo'li bilan olinadi. DNK ning gidrolizi uchun restriktazalar shunday tanlanishi kerakki, bu fermentlar ta'sirida hosil bo'lgan fragmentlar bir-birining uchini yopishi va ularning uzunligi vektor o'lchamiga mos kelishi lozim. Olingan fragmentlar fag yelkalari bilan ligirlanadi va fag zarrachalarining oldindan tayyorlangan tayyor

boshchalariga joylashtiriladi. Genlar banki shunday usulda olinadi. Genlar banki fag banki ko'rinishida - 70 °C haroratda xloroform tagida saqlanadi. Shunday usulda genlar bankini o'n yillab saqlash mumkin.

Olingan genom klonlarini ko'paytirish, shuningdek, kerakli klonni qidirib topish ishlarini amalga oshirish uchun fag bibliotekasi bilan bakteriya hujayralari zararlanadi va zararlangan hujayralar Petri likobchasidagi agarli muhitga ekiladi. Sutemizuvchilar hujayrasining to'liq gaploid to'plami $3 \cdot 10^9$ juft asosdan iborat bo'ladi. 15 ming juft nukleotid sig'imdagi vektorda biblioteka 1 mln. atrofida fag zarrachalari saqlaydi. Millionlab fag blyashkalarini tekshirish, butun genomdan zarur gen mavjudligini tekshirish imkonini beradi. Aynan shunday tarzda qidirilayotgan gen izchilligini saqlovchi fag zarrachalarini aniqlash, faqat shu izchillik DNK sini ko'paytirish va keyingi izlanishlarni amalga oshirish mumkin.

Genlar izchilligini identifikatsiya qilish va ajratish

Genlarni ajratish gen muhandisligining asosiy bosqichlaridan biridir. Rekombinant DNK olishning bu bosqichidagi muvaffaqiyati avvalombor bu genning qay darajada o'rganilgani va uning donor genomidagi joylashish holatiga, mazkur gen *mRNK* sini ajratish usullari va shu gen mahsulotlarining funksional faolligini aniqlash usullarining yaratilishi; mazkur gen ko'p miqdorda mavjud bo'lgan (amplifikatsiyalangan) yoki faol bo'lgan obyektlarning mavjudligi, keyinchalik teskari transkripsiya yo'li shu genning DNK sini olishda foydalanib, uning *mRNK*sini yetarli miqdorda ajratishga bog'liq.

Genlarni ajratishning ikkita asosiy usuli mavjud: gen sun'iy ravishda sintezlanadi yoki klonotekadan zarur genni saqlovchi klon tanlab olinadi.

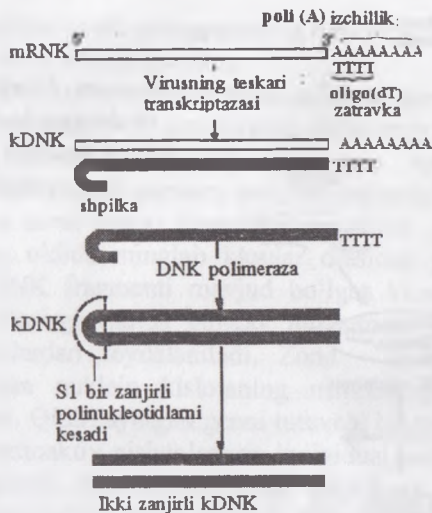
DNK sintezi (*kDNK*). *Teskari transkriptaza yoki revertaza* fermenti aniqlanganidan so'ng, genni sun'iy ravishda sintezlash orqali genlarni ajratish imkoniyati paydo bo'ldi. Bu ferment ba'zi bir RNK saqlovchi onkogen viruslardan ajratib olingan. Ferment spetsifik DNK-polimerazani aks ettiradi va RNK ga yo'nalayotgan DNK sintezini amalga oshiradi. Bunda RNK dan matritsa sifatida foydalanib, komplementar DNKning zanjiri sintezlanadi. Ferment gen ekspressiyasining birinchi bosqichi—transkripsiyaga teskari reaksiyani katalizlaydi, uning (teskari transkriptaza) nomi ham shundan olingan.

Muayyan genga spetsifik bo'lgan *mRNK* ni gomogen holda ajratishga muvaffaq bo'ldik deb taxmin qilsak, ba'zi hollarda, ya'ni bu *mRNK*, umumiy *mRNK*ning asosiy qismini tashkil etgan hollarda buni amalga oshirib bo'lmaydi. Deyarli barcha eukariot organizmlarni *mRNK*lari o'zining 3' uchida adenin (A) qoldiqlaridan iborat poli (A)-ketma-ketliklarni saqlaydi. Bu izchillik protsessing natijasida *mRNK*ga birlashadi.

Reaksiya boshlanishi uchun fermentga ikki zanjirli DNK ning uncha uzun bo'lmagan bir qismi kerak bo'ladi. Agar reaksiyaga 18-20 ta timin qoldiqlaridan iborat (poli dT) bir zanjirli qisqa oligonukleotidlar qo'shilsa, ular *mRNK*ning poli(A)-ketma-ketligi bilan birlashadi (komplementarlik prinsipi asosida DNK- RNK fragmentlarini hosil qiladi) va bunday dupleks fermentativ reaksiyaning boshlanishi uchun turtki bo'lib xizmat qiladi (1.10-rasm). Natijada duragay RNK-DNK molekulasi hosil bo'ladi, uning uchida esa ikki zanjirli DNK ning qisqa bo'lagi-hosil bo'ladi. Uning ko'rinishi ayollar sochini turmaklab turadigan shpilkaga o'xshaydi. Bu shpilka DNK ning ikkinchi komplementar zanjirining sintezi uchun turtki bo'lib xizmat qilishi mumkin. Bu reaksiyani DNK polimeraza I amalga oshiradi. *mRNK* zanjirining RNK-aza fermenti tomonidan gidrolizlanadi.

DNKning bir zanjirli uchastkalarini gidrolizlovchi S I endonukleaza fermenti yordamida shpilkani kesib tashlash mumkin. Natijada zanjirlaridan biri *mRNK* ga komplementar bo'lgan, ikki zanjirli DNK molekulasi hosil bo'ladi. Bunday DNK *kDNK* deb ataladi va u *mRNK* ning dastlabki molekulasi transkripsiyalangan struktura geniga mos keladi. Olingan *kDNK*ga «yopishqoq» uchlar birlashtiriladi va plazmidaga, masalan, pUC 19 plazmidasiga ulanadi. *kDNK* fragmentlarini ko'paytirish uchun rekombinant DNK *E.coli* ga kiritiladi. Shu kabi sxemalar ishlab chiqarilishi sanoat asosida yo'lga qo'yilgan. Ulardan Insulin, o'sish gormoni, interferon, albumin, immunoglobulinlar va qator boshqa oqsillar genlarini olishda foydalaniladi.

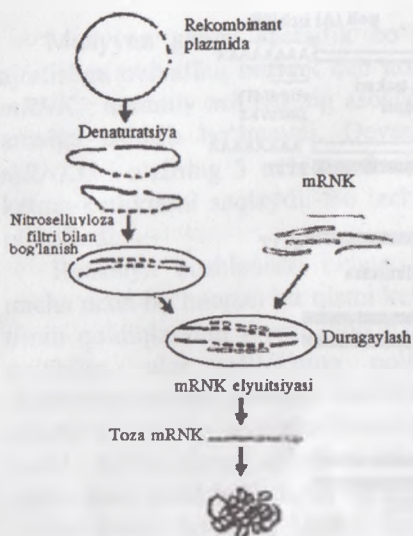
Mazkur oqsilni kodirlovchi aynan shu gen olingani haqida ishonch hosil qilishning bir nechta usullari mavjud. Agar gen tomonidan kodirlangan oqsilning aminokislotalar tartibi ma'lum bo'lsa, unda klonlangan DNKning nukleotid izchilligini aniqlab, uning aynan shu oqsilni kodirlashiga ishonch hosil qilish mumkin.



1.10-rasm. *mRNK*da *kDNK* sintezi sxemasi.

Ba'zi hollarda DNK-RNK duragaylash usuli ham qo'llaniladi. Buni amalga oshirish uchun individual *mRNK* ajratilgan bo'lishi kerak (1.11-rasm). *kDNK* molekulari denaturatsiyalanadi (DNK iplari bir-birdan ajraladi) va radioaktiv nishonlangan *mRNK* bilan aralashtiriladi. Renaturatsiya sharoitida (qo'sh spiralning qayta tiklanish jarayoni, DNK va unga komplementar RNK zanjiri orasida ham hosil bo'lishi mumkin) DNK-RNK duragay molekulari hosil bo'ladi. S I nukleazadan foydalanib, ularning to'liq komplementarligiga ishonch hosil qilish mumkin. Agar *kDNK* RNKga to'liq komplementar bo'lmasa, unda duragay molekulada juftlashmagan bir zanjirli uchastkalari bo'ladi, ularni S I nukleaza fermenti yordamida gidrolizlash orqali yo'qotish mumkin.

Agar *kDNK* vektor molekula tarkibida ekspressiyalanishga qodir bo'lsa, unda *mRNK* sintezi amalga oshadi, so'ngra *mRNK*dan oqsil sintez bo'ladi, genni uning mahsuloti bo'yicha – oqsilni aniqlash immunokimyoviy usul yordamida identifikatsiya qilish mumkin. Shunday tarzda bu usullarning birini qo'llab aynan zarur gen olinganini isbotlash mumkin.



1.11-rasm. Filtrlarda DNK-RNK ni duragaylash yordamida *kDNK* tutuvchi plazmidalarni aniqlash.

***kDNK* bibliotekasini yaratish.** Biz yuqorida individual *mRNK* ajratish imkoniyatini ko'rib chiqdik. Demak, bu amalga oshishi uchun gen muayyan hujayra va to'qimalarda tanlab faol bo'lishi kerak. Bunday hollarda *mRNK* ning aralash populatsiyalarida teskari transkripsiya reaksiyasi o'tkaziladi va natijada barcha tipdagi *mRNK* lar teskari transkriptlari aralashmasini aks ettiruvchi *kDNK* olinadi. So'ngra odatdagi *kDNK* bankini yaratish usuliga o'tiladi. Buning uchun *kDNK* molekulari vektor molekular bilan birlashtiriladi va ular bakteriya hujayralariga transformatsiyalanadi. Lekin tajribalar shunday o'tkazilishi kerakki, har bir bakteriya hujayrasi bir dona rekombinant plazmidaga ega bo'lishi va shunga asosan faqat bir xil turdagi *kDNK* tutishi zarur. Har biri o'zining tarkibida *kDNK* tutuvchi vektor plazmidalar yig'indisi *kDNK* bibliotekasi deb ataladi. Demak, *kDNK* bibliotekasi genom bibliotekasidan farqli, genomning butun izchilliklari va genlarini o'zida tutmaydi, faqat bu organizmda ekspressiyalanuvchi qisminigina namoyon qiladi. Bunday hollarda *kDNK* genning promotor va intron qismlarisiz faqat struktura qismini aks ettiradi.

Faqat bargdan yoki ildizdan *mRNK* ajratib, ildiz yoki barg to'qimasining muayyan to'qimalarda, bargda yoki ildizda ekspressiyalanuvchi genlarga xos bo'lgan spetsifik *kDNK* ni olish mumkin. Shu yo'l asosida o'simlik yoki hayvonlar *kDNK* bibliotekasi bilan birga alohida organlar va to'qimalar *kDNK* bibliotekasi (organ yoki to'qimaga

xos *kDNK* bibliotekasi) yoki ontogenezning turli jarayonlariga xarakterli *kDNK* bibliotekasini yaratish mumkin.

Bunday bibliotekalarni olish va tahlil qilish to'qimaga xos genlarni ajratish va hujayra hamda to'qimalarning differensiyallanish jarayonlarini o'rganish, to'qima va organlarga xos metabolizmni, bu jarayonlarda ishtirok etuvchi genlarni aniqlash imkonini beradi.

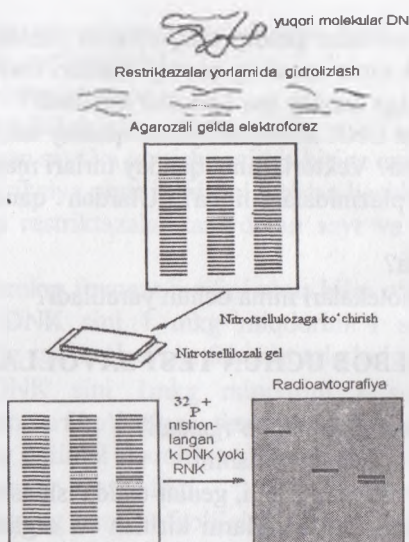
Klonotekadan zarur genni identifikatsiya qilish. Bunday hollarda tadqiqotchilarning oldida minglab klonlar orasidan uni qiziqtiruvchi genni tutuvchi DNK fragmenti mavjud bo'lgan klonni izlab topish vazifasi turadi. Hozirgi vaqtda bunday muammoni hal qilish uchun molekular zondlardan foydalaniladi. Zond – genning izchilligiga gomologik bo'lgan nuklein kislotaning nishonlangan molekulasini o'zida aks ettiradi. Qidirilayotgan genni tutuvchi bakteriya koloniyasini aniqlash uchun radioaktiv nishonlangan individual *mRNK* yaxshi zond bo'lib xizmat qiladi. Ammo individual *mRNK* ni har doim ham ajratishga muvaffaq bo'lish qiyin. Ba'zida hujayrada qidirilayotgan gen mahsuloti (demak *mRNK* si ham) juda kam miqdorda bo'ladi, yoki *mRNK* juda tez degradatsiyalanadi, shuning uchun *mRNK* ni ajratish mumkin emas. Barqaror oqsil ishtirokida uning ba'zi qismining uncha ko'p bo'lmagan miqdorini ajratish va aminokislotalar tartibini aniqlash mumkin (buning uchun uzunligi 5–10 aminokislota qoldig'idan iborat oqsil qismini bilish yetarli). Aminokislotalarning ma'lum izchilligi bo'yicha *mRNK* ning shu uchastkasidagi aminokislotalar ketma-ketligini kodirlovchi qanday nukleotidlar izchilligi bo'lishi mumkinligini aniqlash mumkin. So'ng radioaktiv nishonlangan alohida nukleotidlardan 30 juft nukleotiddan kam bo'lmagan uzunlikdagi oligonukleotidlar kimyoviy sintezlanadi, ulardan bittasi qidirilayotgan gen uchastkasiga to'liq komplementar bo'ladi. Bunday nukleotidlar *kDNK* ga, so'ng genom bibliotekasidagi klonlarga mos keluvchi zond - namuna hisoblanadi.

Bibliotekalar skriningi. Radioaktiv nishonlangan zond olinganidan so'ng, zondga komplementar va tahlil qilinayotgan oqsilga mos izchillikka ega plazmida tutuvchi bakteriya koloniyalarini identifikatsiya qilish uchun, genom bibliotekasini yoki *kDNK* bibliotekasini ko'rib chiqiladi.

Bakteriya koloniyalari o'sayotgan Petri likobchasi ustiga maxsus neylon filtr yopiladi; har bir koloniya hujayralarining bir qismi filtrga o'tadi, qolgan qismi likobchada qoladi. Natijada replika hosil bo'ladi: likobchada va filtrda koloniyalar bir xil taqsimlanadi. Neylon filtrga DNK mustahkam o'rinishadi. Neylon filtrdagi bakteriyalarni lizis qilish

va klonlarning DNK sini denaturatsiyalash uchun ishqor bilan ishlov beriladi. So'ng filtr nishonlangan zond (*kDNK* yoki *mRNK* yoki sun'iy oligonukleotid) solingan eritmaga joylashtiriladi. Duragaylanishda zond nishonlangan zondga komplementar izchilliklar tutuvchi koloniyalar bilan bog'lanadi; filtr zond molekulari bilan bog'lanmagan hujayralardan yuvish orqali tozalanadi va radioaktiv nishon tutuvchi koloniyalarni aniqlash uchun radioavtografiya qilinadi. Bu koloniyalar Petri likobchasida identifikatsiyalanganidan so'ng, alohida olib ko'paytiriladi. Shunday qilib, genom bibliotekasi yoki *kDNK* ning ko'p sonli klonlari orasidan tahlil qilinayotgan gen izchilligini tutuvchi klon aniqlanadi va keyingi ishlar butun genom bilan emas, faqat bitta gen (DNK fragmenti) bilan olib boriladi.

DNK tahlilining blot-duragaylash usuli nafaqat *kDNK* va genom bibliotekalari skriningida, shuningdek, genom DNKsini tahlil qilishda ham foydalaniladi. Shu usul yordamida genomda muayyan DNK izchilligi ishtirokini aniqlash mumkin (masalan, transgen o'simliklar genomida begona gen ishtiroki, gen nusxalarining ko'payishi, genning nukleotid izchilligidagi o'zgarishlarni tahlil qilish mumkin). Blot-duragaylash usuli bilan DNK ni tahlil qilish muayyan DNK fragmentlarining ularni spetsifik nishonlangan zondlar bilan duragaylash yo'li orqali aniqlashga asoslangan. U quyidagi bosqichlardan iborat: 1) DNK restriksiyasi; 2) restriksiyalangan DNK fragmentlarini geldan neylon filtrga ko'chirish va ularni immobilizatsiyalash; 3) nishonlangan zond bilan duragaylash. Yuqori molekular xromosoma DNK si bitta yoki bir nechta restriktazalar bilan kesiladi. Hosil bo'lgan fragmentlar agarozali gelda elektroforez qilish orqali ajratiladi va oldindan denaturatsiyalangan (0,4 M NaOH) gelning ustiga neylon filtr, uning ustidan filtr qog'ozlar qo'yiladi Kapilyar kuchlar ta'sirida DNK fragmentlari perpendikular ravishda filtrga o'tib, u bilan bog'lanadi (immobilizatsiyalanadi). Bunday ko'chirish *blotting* (blot – so'rish) deb ataladi. Bunda filtrda gelning replikasi hosil bo'ladi. So'ng filtr radioaktiv nishonlangan bir zanjirli zond solingan eritmaga joylashtirilganda filtrga birikkan xromosoma DNK si fragmentlari bilan qo'shilib duragaylanadi. Zond faqat o'ziga gomologik DNK izchilligi tutuvchi fragmentlar bilan duragaylanadi. Nishon bilan bog'langan fragmentlar radioavtografiya orqali aniqlanadi. 1.12-rasmda Sauzern (Southern blotting) bo'yicha blot-duragaylashning sxemasi berilgan.



1.12-rasm. Sauzern bo'yicha blot-duragaylash usuli prinsipi.

Radioavtografiyada hosil bo'lgan chiziqchalar orqali genomda tahlil qilinayotgan fragmentlar mavjudligini, bu izchilliklardagi o'zgarishlarni (deletsiya, insersiya), chiziqchalarning och yoki to'q rangi orqali genning genomdagi nusxalari sonini aniqlash mumkin. Demak, bu usul butun genom va alohida genlarni tahlil qilish uchun ham qo'llaniladi.

Shunday usulda (*Northern blotting* usulida) *mRNK* ni ham immobilizatsiya qilib, tahlil qilish mumkin.

Demak, usullarni birgalikda qo'llash orqali ko'pchilik genlarni, ularning mahsulotlari – oqsillarini juda kam miqdorda bo'lsa ham ajratish mumkin. Bu genlar kelajakda gen muhandisligi ishlari uchun obyekt bo'lib xizmat qilishi mumkin.

I BOB UCHUN NAZORAT SAVOLLARI

1. Gen muhandisligining qanday moddiy asoslari mavjud?
2. Hozirgi vaqtda gen muhandisligi qanday imkoniyatlarga ega?
3. Gen muhandisligida foydalaniladigan asosiy fermentlarni sanab o'ting?
4. Restriktaza fermentlarining faoliyat mexanizmi qanday kechadi?
5. Restriktazalar bilan qirqilgan «yopishqoq» uchli bo'laklarning hosil bo'lishi qanday amalga oshadi?

6. Restriksion haritalar qanday maqsadlarda tuziladi?
7. Sekvenirlash nima va uning qanday usullari mavjud?
8. Genlar bankiga qanday ma'lumotlar kiritiladi?
9. Rekombinant DNK konstruksiyalari qanday tuziladi?
10. Vektor nima? Vektorlarning qanday turlari mavjud?
11. Bakterial plazmidalar nima? Ulardan qanday maqsadlarda foydalaniladi?
12. *kDNK* nima?
13. *kDNK* bibliotekalari nima uchun yaratiladi?

I BOB UCHUN TEST SAVOLLARI

1. Gen muhandisligi nimani o'rganadi?
 - A) genlarni va ularning tuzilishini
 - B) genlarni qirqish va ulashni, genlar ustida ishlashni
 - *S) retsipientga yangi belgilarni kiritish va organizmlarning yangi shakllarini olishni
 - D) hujayrada kechadigan biokimyoviy jarayonlarni
 - E) genlarni ko'chirib o'tkazishni
2. Gen muhandisligida o'simlik hujayralarining qaysi xususiyatlari hayvon hujayralariga nisbatan afzal hisoblanadi?
 - A) tez ko'payishi
 - B) yirik hajmi va bo'linish tezligi
 - *S) bitta hujayrasidan yaxlit o'simlik olish mumkinligi
 - D) biologik va morfologik belgilari
 - E) reproduktiv xususiyati
3. Quyida berilgan qaysi o'simliklardan yetuk o'simliklar regeneratsiyasi oson kechadi?
 - A) tamaki, kartoshka, karam
 - B) lavlagi, soya, sabzi
 - S) raps, beda, pomidor
 - D) sholi, bug'doy, suli
 - *E) A, B va S
4. Gen muhandisligida qanday fermentlardan foydalaniladi?
 - *A) revertaza, ligaza, restriktaza
 - B) amilaza, reduktaza, ligaza
 - S) transkriptaza, liaza, izomeraza
 - D) oksidoreduktaza, transferaza
 - E) topoizomeraza, pektinaza

5. Nima uchun rekombinant molekular olish uchun asosan II tipdagi restriktazalar qo'llaniladi?

A) ulardan foydalanish oson

B) muayyan izchillikda qirqa oladi

S) ular taniydigan sayt va qirqish joyi bir-biriga mos kelmaydi

D) DNK ni restriksiya sayti izchilligi ichidan boshlab gidrolizlaydi

*E) bu tipdagi restriktazalar taniydigan sayt va qirqish joyi bir-biriga mos keladi.

6. Restriktazalarning ferment faolligi nima bilan o'lchanadi?

A) T 4 fagi DNK sini 1 mkg miqdorini 1 soat ichida to'liq gidrolizlanishi uchun sarf bo'ladigan ferment miqdoriga nisbatan

*B) λ fag DNK sini 1mkg miqdorini 1 soat ichida to'liq gidrolizlanishi uchun sarf bo'ladigan ferment miqdoriga nisbatan

S) reaksiyaning optimal sharoitiga nisbatan restriktazalar uchun pH, ion kuchi, tegishli ionlar mavjudligi

D) restriktazalarning ferment faolligini o'lchab bo'lmaydi

E) elektroforezda yurish tezligi va molekular og'irligiga ko'ra

7. Restriksion xaritalar qanday imkoniyatlarni beradi?

*A) DNK ni ketma-ketliklari yig'indisini olish

B) bo'laklarni tekshirish

S) DNK molekularini halqasimon shakldan to'g'ri chiziq shakliga o'tkazish

D) DNK ni mayda bo'laklarga bo'lish

E) viruslarning halqasimon DNK sini tahlil qilish

8. Sekvenirlash qanday tamoyillari mavjud?

A) kimyoviy

B) fizikaviy

S) fermentativ

D) biologik

*E) A va S javoblar to'g'ri

9. Oqsil aminokislotalari ketma-ketligini qanday aniqlash mumkin?

A) nuklein kislotalar ketma-ketligini aniqlash yo'li bilan

B) genetik kodni bilish orqali

S) oqsilning o'zini to'g'ridan to'g'ri sekvenirlash

*D) A, B va S javoblar to'g'ri

E) aniqlash o'ta murakkab va ko'p mehnat talab qiladi.

10. Genetik transformatsiya samaradorligini oshirishda qanday qiyinchiliklar mavjud?

A) genlarni identifikatsiya qilish va klonlash qiyinligi

- B) belgi va xususiyatlarning poligen determinatsiyasi
- S) ishonchli vektor tizimlarining yo'qligi
- D) bunday qiyinchiliklar bartaraf etilgan
- *E) A, B va S javoblar to'g'ri

II bob. O'SIMLIKLARNING GENETIK MUHANDISLIGI

Jinsiy gibridizatsiya va tanlashga asoslangan an'anaviy seleksiya usullari o'simliklarning yangi genotiplarini olish imkoniyatini beradi. Ular yirik hajmdagi qishloq xo'jalik ekinlarining gibrid va navlari, shuningdek, seleksiyaning nodir nusxalarini olishni ta'minlaydi. Rossiyaning mashhur seleksionerlari (P.P.Luk'yanenko, V.S.Pustavoyt, V.S.Remeslo, P.V.Garkaviy, Kirichenko, Kalinenko va boshqalar), bu borada respublikamizning yirik seleksioner olimlari (R.R.Shreder, YA.L.Navroskiy, G.S.Zaysev, S.S.Kanash, A.I. Avtonomov, A.Dada-boev, N.N.Nazirov, S.Miraxmedov, A.P. Ibragimov, Sh.Ibragimov, Rizamat ota Musaxmammedov, O.Jalilov va boshqalar) seleksiya rivojiga munosib hissa qo'shganlar. Yangi navlarni olishda an'anaviy (klassik), seleksiya usullari bundan keyin ham asosiy usullardan bo'lib xizmat qiladi. Gen muhandisligi manipulyatsiyalari qishloq xo'jalik ekinlarining patogenlarga chidamli yangi nav, shakl, liniya va gibridlarini olish va yangi navlarni joriy etish muddatlarini qisqartirish kabi qator muhim muammolarni yechish imkoniyatini beradi.

Rekombinant DNK lar texnologiyasi prokariot, shuningdek, eukariot genlarni ajratish, bu gen (yoki bir necha genlar)ni retsipient o'simlik xromosomasiga ko'chirib o'tkazish va uning ekspressiyasini ta'minlashga sharoit yaratadi. Bu texnologiyani qo'llash izlanishni birmuncha aniq maqsadli qiladi va genetik apparat bilan manipulyatsiya qilish imkoniyatlarini kengaytiradi.

O'simliklarning bitta hujayrasidan yaxlit o'simlik olish mumkinligi, ya'ni totipotentlik xususiyati hayvonlar hujayralariga nisbatan ularning eng muhim afzalligi hisoblanadi. O'simliklar gen muhandisligidagi natijalar o'simlik to'qimalari kulturasi usullari, ayniqsa, turli xil o'simliklarni regeneratsiya qilish uslublarini ishlab chiqishga bog'liq bo'ladi.

Gen muhandisligi texnologiyasi transgen o'simlik olishning quyidagi bosqichlarini o'z ichiga oladi: 1) genni tanlash va uni klonlash; 2) retsipient – o'simlik genotipini tanlash; 3) genni kiritish va uning retsipient – o'simlik genomiga ekspressiyasi; 4) transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o'simliklarni tanlab olish.

Genni tanlash va uni klonlash. Genni tanlash, o'simlikka xo'jalik ahamiyati qimmatli ma'lum bir belgini o'tkazish zaruriyatidan kelib chiqadi. Hozirgi vaqtda, asosan, o'simliklar transformatsiyasi uchun monogen belgilar, ya'ni, pestitsidlarga chidamlilik, yoki boshqa xil stress omillarga chidamlilikni belgilovchi genlar keng qo'llaniladi. Bu belgilarga javobgar genlarning ko'pchiligi bakteriya genomlaridan ajratib olingan. Keyingi vaqtlarda chidamlilik belgilariga javobgar donor sifatida yovvoyi o'simlik turlari genamlari tanlanmoqda. Turli xil tur, avlod va hatto oilalarga mansub o'simliklarning biologik jihatdan bir-biriga mos kelmasligi sababli bunday genlarni retsipient o'simliklar genomiga jinsiy gibridlash usuli orqaligina kiritish mumkin emas. Hal etilishi yanada murakkab muammo bir guruh sifat belgilari: urug' sifati, qurg'oqchilik, yuqori va past haroratga chidamlilik belgilarini ajratib olish hisoblanadi.

Retsipient o'simlik genotipini tanlash. Retsipient sifatida ishlab chiqarish amaliyoti talablariga hosildorligi, urug' - mevasi sifati, biotik va abiotik stresslarga chidamliligi bilan javob bera oladigan, lekin faqat birgina salbiy belgi, masalan, zararkunanda hasharotlarga chidamsiz nav yoki liniyalar tanlab olinadi. Bunday o'simliklar genomiga hasharotlarni nobud qiluvchi prototoksin oqsili ekspressiyasini ta'minlovchi *bt2* bakteriya genini kiritish tanlab olingan navda hosildorlikni sezilarli oshishiga sabab bo'ladi. Shuningdek, retsipient o'simlik genotipini tanlashda hujayralarning yaxlit (fertil) yetuk o'simlikka qadar regeneratsiya qilish xususiyati ham inobatga olinadi, chunki bu belgi genotipga ham bir qadar bog'liqdir.

Genni kiritish va uning retsipient o'simlik genomidagi ekspressiyasi. O'simliklar genomiga begona genlarni ko'chirib o'tkazish muammosi begona genlarni ikki pallali va ba'zi bir pallali o'simliklar genomiga ko'chirib o'tkazish imkonini beruvchi tuproq agrobakteriyalari *Agrobacterium tumefaciens* tarkibidagi Ti-plazmidlarining aniqlanishi bilan birmuncha yengillashdi. So'nggi vaqtlarda o'simlik hujayralari transformatsiyasida bioballistik transformatsiya usuli, ayniqsa, bir pallali o'simliklar uchun keng qo'llanilmoqda. Begona genni retsipient o'simlik genomiga ekspressiyasini amalga oshirish va avlodlarda belgining nasldan - naslga turg'un o'tishini ta'minlash muhim masala bo'lib hisoblanadi. Kiritilgan genni ekspressiya bo'lishi bir qator sabablar: genni o'simlik genomiga integratsiya bo'lgan joyi, promotor qismining metillanish izchilligi, kiritilgan genning xususiyatlari va h.k. larga bog'liq.

Transformant hujayralar regeneratsiyasi va transgen o'simliklarni tanlash. Transformant hujayralardan yetuk o'simlikni regeneratsiya bo'lishi hujayralar totipotentligiga bog'liq, ammo bu har doim ham amalga oshavermaydi. Totipotentlik belgisi ikki pallali o'simliklar: tamaki, kartoshka, lavlagi, soya, raps, beda, pomidor, sabzi, karam va ba'zi mevali daraxtlarda yaqqol ifodalangan. Bir pallalilar, ayniqsa, boshqodoshlarda bu belgi kuchsiz ifodalangan bo'lib, ularda hujayradan yetuk o'simlikni regeneratsiyasi jarayoni juda qiyinchiliklar bilan kechadi. Hozirgi vaqtda g'alla ekinlariga mansub ba'zi o'simliklar makkajo'xori, sholi, bug'doy, suli kabilarni regeneratsiya qilish usullari ishlab chiqilgan.

Shuni qayd etish lozimki, ko'plab o'simliklarni regeneratsiya qilish bo'yicha yildan yilga bir qator takomillashtirilgan usullar ishlab chiqilmoqda va rivojlantirilmoqda.

Agrobakteriyalar asosida o'simliklar transformatsiyasi

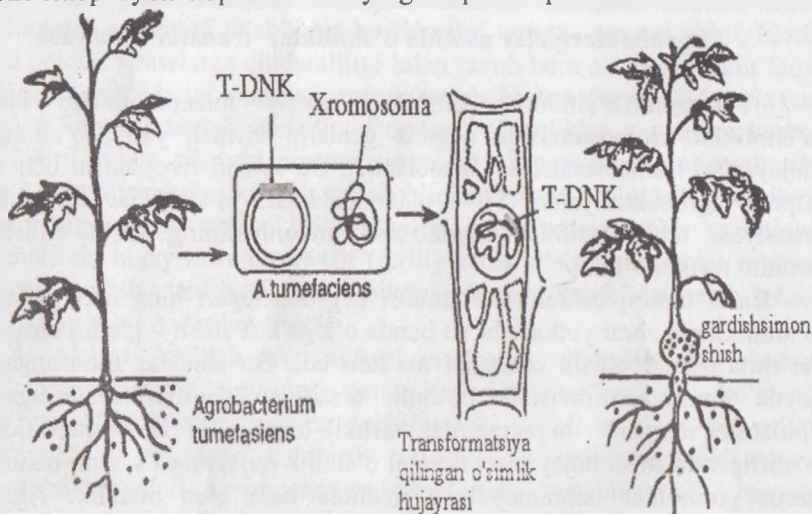
↳ Transgen o'simliklar olishdagi asosiy muammolardan biri o'simliklar xromosomasiga begona genlarni kiritish ya'ni, o'simlik hujayralari transformatsiyasi hisoblanadi. Bu sohani rivojlanishi uchun tuproq agrobakteriyalari Ti – plazmidalaridan o'simliklar transformatsiyasi tabiiy tizimida foydalanish imkoniyatining kashf etilishi muhim turtki bo'ldi. <

Ba'zi tuproq bakteriyalari turlari (*Agrobacteria*) ning ikki pallali o'simliklarga zarar yetkazishi va bunda o'ziga xos shish – gardishsimon bo'rtma hosil qilishi oldindan ma'lum edi. Bu shishlar zararlangan joyda muntazam ravishda bo'linib o'sadigan dedifferensiallashgan (ixtisoslashmagan) hujayralardan tashkil topgan. *In vitro* sharoitida o'stirilganda shish hujayralari normal o'simlik hujayralari o'sishi uchun zarur gormonlar uchramaydigan muhitda ham o'sa oladilar. Agar zararlantirilgandan so'ng barcha agrobakteriyalarni antibiotiklar qo'shib inaktivatsiya qilinsa ham shish hujayralari tartibsiz (nazorat qilinmaydigan) bo'linish xususiyatini saqlab qoladilar. Shunday qilib, agrobakteriyalar faqat shish hosil bo'lishini indutsirlash uchungina zarurdir. Shish hujayralari o'simlikka xos bo'lmagan aminokislotalar – opinlar (arginin hosilalari)ni sintezlay boshlaydi, ular agrobakteriyalar tomonidan azot va uglerod manbai sifatida foydalaniladi. Agrobakteriyalar bilan zararlangan o'simlikda, transformant o'simlik hujayralari

metabolizmi qayta quriladi va ular faqat bakteriyalar uchun zarur bo'lgan birikmalar sintezini boshlaydi.

Shish hosil qiluvchi kuchli induktorlardan biri *Agrobacterium tumefaciens* misolida shish chaqiruvchi vosita Ti – plazmida deb nomlangan (ingliz tilidan Tumor inducing – shish chaqiruvchi) maxsus plazmida bo'lib, uning bir qismi o'simlik hujayrasi xromosomasiga o'rnatilishi aniqlangan (2.1- rasm).

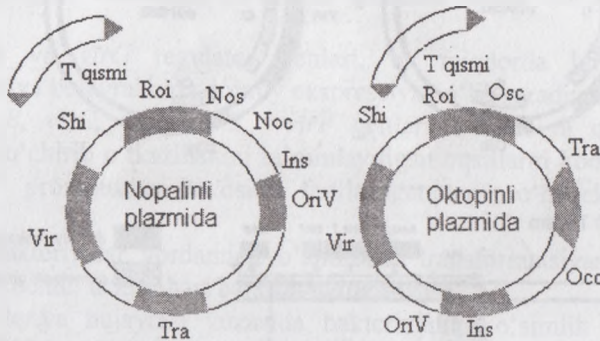
Ti-plazmida uzunligi 200 m.n.j (ming nukleotid juft) dan iborat halqasimon DNK dan tashkil topgan. U bakteriya hujayralarida avtonom replikasiya bo'la olish xususiyatiga ega. Ti – plazmidalarni ular sintezlaydigan opinlar tipiga ko'ra 4 ta guruhga bo'lishi mumkin. Ko'pincha nopalini yoki oktopin aminokislotalarini kodiraydigan Ti – plazmidalar uchraydi. Agrobakteriya hujayrasi plazmidalarning faqat biri oktopin yoki nopalini kodiraydigan tipini saqlashi mumkin.



2.1-rasm. T-DNK ning o'simlik xromosomasiga integratsiyasi va (gardishsimon) shish hosil bo'lishi (E.S. Piruzyan bo'yicha).

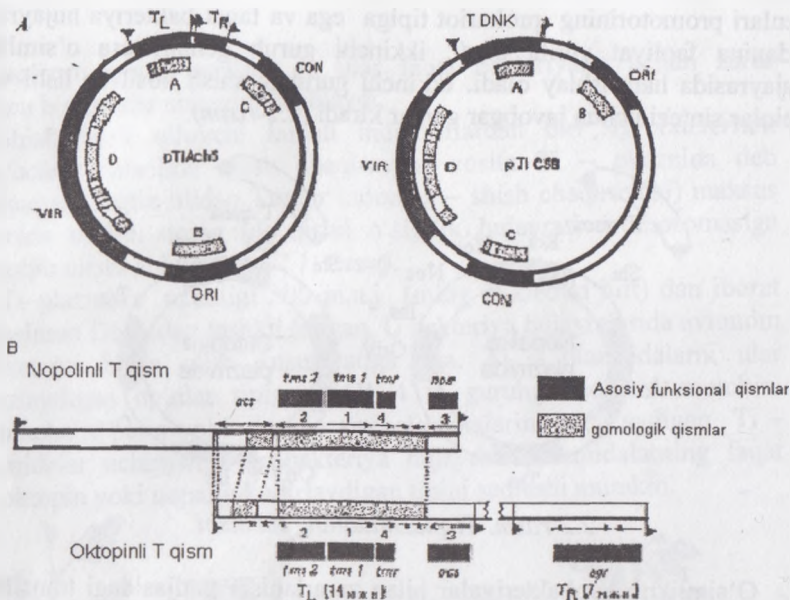
Genetik tadqiqotlarning ko'rsatishicha, barcha Ti-plazmidalarni o'xshash tuzilishga va ikki xil: 1) agrobakteriyaning o'zini metabolizmi uchun zarur (opinlar katabolizmi genlari, plazmidalar replikasiyasi boshlang'ich nuqtasi va h.k.); 2) o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun zarur bo'lgan guruhga mansub ketma-ketliklarga ega guruhlarga bo'lish mumkin. Shuni alohida qayd etish lozimki, birinchi guruh

genlari promotorining prokariot tipiga ega va faqat bakteriya hujayrasidagina faoliyat yurita oladi, ikkinchi guruh genlari esa o'simlik hujayrasida ham ishlay oladi. Ikkinchi guruhga shish hosil bo'lishi va opinlar sintezi uchun javobgar genlar kiradi (2.2-rasm).



2.2-rasm. Ti-plazmidaning tuzilishi.

O'simlikni agrobakteriyalar bilan zararlanishi natijasidagi transformatsiyasi quyidagicha kechadi. Aniqlanishicha, agrobakteriya ham, Ti – plazmida ham o'simlik hujayrasi ichiga kirmaydi, lekin Ti – plazmidaning bir qismi o'simlik hujayrasi yadrosiga o'tib, o'simlik genomiga joylashib olishi mumkin Ti – plazmidaning bu fragmenti *T-DNK* (ingliz tilidan transforming DNA – transformatsiyalanuvchi DNK) deb nomlanadi. *T-DNK* ning uzunligi 25 m.n.j. *T-DNK* oxirlarida uni plazmida tarkibidan qirqish va o'simlik genomiga integratsiyasi uchun zarur to'g'ri ketma-ketliklar (25 m.n.j) joylashgan. *T-DNK* yettita gen: opinlardan birini kodirlaydigan *nos* geni (nopalinsintetaza) yoki *ocs* (oktopinsintetaza), shuningdek, shish hosil bo'lish belgilarini kodirlaydigan oltita gen, ulardan ikkitasi auksin sintezi, bittasi sitokinin sintezini kodirlaydigan genlarni tutadi. Bu genlar ekspressiyasi natijasida hujayralarning gormonal statusi o'zgaradi, bu esa ularning dedifferensiallashuvi va shish hosil bo'lishiga olib keladi.



2.2 (b)- rasm. Oktopinli va nopalinli tipdagi Ti plazmidaning tuzilishi va ekspressiyasi.

A – Ti-plazmidaning asosiy funksional hududlarning joylashuvi va o'lchamini ko'rsatuvchi oktopin (pTiAch5) va nopalin (pTic58) tipidagi xaritasi. Ikkala plazmidaning o'ta o'xshash hududlari qora rangda berilgan. Bayroqchalar bilan to'g'ri ketma-ketliklar (25 m.j.n) belgilangan. CON - kon'yugatsiya vazifasini kodirlovchi hududlar, ORI-replikatsiya va replikasiyaning boshlanishi (oridjin), VIR-virulentlik hududi; T-DNK, T_L T_R - T-DNK tutuvchi hududlar (ingl.tilidan transferred).

B. Oktopin va nopalin tipidagi plazmidalarning T-DNK xaritalari; asosiy funksional domenlar, gomologiyalar va transkriptlar hududlari ko'rsatilgan. Trankripsiya mahsulotlari 3 (nos)-nopalinsintetaza, 3(ocr)- oktopinsintetaza, acs-agrosinopinsintetaza, 1(tms1) triptofanmonooksi-genaza, 2 (tms2)-indol-3-atsetamidgidrolaza, 4 (tmsr)-dimetilallil (DMA)-transferaza, arg-agropin sintezi uchun zarur uchta transkript.

T – DNK ning mavjud bo'lishi zaruriy bo'lsa-da, bu transformatsiya jarayoni uchun yetarli emas. T-DNK ni Ti – plazmidadan qirqish va uni o'simlik hujayrasiga o'tkazishda Ti – plazmidaning

boshqa, ya'ni, T-DNK dan tashqaridagi vir –hududi (virulentlik hududi) javobgardir. Vir hududi yettita lokus – *virA*, *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virG*, *virF* dan iborat bo'lib, 40 m.j.n. dan iborat rayonni tashkil etadi.

Bajaradigan vazifasiga ko'ra vir genlarni ikkita sinfga bo'lish mumkin:

1. *virA* va *virG* regulator genlari, oz miqdorda bo'lsa ham agrobakteriya hujayralarida doimiy ekspressiya bo'lib turadi;

2. *virB*, *virC*, *virD*, *virE*, *virF* genlari T-DNK ni o'simlikka bevosita ko'chirib o'tkazilishini ta'minlaydigan oqsillarni kodirlaydi va ular faqat promotorlari bevosita faollashganidan so'ng ekspressiya bo'ladi.

Agrobakteriyalar yordamida o'simliklar transformatsiyasi amalga oshirilishi uchun uchta shart bajarilishi lozim:

– bakteriya hujayrasi yuzasida bakteriyaning o'simlik hujayrasi bilan birikishi uchun zarur maxsus polisaxaridlar sintezini amalga oshiruvchi to'rtta genni agrobakteriyalar xromosomasidagi faollashuvi;

– Ti – *plazmidaning vir* –hududi, ya'ni DNK ning o'simlik hujayrasi yadrosiga ko'chirib o'tkazilishi initsiatsiyasi uchun zarur qismining faollashuvi;

– T-DNK ning mavjud bo'lishi.

O'simliklar transformatsiyasi jarayoni agrobakteriyaning o'simlik hujayrasiga jarohatlangan qism orqali kirib borib birikishidan boshlanadi. Jarohatlanganda o'simlik hujayrasi tashqi muhitga maxsus fenolli birikma – astetosirengon ajratib chiqaradi.

Yuqorida ta'kidlab o'tilgandek, *virA* geni agrobakteriya hujayrasiga muntazam ravishda ekspressiya bo'lib turadi va *VirA* oqsili asetosirengonning membrana retseptori hisoblanadi. O'simliklardan ajratib chiqariladigan astetosirengon *VirA* oqsili orqali taniladi, u esa o'z navbatida, agrobakteriya hujayrasiga doimo ekspressiya bo'lib turadigan boshqa oqsil *VirG* ning faollashuviga olib keladi. *VirG* oqsili boshqa vir - *virC*, *virD*, *virB*, *virE*, *virF* – genlari transkripsiyasini faollashtiradi va mazkur genlarning promotor qismlari bilan bog'lanib, ularning ekspressiyasiga sabab bo'ladi. *virC*, *virD*, *virB*, *virE*, *virF* genlarining oqsil mahsulotlari T-DNK bilan bog'lanib, uning Ti – plazmida tarkibidan qir qilishi va o'simlik genomiga ulanishini ta'minlaydi (2.3-rasm).

VirD oqsili bir zanjirli qir qishni avval o'ng tomondagi T-DNKning 25 m.j.n ketma-ketligidan boshlab, keyin chap tomonidagi ketma-ketligida davom ettiradi.

Biroq Ti – plazmidasi bilan ishlash uning katta o‘lchamdali sababli qiyinchilik tug‘diradi, an’anaviy usullarni qo‘llab, genni plazmidaga ulab bo‘lmaydi. Shuning uchun Ti – plazmidaga gen muhandisligi usullari yordamida modifikatsiya qilinib, uning asosida o‘simliklar transformatsiyasi uchun vektorlar olingan. Bundan tashqari, shuni qayd etish lozimki, o‘simliklarni tabiiy Ti – plazmidasi bilan transformatsiyasi natijasida, transformant hujayralar regeneratsiya bo‘la olmaydi, chunki ularda shish hosil bo‘lish belgilarini kodiraydigan T-DNK hududining oltita geni faolligi sababli differensiallanish xususiyati to‘xtatilgan bo‘ladi. Agar differensiallashuvni blokiraydigan genlar ketma-ketligini T-DNK dan qirqib olib tashlansa, transformant hujayralar regeneratsiya qilish xususiyatini tiklaydi. Shuning uchun Ti – plazmidalaridan foydalanishda shish hosil qilish va opinlar sintezi uchun javobgar genlar ketma-ketligi qirqib olib tashlanadi, T-DNK ning faqat o‘simlik genomiga ko‘chirib o‘tkazish uchun zarur fragmenti (eng avvalo chap va o‘ng chegara takroriy ketma-ketliklari) ni qoldiriladi. Keyin T-DNK hududiga o‘simlik genomiga kiritilishi lozim bo‘lgan begona genlar joylashtiriladi.

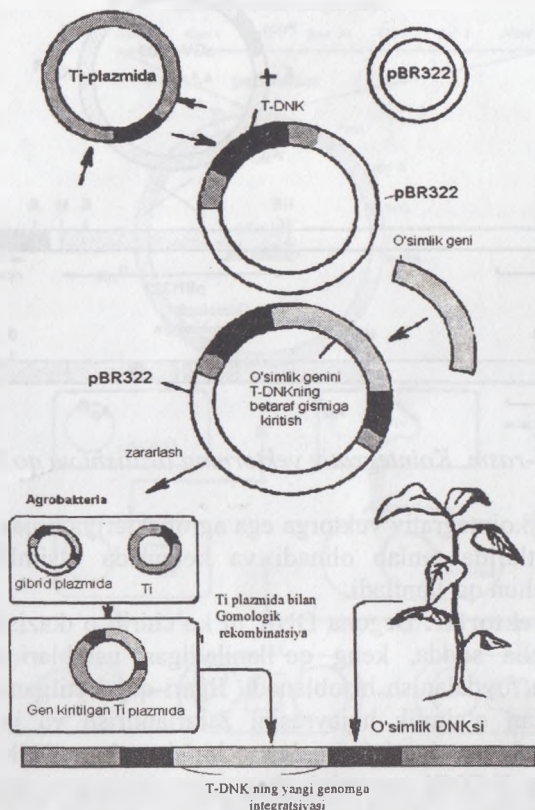
Kointegrativ vektorlar. Begona DNK ni o‘simlik genomiga kiritilishni osonlashtiruvchi usullardan biri kointegrativ vektorlardan foydalanish bo‘lib hisoblanadi. Bu yo‘nalishning mohiyati quyidagicha (2.5 - rasm).

Begona genni o‘simlik genomiga ko‘chirib o‘tkazishdagi barcha jarayonlarni ikki bosqichga bo‘linadi: o‘simlik genomiga kiritilishi lozim genni klonlash va o‘simlik hujayrasi genomi transformatsiyasini amalga oshirish. Bu ikkala bosqich turli xil vektorlar yordamida amalga oshiriladi.

Kerakli genni klonlash uchun yordamchi (oralik) vektor sifatida *E. coli* asosidagi plazmidalardan foydalaniladi.

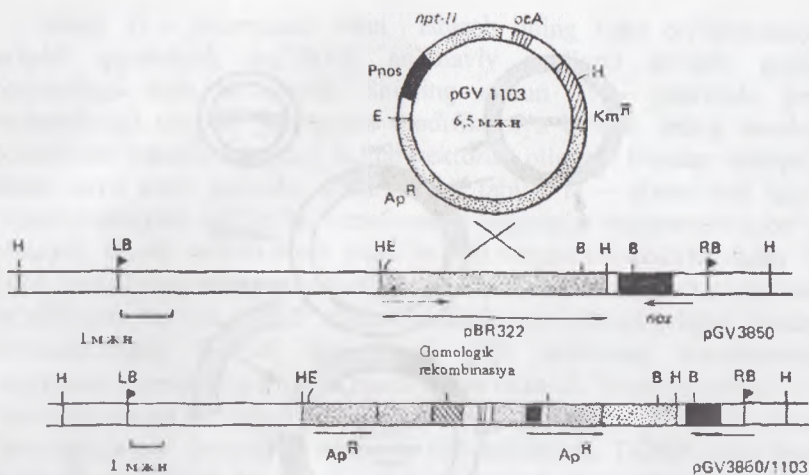
Ularga T-DNK ning chegaralangan T-DNK ketma-ketliklari fragmenti va selektiv (odatda, antibiotiklar kanamitsin, gigromitsin yoki gerbitsidga) chidamlilik belgisini kodiraydigan geni joylashtiriladi, bu esa kelgusida transgen o‘simliklarni tanlas‘ni amalga oshirish imkonini beradi. Bunday vektor kichik hajmga ega, undan T-DNK hududiga kerakli gen ketma-ketligini ulab, klonlash maqsadida foydalaniladi.

Kon‘yugatsiya yo‘li bilan bunday oraliq vektorni o‘simlik genomiga T-DNK qismining integratsiyasi uchun zarur bo‘lgan genlarni saqlaydigan boshqa vektorga ega maxsus *Agrobacterium tumefaciens* shtammi hujayralariga ko‘chirib o‘tkaziladi.



2.5-rasm. Ti-plazmidadan o'simlik hujayralariga genlarni ko'chirib o'tkazishda vektor sifatida foydalanish.

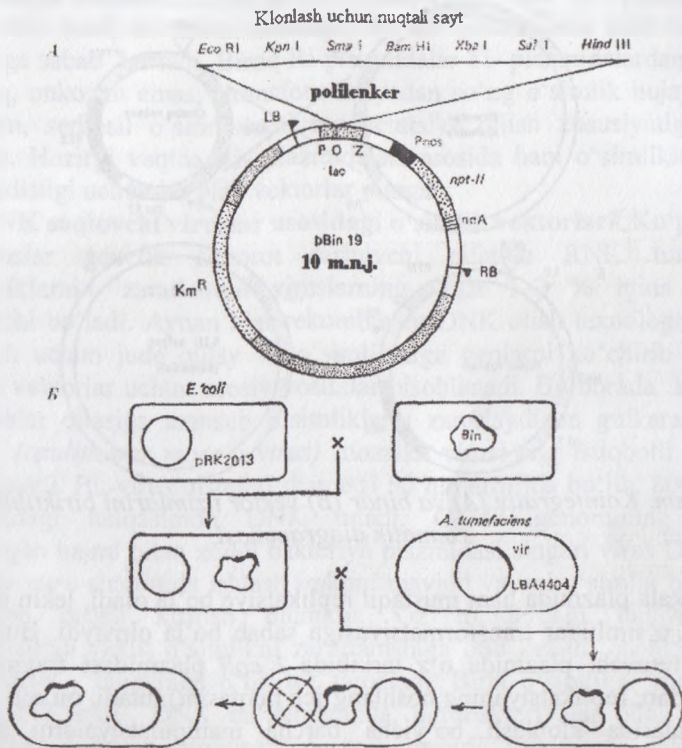
Bu vektor muayyan o'lchamga ega va u Ti – plazmidaning *vir*-hududi, T-DNK ning chegaralangan ketma-ketliklariga ega va oraliq vektorlarga analogik pBR322 plazmidasi fragmentlaridan tashkil topgan. Kon'yugatsiyadan so'ng ikkala vektorning gomologik qismlari o'rtasida rekombinatsiya amalga oshadi, buning natijasida oraliq vektorning kerakli gen va selektiv marker tutuvchi qismi *vir*-hududi va T-DNK ning chegaralangan ketma-ketliklari bilan birga ikkinchi vektorga ko'chirib o'tkaziladi. Shunday qilib, ikkita plazmida o'rtasidagi rekombinatsiya natijasida kointegrativ vektor olinadi (2.6-rasm).



2.6-rasm. Kointegrativ vektorning tuzilishi va qo'llanilishi.

Bunday kointegrativ vektorga ega agrobakteriya hujayralari selektiv oziqa muhitlarida tanlab olinadi va kelgusida o'simliklar transformatsiyasi uchun qo'llaniladi.

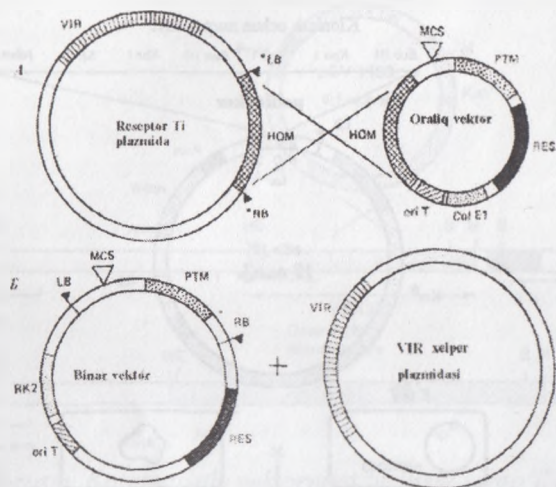
Binar vektorlar. Begona DNK ni ko'chirib o'tkazishning boshqa xil birmuncha sodda, keng qo'llaniladigan uslublaridan biri binar vektorlardan foydalanish hisoblanadi. Ilgari qayd etilganidek, agrobakteriyalar bilan o'simlik hujayrasini zararlantirish va javobgar *vir* – hududi transformatsiyasini amalga oshirish uchun DNK ni ko'chirib o'tkazish va T-DNK rayonini chegaralovchi to'g'ri takroriy ketma-ketliklar zarurdir. Bundan tashqari *vir* hududi va DNK ning chegaralovchi takroriy ketma-ketliklari bitta plazmada tarkibida joylashgan bo'lishi muhimdir. Binar vektorlar tizimi shunga asoslanganki, o'simliklar transformatsiyasi uchun foydalaniladigan agrobakteriya hujayrasida bir vaqtning o'zida ikkita plazmada joylashgan bo'ladi. Ulardan biri T-DNK ning chegaralangan qismlar ketma-ketliklariga ega bo'lsa, ikkinchisi *vir* hududiga ega bo'ladi.



2.7-rasm. pBin19 binar vektorining tuzilishi va qo'llanilishi.

A. pBin19 binar vektorining xaritasi. LB, RB-chap va o'ng chegaralar, lac-lac operonning α -komplementar hududi, P nos-nopalinsintetaza geni promotori, hptII - Tn5 ning neomisintransferaza ketma-ketligini kodlovchi qismi, noA -nopalinsintetaza genining poliadenil-anish nuqtasi, nuqtalar bilan pRK252 plazmidasining RK keng spektrli RK 2 plazmidasi replikatsiyasi boshlang'ichini saqlovchi ketma-ketliklari ko'rsatilgan.

B. pBin19 plazmidasining yordamchi plazmida pRK2013 bilan birga Agrobacterium tumefaciens LBA4404ga ko'chirib o'tkazilishi va agrobakteriyalarda xelper plazmidaning yo'qotilishi.



2.8-rasm. Kointegrativ (A) va binar (B) vektor tizimlarini biriktirishining sxematik diagrammasi.

Ikkala plazmidada ham mustaqil replikasiya bo'la oladi, lekin alohida holda o'simliklar transformatsiyasiga sabab bo'la olmaydi. Bunda T-DNK tutuvchi plazmidada o'z tarkibida *E.coli* plazmidasi fragmentlari (jumladan, replikasiyaning boshlang'ich nuqtasini) tutadi, bu esa *E. coli* hujayralarida klonlash bo'yicha barcha manipulyatsiyalarni amalga oshirish va barcha jarayonlarni osonlashtirish imkonini beradi. Kointegrativ vektorga analogik holda kerakli (maqsadli) gen va selektiv marker geni T-DNK hududiga ulanadi, shundan so'ng bunday rekombinant plazmidada *vir*-hududiga ega boshqa plazmidada saqlovchi agrobakteriyalar hujayrasiga kiritiladi.

Kointegrativ vektorlardan farqli o'laroq, ikkala plazmidalar o'rtasida gomologik rekombinatsiya ro'y bermaydi va ular yagona vektor molekulasiga aylanmaydi. Bitta plazmidaning *vir*-genlari bilan ekspressiyalanuvchi oqsillarni qirqib, boshqa plazmidaning begona genlari bilan birga T-DNK hududini o'simlik genomiga joylashtiriladi. Hozirgi vaqtda bunday binar vektorlar o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun eng ko'p qo'llaniladi (2.7–2.8 - rasmlar).

Ri – plazmidasi asosida o'simliklar transformatsiyasi. *A. tumefaciens*ning Ti-plazmidalaridan tashqari *A. rhizogenes* agrobakteriyasidan ajratib olingan Ri plazmidalari (ingliz tilidan *Root inducing* – ortiqcha ildiz hosil bo'lishini indutsirlovchilar) ham o'simlik

hujayrasiga transformatsiya bo'lish xususiyatiga ega. Ri- plazmidalar ham ildiz hosil bo'lishini kuchaytirib, Ti- plazmidalar kabi opinlar sinteziga sabab bo'ladi. Biroq Ri plazmidalar Ti- plazmidalardan farqli o'laroq, onkogen emas, transformatsiyadan so'ng o'simlik hujayralari sog'lom, serhosil o'simliklarni regeneratsiya qilish xususiyatiga ega bo'ladi. Hozirgi vaqtda Ri- plazmidalari asosida ham o'simliklar gen muhandisligi uchun ko'plab vektorlar olingan.

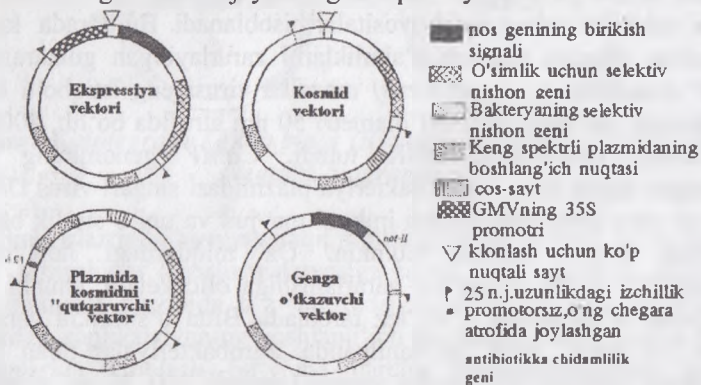
DNK saqlovchi viruslar asosidagi o'simlik vektorlari. Ko'pchilik fitoviruslar genetik axborot tashuvchi sifatida RNK tutadilar. O'simliklarni zararlovchi viruslarning faqat 1–2 % igina DNK saqlovchi bo'ladi. Aynan ular rekombinant DNK olish texnologiyasida qo'llash uchun juda qulay va o'simliklarga genlarni ko'chirib o'tkazuvchi vektorlar uchun asosiy vositalar hisoblanadi. Bu borada karamguldoshlar oilasiga mansub o'simliklarni zararlaydigan gulkaramning *CaMV* (*cauliflower mosaic virus*) mozaika virusi eng istiqbolli bo'lib hisoblanadi. Bu virus qismlari diametri 50 nm atrofida bo'lib, 8000 j.n. uzunlikdagi halqasimon DNK tutadi. *CaMV* genomining katta bo'lmagan hajmi bilan xuddi bakteriya plazmidasi singari virus DNK si bilan *in vitro* sharoitida ishlash imkoni mavjud va uni o'simlik bargiga ishqalash orqali kiritish mumkin. Oz miqdordagi hujayralarni zararlantirish yaxlit o'simlikni zararlanishiga olib keladi, chunki virus hujayradan – hujayraga o'tib tez tarqaladi. Bitta o'simlikni zararlash uchun 1–5 mkg DNK qo'llanilganda, agrobakteriyalar bilan zararlantirishga nisbatan birmuncha yuqori, deyarli 100 % ga yetadigan samaradorlikka erishiladi.

Infeksiyadan so'ng *CaMV* DNK sining xo'jayin o'simlik genomiga to'g'ridan-to'g'ri integratsiya bo'lish yo'li hali aniqlanmagan. Inokulatsiyadan so'ng virus DNK sini to'g'ridan-to'g'ri genomga joylashishini amalga oshirish uchun maxsus usul agroiinfeksiya ishlab chiqilgan. Buning uchun T-DNKga *CaMV* genomi joylashtiriladi va ushbu genom uning tarkibida turli o'simliklarning yadro genomiga integratsiya bo'ladi, bunda *CaMV* tarkibidagi uning virulentligini ta'minlaydigan ketma-ketliklar qirqib olib tashlanadi.

Viruslar asosidagi vektor tizimlarning afzalliklariga quyidagilar: genomining kichik o'lchami (bu virus DNKsi bilan oson ishlashni ta'minlaydi); zararlangan o'simlik hujayralarida virus DNK si nusxalarining ko'pligi (bir hujayraga 50000 gacha); begona genlar ekspressiyasi samaradorligini ta'minlaydigan kuchli promotorlarning mavjudligini kiritish mumkin.

Ushbu vektorning kamchiligi sifatida uning kichik hajmdaligi (800–1000 j.n.) va faqat chegaralangan o‘simliklar – karamguldoshlarinigina zararlay olishini ko‘rsatib o‘tish joiz.

Xulosa qilib shuni aytish mumkinki, o‘simliklar transformatsiyasida viruslar asosidagi vektorlar kam qo‘llanilsa-da, virus promotorlari, ayniqsa, CAMV 35S RNK promotori begona genlarni boshqa vektor tizimlariga ekspressiya qilishda keng foydalaniladi (2.9-rasm). Gulka-ram mozaikasi virusining 35S RNK promotori kuchli promotor hisoblanadi, bundan tashqari u nafaqat karamguldoshlar oilasi vakillarida, balki ko‘plab oila vakillari hisoblangan o‘simlik hujayralarida ham faoldir. U to‘qima spetsifikligiga ega emas va transformant o‘simliklarning barcha hujayralariga ekspressiya bo‘la oladi.



2.9-rasm. Ti-plazmidasi asosidagi o‘simliklar transformatsiyasi uchun qo‘llaniladigan maxsus vektorlarning sxemali diagrammasi. (GMV-gul karam mozaikasi virusi).

Ko‘chib yuruvchi genetik elementlar (transpozonlar) asosidagi vektorlar. 1990-yillarda o‘simlik hujayralari transformatsiyasi uchun o‘ziga xos tuzilishiga ega va genom bo‘ylab transpozitsiya bo‘la oladigan DNK ketma-ketliklardan iborat ko‘chib yuruvchi genetik elementlar asosidagi vektorlardan foydalanila boshlandi. Boshqa xil vektor konstruksiyalarga nisbatan solishtirganda bunday vektorlarni qo‘llash qanday afzalliklarga ega? Mazkur usulning mohiyati shundaki, ko‘chib yuruvchi genetik elementlar o‘simlik xromosomasiga birlamchi integratsiyasidan so‘ng qirqish va ketma-ket joylanish yo‘li bilan genom bo‘ylab o‘rnashib oladi. O‘simliklar uchun Ac/Ds vektorlar tizimi keng qo‘llaniladi.

Ac (Activator) – 1940-yillarning o‘rtalarida makkajo‘xori genomi maxsus uchastkalarida xromosomada uzilish va genomning maxsus uchastkalarida ksinillik holatini chaqirish xususiyatiga ko‘ra, birinchi marta genetik usullar yordamida Barbara Mak Klinton tomonidan identifikatsiya qilingan. Ac- elementi genom bo‘ylab faol transpozitsiya bo‘lish xususiyatiga ega ko‘chib yuruvchi genetik elementlar guruhiga kiritiladi.

Transpozonlarning bu oilasiga birlamchi strukturasi jihatidan Ac- elementiga yaqin bo‘lgan, biroq ichki rayonlaridagi deletsialari tufayli genomga mustaqil joylasha olmaydigan Ds – elementlari geterogen guruhi ham kiritiladi, bunda transpozitsiyalar ehtimoli faqat Ac – elementi maxsus oqsili transpozozoa ishtirokida amalga oshadi.

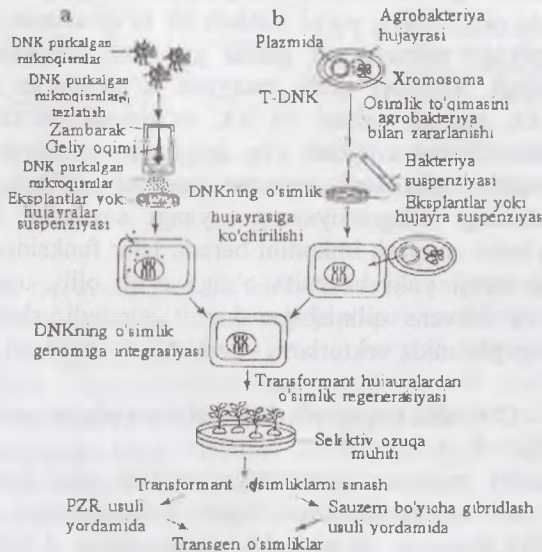
Aniqlanishicha, Ac–elementi makkajo‘xori o‘simligidan tashqari boshqa xil o‘simliklar: arabidopsis, sabzi, kartoshka, pomidor, sholi va h.k. genomlarida ham faol bo‘lishi mumkin ekan. Arabidopsis o‘simligi genomida Ac–elementi transpozitsiyasi qonuniyatlarini tadqiq qilish bo‘yicha tajriba natijalarining ko‘rsatishicha, Ac- ko‘chib yuruvchi elementi asosidagi konstruksiyalardan *nishonlangan transpozitsiyalar tizimini* olishda foydalanish mumkin, shuningdek, *qopqon (enhances trap lines) nomli genlar liniyalarini yaratish yangi genlar, jumladan, to‘qimaga xos ekspressiya, ya‘ni ma‘lum bir to‘qimalarda transkripsiya va translyatsiyaga uchraydigan genlar guruhini identifikatsiya qilish imkonini beradi.* Shunday qilib, muayyan to‘qimalarga xos bo‘lgan, masalan, ildiz, murtak xaltasi va h.k. to‘qimalariga xos genlar va oqsillarni identifikatsiya qilish (va kelgusida amaliyotda qo‘llash) mumkin. Bunday vektorlarda reporter genlarni qo‘llash transpozonli konstruksiyalardagi integratsiyaning yangi saytlarini belgilash va insersiya joylarini aniqlash imkonini beradi. Ular funksional genlarning ketma-ketligi atrofi yoki bevosita o‘ziga o‘tib olib, uning keyingi klonlanishi va sekvens qilinishiga sharoit yaratadi, shuning uchun bunday tipdagi plazmid vektorlarni - gen tutgich (qopqon) deb ataladi.

O‘simlik hujayralari transformatsiyasi usullari

Ikki pallali transgen o‘simliklar olishda eng keng tarqalgan usullardan biri agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli hisoblanadi (*2.10-rasm*). U o‘simlik eksplantlarini T-DNK hududiga begona gen joylashtirilgan vektor konstruksiyaga ega agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga asoslangan. Uning keng tarqalganligining

sababi, transformatsiyani amalga oshirishning birmuncha soddaligi transgen o'simliklarni ajratib olishda yuqori (o'simlik turiga qarab, 10–60 %) samaradorligi bilan izohlanadi.

Dastlabki material uchun vektor (binar, koingegrativ yoki muayyan transformatsiya turi uchun yaroqli boshqa biror) konstruksiyaga ega bo'lgan agrobakteriya shtammi bo'lishi lozim. Vektor o'simlik genomiga kiritilishi lozim bo'lgan gen ketma-ketligiga ega bo'lishi kerak. Genning kelib chiqishi (prokariot yoki eukariot) transformatsiya uchun ahamiyatsizdir, lekin u o'simlik hujarasiga ekspressiya bo'la oladigan promotor nazorati ostida bo'lishi lozim. Fuksional gendan tashqari, vektor, albatta, transformatsiyaning selektiv nishon belgisini saqlashi shart. Bunday nishon belgi sifatida antibiotiklar: kanamitsin (*npt*-geni), gigromitsin (*npt*-geni) va yoki gerbitsidlar xlorosulfuron (*ALS*-geni), fosfinotritsin (*bar*-geni) (BASTA) ga chidamlilik belgisini yuzaga chiqaradigan genlar ishlatiladi. Bundan tashqari, retsipient – o'simlik navlarini tanlab olish lozim. Transformatsiya uchun eksplant sifatida steril o'simlik barg plastinkalari olinadi. Biroq buning uchun yosh ildizlar (arabidopsida), gipokotil (pomidorda), urug'palla (pomidor, baqlajonda), bo'g'im oralig'i (kartoshkada) ham ishlatilishi mumkin.



2.10- rasm. Transgen o'simliklarni olish sxemasi.

a)-bioballistikalar usuli; b)-agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya.

Eksplantlarni vektor konstruksiyali agrobakteriyalar saqllovchi suyuq muhitida inokulatsiya qilinadi. Inokulatsiya qilish muddati har bir tur o'simlik uchun alohida tanlab olinadi. Bunda eksplantning jarohatlangan yuzasida hujayralarning zararlanishi boshlanib, kokultivatsiyadan so'ng 24 – 48 soat o'tgach, T-DNK bo'lagini begona (tanlab olingan) gen bilan birga o'simlik genomiga joylashishi sodir bo'ladi. Shundan so'ng, eksplantlarni antibiotiklar (karbenitsillin yoki sefotaksim) saqllovchi oziqa muhitiga o'tkaziladi, bu agrobakteriya hujayralarning tanlab nobud bo'lishiga sabab bo'ladi. Bundan tashqari, oziqa muhitiga kerakli (to'g'ridan-to'g'ri regeneratsiya yoki kallus hosil bo'lishi uchun) fitogormonlar va transformant hujayralarni selektiv tanlab olish uchun antibiotiklar, gerbitsid qo'shiladi. Antibiotik yoki gerbitsidga chidamlilik genlarining ekspressiyasini amalga oshiruvchi transgen o'simliklar selektiv agent qo'shilgan muhitda o'sa olsa, transgen bo'lmagan o'simliklar bunday muhitda nobud bo'ladi. 2–5 haftadan so'ng transformant eksplantlardan poyalar o'sib chiqq boshlaydi, ular ajratib olinadi yoki keyingi qo'shimcha molekular tahlillar uchun tuproqqa ko'chirib o'tkaziladi.

Protoplastlar shu yo'sinda transformatsiya qilinadi, lekin bu usuldagi transformatsiya protoplastlarning o'zida regeneratsiya qilish qobiliyati sustligi uchun kam samara beradi.

Agrobakteriyalar bilan kokultivatsiya qilish usuli orqali hozirgi kunga qadar deyarli barcha ikki pallali qishloq xo'jalik ekinlaridan transgen o'simliklar olingan. Bu usul ba'zi bir pallalilar (bug'doy, makkajo'xori, sholi)da ham o'z ifodasini topgan.

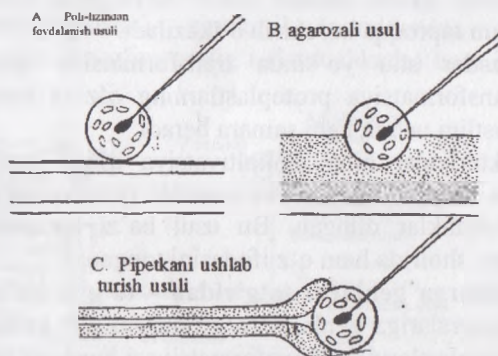
O'simliklarga genlarni to'g'ridan - to'g'ri ko'chirib o'tkazish. O'simlik hujayralariga genlarni to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazishda o'simlik protoplastlarining transformatsiyasi keng qo'llaniladi. O'simlik hujayra devoriga fermentlar (sellulaza, pektinaza) bilan ishlov berilganda hujayra devori yemirilib, faqat protoplast qoladi. DNK ishtirokida protoplastlarni to'g'ridan-to'g'ri transformatsiyalash usuli ishlab chiqilgan. Transformatsiyaning birmuncha yuqori samaradorligiga (10^{-2}) elektroporatsiya va polietilengokol qo'shish usuli orqali erishish mumkin. Agrobakteriyalar bilan transformatsiya qilishga nisbatan, to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazish usulining chastotasi kam bo'lsa-da, birmuncha afzalliklarga ega. Vektor maxsus biologik signallar va transformatsiya funksiyalari (T-DNK hududi bilan chegaralangan va *vir*-hududi) ga ega bo'lmasligi ham mumkin. Transformatsiya uchun deyarli har qanday begona gen tutuvchi DNK vektori qo'llanilishi

mumkin. Bunda gibrid gen (faqat tegishli regulator hududlar mavjud bo'lganida) hujayra rekombinatsiyasi mexanizmlaridan foydalanib, ayniqsa, protoplast yadrosiga to'g'ridan-to'g'ri ineksiya qilishda o'simlik yadro DNKsiga integratsiya bo'ladi va ekspressiyalanadi.

Hozirgi vaqtda 140 dan ortiq o'simlik turlari vektor DNKsini protoplast hujayralariga turli usullar bilan ko'chirib o'tkazish orqali transformatsiya qilingan.

DNK mikroin'eksiyasi. Bir qator tajribalarning ko'rsatishicha, o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun hayvon hujayralaridagi mikroin'eksiyalar singari mikroin'eksiyalari usulini qo'llash mumkin. Bunda in'eksiya uchun protoplastlar olishda ularni polilizinli shishalarga yopishtirish usullari ishlab chiqilganligi qator texnik qiyinchiliklarni bartaraf etish imkoniyatini berdi (2.11-rasm).

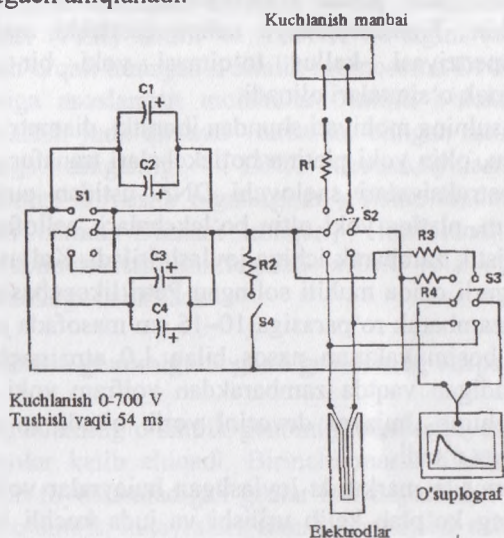
Vektor tipiga bog'liq bo'lmagan holda o'simlik protoplastlari transformatsiyasi samaradorligi 10–15 % dan oshmaydi, u ikki pallali o'simliklar uchun ham bir pallalilar uchun ham bir xilda muvofiq keladi.



2.11-rasm. Mikroin'eksiyani amalga oshirish uchun protoplastlarni immobilizatsiya qilish usuli.

Elektroporatsiya. Bu usul yuqori impulsli kuchlanishlarning biomembranalar o'tkazuvchanligini qaytar darajada oshirishga asoslangan. O'simlik protoplastlari uchun elektroporatsiya muolajalari juda samarali hisoblanadi. Usulning mohiyati quyidagicha: DNK-vektorini saqlovchi yuqori konsentratsiyali eritmadagi o'simlik protoplastlariga yuqori voltli impuls (kuchlanish 200–350 V, impuls davomiyligi 54 ms) bilan ta'sir etiladi (2.12-rasm). Natijada DNK molekulari hujayra membranasidagi poralar (teshikchalar) orqali yutiladi. Eritma aralashti-

rilgandan so'ng protoplastlarni regeneratsiya bo'lishi uchun yetarli muhitga ekiladi. Ko'chirib o'tkazishning samarasi elektr shokidan so'ng 24–28 soat o'tgach aniqlanadi.



2.12-rasm. Elektroporatsiyani amalga oshirish uchun past kuchlanishli qurilmaning tuzilishi.

Liposomalarga joylashtirish. O'simlik protoplastlariga o'tkaziladigan ekzogen genetik materialni nuklein kislotalarni parchalaydigan nukleazalar ta'siridan himoya qilishda qo'llaniladigan usullardan biri liposomalarga joylashtirish usuli.

Liposomalarning qobig'i fosfolipidlardan tashkil topgan sferik shakllar hisoblanadi. Ularni fosfolipidlarning suvli emulsiyalariga ultratovushlar bilan ishlov berish yoki qattiq chayqatish natijasida olish mumkin. Liposomalarning yordamida o'simlik protoplastlariga tamaki mozaikasi virusi RNK si, *A.tumefaciens* bakteriyasi Ti-plazmidasi DNK si, shuningdek, butun metafaza davri xromosomalari kiritilgan. Liposomalarning yordamida ko'chirib o'tkazish tizimlarning afzalliklari sifatida ularning hujayralarga nisbatan zaharligining kamligi, liposomalarni parchalash xususiyatiga ega hujayralari bo'lgan ko'plab o'simliklarda ishlatish mumkinligini ko'rsatish mumkin. Hozirgi vaqtda kelib, mazkur usul texnik jihatdan qiyinligi va transformatsiyalash faolligining nisbatan kam (0,5–1%) ligi uchun tobora kam foydalanilmoqda.

Bioballistik transformatsiyalar usuli. Bioballistika usuli bugungi kunga kelib, bir pallalilar uchun eng samarali usullardan hisoblanadi, shuningdek, uni ikki pallali o'simliklarda ham muvaffiqiyat bilan qo'llash mumkin. Transformatsiya uchun dastlabki material sifatida kulturalar suspenziyasi, kallus to'qimasi yoki bir pallalilarning yetilmagan murtak o'simtalari olinadi.

Mazkur usulning mohiyati shundan iboratki, diametri 0,6–1,2 mkm bo'lgan volfram, oltin yoki platina bo'lakchalari transformatsiya uchun zarur gen konstruksiyalari saqlovchi DNK ustidan purkaladi. DNK tutuvchi volfram, platina yoki oltin bo'lakchalari sellofan qobiq bilan o'ralib, bioballistik zambarak ichiga joylashtiriladi. Kallus yoki hujayra suspenziyasi agarli oziqa muhiti solingan Petri likopchasiga o'tkaziladi va bioballistik zambarak ro'parasiga 10–15 sm masofada joylashtiriladi. Zambarakdagi bosim vakuum nasos bilan 1,0 atm gacha tushiriladi. Bosim tushiriladigan vaqtda zambarakdan volfram yoki oltin bo'lakchalari otilib chiqib, hujayra devorini yorib o'tadi va sitoplazmaga, hujayra yadrosiga o'tadi.

Odatda, bevosita markazda joylashgan hujayralar volfram va oltin bo'lakchalarining ko'plab kelib urilishi va juda kuchli bosimi tufayli nobud bo'ladi, ulardan 0,6–1 sm markazdan uzoqda esa transformant hujayralar joylashadi. Shundan so'ng hujayralarni davomli ekish va regeneratsiya qilish uchun oziqa muhitlariga ko'chirib o'tkaziladi.

Bioballistik zambaraklar yordamida bir pallali makkajo'xori, sholi, bug'doy, arpa o'simliklari transformatsiya qilinib, turg'un transgen o'simliklar olingan. Bundan tashqari, bioballistik transformatsiya DNK ni embriogen changchiga to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazish, transgen digaploid o'simliklar olish uchun qo'llaniladi va u seleksiya ishlarida muhim bosqich hisoblanadi. Bu usul bilan tamaki o'simligining transformatsiyasi amalga oshirilib, gaploid o'simliklar regeneratsiyasidan so'ng turg'un transformantlar olingan.

O'simliklar transformatsiyasining dalillari. O'simliklar transformatsiyasi vektorlari tarkibiga funksional gendan tashqari selektiv nishon genlari kiradi. Bu gen odatda antibiotiklar kanamitsin (*prtII* - geni) yoki gigromitsin (*prtII*- geni) ga chidamlilik genlarini kodirlaydi, shuning uchun transgen o'simliklarning dastlabki tanlov ishlarini tegishli antibiotiklar saqlovchi oziqa muhitlarida olib boriladi. Bunday muhitda genomi tarkibida selektiv nishon geni bo'lgan o'simliklarga regeneratsiya bo'la oladi. Biroq selektiv muhitda o'sa olish

xususiyatining o'zi o'simlikning transgen tabiatini isbotlovchi yagona dalil bo'la olmaydi.

T-DNK ketma-ketliklari borligini to'liq isbotlashda polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) tahlili va T-DNK bo'lagini radioaktiv zond sifatida qo'llash orqali transgen o'simlik xromosoma DNK sining blot – gibrizatsiyasiga asoslangan molekular tahlili o'tkaziladi. Bunday tahlillarni o'tkazish juda qimmat tursa-da, olingan natijalar transformatsiya amalga oshganligi, T-DNK–konstruksiyalarning qanchasi o'simlik genomiga o'rnasha olganligi to'g'risida ishonchli ma'lumot olish imkonini beradi. Bundan tashqari, funksional gen ekspres-siyasining qo'shimcha tahlilini tegishli *mRNK* yoki oqsilni aniqlash usullari orqali amalga oshiriladi.

O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi

Begona genlarning o'simlik genomiga ekspressiyasi natijasida bir qator muammolar kelib chiqadi. Birinchi marta o'simliklar transformatsiyasi uchun foydalaniladigan genlar bakteriyalardan ajratib olingan bo'lib, ularni o'simlik hujayralari transformatsiyasi uchun to'g'ridan-to'g'ri ishlatib bo'lmasdi.

Bakteriya genlari eukariot hujayralarda transkripsiya bo'lishi uchun ularning promotor ketma-ketliklarini o'simlik genlari promotorlari yoki boshqa o'simlik hujayrasida transkripsiyani inisatsiya qila oladigan promotorlariga almashtirish lozim bo'ladi. Bundan tashqari, bakterial genning uch qismiga poliadenillanish signalini saqlovchi fragmentni ulash lozim. Bunday modifikatsiyalar eukariot RNK – polimerazaning bakterial ketma-ketlikni transkripsiyalashi va undan so'ng *mRNK* o'simlik hujayrasida bakterial oqsilni translyatsiya qilish uchun kerak bo'ladi.

Bakterial genlarning ekspressiyasi uchun promotor sifatida ko'pincha gulkaramning mozaika virusi (*CaMV*)ning 35S – RNK promotoridan foydalaniladi. Bunday tanlov bir vaqtning o'zida ikki xil muammoni hal etish imkonini beradi: birinchidan, ikki pallali o'simliklar promotorlari bir pallalilar genomida ko'p hollarda faoliyat yurit olmaydi, aksincha, 35S *CaMV* promotori har qanday o'simlik genomida transkripsiyani ta'minlaydi. Ikkinchidan, ko'pgina eukariot promotorlari ancha kuchsiz bo'lib, *CaMV* ning 35S promotori uning nazoratidagi genning yuqori darajadagi ekspressiyasini ta'minlaydi. Ko'pgina hollarda o'simlik hujayrasiga o'simlik genini transformatsiya

qilishda oqsil mahsuloti ajralib chiqishini oshirish uchun uning promotorini juda kuchli bo'lgan CaMV ning 35S promotori bilan almashtiriladi. CaMV 35S-promotori konstitutiv bo'lib, transgen o'simlikning barcha to'qimalarida uning nazoratidagi genning kuchli ekspressiyasini ta'minlaydi. Aynan shuning uchun CaMV 35S-promotori o'simliklar transformatsiyasida qo'llaniladigan vektor konstruksiyalar ichida eng ko'p qo'llaniladi. Keyingi yillarda ba'zan CaMV 35S ketma-ketligining ikki marta ko'paytirilgan nusxasi, sun'iy olingan MAC - promotoridan ham foydalanilmoqda.

So'nggi paytlarda o'simlik genlarining to'qimaga xos promotorlari katta ahamiyat kasb etmoqda. Bu promotorlarning CaMV 35S promotoridan afzalligi shundaki, bunday promotorlar nazoratidagi genlar ma'lum bir to'qimalardagina ekspressiya bo'ladi. Masalan, patatin promotori nazoratidagi har qanday gen faqat kartoshka o'simligi tugunagiga ekspressiya bo'ladi, chunki patatin oqsili – kartoshka tugunaklari zaxira oqsili bo'lib, uning genlari faqat tuganaklardagina ekspressiyalanadi. To'qimaga xos promotorlar begona oqsil o'simlikning ma'lum bir a'zolari uchun zarur bo'lgan hollarda qo'llaniladi. Masalan, o'simliklar ildizini ba'zi bir tuproq patogenlaridan himoya qilishda ildizga xos promotorlardan foydalanish qulay, chunki ular o'simliklarning patogenlar bilan munosabatga kirishuvchi faqat yer osti qismidagina himoya oqsili sintezlanishiga olib keladi. O'simliklar uchun bunday promotorlardan foydalanish birmuncha qulaydir.

Shuningdek, indutsibel promotorlardan ham foydalaniladi. Konstitutiv CaMV 35S promotoridan farqli ravishda bunday promotorlar nazoratidagi genlar har doim ham ekspressiya bo'lavermasdan, faqat ma'lum sharoitlardagina ekspressiya bo'ladi. Masalan, jarohatlanishda indutsirlanadigan promotorlar, metall ionlari (mis, temir, va h.k.) ishtirokida yuzaga chiqadigan metall-indutsibellarini keltirish mumkin. Shunday qilib, bunday promotorlar nazoratidagi genlarning «kiritilishi va o'chirilishi» oson boshqariladi. Indusibel promotorlar nafaqat o'simliklarda, balki, umuman, gen muhandisligida keng qo'llaniladi. To'qimaga xos va indutsibel promotorlarning kamchiligi ularning faolligining pastligidadir.

Promotorlardan tashqari transgenning ekspressiyalanishga uning o'simlik genomiga integratsiya bo'lish joyi ham ta'sir ko'rsatadi. T-DNK ketma-ketligi genomning istalgan qismiga o'rnasha oladi deb hisoblansa-da, ko'plab tadqiqotlarda bu hodisa tasodifan amalga oshmasligi isbotlangan. Ko'pincha T-DNK gen ekspressiyasi amalga

oshmaydigan geteroxromatin uchastkalariga oʻrnashadi va transgen har qanday kuchli promotor taʼsirida ham transkribirlanmaydi. Buni takroriy transformatsiyalar orqali ham anglab olish mumkin.

Transgen oʻsimliklar olishning ilk bosqichlarida begona genlar ekspresiyasining nishon belgilari – reporter genlardan foydalaniladi. Odatda, reporter genlarning mahsulotlari oddiy usullar bilan oson aniqlanadi. GUS deb nomlanuvchi reporter genidan keng foydalaniladi, u β -glyukuronaza fermentini kodiraydi va substratga qoʻshilganda uni och havo rangli birikmaga qadar parchalaydi. Bundan tashqari *gfp* retseptor geni ekspressiya boʻlganda oson aniqlanadigan fluoressent oqsilni hosil qiladi. Odatda, retseptor genning ekspressiyasi transgen oʻsimlikda funksional gening ekspressiyalanish darajasi bilan oʻzaro mos keladi.

3 Biotexnologiyada gen muhandisligi usullari yordamida oʻsimliklarning sifat koʻrsatkichlarini yaxshilash va hosildorligini oshirish

Oʻsimliklarni sifat koʻrsatkichini yaxshilash vazifalaridan asosiysi-oʻsimliklarda sintezlanadigan, ularning oziqaviyligi va texnik qiymatini belgilaydigan mahsulotlar, yaʼni oqsillar, yogʻlar, polisaxaridlar va boshqa moddalarning sifatini yaxshilashga qaratilgan.

Boshoqli oʻsimliklarda endospermning zaxira oqsillari alohida oʻrin tutadi. Zaxira oqsillar, asosan strukturasi, nukleotid tarkibi bilan bir-biriga oʻxshash, multigenlar oilasiga birlashtirilgan bir necha genlar tomonidan kodirlanadi. Odatda, bu genlarning ekspressiyasi qatʼiy toʻqima spetsifikligiga ega va urugʻ rivojlanishining maʼlum bir bosqichida amalga oshadi. Koʻpincha oʻsimliklarning zaxira oqsillari tarkibi inson va hayvonlar oziqasi uchun muvozanatlanmagan aminokislotalar tarkibiga ega boʻladi. Chunki, dukkaklilarning zaxira oqsili – leguminlar metionin aminokislotalari, boshoqlilar oqsili – prolaminlar – lizin, triptofan va treonin aminokislotalarining miqdori kamligi bilan xarakterlanadi. Bu aminokislotalarning tanqisligi urugʻning oziqaviy qiymatini pasaytiradi.

Oqsillarning aminokislotalar tarkibini anʼanaviy usullar bilan yaxshilash ancha murakkabdir, chunki qishloq xoʻjaligi uchun zarur xususiyatlarni belgilovchi genlar koʻpincha zararli xususiyatlarni chaqiruvchi genlar bilan birikkan holda irsiylanadi. Oʻsimliklar seleksiyasida makkajoʻxori va arpa doni tarkibida lizin miqdori ancha

yuqori bo'lgan opak-2, xayproli tipidagi mutantlarining qo'llanilishi, don sifati yaxshi natija bermadi, chunki mutant formalarda lizin miqdorining oshishi asosiy zaxira oqsillar zein va gordeinlar sintezini o'g'iraydi, natijada, o'simliklarning hosildorligi pasayib ketadi.

Shuning uchun gen-muhandislik usullarini qo'llanilishi genomiga faqat foydali genlar kiritilgan yangi navlarni yaratishda muhim ahamiyat kasb etadi. Masalan, prolamin genlariga qo'shimcha lizin kodonlarining kiritilishi lizinga boy oqsillarning sintez bo'lishiga va oqsilning oziqlik qiymatining oshishiga olib keladi.

O'simliklar sifatini gen-muhandislik texnologiyalari yordamida yaxshilash va ulardan sifatli mahsulotlar olish bir necha bosqichlarni o'z ichiga oladi:

1) zaxira oqsillar genlarini klonlash;

2) oqsillarning to'qimaga xosligi va vaqtincha ekspressiyasi mexanizmini o'rganish va bunday maxsus ekspressiyani boshqaruvchi va belgilovchi DNK izchilligini aniqlash;

3) aminokislotalar tarkibini yaxshilash maqsadida zaxira oqsillar genlari nukleotid ketma-ketligini maqsadli o'zgartirish;

4) o'zgartirilgan gen tutuvchi vektorlar yaratish;

5) takomillashgan genlarni o'simliklarga kiritish;

6) genlar ekspressiyasini va mahsulot sifatini sinovdan o'tkazish;

Genning nukleotid ketma-ketligi uning oqsil sintezi boshqaruvida ishtirok etuvchi elementlarini aniq o'rganishni o'z ichiga oluvchi tayyorgarlik bosqichisiz amalga oshmaydi.

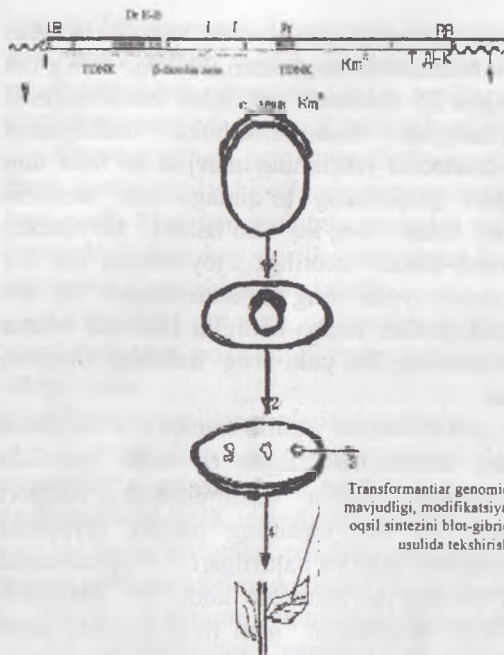
Dunyo olimlari tomonidan donli, boshqali va boshqa bir qator o'simliklar zaxira oqsillarining o'nlab genlari o'rganilgan. Hozirgi kunda tadqiqotchilar tomonidan arpa gordeini, bug'doy α va β - gliadinlari va glyutenini, makkajo'xori zeini, dukkaklilar leguminlari, kartoshka patatini va boshqa oqsillarning 10 ga yaqin genlari klonlangan. Ba'zi genlarning nukleotid ketma-ketliklari aniqlangan. Zaxira oqsillarni ajratishning umumiy rejasi quyidagilarni o'z ichiga oladi: 1) mos m RNK ni olish va qisman tozalash; 2) komplementar kDNK sintezlash va klonlash; 3) genlar bankidan zaxira oqsillar genini nukleotid ketma-ketligini ajratish.

Zaxira oqsillar sintezi aniq boshqaruvga ega: genlar faqat bitta to'qimada (faqat boshqolilar prolamin donning endospermida) va urug' rivojlanishining qisqa davrida ekspressiyalanadi. Zaxira oqsillar genlarini o'rganish, ular tuzilishining umumiylikini va o'z o'rnida ularning bir xil funksiyalarni bajarishini ko'rsatadi.

Ko'pchilik zaxira oqsillar genlarida intronlar bo'lmaydi. Bundan tashqari, ularda transkripsiya boshlanish nuqtasidan 300 n.j. oralig'ida endosperm-boks deb nomlangan 25 nukleotid juftlikdan iborat maxsus ketma-ketlik asosida joylashgan. Endosperm-boks funksiyasini aniqlash, aynan mazkur 25-nukleotid juftlikning mavjud bo'lishi don endospermiga zaxira oqsillari genlarining to'qimaga xos ekspres-siyasining amalga oshishi bilan bog'liq bo'lishini ko'rsatadi. Shuningdek, oldida endosperm-boks izchilligi joylashgan har bir genning mahsuloti, faqat donda yoki urug'da sintezlanadi va uni takomillashgan prolamin oqsil genlari ketma-ketligini tutuvchi vektor tarkibiga kiritishdan maqsad ularning don yoki urug' tarkibida saqlanib qolishini ta'minlashdan iborat.

Aminokislotalar tarkibi yaxshilangan oqsilli transgen o'simliklar olishning keyingi bosqichini takomillashtirilgan α -zeini misolida ko'rish mumkin. Makkajo'xorining α -zein oqsili lizinning miqdori kamligi bilan xarakterlanadi. Bu esa oqsilning oziqlik qiymatini pasaytiradi. α -zein geni ketma-ketligiga yo'naltirilgan – oligonukleotid mutagenezi usuli orqali lizinning qo'shimcha kodonlari kiritiladi. Olingan α -zeinning modifikatsiya qilingan geni lizin tutuvchi oqsil ekspres-siyasini amalga oshiradi. Bunday tadqiqot birinchi marta α -zein ketma-ketligiga yangi kodonlar kiritilishi bo'yicha amalga oshirilgan (2.13-rasm). Hozirda bunday yangi tripletlarni kiritilib, oqsillarning aminokislotalar tarkibini o'zgartirish (yaxshilash) odatiy hol bo'lib qolmoqda.

Takomillashtirilgan α - zein geni transformatsiya uchun qo'llaniladigan vektorning T-DNK qismiga klonlangan. Shuningdek, vektor konstruksiya tarkibida endosperm-boks ham bo'lib, u α -zeinning urug'da to'qimaga xos ekspres-siyasini yuzaga keltiradi. O'tkazilgan tadqiqotlarda takomillashtirilgan α - zeini geni bilan transformatsiyalanib, lizin bilan boyitilgan makkajo'xori o'simliklari olingan.



2.13-rasm. Lizinli kodonlar bilan boyitilgan α -zeini geni ko'chirib o'tkazilgan transgen tamaki o'simligini olish sxemasi.

- 1-agrobakteriyalar transformatsiyasi;
- 2-o'simlik hujayralari transformatsiyasi;
- 3-kanamitsin antibiotigi qo'shilgan oziqa muhitida tanlash;
- 4-regeneratsiya.

Transformantlar genomida vector mavjudligi, modifikatsiya qilingan oqsil sintezini blot-gibridizatsiya usulida tekshirish

Modifikatsiya qilingan oqsil transgen makkajo'xori o'simligi urug'larida faol sintezlanadi. Natijada donining sifati yaxshilangan makkajo'xori tizimlarini olishga muvaffaq bo'linadi. Keyinchalik bu transgen tizimlar an'anaviy seleksiya usullari yordamida yangi nav va durgaylar olishda qo'llanilishi mumkin.

Transgen bug'doy o'simliklari ham shu kabi usullar yordamida olingan. O'simlik genomiga glyutenin oqsili yuqori molekular subbirlikning nukleotid izchilligi o'zgartirilib modifikatsiya qilingan geni kiritilganda, modifikatsiyalangan oqsillar sintezini faollashtiradi va tegishli zaxira oqsillar tarkibi va darajasiga ta'sir etib, bu bug'doyning don sifatini yaxshilashga olib keladi.

Oqsillar tarkibini yaxshilashning yana bir usuli bu bir pallali va ikki pallalilarning zaxira oqsillari genlari izchilligi asosida ximer genlarni konstruksiyalashdir. Bunda dastlabki material sifatida arpa gordeini B1 va dukkakililar legumini B4 genlaridan foydalaniladi. Bunday ximer genga ega konstruksiya (qurilma) bilan tamaki o'simligi transformatsiya qilinib, transgen o'simliklar tizimi olingan.

Shunday qilib, gen muhandisligi usullari yordamida donli ekinlarning endosperm oqsillari tarkibini o'zgartirishni amalga oshirish mumkin ekan.

Shuningdek, zaxira oqsillari o'zgartirilgan o'simliklarni olish bilan birga transgen o'simliklardan «ozuqabop» vaksinalar ishlab chiqaruvchilar sifatida ham foydalanish mumkin. Masalan, A-G immunglobulini, enterotoksin, vaboning B-toksini, B-gepatitning yuza oqsili antigenini sintezlovchi tamaki, kartoshka o'simliklari olingan. Transgen o'simliklardan olingan oqsillar, hayvon hujayralaridan olingan oqsillar kabi antigenlik va fiziologik xususiyatlarga ega bo'ladi. Hozirgi vaqtda transgen o'simliklar yordamida odamda uchraydigan B gepatitiga qarshi vaksinalash (emlash) sinovdan o'tkazilmoqda. Bundan kelib chiqib, transgen o'simliklardan foydalanib, kelajakda arzon va biologik faol vaksinalar olish mumkin, degan xulosaga kelish mumkin.

Zaxira oqsillari modifikatsiyalangan dukkakli-don ekinlarining transgen shakllarini yaratish bilan birga bir qator moyli ekinlar, birinchi navbatda rapsning moy kislotalari tarkibini yaxshilash borasida ham ilmiy tadqiqot ishlari olib borilmoqda. Raps urug'lari tarkibida moy miqdorini yuqori bo'lishi bilan xarakterlanadi, ammo uning tarkibidagi spetsifik uzun zanjirli eruk kislotasi va shuningdek, glyukozinolatning miqdori ko'pligi raps moyining ta'm xususiyati va oziqliligiga salbiy ta'sir etadi. Gen muhandisligi yordamida va seleksiyalash usullari orqali rapsning moy kislotalari molekulasi uzunligini nazorat qilib, eruk kislotasi ulushini kamaytiruvchi va raps moyining sifatini yaxshilovchi gen kiritilgan navlari yaratilgan. Shu kabi to'yinmagan bog'larning miqdori yuqori bo'lgan modifikatsiyalangan moy kislotalar olish bo'yicha ishlar olib borilmoqda, bu yangi, qimmatli moy kislotalar sintezlovchi o'simliklar olish imkonini beradi. Bundan tashqari, o'simliklar tarkibida moy kislotalar tarkibining o'zgarishi, ularning bir qator hasharotlarga, past harorat ta'siriga chidamliligini oshirishi aniqlangan.

2001-yilda moy kislotalari tarkibi modifikatsiyalangan soya, raps, makkajo'xorining transgen o'simliklari navlari dala sinovlaridan o'tkazildi.

Seleksiyaning istiqbolli yo'nalishlaridan biri – bu yangi navlarning hosildorligini oshirishdir. Quyidagi yo'nalishlarda fotosintez faolligini va alohida moddalar sintezini oshirishda gen muhandisligi ishlari jadal olib borilmoqda.

Fotosintetik faollikni oshirishda o'simliklar fotosintezining C_3 geniga C_4 genini kiritish yo'nalishi bo'yicha izlanish amalga oshirilmoqda. Makkajo'xori fotosintez tizimi mezofill barglari hujayrasida atmosfera CO_2 fiksatsiyasida ishtirok etuvchi fosfoenolpiruvatkarboksilazaning C_4 geni klonlandi va agrobakteriya transformatsiyasi tizimi (PEPS) orqali sholi o'simligining C_3 geniga o'tkazildi. Olingan transgen o'simliklarning tahlili shuni ko'rsatdiki, sholi hujayrasida fermentlar faolligi makkajo'xorinikiga nisbatan 2–3 baravar yuqori bo'lishi, fotosintez faolligini tezlashtirib, hosildorlikni oshirishga olib kelgan.

Fotosintez jarayonida ishtirok etuvchi genlarni klonlash va ulardan foydalanishidan tashqari, hujayrada xloroplast miqdorini nazorat qiluvchi genlar ham ajratib olingan. Bunday genlardan foydalanish fotosintez darajasini o'zgartirishga olib keladi. Boshqacha yondashish orqali esa har bir xloroplastdagi xlorofillarning miqdorini oshirishga erishilgan. Yana *a/b* xlorofillarni spetsifik tarzda birlashtiruvchi modifikatsiyalangan oqsillar olingan. Transgen o'simliklarda bu oqsillar ekspressiyasining amalga oshirilishi biomassa miqdorini sezilarli darajada ko'payishiga olib keladi.

Olib borilayotgan ishlarning boshqa yo'nalishi transgen o'simliklarda metabolizmning o'zgartirilishi bilan bog'liqdir. Makkajo'xori uglerod metabolizmi regulatsiyasidagi asosiy fermenti saxarozofosfat sintetaza (SPS-gen) genini boshqa o'simliklar genomiga kiritilganda, u o'simliklarning uglerod almashinuviga ta'sir etadi va hosildorligini oshiradi. Hozirgi vaqtda pomidor, kartoshka, raps, g'ozaning shunday transgen navlari olingan.

1999–2000-yillarda transgen o'simliklardan foydalanish ruxsat etilgan AQSH, Kanada va yana bir qancha shu kabi mamlakatlarda hosildorlikni oshiruvchi va hosil bo'lgan mahsulotning sifatini yaxshilovchi turli xil genlar transformatsiya qilingan makkajo'xoring yettita, bug'doyning bitta transgen navlari dala sinovlaridan o'tkazilib, qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishda foydalanilmoqda.

O'simliklar hosildorligi va sifatini oshiruvchi genlarni transformatsiya qilish bilan birga 1998–2001-yillarda tijoratbop transgen gullarning dastlabki to'rtta navi olingan bo'lib, ularga ACC- sintetaza geni kiritilishi natijasida gullash jarayoni tezlashtirilgan chinnigul navi va antotsian biosintezi o'zgartirilgan genli uchta (ikkita chinnigul va bitta xrizantema) gullari gulqo'rg'onidagi tojibarglarining noan'anaviy ranglarini olishga muvaffaq bo'lishgan.

Stress ta'sirlarga bardoshli transgen o'simliklar olish

Atrof-muhitning qurg'oqchilik, ortiqcha namlik, yuqori yoki past harorat kabi ta'sirlari, tuproq sho'rlanishi, kislotalilik darajasining oshishi singarilar qishloq xo'jalik mahsulotlarining ma'lum qismining nobud bo'lishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun stress ta'sirlarga bardoshli o'simliklar navlaridan foydalanish katta iqtisodiy samaradorlikka ega.

O'simliklarning ko'pgina stress holatlarga ko'nikish reaksiyasi – bir qancha genlarning birgalikdagi o'zaro moslashuvchan (sinxron) ta'siriga bog'liqdir. Shu boisdan gen muhandisligi izlanishlari uchun stress omillar tomonidan qo'zg'aladigan biokimyoviy jarayonlardan foydalanish maqsadga muvofiqdir. Ma'lumki, uzoq vaqt suvli stress ta'siriga uchragan o'simliklarda bir qator sodda organik molekular birikmalar-prolin, glitsinbetain va boshqa moddalar to'planib, ular *osmoregulator* hamda *osmoprotektorlar* hisoblanadi.

O'simliklar va bakteriyalarning stress ta'sirlarga javobi o'xshashligi aniqlangan: ikkala holatda ham hujayrada osmoprotektor molekulari sintez bo'lib, uning ta'sir mexanizmi sitoplazma va atrof-muhit o'rtasida osmotik tenglikni yuzaga keltirish, bundan tashqari, stress ta'sirlar sharoitida oqsillarni qisman mo'tadillashtirishdan iboratdir. Osmoprotektor molekulari sintezining biokimyoviy yo'li o'xshashligi stresslarga bardoshli, transgen o'simliklar olishda bakteriya genlaridan foydalanish imkonini beradi.

E. coli genomidan stressga javob reaksiyasi sifatida yuzaga chiqadigan prolin biosintezi yo'li bo'lib, ularning fermentlarini kodirlovchi, ikkita proBosm va proA genlari ajratilgan. Bu bakteriya genlarining ekspressiyasi o'simliklar genomida prolin sintezini oshirishga olib kelgan. Olingan transgen tamaki o'simliklarida nazorat o'simliklarga nisbatan prolin sintezining oshganligi va to'planib borganligi qayd qilingan. Transgen nihollarning ildiz hosil qilish va 20 g/l (350 mM) miqdordagi tuzli muhitda ham o'sa olish xususiyati saqlanib qolgan.

Glitsinbetain sintezini katalizlovchi betainaldegiddehidrogenaza (BADH) geni ajratib olingan. Bu genni ekspressiyalovchi transgen tamaki o'simliklari tuzning yuqori miqdoriga chidamlilik xususiyatiga ega bo'lgan.

Yuqori haroratga bardoshlilik *fad7* geni bilan bog'liq bo'lib, u oqsil, moy kislotalari metabolizmiga ta'sir etadi. Sholining transgen navlarida

bu genning inaktivatsiyasi natijasida o'simlik yuqori haroratda o'sa olish va ikki soatgacha +47°C ga qadar chidamlilik belgisini namoyon qilishi mumkin.

Hozirgi kunda gazon maysalarining suv tanqisligi va sho'rlanishga chidamli transgen navlari dala sinovlaridan o'tkazilmoqda, ularni keyinchalik (xarakterli bunday belgili noqulay sharoit mavjud abiotik fonga ega) shaharlarda o'stirish ko'zda tutilmoqda.

Zararkunanda hasharotlarga bardoshli transgen o'simliklar yaratish

Gen muhandisligi usullarini qo'llab, zararkunanda hasharotlarga qarshi kurashda chidamliligi yuqori bo'lgan o'simliklarni konstruksiya qilish mumkin. Ma'lumki, *Bacillus thuringiensis* bakteriyasi insektitsid oqsil – protoktoksinni ekspressiyalaydi, bu oqsil hasharotlarning ichagiga tushgandan so'ng proteaza fermenti ta'sirida zararkunandalarni nobud qiluvchi faol toksinga qadar parchalanadi.

Ushbu toksin asosida olingan preparatlar dalalarda o'simliklarga ishlov berishda foydalaniladi. Olingan preparatlar turg'un bo'lmasdan, hasharotlarda mazkur insektitsidga chidamlilik paydo bo'lishiga to'sqinlik qiladi. Uning kamchiligi tez parchalanib ketadi, shu bilan bir vaqtda oqsil mahsulotlari o'simlik hujayralarida hasharotlarga nisbatan mo'tadil chidamlilikni hosil qilishi mumkin.

Yuqorida ko'rsatilgan kamchiliklarni bartaraf etish uchun *B. thuringiensis* genomidan *bt2* toksini geni ajratib olinib, gulkaram mozaikasi virusi *CAMV* 35 S promotori nazorati ostiga qo'yilgan *bt*-geni agrobakterial transformatsiya usuli yordamida tamaki o'simligiga ko'chirib o'tkazilgan. *bt2* genining o'simlik hujayrasidagi ekspressiyasi o'ziga xos *mRNK* ning ishtiroki hisobiga transkripsiya darajasida ham, translyatsiya darajasida ham toksin-oqsil sinteziga ko'ra ham aniqlangan. Olingan transgen tamaki o'simliklari zararkunanda hasharotlarga chidamli bo'lib chiqqan. Bu usul bilan qishloq xo'jalik ekinlarini zararkunandalardan himoya qilishning samaradorligini endotoksin genlari bilan transformatsiyalangan pomidor misolida ham ko'rish mumkin, o'simlik hujayrasida sintezlangan bakteriya oqsili o'simlikni insektitsid preparatlar qo'llanilgandagi kabi samarali himoya bilan ta'minlaydi.

Shuningdek, tamaki va pomidordan tashqari ko'pgina qishloq xo'jalik ekinlari kartoshka, makkajo'xori, g'o'za, sholi, soya, brokkoli

o'simliklari genomiga ham *bt2* geni kiritilgan. Genomida *bt2* genini ekspressiyalovchi bir qancha o'simliklarning transgen navlari olingan. 1984–1985-yillar mobaynida pomidor, kartoshka va g'ozaning («Monsanto» firmasi), makkajo'xori («Novartis» firmasi), 1998-yilda esa kartoshkaning *bt2* genidan tashqari, barglarni buralishi viruslari va glifosat gerbitsidiga bardoshlilik genlari kiritilgan yangi navlari olingan va dala sinovlaridan o'tkazilgan.

(2000-yilda transgen o'simliklar navlarining genetik modifikatsiyalangan mahsulotlaridan foydalanish ruxsat etilgan mamlakatlarda zararkunanda hasharotlarga bardoshli ekinlar 380 ming ga maydonga ekilgan bo'lib, bundan 230 ming gektariga transgen g'oz, 144 ming gektariga makkajo'xori va 5 ming gektariga transgen kartoshka ekilgan.)

Transgen o'simliklardan foydalanish natijasida insektisidlar qo'llanishining kamayishiga va o'simliklarda hosildorlikning oshishiga erishildi.

Zamburug', bakteriya va virusli infeksiyalarga chidamli transgen o'simliklar olish

Fitopatogen ta'sirlarga qarshi o'simliklarda bir qancha himoya reaksiyalari mexanizmlari kuchga kiradi. Bunda o'simlikning faol javob reaksiyasi ikki asosiy yo'nalishda borishi mumkin: birinchidan, infeksiyaga javoban patogenlarning hayot faoliyatini cheklovchi, ular uchun zaharli bo'lgan birikmalarning sintezi boshlanadi va natijada ularning halok bo'lishiga olib keladi. Ikkinchidan, himoya javobi sifatida strukturaviy to'siqlar yaratilib, bu to'siqlar o'simliklarning zararlanishi, patogenlarning tarqalishini oldini oladi. Bu esa hujayra devorlarining lignifikatsiyalanishi yoki gidroksiprotinga boy glikoproteidlar va boshqa birikmalar hisobiga mustahkamlanishi orqali amalga oshadi, ular *ekstensinlar* deb atalib, to'qimalarni fitopatogenlar tomonidan shikastlanishidan himoya qiladi.

Virus, bakteriya, zamburug'li infeksiyalarga javoban spetsifik RR (*patogen related proteins*), shuningdek, ular orasida har tomonlama mukammal o'rganilgan xitinaza va β 1,3 glyukonaza oqsillari indutsirlanadi.

Bu fermentlar zamburug' va ba'zi bakteriyalarning o'sishini to'xtatadi, ularning hujayra devorini qisman gidrolizlaydi.

Xitinaza va glyukonaza oqsillarining fungitsidlarga ta'siri hamda ushbu oqsillarning alohida genlar tomonidan kodirlanishiga oid ma'lum

motlar ko'plab tajribalarda aniqlangan. Shuning uchun xitinaza va glyukonaza genlari fitopatogenlarga chidamli transgen o'simliklar olish bo'yicha gen muhandisligi tadqiqotlarida foydalanilmoqda. Hozirgi kunda ko'pchilik o'simliklarning xitinaza geni tutuvchi transgen shakllari – tamaki, g'o'za, makkajo'xori, pomidor, kartoshka, beda, sholi, turneps, raps va boshqa o'simliklarning *CaMV* 35S promotori nazoratida xitinaza genini ekspressiyalovchi transgen navlari olingan. Bu o'simliklarda zamburug'li infeksiyalarga chidamlilikni nafaqat laboratoriya sharoitida, balki dala sharoitida ham kuzatilgan. Bundan tashqari, xitinazaning glyukonaza bilan birgalikdagi ta'siri samaradorligi yuqori bo'ladi, shuning uchun ikkala genni tutuvchi transgen o'simliklar juda katta agronomik ahamiyatga egadir. Hozirgi vaqtda tamaki, raps, pomidor, kartoshkaning *Rhizoctoniaga*, tamakining *Cercospora nicotianaga* yuqori darajada chidamli transgen o'simliklari olingan.

Fungitsid ta'sirga ega bo'lgan boshqa guruh birikmalari-guruhiga past molekular (40–50 k Da) oqsillardan iborat o'simliklarning sistein oqsillari, galakturonaza ingibitorlari, o'simlik defenezlari, MF–oqsil guruhlari kiradi. Bu oqsillarning barchasi odatda o'simliklarning turli xil zamburug'li va bakteriya infeksiyalariga chidamliligini spetsifik bo'lmagan holatda oshiradi.

Mazkur oqsilni ekspressiyalovchi transgen o'simliklar zamburug'li infeksiyalarga qanday darajada chidamli bo'lsa, virusli infeksiyalarga nisbatan ham xuddi shunday xususiyatga ega bo'ladi.

Virus–o'simlik munosabati jarayonini o'rganish mobaynida juda ko'p usullar qo'llanilgan. Faqatgina bir qancha usullarni birgalikda qo'llash orqaligina virusli infeksiyalarga chidamli o'simliklar olishga erishilgan. So'nggi yillarda bu yo'nalishda sezilarli siljish paydo bo'ldi, bu genomning tuzilishini va tashkillanishini, virus genlarining funksiyalanishini to'liq o'rganish bilan bog'liqdir. Hozirgi vaqtda gen muhandisligi texnologiyasi asosida virusli infeksiyalarga chidamli transgen o'simliklar olishning turli usullari mavjud, bu esa virus qobig'i yuza oqsili geni bilan transformatsiya qilingan transgen o'simliklar olish imkonini beradi, natijada infeksiya o'tishining kamayishiga va virus ko'payishini to'xtatishiga olib keladi. Mazkur usul bilan tamaki va kartoshka o'simliklariga tamaki mozaika virusi oqsil qobig'i genini transformatsiya qilish, transgen o'simliklarda turg'un antiviruslilik xususiyati paydo bo'lishiga olib kelgan.

Hozirgi vaqtda tamakining nafaqat TMV (tamaki mozaika virusi)ga, balki qovoq mozaika virusiga ham chidamli tizimlari olingan.

Shuningdek, kartoshka va makkajo'xorining barglarining buralishi viruslariga, arpaning pakanalik virusiga chidamli navlari olingan. Qovoqning uchala virusga ham chidamli navi olingan va ekilmoqda.

Patogenlarga chidamli o'simliklar olishning yana bir usuli – zamburug' va mikroblarga qarshi ta'sirga ega bo'lgan fitoaleksinlar biosintezi (yo'li) fermentlarini kodirlovchi genlarining o'simlik hujayralariga transformatsiyasidir. Bu genlarni kartoshka va pomidor o'simliklariga kiritilganda, fitofstoroza va fuzariozga, tamakida esa kulrang chirish kasalliklariga qarshi chidamlilik sezilarli darajada ortgan.

Hozirgi kunda kartoshkaning Y virusi (PVY)ga va barg buralishi (PLRV)ga chidamli 4 ta tijoratbop transgen navlari, qovoqning uchta virusga ham bir vaqtning o'zida chidamli navi, papayaning aylanasimon virusi (PVY) ga chidamli navlari yaratilgan.

Gerbitsidlarga chidamli transgen o'simliklar olish

O'simliklar biotexnologiyasining asosiy yo'nalishlaridan biri gerbitsidlar ta'siriga chidamli madaniy o'simliklar olishdir. Gerbitsidlar keng ta'sir spektriga ega bo'lib, begona o'tlarni yo'qotadi, shu bilan birgalikda ekinlarga ham salbiy ta'sir ko'rsatadi.

Gerbitsidlarga chidamli o'simliklar olish ikki yo'nalishda olib boriladi: birinchidan, gerbitsidlarga chidamli o'simlik shakllarining to'g'ridan-to'g'ri seleksiyasi (asosan, gerbitsidga chidamli o'simliklarni yovvoyi turlari bilan chatishtirish orqali), ikkinchidan, ekspressiyasi gerbitsidga bardoshlilikka olib keluvchi genlarini ko'chirib o'tkazish yo'li bilan transgen o'simliklar olish. Gerbitsidlarga chidamli transgen o'simliklar olishda gerbitsidlarga chidamlilikni yuzaga keltirishning molekular mexanizmlari, shuningdek, bu xususiyatni belgilovchi bakteriya va o'simlik genlarini ajratib olish to'g'risidagi ma'lumotlar nazariy asos bo'lib xizmat qiladi.

Gerbitsidlarning ta'siri o'simlik hujayralari metabolizmini to'xtatib qo'yish orqali namoyon bo'ladi: biokimyoviy jarayonlarning ingibirlanishi (to'xtatilishi) eng avvalo, fotosintezning (atrazin, simazin, diuron) va aminokislotalar (glifosat, sulfonilmochevina, bialofos) sintezining ingibirlanishida o'z ifodasini topadi. Gerbitsidga chidamlilik uning ferment-nishon bilan o'xshashligi yoki gerbitsid molekulasini bevosita ingibirlanishi natijasida kelib chiqadi.

Hujayralar seleksiyasi usuli orqali petunyaning mutant tizimlari yaratilgan, ular glifosat gerbitsidiga 20 karra chidamliroqdir. Shuningdek, bedaning 600 mkM L fosfotrisin gerbitsidi ishtirokida o'sishga moslashgan hujayra suspenziyasi bilan seleksiya qilinib, chidamli tizimlari yaratilgan.

Gen muhandisligi usullari yordamida gerbitsidlar ta'siriga chidamli o'simliklar yaratishda tolerantlik (yuqori darajada chidamlilik) mexanizmlarini o'rganishga asoslanadi va quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi; o'simliklar hujayrasida gerbitsidlar ta'sir etadigan nishon aniqlanadi, ba'zi gerbitsidlar ta'siriga chidamli, rezistentlik genlari manbai bo'lgan o'simliklar, bakteriyalar tanlanadi, bu genlar identifikatsiya qilib olinib, ajratiladi, klonlanadi, transgen konstruksiyalar yaratish uchun ularning ekspressiyasi o'rganiladi.

Atrazin gerbitsidining ta'siri *pbca* geni tomonidan kodirlanadigan xloroplast membranasi oqsili (Q_h) bilan birikishiga asoslanadi. *pbca* geni ba'zi begona o'tlar genomidan ajratilgan. Aniqlanishicha, gerbitsidga chidamlilik *pbca* genida nuqtali mutatsiya yuzaga kelishi bilan bog'liq bo'lib, bu oqsil tarkibidagi serin aminokislota qoldig'ini glisin bilan almashinishiga olib keladi. Bunday almashinish Q_h oqsilida gerbitsidni ferment – nishon bilan bog'lanishining keskin kamayishiga olib keladi. Natijada gerbitsidga chidamlilik paydo bo'ladi. O'simliklar transformatsiyasi uchun mutant *pbca* geni vektor konstruksiyaga kiritilishi natijasida atrazinga chidamli transgen o'simliklar olingan.

Aynan shu narsa, ya'ni *E.colining aroA* geni kodiraydigan EPSP – sintetaza oqsilida alaninning argininga almashinishi tufayli glifosat gerbitsidi ta'siriga chidamlilik belgisini yuzaga keltirishi aniqlangan. Bu esa mutant *aroA* geni bilan tamaki, pomidor, qand lavlagi, kartoshka o'simliklari hujayralariga transformatsiya qilish va gerbitsidga chidamli transgen o'simliklar olish uchun foydalanilgan.

O'simlik genomiga bakteriyaning *bar* genini kiritilganda BASTA gerbitsidiga chidamlilik kelib chiqadi va bu gen kodiraydigan – fosfotrisinasetiltransferaza oqsili gerbitsidning faol komponenti fosfotrisinni asetillashi va natijada uning inaktivatsiyasini yuzaga keltirishi aniqlangan. Shu tarzda sholi (1995), makkajo'xori (1995), bug'doy (1994) va boshqa o'simliklarning transgen navlari olingan. So'nggi vaqtlarda *bar*- geni muhandislik vektorlarida selektiv marker sifatida qo'llanilmoqda.

Sholi genomiga *B. subtilus* bakteriyasidan ajratilgan *protoporphirinogensintetaza* (Protox) fermentini kodirlovchi gen kiritilganida u

transgen o'simlikning difenilefir qatori gerbitsidlariga chidamliligini oshirgan. Bunda antigerbitsid ta'siri mexanizmi ko'rsatilgan: Protox oqsili ekspressiyasining oshishi gerbitsid ta'sirini neytrallaydi, bu esa unda gerbitsidga chidamlilikni ortishiga sabab bo'ladi. Kiritilgan gen nusxalari soni va bardoshlilik darajasi o'rtasida o'zaro to'g'ridan-to'g'ri bog'liqlik borligi ham aniqlangan.

Hozirgi vaqtda Shimoliy Amerika va Yevropada gerbitsidlarga chidamli, makkajo'xori, g'o'za, sholi, soya, bug'doy, kartoshka va pomidor, zig'ir kabi qishloq xo'jaligi uchun asosiy bo'lgan ekinlarning 20 ga yaqin transgen navlaridan foydalanishga ruxsat etilgan. Qulupnay, qand lavlagi va ba'zi gulli ekinlarning transgen navlari dala sinovlaridan o'tkazilmoqda. Dunyo bo'yicha gerbitsidlarga bardoshli transgen o'simliklarning nav va duragaylari 34 mln. gektar yerga ekiladi. Bu umumiy ekinlar ekiladigan maydonlarning 80 %i ni tashkil etadi.

Umuman olganda, transgen o'simliklarni olish biotexnologiyaning jadal rivojlanayotgan yo'nalishlaridan biridir. Genetik modifikatsiyalangan o'simliklardan foydalanish ruxsat etilgan mamlakatlarda 2001-yilning fevral oyiga kelib, 18 xildagi ekinlarning 78 ta transgen navlari dala sinovlaridan o'tkazildi va agrotijorat maqsadlarida foydalanishga ruxsat etildi.

O'simliklar gen muhandisligining hal etilmagan muammolari

O'simliklar gen muhandisligi tobora taraqqiy etishi bilan bir qatorda bir qancha muammolar hal etilmay qolmoqda. Bunday muammolardan biri – o'simliklar genomiga o'lchami katta bo'lgan genlarni (10 m.n.j.dan ko'p) yoki bir nechta funksional genlarni bir paytning o'zida kiritishning qiyinligi bilan bog'liqdir. Bu transformatsiya uchun qo'llaniladigan vektorlarning hajmi bilan bog'liqdir. So'nggi vaqtlarda o'simliklar transformatsiyasi uchun foydalaniladigan ko'pchilik genlarning, ayniqsa, eukariot genlari katta o'lchamga egaligi (5 –15 m.n.j) bilan ajralib turadi. Bundan tashqari, vektor konstruksiyalar o'zining tarkibida tanlangan genlardan tashqari selektiv genlar ham tutishi zarur. Ba'zi holatlarda o'lchamlarini qisqartirish maqsadida genning *kDNK* izchilligidan foydalanish mumkin. Ammo, *kDNK* – nusxalari *in vivo*dagi o'ziga xos splayning yoki odatda birinchi intronda spetsifik regulator izchilliklarining ishtiroki sababli har doim ham qo'llanilavermaydi. O'simliklar transformatsiyasini cheklovchi asosiy omillardan biri – zarur belgi bir necha

genlar tomonidan kodirlanadi va bunday xususiyatga ega bo'lgan transgen o'simliklarni olish hozircha bir oz texnik muammolarga ega.

Begona genlarning ekspressiyasi masalasi alohida muammo bo'lib ko'pincha ikki – beshta avloddan so'ng aktiv transkripsiyalanuvchi gen ekspressiyalanishdan to'xtaydi. Mantiqan bu tushunarli holdir, o'simlik hujayrasi o'zining metabolizmi uchun begona bo'lgan, odatda bakterial kelib chiqishga ega oqsilni faol (masalan, kuchli konstitutiv 35 CaMV) promotor tufayli ekspressiyalaydi. Ko'pincha, transgenning inaktivatsiyalanishi regulator izchilliklarning metillanishi yoki qaysidir oqsilning promotori bilan o'zaro ta'siri natijasida repressiyalanishi tufayli yuzaga keladi. Bunday inaktivatsiya qilingan transgeni faollashtirishning iloji yo'q. Vaqt o'tishi bilan transgenning bunday «indamasligi»ning o'tib ketishini taxmin qilish qiyin, chunki bu bir qancha omillar, jumladan, oqsilning izchilligi va o'simlik genomiga birikadigan aniq joyi bilan bog'liq. Bu muammoni ehtimol, bir necha marta transformatsiyalash yo'li bilan o'simlik genomida turli xil integratsiya joylariga ega bir xil vektor konstruksiyalari tutuvchi turli tizimlarni olish bilan hal etish mumkin.

Transgenез bo'yicha olib borilayotgan ishlarning sekin rivojlanishiga asosiy sabab samarali genlarni ajratish, identifikatsiya qilish, genlar bankini yaratish bo'yicha olib borilayotgan izlanishlar rivojlanish darajasining pastligi va gen muhandisligi ilmiy bazasining cheklanganligi bilan bog'liq bo'lib qolmoqda.

I VA II BOBGA OID UMUMIY NAZORAT SAVOLLARI

1. Gen muhandisligiga asoslangan seleksiyaning pirovard maqsadi bo'lgan yangi o'simlik navlari olishning an'anaviy seleksiya usullaridan afzalligi nimada?
2. Nima uchun I va III tipdagi restriktazalardan gen muhandisligida amalda foydalanilmaydi?
3. Qanday usullar bilan turli nomdagi ketma-ketliklar uchlarining fragmentlarini birlashtirish mumkin?
4. Vektor nima va uning qanday asosiy tiplari mavjud?
5. Klonlash uchun qo'llaniladigan vektorni tanlab olishda qaysi xususiyat hal qiluvchi ahamiyatga ega?
6. Faglar orqali klonlashda qanday afzalliklar va kamchiliklar mavjud?

7. Binar vektorlarining kointegrativ vektorlarga nisbatan afzalligi nimada?

8. Klonlash uchun qo'llaniladigan vektorning transformatsiyada ishlatiladigan vektordan asosiy farqi nimalardan iborat?

9. O'simlik hujayralariga genlarni to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazishning afzalliklari nimalardan iborat?

10. Transgen o'simliklarni haqiqiylikini tekshirishning qanday usullari mavjud?

11. Transgen o'simliklar olishining qaysi bosqichlarida qiyinchiliklar kelib chiqishi mumkin va nima uchun?

12. Seleksiya va oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish maqsadida transgen o'simliklardan foydalanish texnologiyalari.

II BOBGA OID TEST SAVOLLARI:

1. Totipotentlik belgisi qaysi o'simliklarda yaqqol ifodalangan?

A) tamaki, g'o'za, yalpiz, kartoshka

B) yong'oq, qarag'ay, qoraqarag'ay

S) tamaki, piyoz, lola, soya, makkajo'xori

D) shaftoli, arpa, bug'doy

*E) tamaki, kartoshka, lavlagi, raps

2. Transgen o'simliklar olishdagi asosiy muammolardan biri nima?

A) transgen o'simliklar yashovchanligining pastligi

B) o'simliklarning qiyin ko'payishi

S) o'simliklardan kerakli genni ajratib olish

*D) o'simliklar xromosomasiga begona genni kiritish

E) vektor konstruksiyalar bilan ishlash

3. O'simlikning agrobakteriyalar bilan zararlanishi natijasida qaysi qismi o'simlik genomiga o'tadi?

A) Ti plazmidaning barcha qismi

B) agrobakteriyaning yaxlit o'zi

*S) Ti plazmidaning bir qismi

D) agrobakteriyaning hech qaysi qismi o'simlik genomiga o'tmaydi

E) B va S javoblar to'g'ri

4. Kointegrativ vektorlarni olish nimaga asoslanadi?

A) genlar izchilligini klonlashga

*B) ikkita plazmida o'rtasidagi rekombinatsiyaga

S) vektorlar sonini selektiv sharoitlarda ko'paytirishga

D) vektorlarni har birini alohida-alohida kiritishga

E) kointegrativ vektor degan tushuncha mavjud emas
5. O'simliklar tarnsmatsiyasida qanday vektorlardan foydalaniladi?

- A) T i plazmidasi, CaMV virusi, Ri plazmida
- B) Ac elementi, binar vektorlar
- S) kointegrativ vektorlar, fitoviruslar
- D) enterobakteriyalarning plazmidalari, faglar
- *E) Barcha javoblar to'g'ri

6. Quyida ko'rsatilgan usullardan qaysi biri ikki pallali o'simliklardan transgen o'simliklar olishda eng keng tarqalgan usul hisoblanadi?

- A) genlarni to'g'ridan-to'g'ri ko'chirib o'tkazish
- B) bioballistik transformatsiya
- S) DNK mikroin'eksiyasi
- D) elektroporatsiya
- *E) kokultivatsiya

7. Transgen o'simlikda T-DNK ketma-ketliklari mavjudligini to'liq isbotlashda tahlil qilishning qaysi turidan foydalaniladi?

- A) polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR tahlili)
- B) DNK blot-gibridizatsiyasi
- S)selektiv ozuqa muhitiga ekish
- D) antibiotiklar tutuvchi ozuqa muhitlarida o'stirish
- *E) A va B javoblar to'g'ri

8. O'simliklar genomiga begona genlar ekspressiyasi uchun nima-dan foydalaniladi?

- *A) CaMV 35S- RNK promotori
- B) eukariot RNK polimeraza
- S) eukariot promotorlar
- D) umuman promotorlardan foydalanishning keragi yo'q
- E) barcha javoblar noto'g'ri

9. O'simliklarda lizinga boy oqsillarning sintez bo'lishi va ozuqlik qiymatini oshirish uchun ularga qanday genlar kiritiladi?

- *A) prolamin genlariga qo'shimcha lizin kodonlarini
- B) prolamin genlariga qo'shimcha metionin kodonlarini
- S) lizin oqsillarini
- D) leguminlarni
- E) to'g'ri javob berilmagan

10. Biotexnologik usullar orqali bug'doyning don sifatini yaxshilashga qanday erishish mumkin?

A) takomillashtirilgan α -zein genini kiritish
B) yangi tripletlar kiritib oqsillarning aminokislotalar tarkibini o'zgartirish

S) yuqori molekular glyutenin oqsili subbirligining modifikatsiyalangan genini kiritish

*D) α -zein geni ketma-ketligiga lizinning qo'shimcha kodlarini kiritish

E) barcha javoblar bir-birini to'ldiradi

11. Fosfoenolpiruvatkarboksilaza C_4 genini klonlash orqali qaysi jarayonning faolligini oshirish mumkin?

A) zaxira oqsillari tarkibini o'zgartirish

B) yog' kislotalari tarkibini yaxshilash

S) zararkunanda hasharotlarga chidamlilikni oshirish

D) fotosintetik faollikni oshirish

E) karboksil guruhlar almashinuvini kuchaytirish

12. Glitsinbetain sintezini katalizlovchi betainaldehidrogenaza (BADH) geni o'simliklarning qaysi xususiyati bo'yicha chidamliligini oshiradi?

A) yuqori harorat

B) qurg'ochilik

S) og'ir metall tuzlari

D) tuzning yuqori konsentratsiyasi

E) past harorat

13. Fitopatogenlarga chidamli transgen o'simliklar olishda qanday genlardan foydalaniladi?

*A) xitinaza va glyukonazani kodirlovchi genlar

B) peroksidaza, amilazani kodirlovchi genlar

S) polimeraza, ligaza genlari

D) oksidoreduktaza, izomeraza genlari

E) bunday genlar mavjud emas

14. Gerbitsidlarga chidamli o'simliklar olish qanday yo'nalishda olib boriladi?

A) o'simlik shakllarini to'g'ridan-to'g'ri seleksiyasi

B) genlarni ko'chirib o'tkazish

S) genlarni ajratib olish va ko'paytirish

D) molekular mexanizmini o'zgartirish

*E) A va B javoblar to'g'ri

15. Qaysi genlar gerbitsidga chidamlilikni belgilaydi?

*A) *pbca*, *aroA*, *bar*

- B) glifosat, sulfonilmochevina, bialofos
- S) atrazin, simazin, diuron
- D) *nifA*, *nifD*, *nifE*
- E) A va D javoblar to'g'ri

I VA II BOBGA OID ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Рибчин В.Н. Основы генной инженерии – СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999.
2. Пирузян Е.С. Основы генетической инженерии растений. / М.: Наука, 1986.
3. Сельскохозяйственная биотехнология. Сб. работ/Под ред. В.С.Шевелухи. Т.1. М: Воскресенье, 1998.
4. Сельскохозяйственная биотехнология. Сб. работ/Под ред. В.С.Шевелухи. Т.2-М: Воскресенье. 2003.
5. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. //Т. 1-2. М.: Мир 1998.
6. Шелкунов С.Н. Генетическая инженерия. // СК.1. Новосибирск: изд-во Новосибирского университета. 1994.
7. Чемирис А.В., Ахунов Е.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, Курс Д. Рекомбинантные ДНК: Краткий курс М.: Мир, 1986.

L

III bob. O'SIMLIKSHUNOSLIK VA SELEKSIYADA HUYAYRA HAMDA TO'QIMALAR BIOTEXNOLOGIYASI

HUYAYRA VA TO'QIMALAR KULTURASI

Hujayralar biotexnologiyasi hujayralarning *in vitro* sharoitida yashash, ko'payish va regeneratsiyalanish xususiyatlariga hamda ularning totipotentligiga asoslanadi. Ajratilgan to'qimalarni steril sharoitida, sun'iy oziqa muhitlarda *in vitro* kulturalash usuli biotexnologiyada qimmatli genotiplarni saqlash, ko'paytirish, ularning embriogenezini amalga oshirish va ekish materiallarini sog'lomlashtirish maqsadlarida keng foydalaniladi. Biotexnologiyada ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasini rolini uchta yo'nalishda ko'rish mumkin.

Birinchi yo'nalish – ajratilgan o'simlik hujayralarining tibbiyot, parfyumeriya, kosmetika va sanoatning boshqa tarmoqlari uchun ikkilamchi sintez moddalar: alkaloidlar, steroidlar, glikozidlar, gormonlar, efir moylari va boshqa moddalarni sintez qilish xususiyati bilan bog'liq. Ikkilamchi sintez moddalar qattiq (agarli) yoki suyuq (suspensiyali kultura) oziqa muhitlarida o'stirilgan kallus to'qimalaridan olinadi. Hujayralar texnologiyasi asosida foydali o'simliklar hujayralaridan quvvatni oshiruvchi va tetiklashtiruvchi moddalar olinib, ular tibbiyot va attorlikda keng qo'llaniladi. Hujayralar seleksiyasi natijasida olingan hujayralar kulturasining mahsuldorligi yaxlit o'simliklar mahsuldorligidan yuqori bo'lishi mumkin. Bunday usulda ikkilamchi sintez moddalar olishning afzalligi shundaki, bizning tabiiy sharoitimizda o'smaydigan o'simliklardan butun yil mobaynida mahsulot olish mumkin.

Ikkinchi yo'nalish—ajratilgan to'qimalar kulturasidan ekish materiallarini virusdan holi qilish va ko'paytirishda foydalanish. Bu usul *o'simliklarni klonli mikroko'paytirish* usuli deb ataladi va bir yilda bitta meristemadan yuz minglab o'simliklar olish imkonini beradi.

Uchinchi yo'nalish—ajratilgan hujayralardan o'simliklar seleksiyasida foydalanib, tez rivojlanuvchi, turli tashqi omillar ta'siriga qurg'oqchilik, sho'rlanish, past va yuqori harorat, fitopatogenlar, og'ir metallar va boshqalarga chidamli o'simliklar olish mumkin.

Shuningdek, bu yoʻnalish orqali ajratilgan protoplastlarni qoʻshish va jinssiz (somatik) duragaylar olish yoʻli bilan yangi oʻsimliklar yaratish ishlarini ham amalga oshirish mumkin. Gen muhandisligi usullari yordamida ajratilgan protoplastlarga yot genlarni kiritish kelajakda yangi xususiyatli oʻsimliklar olish imkonini beradi. Ajratilgan changdon va urugʻ kurtaklarni sunʼiy oziqa muhitida kulturalash orqali gaploidlar olish, puch, unmaydigan (endospermi yaxshi rivojlanmagan) duragay urugʻlardan oʻsimliklar olishga erishish mumkin. Probirkada chatishtirish orqali esa baʼzi oʻsimliklarning oʻzaro chatishmasligini yengish mumkin. Hujayra va toʻqimalar kulturasidan foydalanishda muvaffaqiyatga erishish uchun, avvalombor hujayralarning normal boʻlinishi, differensiyalanishi va regeneratsiyalanib, ulardan yetuk oʻsimlik hosil boʻlishi kabi fiziologik jarayonlarni optimallashtirish zarur.

Alohida hujayralardan oʻsimlik regeneratsiyalash ancha murakkab jarayondir. Ayniqsa, donli ekinlarda bu ishni amalga oshirish ancha qiyin. Shuning uchun *in vitro* morfogenez, regeneratsiya va ular asosida yotuvchi jarayonlar mexanizmini aniqlash muhim ahamiyatga ega.

Oʻsimlikdan alohida ajratilgan toʻqimalarni kulturalashga ancha yillardan buyon harakat qilib kelingan.

1892–1902-yillar - Xaberlandt, Fyoxting, Rexinger kabi nemis tadqiqotchilari nomlari bilan bogʻliq. Ular tomonidan saxaroza eritmasida turli oʻsimliklarni kulturalashga harakat qilingan. Qoqioʻt va terak poyasi segmentlarida birinchi kallus toʻqimalari olingan va kallus hosil qilishga qobiliyatli segmentlarning minimal oʻlchami aniqlangan. Xaberlandt har qanday oʻsimlik hujayrasining totipotentligini, yaʼni hujayra oʻzining rivojlanish potensialini sarflab, maʼlum kulturalash sharoitida yetuk oʻsimlik hosil qilish qobiliyati haqidagi ilmiy nazariyalarni ilgari surgan.

1902–1922-yillarda hayvon toʻqimalarini kulturalash uchun oziqa muhiti yaratildi. Bu oziqa muhiti tabiiy kelib chiqishga ega boʻlib, tarkibi qon plazmasi va embrion (pusht) suyuqligidan iborat boʻlgan. Bu davrda ajratilgan oʻsimlik toʻqimalarini oʻsimlik ekstrakti tutuvchi sunʼiy oziqa muhitlarda oʻstirishga boʻlgan urinishlar muvaffaqiyatsiz chiqdi, chunki tajribalar uchun yuksak oʻsimliklarning oʻsish faolligini kam namoyon qiladigan hujayra va toʻqimalari tanlangan edi.

1922–1932-yillarda amerika olimi V.Robins va nemis olimi Kotte bir-biriga bogʻliq boʻlmagan holda pomidor va makkajoʻxori ildiz meristemalarini qattiq oziqa muhitlarida kulturalash imkoniyatining

mavjud ekanligini aniqlashdi. Ammo ma'lum vaqt o'tgandan so'ng, o'simlik to'qimalari qo'ng'ir rangga kirib nobud bo'lgan. O'simlik to'qimalarni kulturlash usulining haqiqiy rivojlanish davri 1932-yildan boshlandi.

1932–1940-yillar fransuz olimi R.Gotre nomi bilan bog'liq. U o'simlik to'qimalarini *in vitro* sharoitida uzoq vaqt kulturlashga to'qimalarni vaqti-vaqti bilan yangi oziqa muhitga ko'chirib o'tkazish orqali erishish mumkinligini isbotladi. Bu kashfiyot to'qimalar kulturasida bo'yicha yangi ishlarning boshlanishiga turtki bo'ldi.

1940–1960-yillarda (1955) sitokinin fitogormonlarining yangi sinfi, aniqrog'i kinetinning kashf etilishi munosabati bilan, tamakini o'tkazuvchi to'qimalari va kambiydan holi qilingan o'zak parenxima to'qimasi hujayralarining bo'linishini stimullash imkoniyati paydo bo'ladi. O'simlik stimulyatorining miqdori va nisbatiga bog'liq holda eksplantdagi hujayralar bo'linishini tezlashtirish, kallus to'qimasi o'sishni davom ettirish va morfogenezi indutsirlash mumkinligi aniqlandi.

Bu davrda kokos yong'og'i, kashtan, makkajo'xori va boshqa o'simliklarning endosperm tipidagi tabiiy ekstraktlaridan hujayralarning tartibsiz o'sishini amalga oshirishda, kallus to'qimalari kulturasida va hujayralar suspenziyasidagi morfogenez jarayonlarini stimullashdagi roli ijobiy baholandi.

1960–1975-yillardagi muhim voqealardan biri, Nottingem universiteti professori E.K.Kokking tomonidan fermentativ yo'l bilan protoplastlarning ajratilishi bo'ldi. U hujayralar devorini gidrolizlovchi fermentlar yordamida pomidor mevasi va ildizidan protoplastlar ajratib oldi va nazoratdagi sharoitda kulturaladi. Keyinroq 1970 yilda shu laboratoriyada Pauer va uning shogirdlari tomonidan protoplastlarni qo'shish orqali, somatik duragaylar olishning yangi usuli yaratildi. Bu davrda yaratilgan yana bir usul, bu *in vitro* sharoitida meristema kulturasidan foydalangan holda o'simliklarning mikroko'paytirishdir. Bu usul fransuz olimi J.Morel tomonidan dastlab orxideya o'simligining sog'lomlashtirilgan ko'chatlarini ko'paytirish maqsadida ishlab chiqilgan.

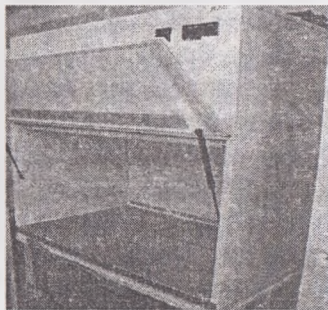
1975-yildan hozirgi kunga qadar *in vitro* texnikasi jadal rivojlanishi davom etmoqda, kulturalanayotgan obyektlar biologiyasi o'rganilmoqda, ajratilgan protoplastlarni elektr toki yordamida qo'shish usullari, hujayralar seleksiyasi va mutagenezi usullari, gaploid o'simliklar yaratish usullari yaratilmoqda. Protoplastlar va *Agrobacterium*

tumefaciens hamda *A. rhizogenasning* Ti va Ri plazmidalari asosidagi vektorlaridan foydalanib, hujayralarni chuqur kulturalash usullari mukammallashtirilmoqda. Gen muhandisligi usullari yordamida ikki pallali o'simliklar hujayrasiga genlarni ko'chirib o'tkazishning samarali usullari ishlab chiqildi.

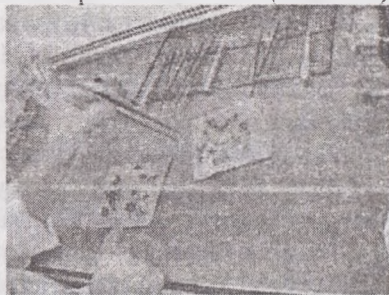
Shunday qilib, keyingi 10 yillarda ajratilgan o'simlik hujayra va to'qimalari bilan ishlashning texnik usullarini rivojlantirish ishlari jadal davom etmoqda. Ammo, bu ishlarda tadqiqot obyekti sifatida asosan bir pallali va ikki pallali o'tchil o'simliklardan, ba'zi hollardagina daraxtsimon o'simliklardan foydalanildi.

O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash texnikasi

Sterillash. O'simlikdan ajratilgan to'qimalar (eksplantlar) kulturalanadigan oziqa muhitining boy tarkibi mikroorganizmlar o'sishi uchun ham yaxshi substrat hisoblanadi. Oziqa muhitda kulturalanayotgan o'simlik eksplantlarni mikroorganizmlar oson zararlaydi. Shuning uchun eksplant ham, oziqa muhiti ham sterillangan bo'lishi shart. Ajratilgan to'qimalar bilan olib boriladigan barcha ishlar (kulturaga o'tkazish, yangi oziqa muhitiga ko'chirish) steril xonalarda, (laminar bokslarda) steril asboblarni yordamida amalga oshiriladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash lozim (3.1-rasm)



A



B

3.1- rasm. A. Laminar boksning tashqi ko'rinishi. B. Laminar boksta o'simliklarni mikroklonlash uchun ajratish.

Laminar boksdagi sterillik unga o'rnatilgan bakterial filtrlar orqali ta'minlanadi. Ish boshlashdan ikki soat oldin laminar boksdagi bakteriotsid ultrabinafsha lampalari yoqib qo'yiladi.

Idishlar quritish shkaflarida quruq issiq yoki avtoklavda nam bug' yordamida sterillanadi. Sterillashdan oldin idishlarni idish yuvish vositalari va kaliy bixromatning sulfat kislotasidagi eritmasi yordamida tozalab yuviladi, distillangan suvda chayiladi va zar qog'ozga yoki oddiy qog'ozga o'rab, quritish shkaflarida 160°C haroratda 2 soat davomida qizdirib yoki 25–30 daqiqa 2 atmosfera bosim ostida avtoklavlab sterillanadi.

O'simlik materiallarini sterillash uchun quyidagi jadvalda berilgan eritmalardan foydalaniladi (3.1-jadval).

O'simlik materiallarini sterillash (R.G. Butenko 1999)

3.1-jadval

Obyekt	Sterillash vaqti		
	0,1 % li Diatsid (min)	0,1 % li sulema	10–12 %li vodorod peroksidi (min)
1	2	3	4
Quruq urug'lar	15-20	10-15	12-15
Ivtilgan urug'lar	6-10	6-8	6-8
Poya to'qimalari	20-40	20-25	-
Barglar	1-3	0,5-3	3-5
Apekslar	1-10	0,5-0,7	2-7

Kulturalash uchun olingan o'simlik eksplantlari oldin sovunli suvda ishqalab yuviladi va distillangan suvda chayiladi, so'ng bir necha soniyada 70 % li etanolga solinadi, urug'lar esa 1–2 min.ga spirtga solib qo'yiladi. Spirt to'qimalarni sterillash bilan birga asosiy sterillovchi eritmaning sterillash samarasini ham oshiradi. Spirt dan so'ng to'qimalar steril suvda ham chayiladi.

Tashqi sterillash faqat tashqaridagi infeksiyalardan holi qiladi. Agar eksplantda ichki infeksiya mavjud bo'lsa, u holda antibiotiklar bilan ishlov berish zarur. Asosan tropik va subtropik o'simlik to'qimalari ichki infeksiyalarga boy bo'ladi. Zamburug' yoki bakteriyalar bilan zararlangan kulturani ekilganidan 1-14 kundan so'ng aniqlash mumkin. Mikroorganizmlar bilan zararlangan kulturalarni xonaga tarqalib havoni ifloslantirmasdan ularning oldini olish zarur.

Oziqa muhitlari avtoklavda 120°C daqiqada 0,75–1 atm bosimda 20 daqiqa davomida sterillanadi. Agar oziqa muhit tarkibiga yuqori haroratda parchalanib ketuvchi moddalar kiritilgan bo'lsa, u holda bu moddalar maxsus mayda teshikli (diametri 0,15–0,45 mkl teshikli) bakterial filtrlardan o'tkazib tozalanadi, so'ng avtoklavga sterillanib va 40°C ga cha sovitilgan asosiy oziqa muhitga qo'shiladi.

Oziqa muhitlar. O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalar ko'p komponentli oziqa muhitlarda kulturalanadi. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun oziqa muhitlari tarkibida o'simlik uchun zarur bo'lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kalsiy, magniy, oltingugurt, temir) mikroelementlar (bor, marganets, rux, mis, molibden va boshqalar), shuningdek, vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularning analoglarini tutishi zarur. Ba'zi oziqa muhitlarga kazein gidrolizati, aminokislotalar ham qo'shiladi. Bundan tashqari, hujayraning temirga bo'lgan talabini qondirish uchun oziqa muhitlar tarkibiga EDTA (etilendiamintetrasirka kislotasi) yoki uning natriyli tuzi kiritiladi.

Kallus to'qimasi olish uchun ba'zi hollarda oziqa muhit tarkibiga kokos yong'og'ining suyuq endospermi (kokos suti), kashtan qo'shiladi. Uglevodlar ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturalanayotgan oziqa muhitning zaruriy tarkibi hisoblanadi. Chunki ular avtotrof oziqlanish xususiyatiga ega emas. Uglevod manbai sifatida 2–3% li konsentratsiyadagi saxaroza yoki glyukozadan foydalaniladi.

Fitogormonlar hujayralarning dedifferensiyalanishi va hujayralar bo'linishini tezlashtirish uchun zarur. Shuning uchun kallus to'qimalar olishda oziqa muhit tarkibida, albatta, auksinlar (hujayralar dedifferensiyasini chaqiradi) va sitokinlar (hujayralar bo'linishini chaqiradi) bo'lishi shart. Poya morfogenezini yuzaga keltirishda oziqa muhitdagi auksinning miqdori kamaytiriladi yoki umuman qo'shilmaydi.

Gormonsiz muhitda shish to'qimalari yoki ko'nikkan to'qimalar o'sadi. Ular o'zlari gormon sintez qilish xususiyatiga ega bo'ladi.

Oziqa muhitlarda auksin manbai sifatida 2,4–dixlorfenoksirka kislotasi (2,4-D), indolil 3-sirka kislotasi (ISK), naftilsirka kislotasi (NKS) dan foydalaniladi. G'ovak, (po'k) yaxshi o'suvchi kallus to'qimasi olish uchun asosan 2,4–D dan foydalaniladi, chunki uning faolligi ISKga nisbatan 30 marta yuqori.

Sun'iy oziqa muhitlarda sitokin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (BAP), zeatindan foydalaniladi. Ajratilgan to'qima-

larni o'stirishda, organlarni hosil qilishda kinetinga nisbatan 6-BAP va zeatindan foydalanish ko'proq samara beradi. Ba'zi oziqa muhitlar tarkibiga adenin qo'shiladi.

Hozirgi vaqtda tarkibi jihatidan bir-biridan farq qiluvchi bir nechta oziqa muhitlari ma'lum. Lekin ajratilgan hujayra va to'qimalarni in vitro o'stirish uchun, asosan, 1962-yilda T. Murasiga va F Skuga tomonidan yaratilgan tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Bu muhitda oziqa moddalar tarkibi balanslangan bo'lib, ammoniyli va nitratli azotning nisbati bilan boshqalaridan farq qiladi. Qattiq oziqa muhiti tayyorlash uchun dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxarid agar-agar moddasidan foydalaniladi (3.2-jadval). Makro-mikro elementlar tuzlari eritmalarini, shuningdek, vitaminlar va fitogormonlarning konsentrlangan (miqdori oshirilgan) eritmalarini tayyorlab, ulardan oz miqdorda olib, suyultirib ishlatish mumkin. Konsentrlangan boshlang'ich eritmalar sovutgichda saqlanadi.

O'simlikning ajratilgan hujayra va to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhitlar tarkibi (R.G. Butenko 1999)

3.2-jadval

Oziqa muhit komponentlari	Konsentrasiyasi mg/l			
	Murasiga-Skuga,	Gambor-ga	Shenka-Xildebrandt	Gress-xoff-Dou
NH ₄ NO ₃	1650	2500	2500	--
NH ₄ H ₂ PO ₄	--	--	300	--
KNO ₃	1900	--	--	1000
CaCl ₂ +2H ₂ O	440	150	200	150
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	250	400	250
(NH ₄) ₂ SO ₄	--	130	--	200
KH ₂ PO ₄	170	--	--	--
Na ₂ EDTA	37,3	37,3	20,0	37,3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,95	27,85	15,0	27,8
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	--	150	--	90
H ₃ BO ₃	6,2	3,0	5,0	3,0
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3	10,0	10,0	10,0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25	0,25	0,1	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025	0,025	0,2	0,25

CoU ₂ ·6H ₂ O	0,025	0,025	0,1	0,25
Glitsin	2,0	--	--	2,0
Mezoinozit	100	100	1000	10
Nikotin kislotalasi	0,5	1,0	5,0	1,0
Piridoksin-HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Tiamin-HCl	1	10,0	5,0	0,1
2,4-D	--	0,1-1,0	--	--
Kinetin	--	0,1	0,1	--
Glutamin	--	--	--	2,0
Saxaroza	30 000	30 000	30 000	20 000

Kulturalash sharoiti. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalashni amalga oshirish uchun o'stirishning zaruriy shartlariga amal qilish lozim.

Aksariyat kallus to'qimalari yorug'likka muhtoj emas, chunki ularning hujayralarida xloroplastlari bo'lmaydi va geterotrof oziqlanadi. Ba'zi yashil kallus to'qimalari masalan, mandragoralar bundan mustasno. Ayrim hollarda kallus to'qimalari avtototrof oziqlanishga qodir bo'lmasalar ham uzluksiz yorug'lik sharoitida o'stiriladi, bu muvaffiqiyatli morfogenez hosil bo'lishining zaruriy sharti hisoblanadi. Asosan kallus to'qimalarini olish uchun qorong'ulik yoki sochma yorug'lik sharoiti yaratiladi. Shakllana boshlagan to'qimalar yorug'likda 1000–4000 lk yoritish ostida kulturalanadi.

Izolatsiyalangan meristemalarni kulturalash va ularni mikroko'paytirish yorug'likda amalga oshiriladi. Xonalarni yoritish darajasi kulturaga bog'liq holda 3000–10000 lkni tashkil qilishi kerak.

Mazkur kulturalanayotgan obyekt uchun zarur bo'lgan fotodavrni hisobga olish zarur. Kulturalar o'sayotgan xonada namlik 60–70% ni tashkil etishi kerak. Agar probirka yoki kolbalar og'zi paxta tiqin bilan yopilgan bo'lsa, quruq havo oziq muhitlar qurishiga va konsentrasiyasining buzilishiga sabab bo'lishi mumkin. Xonadagi namlikning miqdorini oshirish uchun idishlarda suv qo'yib qo'yish mumkin. Ko'pchilik kulturalanayotgan to'qimalar uchun optimal harorat 25–26°C, tropik o'simliklar to'qimalari uchun esa 29–30°C ni tashkil qiladi. Morfogenez induksiyasini amalga oshirishda harorat 18–20°C gacha pasaytiriladi. Yorug'lik, harorat va optimal namlik rejimini klimatik kameralar yordamida yaratish mumkin.

Kallus to'qimalari kulturasi

Kallus kulturasi—bu dedifferensiyallangan hujayralarning tarqoq bo'linayotgan to'qimalaridir. *Kallus* – qadoq ma'nosini bildirib, o'simliklarning shikastlangan joyida va *in vitro* kulturalanayotgan o'simlik to'qimalarida (eksplantlarda) hujayralarning betartib bo'linishi va o'sishidan hosil bo'lgan qabariqdir (3.2- rasm). Kallus to'qimasini fitogormonlar tutuvchi sun'iy oziqa muhitlarda o'simlikning turli qismlaridan: poyasi, ildizi, tugunak to'qimalarida, bargi va urug'murtaklaridan olish mumkin.

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



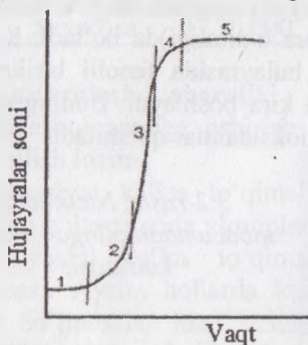
3.2-rasm. *Nicotiana tabacum*dan olingan kallus kulturasi.

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

O'simlik hujayrasini dedifferensiyalanishi va uning kallusga aylanishi uchun oziqa muhit tarkibida fitogormonlarning ikki guruhi: auksinlar va sitokininlarning ishtirok etishi zarur. Auksinlar hujayralarning dedifferensiyalanish jarayonini yuzaga keltirib hujayralarni bo'linishga tayyorlaydi, sitokininlar esa dedifferensiyalangan hujayralarning bo'linishini amalga oshiradi. Agar gormonsiz oziqa muhitga differensiyalangan hujayralardan iborat poya, barg, ildiz (uchki

meristemasi olingan) qismlari yoki o'simlikning boshqa eksplantlari joylashtirilsa, hujayralar bo'linmaydi va kallusli to'qimalar hosil bo'lmaydi, chunki differensiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga ega emas. Har bir hujayra o'sishning uchta davridan o'tadi: 1) bo'linish; 2) cho'zilishi; 3) differensiyalanish. Differensiyalanish davrida hujayraning ikkilamchi qobig'i qalinlashadi va hujayra bo'linish xususiyatini yo'qotadi.

Differensiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga qayta ega bo'lishi uchun ularning dedifferensiyatsiyasi yuzaga kelishi, ya'ni hujayralar meristematik holatga qaytishi kerak.



3.3-rasm. Kallus to'qimalarini davriy o'stirishda o'sish bosqichining egri chizig'i. O'sish bosqichlari: 1-latent; 2-logarifmik; 3-bir maromda o'sish; 4- o'sishning sekinlashishi; 5-statsionar.

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

Oziqa muhitda sitokininning yo'qligi tamakini o'zak parenximasi (TO'P) mitoz oldi davrda hujayra siklini to'sib qo'yadi. Shuning uchun, agar oziqa muhitida faqat auksin ishtirok etsa, hujayralarda bo'linish ketmaydi va to'rt kunlik latent davrdan so'ng cho'zilish orqali o'sishga o'tadi. Oziqa muhit tarkibida auksinsiz faqat sitokinin bo'lsa, u holda gormonsiz muhitdagi kabi TO'P to'qimalar qariy boshlaydi.

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

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

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

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

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

Hujayralarning *in vitro* differensiyallangan holatidan dedifferensiyalangan holatiga o'tishiga va hujayralarning faol bo'linishga genlar faolligining (epigenom o'zgaruvchanligi) o'zgarishi sabab bo'ladi. Ba'zi genlarni faollashishi va boshqalarining repressiyalanishi hujayra oqsil tarkibining o'zgarishiga olib keladi. Kallus hujayralarida spetsifik oqsillar hosil bo'ladi va bir vaqtning o'zida bargni fotosintezlovchi hujayralariga xos bo'lgan oqsillar miqdori kamayadi yoki umuman yo'qolib ketadi.

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

Dedifferensiyallangan hujayralarning uyushmagan, tartibsiz ko'payishga o'tishi natijasida, kallus to'qimasi hosil bo'ladi va hujayrada biokimyoviy hamda sitologik o'zgarishlar yuzaga keladi. Dedifferensiyallanish-hujayradagi zaxira moddalardan foydalanish va takomillashgan hujayra organellalarini parchalanishidan boshlanadi. Hujayraning dedifferensiyalanishi induksiyalanganidan 6–12 soat o'tganidan so'ng, hujayra devori po'klashadi va shishadi, erkin ribosomalar, Golji apparati elementlari, yadrochalar soni va o'Ichami ortadi. Barcha o'zgarishlar 48–72 soatdan so'ng boshlanadigan hujayralar bo'linishi uchun asos yaratadi. Kulturalashning boshlang'ich

davrida eksplant hujayralari metabolizmida, dedifferensiyalanish natijasida paydo bo'lgan o'zgarishlarni kuzatish mumkin. Bu jarayonlarning oldini olish uchun eksplantlarni oldindan gormonsiz oziqa muhitlarda 3–6 kun inkubatsiya qilish maqsadga muvofiqdir. Kallus to'qimasi o'zining rivojlanish sikliga ega bo'lib, boshqa hujayralarga xos bo'lgan: bo'linish, cho'zilish va dedifferensiyalanish kabi rivojlanish davrini takrorlaydi, so'ng hujayralar qarishi va nobud bo'lishi boshlanadi. Kallus hujayralari dedifferensiyalanishini ikkilamchi deb atash mumkin, lekin uni morfogenez asosida yotuvchi hujayraning ikkilamchi dedifferensiyalanishi bilan adashtirmaslik lozim.

Eksplantlarda paydo bo'lgan birlamchi kallus to'qimalari 4–6 hafta o'tgandan so'ng, hujayralarining bo'linish xususiyatlari yo'qolib, qarishi boshlanmasdan oldin, yangi oziqa muhitlarga ko'chirib o'tkazilishi kerak. Bu muolajani *passirlash*, ya'ni qayta ekish deyiladi. Muntazam passirlash orqali hujayralarning bo'linish qobiliyatini o'n yillab saqlab turish mumkin.

Kallus hujayralarining o'sishi S-simon shakldagi egri chiziqqa ega (3.3-rasm). O'sishning bunday xarakterini kallus hujayralarining suspenziyali kulturasi kuzatish mumkin. O'sish egri chizig'i beshta fazani o'z ichiga oladi. Birinchisi, latent yoki lag-fazada hujayralar soni yoki massasi o'zgarishi kuzatilmaydi. Bu fazada hujayralar bo'linishga tayyorlanadi. Navbatdagi ikkinchi logorifmik yoki eksponensial o'sish fazasi-mitotik faolligi va kallus to'qimalari massasining ortishi bilan xarakterlanadi, bundan tashqari o'sishi tezlashadi. Uchinchi doimiy fazasida hujayralar o'sishi doimiy bo'ladi. Shundan so'ng to'rtinchi o'sishning sekinlashish fazasi-hujayraning mitotik faolligi keskin kamayganda yuzaga keladi. Beshinchi statsionar fazada o'sish egri chizig'i platoga chiqadi. Bu davrda hujayralar degradatsiyasi boshlanadi, ammo hujayralar bo'linishi hisobiga hujayralar soning ortishi sababli yana tenglashadi: umuman olganda hujayra massasining oshish tezligi nolga teng bo'ladi.

Kallus hujayralarining xususiyatlari. Kallus hujayralari *in vitro* sharoitida o'simlik organizmining normal hujayralariga xos bo'lgan barcha fiziologik va biokimyoviy xususiyatlariga ega bo'ladi. Ular ikkilamchi metabolitlar sintez qilish qobiliyatini ham saqlab qoladi. Sovuq haroratga chidamli o'simliklardan olingan kallus to'qimalari sovuqqa chidamlilikni namoyon qiladi. Tropik va subtropik o'simliklardan olingan kallus to'qimalari esa bunday xususiyatga ega emas. Demak, hujayraning past haroratga chidamlilik xususiyati kallus

to'qimasi hosil bo'lganda ham saqlanib qolar ekan. Kallus to'qimalariga fotoperiodik reaksiyalar ham xos bo'lib, bu undagi fitoxrom faollikning saqlanishi bilan bog'liqdir.

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

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

Kallus hujayralari organizm nazoratidan chiqib ketishi tufayli uyushmagan holda assinxron ravishda cheksiz ko'payadi. R. Gorte tomonidan olingan sabzi kallus to'qimasi kulturasi muntazam ravishda yangi oziqa muhitiga o'tkazilib turilishi sababli 60-yildan buyon hozirgi kunga qadar o'simliklar to'qimalari kolleksiyada o'sib turibdi.

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

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

Kallus hujayralarining energiya almashinishida ham katta farq mavjud. Ular normal hujayralarga nisbatan kamroq kislorod talab qiladi. Ramsgorn 1938-yilda meristema to'qimalarining faol bo'linayotgan hujayralarining ham xuddi shunday xususiyatini aniqlagan edi. Kallus hujayralarining nafas olish koeffitsiyenti (N.O.K) 1 dan ortiq, masalan: no'xat kallusi hujayralarida $N.O.K > 3,5$ (A.V.Romanova va boshqalar 1988)ni tashkil etadi. Bu nafas olish va bijg'ish orasidagi nisbatining tomonga surilishi, Paster effektini kamayib, bijg'ish kuchayishidan dalolat beradi. Paster effekti deganda, kislorodli nafas olish orqali bijg'ish jarayonini to'xtatilishini tushunish mumkin. O'zgarmas nafas olish substartida nafas olish koeffitsiyentining oshishi shundan dalolat beradiki, kallus hujayralarining nafas olishi hatto kislorod ishtirokida ham bijg'ishni to'xtamaydi, uglerodlarning kislododsiz parchalanishi, ya'ni bijg'ishi amalga oshadi. Uyushmagan to'qimalarni o'sishida uglevodlarning kislorodsiz parchalanishi-bijg'ish natijasida bo'linayotgan hujayralar tarkibidagi etil spirti to'planadi. Shunday natijalar

no'xatni intakt o'simtlarini uyushmagan holda o'sishi induksiyaning olinganida (G.M. Artamonov, 1975, 1978).

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

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

Kallus hujayralari genetikasi. Uzoq vaqtlar mobaynida kallus hujayralari genetik bir xil deb hisoblangan edi. Ammo 1960-yilda kallus to'qimalarining genetik geterogenligi aniqlandi. Kallus hujayralari xromosomalar soni bilan farq qiladi. Meristema to'qimalari *in vitro* genetik turg'un hisoblanadi.

Kallus va suspenziya kulturalarida boshlang'ich o'simlikka xos xromosomalarning diploid to'plamiga ega hujayralarni, shuningdek, 3,4,5 va undan ortiq xromosomalar to'plamiga ega poliploid hujayralarni ham uchratish mumkin. Kallus to'qimalari kulturalarida poliploidiya bilan bir qatorda aneuploidlar (bir yoki bir necha juft gomologik xromosomalar kamaygan yoki ko'paygan organizmlar)ni ham kuzatish mumkin. Kallus hujayralari *in vitro* sharoitida qancha uzoq vaqt kulturalansa, ploidlilik bo'yicha shunchalik farq qiladi. Tamakining kallus hujayralari 4 yil kulturalanganidan so'ng, diploid hujayralari umuman qolmaydi, hamma hujayralar poliploid yoki aneuploid bo'ladi. Ploidlikning o'zgarishi kulturalash va oziqa muhit tarkibiga kiruvchi moddalar tarkibi ta'sirida yuzaga keladi. Yoki buni boshqacha izohlash ham mumkin. Polipliod hujayralar diploid hujayralarga nisbatan qisqa lag-fazaga ega bo'ladi, shuning uchun tezroq bo'linishga o'tadi. Buning natijasida ular qayta ekilish imkoniyatiga ega bo'ladi. Ikkala sabab ham ta'sir ko'rsatishi e'tibordan holi emas.

O'simlik hujayra va to'qimalarini *in vitro* sharoitida kulturalash ularning ploidligidagi o'zgarishlardan tashqari, hujayralarida xromosomalar abberatsiyasini ham paydo qiladi. Buning natijasida, kulturalanayotgan to'qimaning xususiyati, tashqi ko'rinishi, moddalar almashinishi, o'sish tezligi o'zgaradi. Kulturalanayotgan hujayralarda mikroskop orqali ko'rish mumkin bo'lgan xromosomalar mutatsiyasi bilan birga, mikroskopda ko'rinmaydigan o'zgarishlar ham paydo bo'lishi mumkin. Bu o'zgarishlar xromosomaning ba'zi qismlariga,

shuningdek, genlar strukturasi ham ta'sir ko'rsatishi mumkin. Genlar mutatsiyasini hujayralarning morfologik, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini o'zgarishi orqali aniqlash mumkin.

Kulturalanayotgan hujayralarni genetik turg'un emasligining sababi nimada? Bunday sabablar bir qancha. Eng avvalo, boshlang'ich materiallarning genetik bir xil emasligidir (eksplantning geterogenligi). Qator o'simliklarning differentsiyallangan to'qimalari turli ploiddikka ega hujayralar tutishi bilan ifodalanadi va faqatgina ontogenez davrida bo'linayotgan uchki meristema, kambiy va boshqa to'qimalar doimo diploid bo'lib qoladi. Boshqa sababi, hujayra va to'qimalarni uzoq vaqt passirlash bo'lib, natijada genetik o'zgarishlarning to'planishi, ploiddlikning notekis o'zgarishiga olib keladi. Ajratilgan o'simlik to'qimalarini sun'iy oziqa muhitlariga o'tkazilganda hujayralarning genetik turg'unligi buziladi. Bunday natijalar oziqa muhit tarkibidagi fitogormonlarning hujayralar genetik apparatiga ta'siridan ham kelib chiqishi mumkin. Kallus hosil qilish uchun oziqa muhiti tarkibiga auksin va sitokininlar kiritilishi zarur. Ko'pgina olimlar o'tkazgan tadqiqotlarda bu moddalarning mutagen ta'siri aniqlangan. Ayniqsa, qator oziqa muhitlar tarkibiga kiruvchi 2,4-D faol mutagen hisoblanadi. Hujayralarning poliploidlanishiga sitokinin, ayrim hollarda kinetin ham ta'sir ko'rsatadi.

Kallus hujayralarining genetik xilma-xilligi ularni hujayralar seleksiyasida qo'llab, atrof-muhitning noqulay sharoitiga, fitopatogenlarga chidamli, hosildorligi yuqori hujayralar olish imkonini beradi.

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

Kallus hujayralari sun'iy oziqa muhitlarda faqat gormonlar ishtirokidagina bo'linishi mumkin. Ammo, ba'zi hollarda, ular uzoq vaqt kulturalanganda ham gormonsiz muhitlarda o'sish xususiyatini paydo qiladi, ya'ni auksinlar va sitokininlarga nisbatan avtonom bo'lib qoladi. Bunday hujayralar «moslashgan» hujayralar deyiladi. «moslashgan» hujayralardan hosil bo'lgan to'qimalar kimyoviy shishlar deb yuritiladi. «moslashgan» to'qimalar shish to'qimalar kabi normal regeneratsiyalanmaydi va faqat teratomlar hosil qiladi, kamdan-kam hollardagina normal regenerantlarni paydo qiladi.

Kallus to'qimalari to'rtinchi marta qayta ekilgandan so'ng regeneratsiyalanish qobiliyatini yo'qotadi. Qari kallus to'qimalari ham regeneratsiyalanmaydi. Hujayralar moslashuv sabablarining hali aniq javobi yo'q. Lekin ularning normal differentsiyallanishi va bo'lini-

shida ishtirok etuvchi gormonlarning uzoq vaqt ta'sir etishi bilan bog'liq bo'lishi ham mumkin degan taxminlar bor.

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

O'simliklarning «moslashgan» va shish to'qimalarining umumiy xususiyatlari ularning gormonga nisbatan ehtiyojsizligi, ya'ni gormonsiz oziqa muhitlarda o'sish xususiyatiga ega ekanligidir. Bu ularning kallus to'qimalaridan asosiy farqidir.

«Moslashgan» to'qimalar va shish to'qimalarida o'zining gormonlari sintezlanadi, shuning uchun ular o'sayotgan oziqa muhitga gormonlarni qo'shishning hojati yo'q.

Tashqi ko'rinishidan bu to'qimalar kallus to'qimalaridan farq qilmaydi, ularning yagona farqi gormon sintez qilishi bilan namoyon bo'ladi. Bu xususiyat «moslashgan» va shish hujayralari uchun umumiy bo'lsa-da, ularning bu vazifani yechish yo'li har hildir. «Moslashgan» to'qimalarda gormonga nisbatan ehtiyojsizlik, gormon sintezida va gormon molekulari tuzilishida ishtirok etuvchi, ferment oqsillar sinteziga javobgar genlar faolligining o'zgarishi natijasida paydo bo'ladi. Shunday qilib, ushbu holatdagi o'zgarish epigenomli xarakterga ega bo'lsa-da, mutatsiya imkoniyatlarini ham e'tibordan chetda qoldirmaslik kerak. «Moslashgan» hujayralarda o'zgarish epigenomli yoki genetik xarakterga egaligini aniqlash uchun hujayra-o'simlik-hujayra qatorida gormonga ehtiyojsizlik xususiyati saqlanib qolishi yoki qolmasligini nazorat qilish kerak. Buning uchun «moslashgan» to'qimadan regeneratsiyalangan o'simlikdan olingan eksplant umuman gormonsiz yoki gormonlardan biri bo'lmagan oziqa muhitda o'stirilishi kerak. Agar mana shu muhitda hujayra bo'linsa, ya'ni gormondan avtonom bo'lsa, gormonga ehtiyojsizlik xususiyati nasldan-naslga o'tadi, demak, u genetik xarakterga ega deb aytish mumkin. Agar gormonsiz muhitda hujayra bo'linmasa va kallusli to'qima hosil bo'lmasa, ya'ni gormonga ehtiyojsizlik nasldan-naslga o'tmasa,

o'zgarishning epigenomli xarakterga egaligi haqida xulosa chiqarish mumkin. Ammo, bu yo'l bilan faqatgina regeneratsiyalanish xususiyatini yo'qotmagan «moslashgan» hujayralarni tekshirish mumkin xolos. Ma'lumki, ko'pchilik «moslashgan» hujayralar regeneratsiyaga bo'lgan imkoniyatlarini yo'qotadi, bu esa yuqoridagi usuldan foydalanib, gormonga ehtiyojsizlik xarakteri tabiatini aniqlashni qiyinlashtiradi.

Shish to'qimalarda gormonlarning sintezi-o'simlik hujayrasiga bu jarayonga javobgar bo'lgan bakteriya genlarini kiritilishi bilan bog'liq.

O'tgan asrning 40-yillarida F. Uaytning shogirdi, Braun bo'rtma galli shish to'qima kulturasi hatto agrobakteriya ishtirok etmagan hollarda (ular yuqori harorat ta'sirida o'ldirilgandan keyin) ham shish xususiyatini saqlab qolishini kuzatgan. Gormon qo'shilmagan sun'iy oziqa muhitida bakteriyasiz bo'rtma gall to'qimasi faol proliferatsiyasini davom ettira olgan. Bu to'qimalar, oddiy to'qimaga nisbatan auksinlarning yuqori miqdorini tutadi va bir necha xil sitokininlarni sintezlaydi. Braun o'zi o'tkazgan tajribalari asosida o'simlik hujayralari *Agrobacterium tumefaciens* ta'siridan so'ng qandaydir yo'l bilan shish hujayralarga aylanadi degan fikrga kelgan edi. Agrobakteriyalar o'simlik hujayrasiga *Tip* (Tumor inducing principle) omilni kiritishi natijasida 36 soatdan so'ng, oddiy hujayrani shish hujayraga aylantiradi deb taxmin qilingan edi. Keyinchalik *Tip*ning DNKdan iboratligi va agrobakteriyaning katta plazmidasi (Ti-plazmida) tarkibida bo'lishi aniqlandi. Bakteriya hujayrasidan Ti-plazmidani butunlay yoki ma'lum bir qismi ajratib olinishi uning onkogen faolligining yo'qolishiga sabab bo'ladi.

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

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

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

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

Shunday qilib, agrobakteriyalar tomonidan induksiyalanuvchi «moslashgan» va shish to'qimalarning birinchi umumiy xususiyati, o'zining gormonini sintez qilish xususiyati bilan bog'liq bo'lgan gormonga nisbatan ehtiyojsizligidir. Gall shishlaridagi bunday qobiliyat bakteriya hujayrasidagi begona genlarni o'simlik hujayralariga kiritilishi natijasida paydo bo'ladi. Kimyoviy (moslashgan) shish hujayralarida bu xususiyat gormonlar sintezi uchun javobgar genlarni depressiyasi bilan aloqador bo'lishi mumkin deb taxmin qilinadi, ammo u mutatsiya bilan bog'liq bo'lishi ham mumkin.

Ikkinchi umumiy xususiyat, birinchisidan kelib chiqib, agrobakteriyalar tomonidan indutsirlangan «moslashgan» va shish hujayralarning fertil o'simliklarni regeneratsiya qilish qobiliyatining yo'qotilishidir. Gall shishlarini ko'pchilik holatlarda sog'lom o'simlik regeneratsiya qila olmaydi. Ba'zida ular teratomlar (majruh, organsimon tuzilmalar) hosil qiladi va ular normal rivojlana olmaydi.

Odatda «moslashgan» to'qimalar ham normal o'simlikni regeneratsiya qila olmaydi, ularning hujayralari ikkilamchi differensiyallanish va morfogenezga bo'lgan qobiliyatlarini yo'qotadi. Ammo ba'zida, oziqa muhiti tarkibini o'zgartirish orqali, «moslashgan» chegarasini orqaga surish mumkin. Demak, uzoq vaqt passaj qilingan kulturalar to'qimalaridan regenerant o'simliklar olish imkoniyatlari ham yo'q emas.

Hujayralarning suspenziyali kulturasi

Suyuq oziqa muhitida o'sayotgan o'simliklar kulturasi hujayralarning suspenziyali kultura deb ataladi. Hujayralar suspenziyasini olish uchun, kallus avtomatik ravishda aralashtiriladigan so'ng suyuq oziqa muhitga o'tkaziladi. Pektinaza fermenti yordamida eksplant to'qimalaridan (barg, poya, ildiz va boshqalar) suspenziyali kulturasi olish mumkin. Bunda dastlab eksplant yuzasida kallus to'qimasi paydo bo'ladi, so'ng undan hujayralar va hujayra agregatlari ajraladi va natijada hujayralar suspenziyasi hosil bo'ladi.

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

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

Suspenziyalar po'k kallusdan 2,4-D tutuvchi oziqa muhitlarida yaxshi hosil bo'ladi. Oziqa muhit tarkibida kalsiy ionlarining ishtirok etmasligi suspenziyaning suspendirlanishini yengillashtiradi. Agar oziqa muhitga pektinaza fermenti qo'shilsa (bu ferment alohida hujayralarni bir-biriga yelimlab turuvchi pektat kalsiyni parchalaydi) va bu jarayon yanada yengillashadi.

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

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

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

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

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

Suspenziya kulturalari qimmatli ikkilamchi metabolitlar manbai bo'lib xizmat qiladi, shuningdek, ular tarkibida yangi ajoyib birikmalar, masalan, komptoteltsin, xarringtonin va boshqa antikanserogenlar, peptidlar, (proteazalar, fitoviruslar ingibitorlari) tutadi. Ikkilamchi metabolitlarning sintezi o'sishni statsionar fazasida maksimal darajaga yetadi.

Yakka hujayralar kulturasi

Genetik va fiziologik izlanishlar uchun, shuningdek, hujayralar seleksiyasida amaliy foydalanish uchun yakka hujayralarni kulturlash muhim ahamiyat kasb etadi. Yakka hujayralarning klonlarini olish, kallus hujayralarining genetik bir xil emasligi sabablarini aniqlashga yordam beradi, chunki bu holatda kuzatish ishlari geterogen eksplant-

lardan emas, balki yakka hujayralardan olingan to'qimalar ustida olib boriladi.

Ajratilgan protoplastlar kulturasidan ajratilgan yakka duragay hujayra, o'zining bo'linishi natijasida duragay hujayralardan iborat klonini hosil qiladi. Bu esa tadqiqotchilarning ajratilgan protoplastlar kulturasidan duragay (gibrid) hujayralarni aniqlab, ajratish ishlarini yengillashtiradi. Bundan tashqari, yakka protoplastlarda somatik gibridlash jarayonini kuzatish oson kechadi.

Yakka hujayralarni hujayralar suspenziyasidan, o'simlik to'qimalaridan, masalan, barg mezofilidan fermentlar yordamida maseratsiya qilinganidan so'ng, alohida protoplastlardan esa hujayra devori tiklangandan so'ng ajratiladi.

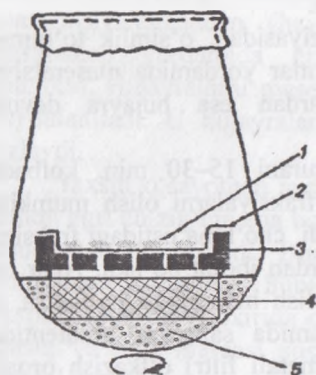
Shuningdek, ba'zida suspenzion kulturani 15–30 min. kolbada tindirib qo'yish orqali ham bir hujayrali fraksiyalarni olish mumkin. Bunda yirik agregatlar kolba tagiga cho'kadi, cho'kma ustidagi fraksiya faqat yakka hujayralar va mayda agregatlardan iborat bo'ladi. Agar bu usul orqali yakka hujayralar fraksiyasini olish imkoniyati bo'lmasa, u holda maseratsiyalovchi fermentlar yordamida saxaroza gradientida sentrifugalash yoki filtdan (neylon yoki metall filtr) o'tkazish orqali olinadi.

Yakka hujayralarni klonlash biroz qiyin. Chunki kallus to'qimalari o'sadigan sharoitda yakka hujayralar bo'linmaydi. Shuning uchun yakka hujayralarning majburiy bo'linishini amalga oshiruvchi maxsus usullar yaratilgan bo'lib, 1960-yilda Jonson tomonidan taklif etilgan «enaga» usuli shular jumlasidandir. Bu usulda yakka hujayralar bo'linishini stimullovchi «enaga» vazifasini alohida hujayralardan filtr qog'ozi yordamida ajratib qo'yilgan kallus to'qimalari bo'laklari bajaradi. «Enaga» ishtirokida alohida hujayralar bo'linadi va hujayraning individual koloniyasi – kloni hosil qiladi.

Yana boshqa usul – juda kam miqdordagi tarkibi boyitilgan oziqa muhitidan foydalanib, yakka hujayralarning hajmi 20 mkl bo'lgan Kuprak likobchasiidagi mikrotomchida kulturalashga asoslangan. Bu usul akademik Yu.Yu.Gleb tomonidan tatbiq qilingan. Mikrotomchilarda somatik duragaylash uchun hujayralarning hosil bo'lishi va bo'linishini kuzatish juda ham qulay.

Yakka hujayralar bo'linishini induksiylash uchun «oziantiruvchi qatlamlar»dan foydalanish mumkin («oziantiruvchi qatlamlar» yakka hujayra olingan o'simlik turiga mansub suspenzion kulturaning faol bo'linayotgan hujayralari) (3.4-rasm).

Intensiv bo‘linayotgan hujayralar kulturasidan olingan oziqa muhitidan qo‘shilsa, hujayralar bo‘linishi stimullanadi va oziqa muhiti konditsirlanadi. Konditsirlovchi omil hujayralar suspenziyasini o‘shishning eksponensial fazasida bakterial filtrdan o‘tkazish orqali olinadi. Umuman olganda, yuqorida berilgan barcha usullar bo‘linayotgan hujayralar ajratgan konditsirlovchi omildan foydalanishga asoslangan.



3.4- rasm. Ajratilgan protoplastlar va yakka hujayralarni o‘stirish uchun hujayralarning suspenziyali kulturasidan «enaga» sifatida foydalanish.
1-hujayralar koloniyasi; 2-filtr qog‘oz; 3-alyumin to‘r; 4-penopoliuretan; 5-hujayralar suspenziyasi. (Vu Dik Kuang, Z.B.Shamin 1985).

Konditsirlovchi omilning hujayralar bo‘linishiga ta’sir mexanizmi va kimyoviy tabiati hozircha aniqlanmagan. Ammo, bu omilning issiqqa chidamliligi, suvda eruvchanligi, past molekularli moddalar tutishi va fitogormonlar uning o‘rnini bosa olmasligi haqida aniq ma’lumotlar bor (A.N.Pavlova, R.G.Butenko 1969). Qo‘shimcha qilib yana shuni aytish mumkinki, bu modda pH 4-11 bo‘lganda barqaror, uning molekular og‘irligi 700 D va bu omilning brassinosteroidning sinergisti ekanligi aniqlangan (Bellmcampi, Morpurgo 1987). Shunday qilib, tadqiqotlarning ko‘rsatishicha, bu modda kimyoviy modda emas, hujayralar ajratayotgan omillar yig‘indisi ekan.

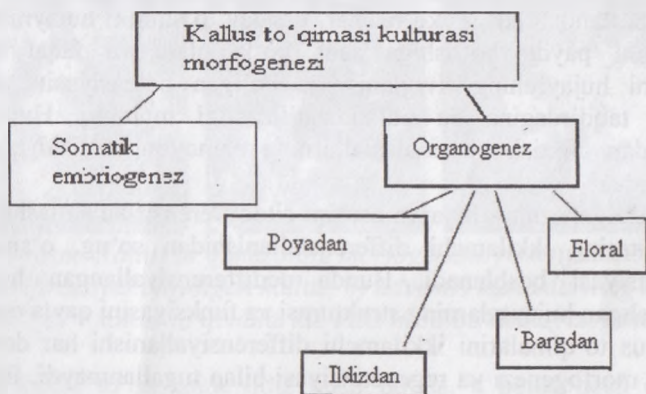
Kallus to‘qimalarida morfogenez

Hujayralarning dedifferensiyalanganidan keyingi taraqqiyoti rivojlanishining bir necha yo‘li mavjud. Birinchi yo‘li – bu yetuk o‘simlikning ikkilamchi regeneratsiyasi, organ to‘qima, hujayra darajasidagi differensiyalanish ehtimolidir. Ikkinchi yo‘li - hujayraning ikkilamchi differensiyalanish va regeneratsiyalanish qobiliyatining yo‘qolishi, turg‘un dedifferensiyalanishi, gormonsiz muhitda o‘shish

qobiliyatini paydo qilishi, ya'ni shish to'qimaga aylanishi. Bunday xususiyatlar ko'chirib o'tkazilgan qari hujayralarga xosdir. Uchinchi yo'li – kallus hujayralarini normal rivojlanish davri, uning qarishi va nobud bo'lishi bilan tugaydi. Bunday holatda hujayra ikkilamchi differensiyalashishga uchraydi va bo'linishdan to'xtaydi (o'sishni stasionar fazasi). Ammo, bunday differensiyalanish morfogenezga olib kelmaydi, balki unga qari kallus hujayralariga xos bo'lgan xususiyatlarni singdiradi.

Qishloq xo'jaligi biotexnologiyasi uchun to'qimalar kulturasida yakka hujayralardan yetuk o'simlik tiklash imkoniyati muhim ahamiyat kasb etadi. Bu ba'zida alohida organlarni hosil qilish orqali ham amalga oshiriladi.

Kallus to'qimalari kulturasidagi uyushmagan hujayralar massasidan tashkillangan strukturalarning hosil bo'lishiga *morfogenez* deb ataladi. Morfogenezni asosiy ikki turi mavjud (3.5-rasm).



3.5-rasm. Kallus to'qimasi kulturasidagi morfogenez turlari.

To'qimalar kulturasida u organogenez ko'rinishida (bir qutbli strukturalarning, ya'ni alohida organlarning hosil bo'lishi): ildiz, poya, gul va bargda somatik embriogenez ko'rinishi (somatik hujayralarda qo'sh qutbli murtaksimon strukturalarning hosil bo'lishi) da namoyon bo'lishi mumkin. Organogenezda dastlab alohida organlar regeneratsiyalanadi, keyin esa ulardan yetuk o'simlik paydo bo'ladi. Ildiz organogenezi bundan mustasno.

Somatik embriogenez natijasida orgogenezdan farqi o'laroq, ildiz va poya meristemasiga ega bo'lgan kurtaklar hosil bo'lib, undan keyinchalik yetuk o'simlik rivojlanadi.

Ajratilgan somatik hujayralar o'zining rivojlanish dasturini to'liq amalga oshirishi va yaxlit o'simlik organizmi paydo qilish xususiyatiga o'simlik hujayrasining totipotentligi deb ataladi. Har qanday o'simlik hujayrasi bir xil potensial imkoniyatlarga ega, chunki ular barcha genlar to'plamiga va hujayrani zigotaga xos bo'lgan rivojlanish dasturiga ega bo'ladi. Shuning uchun ham gul bargi hujayrasidan yoki poyaning o'zak parenximasidan yoki o'simlikning har qanday to'qimalari hujayrasidan olingan kallus to'qimalaridan yetuk o'simlik o'stirish mumkin. Ammo uning totipotentlik xususiyatlari har doim ham namoyon bo'lavermaydi, chunki turli tipdagi hujayralarning potensial imkoniyatlari turlicha bo'ladi. Ulardan ba'zi birlarida genlar kuchli repressiya holatida bo'ladi, shuning uchun totipotentligining namoyon bo'lishi chegaralanadi.

Xaberlandt fikriga ko'ra har qanday o'simlik hujayrasi yangi organizmni paydo bo'lishiga asos bo'la oladi va faqat o'simlik organizmi hujayraning rivojlanishiga bo'lgan potensiyasini to'xtatib qo'ygan taqdirdagina bu hol kuzatilmaligi mumkin. Hujayralarni o'simlikdan ajratish bu potensiallarning namoyon bo'lishiga yordam beradi.

Morfogenezning hujayra asosini sitodifferensirlanish tashkil etadi. Hujayralarning ikkilamchi differensiallanishidan so'ng, o'simlikning regeneratsiyasi boshlanadi. Bunda dedifferensiyallangan hujayralar ixtisoslashgan hujayralarning strukturasi va funksiyasini qayta egallaydi.

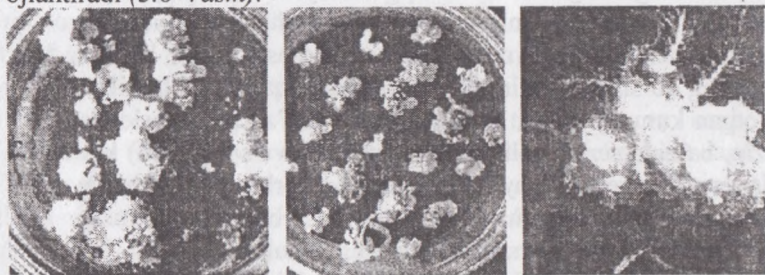
Kallus to'qimalarini ikkilamchi differensiyallanishi har doim ham o'simlik morfogenezi va regeneratsiyasi bilan tugallanmaydi. Ba'zida u faqat to'qimalar (gistodifferensirovka) hosil bo'lishiga olib keladi. Shu yo'l bilan kallus hujayralari floema yoki ksilema elementlariga aylanishi mumkin. Ikkilamchi differensiyallanishga misol qilib, dedifferensiyalangan va faol bo'linayotgan hujayralarning bo'linmaydigan, qari kallus hujayralariga aylanib qolishini keltirish mumkin (o'sishning statsionar fazasi).

Barcha turdagi ikkilamchi differensiyallanishlar orasida morfogenez katta qiziqish uyg'otadi, chunki u kallus hujayrasidan yetuk o'simlik regeneratsiyasini amalga oshirish imkonini beradi.

Differensiyallanish va morfogenez asosida turli genlarni birin-ketin qo'shilishi yotadi, ya'ni hujayralarning differensiallanishi genlarning differensial faolligi bilan aniqlanadi. Struktura genlari faolligining

o'zgarishi, ularning derepressiyasi, repressiyasi yoki amplifikatsiyasi (ko'payishi) bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Bu jarayonda fitogormonlar katta rol o'ynaydi.

Kallus to'qimalari kulturasiidagi morfogenezni boshqarish mumkin. Ajratilgan o'simlik hujayralarini morfogenezga bo'lgan qobiliyatiga ham ichki, ham tashqi omillar ta'sir ko'rsatadi. Ichki omillarga: boshlang'ich o'simlikning qaysi turga mansub ekanligi, eksplant olingan organ, eksplantning yoshi kiradi. Tashqi omillarga esa oziqa muhit tarkibi, harorat, yorug'lik kiradi. Oziqa muhit tarkibiga kiruvchi sitokinin va auksinlar o'zaro nisbatining o'zgarishi morfogenezining kuchli indukatori hisoblanadi. Auksinga nisbatan sitokininlar miqdorining yuqori bo'lishi poya organogenezini, aksincha bo'lganda esa (auksin miqdori sitokininidan ko'proq bo'lishi) ildiz organogenezini rivojlantiradi (3.6-rasm).



3.6-rasm. Kallus to'qimasining morfogenetik reaksiyalari:

- a) – proliferatsiyalanayotgan kallus; b) adventiv kurtaklarning hosil bo'lishi; d) – kallus to'qimalarida ildiz hosil bo'lishi (rizogenez).

Agar kallus to'qimasida ildiz hosil bo'lsa, u holda hech qachon o'simlik regeneratsiyalanmaydi, poya organogenezida esa avval nihol hosil bo'ladi, so'ng auksin miqdori oshirilgan oziqa muhitga ko'chirib o'tkazilganda, ildiz otadi va yetuk o'simlik rivojlanadi.

Shunday qilib, auksin va sitokinin tipidagi ekzogen gormonlar nisbatidagi farq, bir tomondan kulturadagi hujayraning dedifferensiyalanishiga va uyushmagan proliferatsiyaga (bo'linishga) o'tishini, boshqa tomondan u yoki bu turdagi morfogenezning ikkilamchi differensiyalanishning induksiyalanishi imkoniyatlarini belgilab berishi 1957-yilda F. Skuga va E. Miller tomonidan aniqlangan. Demak, auksin va sitokininlar nisbatining o'zgarishi, hujayralarning dedifferensiyalanib kallus to'qimalarining o'sishi yoki differensiyalanib kallus to'qimalarida morfogenezini chaqirishiga, ular nafaqat o'sish va rivojlanishni

regulatori, balki differenziatsiyalovchi regulatori bo'lib ham xizmat qiladi.

Agar organogenezni auksin va sitokininlar yordamida induksiyalash mumkin bo'lsa, unda somatik embriogenezning ekzogen fitogormonlarga umuman ehtiyoji bo'lmaydi. Odatda embriogen zonalar kallus hosil qilish uchun foydalaniladigan oziqa muhitlarda o'sayotgan kallus to'qimalarida ham paydo bo'ladi. Kallus to'qimalarida somatik (jinssiz) murtaqlarning rivojlanishini amalga oshirish uchun, oziqa muhit tarkibida dedifferenziyalovchi omillar (2,4-D yoki boshqa auksinlar) ishtirok etmasligi kerak. Rivojlanayotgan murtaqlarning ekzogen gormonlarga ehtiyoji yo'q, chunki u o'zini-o'zi gormon bilan ta'minlaydi.

Somatik embriogenezning gormonlarga nisbatan mustaqilligining sababi, hujayralarning alohida ajratilish jarayoni, uning totipotentligini, ya'ni morfogenezga o'tishini stimullaydi. Shunday qilib, oziqa muhitidagi gormonlar nisbatining o'zgarishi va hujayrani o'simlik organizmidan ajratilishi morfogenezning asosiy omili bo'ladi. Morfogenezning qo'shimcha stimullovchilariga oziqa muhiti tarkibida ishtirok etayotgan kumush nitrat, ammoniy nitrat, ba'zi aminokislotalar (prolin, tirozin, ba'zida serin) poliaminlar (putressin va spermidin) kiradi. Ba'zi hollarda morfogenez jarayonini mannit va sorbit ham stimullaydi. NO_3^- ionlari kallus to'qimalarida paydo bo'lgan strukturalarning rivojlanishiga ta'sir ko'rsatadi, ularning induksiyasini esa NH_4^+ ionlari stimullaydi. Gibberal kislota poya kurtaklarining rivojlanishini, absizov kislota esa somatik murtaq organlarining differenziatsiyalanishini stimullaydi.

Yuqorida bayon etilgan moddalardan ayrimlari, masalan, kumush nitrat ko'chirib o'tkazilgan qari kulturalarning regeneratsiyalanishga bo'lgan qobiliyatini uzaytiradi.

Morfogenezning u yoki bu stimullovchilari ta'sirida kallus hujayrasi determinatsiyalanishi kerak, ammo hujayralarning hammasi emas, faqatgina 400–1000ta hujayradan bitta hujayra regeneratsiyalanishga qodir bo'ladi. Shuning uchun hujayraning morfogenezga o'tishida faqat induktorning (stimulator) ishtiroki yetarli bo'lmay, hujayra ham javobga tayyor bo'lishi kerak. Hujayralarning morfogenez stimullovchilarini qabul qilish xususiyati hujayralarning *kompitentligi* (omilkorligi) deyiladi. Shuning uchun, tadqiqotchilar hujayralar kompitentligini tasodifiy va kamdan-kam hol degan xulosaga kelganlar. Kompetent bo'lmagan kallus hujayralarining taqdiri nima bo'ladi degan savol paydo bo'lishi mumkin: bu hujayralar kulturada bo'linishni davom ettiradi va

ayrimlari ko'nikma hosil qilib, gormonsiz o'sishga o'tadi, ayrimlari esa ekzogen gormonlardan foydalanishni davom ettiradi, lekin ular regeneratsiyalanish qobiliyatini umuman yo'qotadi. Bunday to'qimalar «moslashgan» va yangi kallus to'qimalari o'rtasidagi oraliq holatni egallaydi.

Kallus to'qimalarida morfogenez zaruriy sharoitlar ta'sirida, determinatsiyalangan hujayra atrofidagi kallus to'qimalariga nisbatan o'zgarishi, ya'ni hujayra devori qalinlashishidan boshlanadi. Bu holat 1972-yilda Danilin tomonidan sabzi to'qima kulturasi somatik embriogenezi kuzatilganda aniqlangan.

Tashabbuschi (initsial) hujayra somatik embriogenezda zigotani, organogenezda esa meristema markazini rivojlanishini boshlanishiga asos bo'ladi. Determinatsiyalanmagan kallus hujayralariga nisbatan tashabbuschi hujayralar yadrosining yirikligi va vakuolasi o'Ichamining kichikligi bilan farq qiladi. Odatda, yadrosi markazda joylashadi. Tashabbuschi hujayralar tarkibida ko'plab miqdorda zaxira moddalar; kraxmal, ba'zida lipidlar bo'ladi.

Tashabbuschi hujayralar, uning qayta tuzilishiga va navbatdagi bo'linishga o'tishiga tayyorlanishi uchun, bir qancha vaqt lagfazada qoladi, so'ng bu hujayralar mayda izodiametrik hujayralarning sferik massasini hosil qilib maydalab bo'linadi. Organogenez holatida bu hujayralar massasini *meristematik markaz*, somatik embriogenez holatida esa *globulyar proembrio* deb ataladi. Keyinchalik meristematik markazda poya, ildiz, barg yoki gulning boshlang'ich kurtaklari differensiyalanadi, shunga muvofiq poya, ildiz, barg yoki floral organogenez sodir bo'ladi.

Globulyar proembrioda esa bipolyar embrioidli strukturalar rivojlanadi. Kallus to'qimasidan somatik embrioidlarning shakllanishini globulyar, yuraksimon, torpedosimon, somatik murtak kabi ketma-ket amalga oshadigan bir necha bosqichlarga ajratish mumkin. Meristema markazi yoki proembrioning kallus to'qimasi chetida yoki ichida paydo bo'lishi mumkin. Odatda ularning qayerda paydo bo'lishi haqida aniq qonuniyat yo'q (3.7-*rasm*).

Lekin tamaki o'zak parenximasidan olingan kallus to'qimasining poya organogenezi bundan mustasno, uning meristema markazi doim kallus massasining pastki qismida joylashadi

Kallus hujayralarining morfogenezga o'tish davrida hujayra metabolizmida o'zgarishlar yuzaga keladi. Hujayrada antigen – oqsillarning paydo bo'lishi morfogenez bilan bog'liq.



3.7-rasm. Somatik murtaklarning shakllanishi.

Rossiya olimlarining aniqlashicha, tamaki kallus to'qimalarida morfogenez jarayonida ba'zi oqsil markerlar paydo bo'ladi yoki yo'qoladi.

Meristemalarda 2 ta antigen – oqsil topilgan bo'lib, bu oqsillar hujayraning marker (belgi) oqsili hisoblanadi. Shu bilan bir vaqtda kallus to'qimalari hujayralarning indutsirlangan determinatsiyasi unda poya meristema hujayralari antigen – markerlarini paydo bo'lishi bilan borishi ham aniqlangan.

Embriogen kulturadan ajratilgan glikoproteid oqsilni konditsirolovchi omil sifatida ko'rish mumkin. Kallus to'qimalari yangi oziqa muhitlarga muntazam ko'chirib o'tkazilganda, glikoproteid to'planib ulgurmaydi va embriogenez jarayoni yuzaga kelmaydi. Agar hujayralardan somatik embriogenezga o'tish jarayonida paydo bo'ladigan oqsillar ajratib olinsa va bu oqsillar (embriogen bo'lmagan) morfogenez qobiliyatini yo'qotgan kallus hujayralariga kiritilsa, ularning morfogenezi indutsirlanadi.

Morfogenezni yangi markerlarini izlab topish ishlari davom etmoqda. Meristema markazi hujayralari va embrioidli strukturalar paydo qiluvchi hujayralar kallus hujayralaridan RNK va DNK sintezining jadalligi bilan farq qiladi. Bu ulardagi oqsil almashinuvining o'ziga xosligi bilan bog'liq. Oqsil almashinuvidagi o'zgarish, dedifferensiyalangan hujayralarda o'tadigan jarayonlarga o'xshash bo'lsa-da, ammo natijasi turlichadir, R.P. Butenkoning fikricha, reaksiyaning o'ziga xosligi, makromolekulalarning sintezini tezlashishi bilan emas, balki umumiy fonda bo'ladigan regulator (boshqaruvchi) tipidagi oqsillar hosil qiluvchi o'ziga xos sintezlar bilan belgilanadi. Kallus to'qimalarining morfogenezga o'tishi, nafas olish metabolizmining o'zgarishi bilan birga boradi. Umuman olganda nafas olish

(CO₂ bo'yicha) kuchayadi, ammo uning xarakteri pentozafosfat yo'li intensifikatsiyasi yo'nalishida o'zgaradi. Nafas olish fermentlarining faolligi oshadi. Biokimyoviy o'zgarishlardan so'ng hujayraning qayta strukturaviy tashkillanishi (reorganizatsiyasi) boshlanadi. Hujayrani biokimyoviy differensiyalanishi har doim strukturaviy o'zgarishlardan oldin sodir bo'ladi.

Morfogenez yo'lga o'tgan hujayralarda ribosomalar va mitoxondriyalar soni ortadi, ularning ichki strukturasi o'zgaradi. Kallus hujayralarida morfogenez jarayoni uzoq davom etadi. Ularning to'qimalarida bir vaqtning o'zida to'liq shakllangan strukturalar, shuningdek, endigina shu yo'lga o'tgan hujayralar mavjud.

Meristema markazi hujayralari va globulyar proembrioni faolligi sun'iy ravishda oshirilganda ularni oziqa moddalarni o'ziga tortuvchi markazga aylantiradi. Bunday hollarda ko'pincha ularning atrofidagi kallus hujayralari yemiriladi va hosil bo'lgan embroidlar kallus hujayralari massasidan oson tushib ketadi.

Kallus hujayralari bir-biri bilan plazmodesmalar orqali bog'lanmagan. Murtaksimon strukturalar yoki meristema markazlari paydo bo'lganda hujayralar orasidagi bog'lar plazmodesmalar yordamida tiklanadi.

Kallus hujayralarida morfogenez jarayoni bilan boshlanib, o'simlik paydo bo'lishi bilan tugaydigan barcha o'zgarishlar maxsus genlar tomonidan boshqariladi. Hozirgi vaqtda bir guruh olimlar morfogenez xossasi poligenlar va bir necha xromosomalar tomonidan nazorat qilinadi deb hisoblasalar, boshqalari, bu xususiyat ikkita yadro genlari tomonidan boshqarilib turiladi degan fikrlarga ega. Ba'zi hollarda kallus to'qimalaridan u yoki bu genotipni regeneratsiya qilish mumkin emasligini kallus hujayralarining morfogenetik faolligi genetik tabiatga ega bo'lganligi sababli, morfogenetik genotiplarni chatishtirish hujayralarning *in vitro* faol regeneratsiyalanish qobiliyatini oshirishga olib kelishi mumkin.

Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus hujayralari kulturasida

O'simlikdan alohida ajratilgan hujayralarni *in vitro* sharoitida subkulturalash usullari mavjud bo'lib, bu usullar yordamida olingan kallus to'qimalaridan nazariy izlanishlar uchun, shuningdek, amaliy qo'llash uchun ham foydalaniladi. Ajratilgan hujayra, to'qima va organlarning ikkilamchi metabolizm moddalarni sintezlash xususiyati

muhim ahamiyat kasb etadi. Ulardan tibbiyot, o'simliklar himoyasi, veterinariya, oziqa-ovqat sanoati, parfyumeriya uchun zarur moddalar va ozuqa yem ishlab chiqarishda foydalanish mumkin. Bu yo'nalishdagi ishlarga tadqiqotchilarning qiziqishi tasodif emas, chunki fiziologik faol moddalar olish uchun hujayralar biotexnologiyasining ana'anaviy tarzda o'simliklar xom ashyosi olishga nisbatan: 1) hujayra biomassasini olish mavsumga, iqlim va tuproq sharoitlariga bog'liq emas; 2) zarur miqdorda kerakli moddalarni sintezlab beruvchi hujayralar suspenziyasini kulturlashning sharoitini optimallashtirish imkoniyatining mavjudligi; 3) jaryonni avtomatlashtirish mumkinligi kabi bir qancha ustunlik tomonlari bor.

In vitro kulturalanilayotgan kallus hujayralaring intakt o'simlik hujayralari kabi ikkilamchi metabolitlar sintez qilishi aniqlangan. Shuningdek, miqdor va sifat jihatidan ular o'xshash bo'lishi mumkin. Hozirgi kunda sanoatda keng qo'llanilayotgan ikkilamchi metabolitlarni sintezlovchi, turli oilalarga mansub o'simlik hujayralari kulturasi katta to'plamga yig'ilgan. Bulardan uzoq sharq jensheni – diosgeenin manbai sifatida, deltasimon diskoreya – steroid glikozidlar, ilonsimon ravolfiya – aymalinning antiaritmik alkaloidi, steviya – stevoid manbai bo'lib xizmat qiladi. Keyingi vaqtlarda tadqiqotchilarda rezavor *tis* hujayralarini bioreaktorlarda kulturalashni amalga oshirish katta qiziqish uyg'otmoqda. Aniqlanishicha, bu o'simlikning hujayralari taksonmoddalarini sintezlar ekan, bu modda saraton kasalligiga qarshi preparat tayyorlashda ishlatiladi.

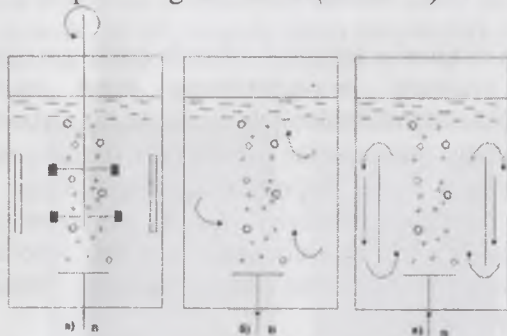
Hujayra biomassasining *in vitro* va *in vivo* sharoitlarda turlicha tezlikda o'sishi tajribalarda aniqlangan. Masalan, bir yilda jenshen ildizini o'sishi Taygada 1 g ni tashkil etsa, plantatsiyalarda esa 3 g. Ildiz hujayralari agarli (*in vitro*) oziqa muhitda o'stirilganda bir kunda 1 l oziqa muhitda 0,4 g quruq massasini olish mumkin. Jenshen hujayrasi suspenziyada o'stirilganda 50 litrli fermenterda bir sutkada bir litr oziqa muhitda 2,0 gr ga yetadi, bu plantatsiyada yetishtirilganiga nisbatan 1000 marta ko'p demakdir. Jenshenning qimmatbaholigini hisobga olib (plantatsiyada yetishtirilgan o'simlik ildizining bir kilogrammi 100–150 AQSH dollari, yovvoyi holda o'suvchilarining bahosi bir necha ming AQSH dollari turishi mumkin) uning hujayra kulturasi biomassasini olishni biotexnologik usuli e'tiborga molikdir. 3.3-jadvalda yuksak o'simliklar hujayra kulturalari sintezlaydigan ba'zi iqtisodiy muhim mahsulotlar nomi keltirilgan.

Yuksak o‘simliklar hujayralar kulturasidan olingan iqtisodiy muhim mahsulotlar (R.G. Butenko. 1999)

3.3 -jadval

An'anaviy o‘simlik mahsulotlari	Yangi faol moddalar	Biotransformatsiya mahsulotlari
Alkoloidlar	Fitoviruslar ingibitorlari	Metildigoksin Digoksin
Steroidlar Terpenlar va terenoidlar	Antikonserogenlar kompomisin	Metol
Betaninlar glikozidlar Polifenollar Polisaxaridlar Efir yoglari	Proteinaza ingibitorlari Qimmatli oqsillar	Neomentol Geraniol Nerol sitronellol
Tabiiy bo‘yoqlar (pigmentlar) ubixinon maza (ta‘m) beruvchi qo‘shimchalar, insektisidlar, latekslar		

Ikkilamchi sintez moddalarning kultural suspenziyalari bioreaktorlarda o‘stirish yo‘li bilan olinadi. Bioreaktorlar o‘zining konstruksiyasi bo‘yicha barbatajli bo‘ladi, ularni aralashtirish ko‘tarilayotgan havo pufaklari hisobiga havo aeratsiyasi orqali va mexanik aralash-tirgichni qo‘llash orqali amalga oshiriladi (3.8- rasm).



3.8-rasm. Suspenziya kulturalarini kulturalash uchun qo‘llaniladigan bioreaktorning ishlash sxemasi.

Tajribalardan aniqlanishiga ko‘ra ikkilamchi metabolitlar hujayra ichidagi organellalarda: plastidlar, xloroplastlar, mitoxondriyalar va

mikoplastlarda sintezlanadi, qo'shni hujayrlarga, yoki oziqa muhitga tashilmaydi, hujayraning bo'sh qismi va vakuolasi ko'pincha metabolitlarni yig'ishga xizmat qiladi (Knyazkov I. 1996).

Hujayralar *in vitro* sharoitida o'stirilganda ikkilamchi sintez moddalarning miqdor va sifat o'zgarishi oziqa muhit tarkibida bog'liq. Masalan, jenshen o'simligi kulturasida oziqa muhitdagi turli shakldagi azotlarning nisbati steroid saponinlarning mahsuldorligiga ta'sir ko'rsatishi aniqlandi. Demak, ammoniyli va nitratli azotning 1:3 nisbati biomassaning oshishiga, 2:3 nisbati mahsuldorligiga ta'sir ko'rsatmadi, ammo diosgenin to'planishining kamayishiga olib keldi. Oziqa muhitda saxaroza miqdorining oshirilishi (5%) hujayra massasini o'sishiga, saxaroza miqdori kamaytirilganda esa (1,5%) diosgeninning mahsuldorligining oshishiga ta'sir ko'rsatadi (Shatalova 1998).

Bioreaktorlarda hujayralar kulturasini o'stirish texnologiyasi keng hajmli jarayon hisoblanadi, ya'ni katta hajmdagi bioreaktorlarda hujayralarni o'stirish sharoiti ishlab chiqiladi. Hozirgi kunda bir necha kubometr hajmli bioreaktorlarda turli hujayralar kulturalarini muvaffaqiyatli masshtablashtirish bo'yicha yetarli miqdorda ko'p omillar yig'ilgan masalan, DJVERSA (hozirgi vaqtda FYTON) nemis firmasi mutaxassislari bir qator o'simliklar hujayralarini 75000 litrli hajmga ega bo'lgan bioreaktorlarda o'stirishga erishganlar.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirish

Hujayra va to'qimalar kulturasida erishilgan yutuqlar asosida o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi usuli — klonli mikroko'paytirish (*in vitro* sharoitida (probirkada) o'simliklarni jinssiz ko'payishi, dastlabki nusxasi bilan genetik bir xil) usuli yaratildi.

Usul asosida o'simlik hujayrasining faqat o'ziga xos bo'lgan totipotentlikni amalga oshirishdek ajoyib xususiyat yotadi, ya'ni ekzogen omillar ta'sirida o'simlik organizmi paydo bo'ladi. Bu usul, o'simliklarni ko'paytirishning an'anaviy usullariga nisbatan bir qator afzalliklarga ega:

- genetik bir xil ekish materiallari olish;
- meristema kulturasidan foydalanishi orqali o'simliklarni virusdan holi qilish;
- ko'paytirishning yuqori koeffitsiyenti (10^5 - 10^6 – o'tli, gulli o'simliklar uchun, 10^4 – 10^5 – butasimon daraxtlar uchun, ninabarglilar uchun 10^4);

Ammo mikroko'paytirishni qo'llash sohasi xilma-xil va kun sayin rivojlanib bormoqda. Bu birinchi navbatda daraxtlarni, ayniqsa, ninabarglilarni *in vitro* ko'paytirish va *in vitro* texnikasidan foydalanib dorivor o'simliklarning nodir va yo'qolib borayotgan turlarini saqlab qolish bilan bog'liq. Hozirgi vaqtda bu yo'nalish bo'yicha ko'zga ko'rinarli siljishni ko'rish mumkin. Daraxtsimon o'simliklar to'qimasi bo'yicha ishlar birinchi marta XX asrning 20-yillarida fransuz olimi Gotre tomonidan chop etilgan. Bunda u qayrag'och va qarag'ayning ba'zi turlari kambiy to'qimalarini *in vitro* kallus hosil qilishga bo'lgan qobiliyati haqida ma'lumotlar bergan. 1940-yillarda chop etilgan maqolalarda qayrag'ochning turli to'qimalarining adventiv kurtaklar hosil qilish xususiyati haqida yozilgan. Ammo mualliflar nihollarning keyingi o'sish va shakllanishini amalga oshira olmadilar. Faqatgina 1960-yillar o'rtalarida Mates tomonidan tog'terakning birinchi regenerant o'simligi olinib, tuproqqa ekishgacha yetkazilgan. Ninabarglilar to'qimalarini kulturalash ko'p vaqtgacha izlanishlar uchun obyekt bo'lib xizmat qildi. Bu o'simlikdan ajratilgan yuvenil to'qimalarni, undan ham qiyinrog'i katta yoshdagi o'simliklar to'qimalarini kulturalashning o'ziga xos qiyinchiligi bilan bog'liqdir.

Ma'lumki, daraxtsimon o'simliklar, ayniqsa, ninabarglilar sekin o'sadi, ildiz otishi qiyin. Ular katta miqdorda ikkilamchi metabolit birikmalar (fenollar, terpenlar va boshqa moddalar) tutadi, bu ajratilgan to'qimalarda turli fenolazalar ta'sirida oksidlanadi. O'z navbatida fenoldan oksidlangan mahsulotlar odatda hujayraning bo'linishi va o'sishini to'xtatishi orqali birlamchi eksplantlarning nobud bo'lishiga, yoki daraxtsimon o'simliklarning advenetiv kurtaklar paydo qilish xususiyatining kamayishi bilan xarakterlanadi. Ammo, barcha qiyinchiliklarga qaramay, olimlar ilmiy tadqiqotlar manbai sifatida ko'pincha daraxtsimon o'simliklarni to'qima va organlaridan foydalanishadi. Hozirgi vaqtda 40 ta oilaga kiruvchi 200 ga yaqin daraxt turlari (kashtan, eman, qayin, zarang, terak va tog'terak duragaylari, qarag'ay, qoraqarag'ay) *in vitro* sharoitida ko'paytirilmoqda.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari

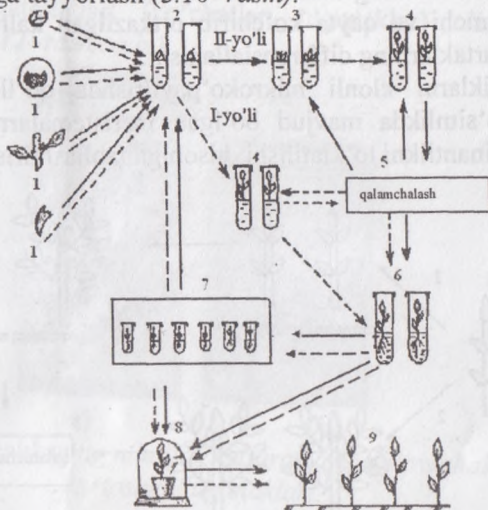
Klonli mikroko'paytirish jarayonini 4 ta bosqichga bo'lish mumkin.

1) donor – o'simlik tanlash, eksplantlarni o'simlikdan alohida ajratish va steril kulturada yaxshi o'sadiganini ajratib olish;

2) maksimal miqdorda meriklonlar olishga erishilgandan so'ng xususiy mikroko'paytirish;

3) ko'paytirilgan nihollarning ildiz otishi va tuproq sharoitiga ko'nikishini amalga oshirish, zarur holatda regenerant o'simlikni past haroratda ($2-10^{\circ}\text{C}$) saqlash;

4) o'simliklarni issiqxona sharoitida o'stirish va ularni sotishga yoki dalaga ekishga tayyorlash (3.10- rasm).



3.10. rasm. Mavjud meristemalarni rivojlanishini faollashtirish (I yo'li), eksplantda adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini induksiyalash (II yo'li) yordamida o'simliklarni klonli mikroko'paytirish usullari sxemasi:

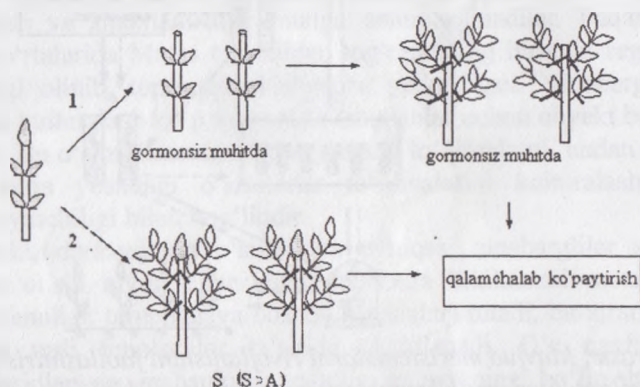
1-boshlang'ich eksplantni tanlash; 2-steril kulturalar olish; 3-birlamchi eksplantida adventiv kurtaklarning hosil bo'lishi; 4-kurtaklarning rivojlanib mikronihollar paydo qilishi; 5-mikronihollarni ko'paytirish (qalamchalash); 6-mikronihollarning ildiz otishi; 7-past haroratda regenerant o'simliklarni yashashini ta'minlash; 8-o'simliklarni issiqxona sharoitiga o'tqazish; 9-regenerant o'simliklarni dalaga ekish.

Klonli mikroko'paytirishning bir necha usullari mavjud. Turli mualliflar eksplantlarni kulturalash sharoitlari morfogenez jarayoniga ta'siri bo'yicha individual izlanishlar o'tkazib, o'stirish sharoitining o'zgarishiga javoban turli morfogenetik reaksiyalarni kuzatishlarining natijasi klonli mikroko'paytirish usullarining yangi klassifikatsiyasi paydo bo'lishiga olib keldi. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish

yuzasidan adabiyotlarda berilgan ma'lumotlardan kelib chiqib, bu jarayonni quyidagi usullar yordamida amalga oshirish mumkin:

- o'simlikda mavjud bo'lgan meristemani faollashtirish (poya apeksi, bo'shliqdagi va tinim davridagi kurtaklar);
- bevosita eksplant to'qimalarida adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini induksiyalash;
- somatik embriogenezni induksiyalash;
- birlamchi va qayta ko'chirib o'tkazilgan kallus to'qimalaridagi adventiv kurtaklarning differensiallanishi.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishda qo'llaniladigan asosiy usul, bu o'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni rivojlanishining apikal dominantlikni to'xtatilishi hisobiga faollashtirishdir (3.11- rasm).



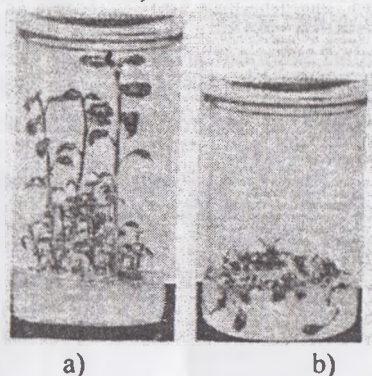
3.11- rasm. Mavjud meristemalar rivojlanishini faollashtirish usuli orqali o'simliklarni ko'paytirish sxemasi:

1-nihollarning uchki meristemasini olib tashlash. 2-ozuqa muhitlarga sitokininlarni qo'shish. (S-sitokininlar, A-uksinlar).

Bunga ikki xil yo'l bilan erishish mumkin: a) poyani uchki meristemasi olib tashlanadi va novda in vitro gormonsiz muhitda mikroqalamchalanadi; b) ozuqa muhitiga sitokinin tipi ta'siriga ega moddalar qo'shish orqali ko'plab ichki bo'shliqdan chiqqan novdalar-ning rivojlanishi indutsirlanadi.

Sitokinin sifatida 6-benzilaminopurin (BAP) yoki 6-furfurilaminopurin (kinetik), shuningdek, 2-izopentiladenin (2ip) va zeatindan foydalaniladi. Shunday usulda olingan nihollar birlamchi eksplantndan ajratiladi va ichki meristemalar proliferatsiyasini stimullovchi va nihollarni paydo bo'lishini oshiruvchi yangi tayyorlangan ozuqa

muhitida yana kulturlanadi. Hozirgi vaqtda bu usul qishloq xo'jalik ekinlari va texnik ekinlar (qand lavlagi, tamaki, yer noki, chirmoviq), shuningdek, sabzavot ekinlari (pomidor, kartoshka, bodring, qalampir, qovoq va boshqalar), mevali daraxtlar, butalar (olma, olxo'ri, olcha, nok, uzum, qorag'at, krijoynik va boshqalar), manzarali o'simliklar (terak, tol, olxa, qayin, chetan, sekvoyya, tuya, mojjevelnik va boshqalarning virussiz ekish materiallari (ko'chatlar, tugunaklar) olishda keng qo'llanilmoqda (3.12 -rasm. a.b.).



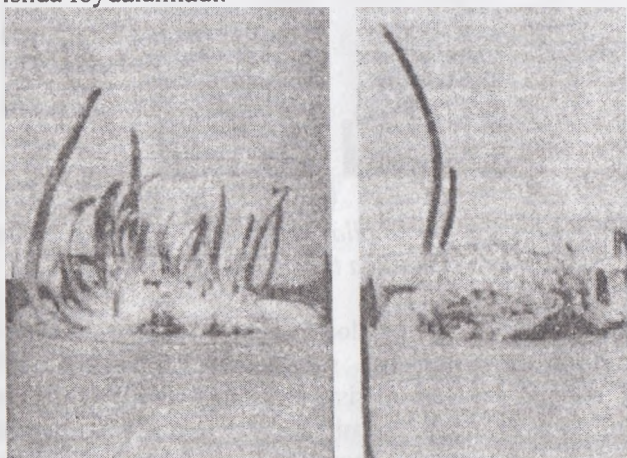
3.12-rasm. Kartoshkaning nihollar kulturasi(a), in vitro shakllangan kartoshka tuganaklari.

Kartoshka kabi ba'zi qishloq xo'jalik ekinlari uchun klonli mikroo'paytirish texnologiyasi sanoat asosida yo'lga qo'yilgan. O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarning rivojlanishini faollashtirish usulini qo'llash orqali kartoshkani bitta meristemasidan bir yilda 10^5 ta o'simlik olish mumkin, shuningdek, bu texnologiya yordamida probirkalarda qimmatli, virussiz urug'lik materiallar – mikrotuganaklar yetishtirish ko'zda tutilmoqda.

Ikkinchi usul – eksplant to'qimalarida tasodifiy (adventiv) kurtaklar induksiyasini amalga oshirishga qaratilgan (3.13-rasm).

Bu usul alohida ajratilgan o'simlik qismlarini qulay oziqa muhit sharoitida kulturalab, unda yetishmayotgan a'zolarini tiklash orqali yetuk o'simlik regeneratsiya qilishga asoslangan. Tasodifiy kurtaklarni o'simlikning virusdan holi qilingan har qanday organ va to'qimalarida (alohida ajratilgan murtak, barg, poya, urug' kurtak, piyoz osti qismida qobig'i, ildiz segmentlarida va gul barglarida) hosil qilish mumkin. Bu uchun sitokinin yoki uning aaksin bilan 10:1 yoki 100:1 nisbatdagi aralashmasini tutuvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Bunday hollarda

auksin sifatida ko'pincha β -indolil-3 sirka kislota (ISK) yoki α -naftil sirka kislota (NSK)dan foydalaniladi. Bu usul yuksak o'simliklarni klonli mikroko'paytirish bo'yicha keng tarqalgan usul bo'lib, ko'pgina piyozidan ko'payadigan o'simliklar (narsis, liliya, giatsint, gladiolus, lola) piyoz qobig'i, bazal qismi segmentlaridan, barg eksplantlaridan; Brassica turkumi vakillari (gulkaram, bosh karam, bryussel bargli karami, parel, brokkoli karamlarini) gipokotil segmentlaridan, urug'-murtak, barglardan; piyoz, sarimsoq piyozni piyoz tubi to'qimasi uchki meristemasidan; pomidorni apikal va uchki meristemalardan, sikor salatini barg plastinkalari segmentlaridan; petuniya + ildiz segmentlaridan, gloksiniya, binafsha gullarini barg plastinkasi segmentlaridan alohida ajratilgan, yetilgan va yetilmagan murtaklardan klonli mikroko'paytirishda foydalaniladi.



3.13-rasm. Eksplant to'qimalarida tasofidiy (adventiv) kurtaklar induksiyasini amalga oshirish. Narcissus o'simligi bargi asosidagi eksplantlarda nihollarning hosil bo'lishi (o'ngda); kallus to'qimasidagi kurtak va nihollar.

Klonli mikroko'paytirish texnologiyasi qulupnay o'simligi uchun juda yaxshi yo'lga qo'yilgan.

Yosh o'simlikdan virusdan holi, uchki meristema ajratiladi va moslashtirilgan, 0,1 –0,5 mg/l BAP tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitida o'stiriladi, kulturalashning 3–4 haftasidan so'ng, tasofidiy kurtaklar shakllanayotgan meristema o'simtalari rivojlanadi. Ular tez o'sib yangi kurtaklar paydo qiladi. 6–8 hafta davomida kurtaklar

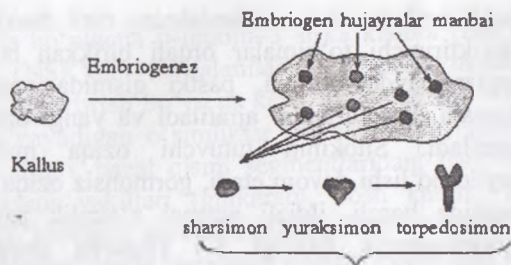
konglomerati hosil bo'ladi, ular rivojlanishning turli davrlarida bo'lib, bir-biri bilan biriktiruvchi to'qimalar orqali birikkan bo'ladi. Kalta novdalarda barglar paydo bo'ladi, pastki qismida yangi adventiv kurtaklar shakllanadi. Bu kurtaklar ajratiladi va yangi oziqa muhitiga ko'chirib o'tqaziladi. Sitokinin tutuvchi oziqa muhittida yon novdalarning paydo bo'lishi davom etadi, gormonsiz oziqa muhitda esa 4–6 hafta davomida bargli, ildizli normal o'simlik paydo bo'ladi. Eksplantning morfogenetik faolligi 3–4 yilgacha saqlanib qoladi. Shunday qilib, bir boshlang'ich o'simlikdan yiliga bir necha million o'simlik olish mumkin.

Albatta, tadqiqotchilarda adventiv kurtaklar paydo bo'lishida hujayraning qaysi qatlami meristemalar differensiatsiyasida ishtirok etishi haqidagi savol paydo bo'ladi. Bu savol bo'yicha hozirgacha aniq bir javob yo'q. Tamaki to'qimalari bo'yicha olib borilgan ishlarida, Tran Tan Van aynan epidermisning faol to'qima ekanligini va oziqa muhitidagi gormon balansiga bog'liq holda kurtak, kallus yoki ildiz hosil qilishga qodir ekanligini ko'rsatdi. Sitologik izlanishlarni ko'rsatishicha, lola va narsis piyoz bazal qismi segmentlarida adventiv novdalar piyoz tubida joylashgan meristema hujayralarining ustki qatlamlarida shakllanar ekan, gloksiniya o'simligida adventiv kurtaklarni shakllanish jarayoni, barg plastinkalarining subepidermal hujayra qavatlarida sodir bo'ladi.

Uchinchi usul, somatik hujayralarda murtaksimon strukturalarni differensiatsiyasiga asoslanadi va *somatik embriogenez* deb ataladi. Murtaklarni *in vitro* va *in vivo* hosil bo'lishidagi asosiy farqi shundan iboratki, somatik murtaklar murtak xaltasidan tashqarida aseksual ravishda rivojlanadi va o'zining tashqi ko'rinishidan bir vaqtning o'zida ham poyaning ham ildizning apikal meristemasi rivojlanayotgan qo'sh qutbli strukturalar ko'rinishini eslatadi.

Stevard fikriga asosan, somatik murtaklar rivojlanishning uchta bosqichi: sharsimon, yuraksimon, torpedasimon va jarayon so'ngigida o'simtalarning rivojlanish tendensiyasiga ega bo'ladi (3.14-rasm)

Bunday holat sabzi hujayra to'qimalarida o'tgan asrning 50-yillarida aniqlangan bo'lib, hozirgi kunda bu usul ko'pgina *Orchidaceae* va *Rutaceae* oilasiga mansub o'simliklar, ba'zi boshqoqli o'simliklar (bug'doy, arpa), beda, rediska, uzum, shuningdek, turli daraxtlarni (tog'terak, evkalipt, eman, qora qarag'ay) ko'paytirishda foydalaniladi.



3.14-rasm. Embrioidlarning rivojlanish bosqichlari.

To'qimalar kulturasida embrioidlarni shakllanishi ikkita bosqichda boradi. Birinchi bosqichda eksplant hujayralari oziqa muhit tarkibiga auksin, 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D) qo'shilishi hisobiga differensiyallanadi va murakkab aylanadi. Keyingi bosqichda shakllangan hujayralardan embrioidlar rivojlanishini amalga oshirish lozim, bunga oziqa muhiti tarkibidagi auksinlar miqdorini kamaytirish yoki umuman yo'qotish orqali erishiladi. Somatik embriogenez rivojlanishining birlamchi eksplant to'qimalarida, shuningdek, kallus kulturalarida kuzatish mumkin. Yuqorida bayon qilingan usul klonli mikro-ko'paytirishda kam qo'llaniladi, chunki bu usul bilan olingan ekish materiallari donor-o'simlikka nisbatan genetik barqaror emas. Ma'lumki, kallus hujayrasi (suspensiyasi) suyuq oziqa muhitda kulturalanganda somatik embriogenez hosil bo'ladi va ancha qiyin operatsiya bo'lib, hujayralarga xos bo'lgan totipotentlikni har doim ham (realizatsiya) yuzaga chiqarib bo'lmaydi. Ammo, ko'paytirishning bu usuli o'zining afzallik tomonlariga ham ega bo'lib, klonli mikro-ko'paytirishning so'nggi, uchinchi bosqichini, ildiz chiqarishning maxsus sharoitini tanlash, probirka o'simliklari adaptatsiyasi (moslashishi) kabilarni qisqartirish imkonini beradi, chunki somatik embrioidlar to'liq shakllangan o'simlikni o'zida namoyon qiladi. Ularni kapsulalashda maxsus texnikadan foydanilsa, balki bu embrioidlardan ham sun'iy urug'lar olish mumkin bo'lar edi.

Klonli mikro-ko'paytirishning to'rtinchi usuli – birlamchi va ko'chirib o'tkazilgan kallus to'qimalarida adventiv (tasodifiy kurtaklarni) differensiyalanishidir. Bu usul *in vitro* ekish materiallari olishda kam qo'llaniladi. Bunga sabab, kallus to'qimalarini yangi oziqa muhitlarga muntazam ravishda ko'chirib o'tkazilganda, mikro-ko'paytirish uchun noo'rin holatlar kuzatiladi bular: kulturalanayotgan hujayralar tomonidan ploidligini o'zgarishi, xromosomalarni struktu-

raviy qayta tuzilishi va genlar mutatsiyasini to'planishi kulturalanayotgan hujayralarning morfogenetik potentsiallarining yo'qotilishidir. O'simliklarni genetik o'zgarishlari bilan bir qatorda: pakanalik, barglarining noto'g'ri tomirlanishi va ularni poyada joylashishi, bo'g'in oralig'ini kalta va qalinlashishi, kasalliklar va zararkunandalarga chidamliligini kamayishi kabi morfologik o'zgarishlar ham kuzatiladi. Shuningdek, kallus hujayralarini uzoq vaqt davomida kulturalash bu o'zgarishlarni yanada chuqurlashtiradi, shuning uchun klonli mikroko'paytirishda uyushmagan o'sish davrini iloji boricha qisqartirish lozim (3.15-rasm).

Ammo, ba'zi kamchiliklarga qaramay, yuqoridagi usul o'zining ijobiy tomonlariga va afzalliklariga ham ega. Birinchidan, bu usul samarali va iqtisodiy foydalidir, chunki ko'paytirish jarayonida har bir kallus hujayrasidan kulturalashning qulay sharoitida o'simlik paydo qiluvchi tasodifiy kurtaklar shakllanishi mumkin. Ikkinchidan, u ba'zi hollarda o'simliklarni to'qimalar kulturalashidan ko'payishining yagona usulidir.



3.15- rasm. Sabzi ildizmevasidan olingan kallus to'qimasidan butun o'simlik regeneratsiyasi.

Uchinchidan, bu usul orqali olingan o'simliklar genetik va morfofiziologik farq qilishi tufayli seleksionerlarda qiziqishi uyg'otadi. Bu seleksionerlarga xo'jalik ahamiyati muhim bo'lgan xususiyatli o'simliklarni tanlash va ularni dala sharoitlarida o'sishini baholash imkoniyatini beradi. Bu usul kallus to'qimalarining genetik barqaror ekanligi ko'rsatilgan o'simliklar uchun qo'llaniladi. Bunday o'simliklarga amarillis, pomidor, sparja va ba'zi ko'p yillik o'simliklar kiradi. Kallus to'qimasi orqali, qand lavlagi, Brassica turkumining ba'zi vakillari, makkajo'xori, sholi, bug'doy, kungaboqar, zig'ir o'simliklari

ko'paytirilgan, bodring, sabzi, kartoshka va pomidorning kallus to'qimalaridan o'simliklarni regeneratsiyalash usullari ishlab chiqilgan.

Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish. Klonli mikroko'paytirishning afzalligi genetik bir xil virussiz ekish materiallari olish mumkinligidir. Bunga apeks to'qimalari va poyaga xos kurtaklar meristemasidan foydalanib erishish mumkin. Meristema o'sish konusi va bir yoki ikki barg asosidan (primordiy) iborat bo'lib, virusdan holi bo'ladi (3.16-rasm).

Virus bilan zararlangan o'simliklarning meristema to'qimalari virusdan holi ekanligi birinchi bo'lib Chung (1938) va P.R.Uayt (1943) tomonidan aniqlangan, XX asrning 50-yillarida georginiya o'simligini o'sish nuqtasidan virussiz o'simlik olish bo'yicha birinchi muvaffaqiyatli tajriba amalga oshirildi.



3.16-rasm. Uzunlasiga kesilgan poyaning uchki o'sish nuqtasi – apikal meristemasi.

Bu usul mualliflari J.Morel va S.Martinlarning taxminicha, kasallangan o'simliklarda viruslar tarqalishi bo'yicha tez o'sayotgan yosh organlardan orqada qoladi, ayniqsa, differensiyallanmagan yosh to'qimalarda virusning miqdori yo'q darajada bo'ladi. Bu usul asosiga qo'yilgan nazariy konsepsiya sababi keyingi vaqtlarda aniqlana boshlandi. Amaliyotda qo'llaniladigan holatida strukturaviy asos bo'lib, o'simlik o'sish nuqtasi tuzilishining spetsifikasi xizmat qiladi; uning apikal meristema deb ataluvchi distal qismi turli o'simliklarda turlicha o'lchamga ega bo'lib, o'rtacha 200 mkm diametrga va 20–150 mkm uzunlikka ega bo'ladi. Differensiyallanayotgan meristemani hujayralarning pastroq qatlamida o'tkazuvchi sistema bog'lamlarini paydo qiluvchi prokambiy hosil qiladi. Ma'lumki, klonli mikroko'paytirishdagi muvaffaqiyat meristema eksplantini o'lchamiga bog'liq, barg asoslari va poya to'qimalari qancha katta bo'lsa, morfogenez jarayoni shuncha yengil kechadi va normal probirka o'simligi hosil bo'lishi bilan tugaydi. Shu bilan birgalikda, virus zarralaridan holi zona turli viruslar uchun turlichadir. Bu o'simlikning turlari va navlariga bog'liq. Donli ekinlar

koleoptilida, masalan, o'tkazuvchi naylardan holi uchki qismining o'lchami 250 mkm ga yetishi mumkin. Apikal meristemani bunday o'ziga xos tuzilishi o'tkazuvchi tizimlar orqali viruslarning tez tashilishini istisno qiladi, lekin plazmodezma orqali biriktiruvchi meristema hujayralariga sekin tarqalish imkoniyatiga yo'l qo'yadi. Kartoshkani 200 mkm o'lchamdagi apikal meristemasini oziqa muhitda kulturalash va keyinchalik regenerant o'simlik olishda aniqlanishicha, olingan o'simliklardan faqat 10 % gina X- virusdan, ammo 70 % U-virusidan holi ekan.

Elektron mikroskop orqali, ba'zi viruslar bilan o'simliklar meristemalarining ham zararlanganligi aniqlangan bo'lib, bu zararlangan o'simlikning meristemalariga ham virusning yetib borganligidan dalolat beradi.

Shunday qilib, apikal meristemalarni virus bilan zararlangan o'simliklarni sog'lomlashtirish usulida qo'llash ham kam samara berar ekan. *CarMV* va *CarVMV* viruslari bilan zararlangan chinnigul, simbidium o'simliklari apikal meristemalaridan *in vitro* sharoitida zararlangan (infeksiyaga uchragan) meriklonlar olingani tajribalarda ko'rsatilgan.

Umuman olganda, zararlangan o'simlikdan virussiz apikal meristemalar olish uchun sog'lom to'qimaga virusning tushish xavfini nolgacha pasaytirish lozim. Buning uchun boshlang'ich o'simlik oldindan termoterapiya yoki xemoterapiya usullari yordamida virusdan tozalanishi kerak.

Termoterapiya usuli *in vivo* sharoitida, shuningdek, *in vitro* sharoitida ham qo'llanilib, quruq, issiq havodan foydalanishga asoslangan. Termoterapiya jarayoni orqali o'simliklarni virusdan holi qilish mexanizmi haqida turli nazariyalar mavjud. Ulardan biri yuqori harorat virus zarrachalariga to'g'ridan-to'g'ri ularning ribonuklein kislotalari va oqsil qobig'i orqali ta'sir etib, ularning fizik parchalanishiga va virus zarrachalarining zararlash qobiliyatining yo'qolishiga olib keladi degan fikr bersa, ikkinchi nazariya esa yuqori harorat viruslarga o'simliklarni metabolizmi orqali ta'sir etadi, degan taxminni ilgari suradi. Yuqori harorat ta'sirida virus zarrachalarini sintezi va deqratsiyasi orasidagi muvozanat buziladi. Agar sintez amalga ohsa, unda zararlangan to'qimalarda viruslar konsentratsiyasi oshadi.

Termoterapiya qilinayotgan o'simliklar maxsus termokameralarga joylashtiriladi va birinchi haftada harorat 25°C dan 37°C gacha har kuni 2°C dan oshirib boriladi. Termoterapiyada butun jarayon davomida

optimal rejimni yaratish va uni ushlab turish ham muhim bo'lib, harorat 37°C, kunduzgi lampa yorug'ligi 5 ming lk, kulturaga qarab, fotodavr bir sutkada 14-16 soat, termokameraning havo namligi 90 % ni tashkil etishi lozim.

Termoterapiyani davomiyligi virusning tarkibiga va ularning yuqori haroratga chidamlilik darajasiga bog'liq. Masalan, agar chinnigulga 10–12 haftalik issiqlik ta'siri yetarli bo'lsa, xrizantemani B-virusidan holi qilish uchun esa bu muddat 12 haftadan ko'proqni tashkil etadi. Ammo, piyozli o'simliklar, simbidium, atirgullar va boshqa shu kabi o'simliklarga uzoq vaqt *in vivo* termoterapiya qilish salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bunday o'simliklar uchun termoterapiyani *in vitro* regenerant o'simliklarida o'tkazish maqsadga muvofiqdir.

Termoterapiyani o'simliklarni virusdan tozalashdagi ijobiy ta'siri bilan birga yuqori haroratning *in vitro* sharoitida ba'zi o'simliklarni o'sish nuqtasiga va morfogenez jarayoniga ham yaxshi ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Termoterapiyani qo'llash orqali ko'paytirish koeffitsiyentini 50–60% ga oshirish, probirka regenerant o'simliklarini tuproq sharoitiga moslashishini yaxshilash va shuningdek, boshlang'ich virussiz o'simliklar sonini ko'paytirish imkonini beradi.

Termoterapiyani meristema kulturasi bilan birgalikda qo'llash orqali nina barglilarning regenerant o'simliklarini 70% ini xloroz virusidan, qulupnay o'simligini 90% i, qizil va qora qorag'at (smorodina) 20% , maymunjonning 50% i, kartoshka o'simliklarining 80% sog'lomlashtirilgan, virusdan xoli o'simliklarini olish mumkin.

O'simliklarda virusning mavjudligini immunoferment tashxisi, elektron mikroskop va o'tchil indikator – o'simliklar yordamida aniqlash mumkin.

Virussiz, o'simliklar olishning boshqa usuli – **xemoterapiya** usuli bo'lib, bu usul apikal meristemalar kulturalanayotgan oziqa muhitga guanozinning analogi – 1β-D-ribofuranozil-1,2,4-triazol-3- karboksimidni (virozol deb ham ataladi) 20-50 mg/l konsentratsiyada qo'shishdan iborat. Bu virusga qarshi preparat bo'lib keng ta'sir spektriga ega. Virozolni kultural muhitda qo'llanilganda virussiz meristema o'simliklarini olish foizi virus odatiy bo'lib qolgan o'simliklar uchun 80–100%, nazoratda esa 0–41% ga oshadi. Xemoterapiya usuli olxo'ri, gilos, maymunjon, turli gullar va boshqa o'simliklarga qo'llanilganda yaxshi natijalar olingan. Virussiz ekish materiallari olishning xemo va termoterapiya usullari iqtisodiy kam foyda beradi. Shuning uchun

hozirgi vaqtda transgenoz usullari yordamida o'simliklarni virusga genetik chidamli shakllari yaratilmoqda.

Klonli mikroko'paytirishning turli bosqichidagi o'simliklar to'qimalarini kulturalash texnikasi. To'qimalarni kulturalashdagi to'rtta bosqichning har birida, muayyan tarkibdagi oziqa muhitidan foydalanish zarur bo'ladi.

I bosqich. Bu bosqichda yaxshi o'sadigan steril kultura olishga erishish lozim. Buning uchun o'simlik to'qimalari simob tutuvchi eritmalarda (sulema yoki diatsid, 0,1–0,2% ligi) yoki xlor tutuvchi (10–15% li xloramin, 5–7% li natriy yoki kalsiy gipoxloridi) eritmalarida nozik, tez zararlanadigan to'qimalar 5–10 daqiqa, qalin, zich po'stli to'qimalar 10–12 daqiqa davomida sterillanadi. Shundan so'ng o'simlik to'qimalari sterill distillangan suvda yaxshilab yuviladi va oldindan tayyorlab qo'yilgan oziqa muhiti yuzasiga joylashtiriladi. Agar eksplantning sterill boshlang'ich kulturasi olish qiyin bo'lsa, u holda oziqa muhiti tarkibiga antibiotiklar (tetratsiklin, benzilpenitsillin va boshqalar) 100–200 mg/l miqdorda qo'shiladi. Bu birinchi navbatda daraxtsimon o'simliklarga taalluqli bo'lib, ularda ichki infeksiyani to'planish tendensiyasini kuzatish mumkin.

I bosqichda, Murasiga va Skuga retsepti bo'yicha mineral tuzlar, shuningdek, turli biologik aktiv moddalar va o'sish stimulatorlarni (auksinlar, sitokininlar) obyektga qarab turli nisbatda tutuvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Birlamchi eksplantning oziqa muhitga toksin moddalar (fenollar, terpenlar va boshqalar) ajratishi hisobiga, ularning o'sishi to'xtaganligi kuzatilgan hollarda, o'sishni yaxshilash maqsadida antioksidantlardan foydalaniladi. Buni ikki yo'l bilan: eksplantni antioksidantning kuchsiz eritmasida 4–24 soat davomida yuvish yoki antioksidantni to'g'ridan-to'g'ri oziqa muhitiga qo'shish orqali amalga oshirish mumkin. Antioksidantlar sifatida askorbin kislota (1–60 mg/l), glyutation (4–5 mg/l), ditiotrietol (1–3 mg/l), dietilditiokarbamat (2–5mg/l), polivinilpirrolidon (5000–10000 mg/l) dan foydalaniladi. Ba'zi hollarda oziqa muhitga 0,5–1 % miqdorda adsorbent-aktivlangan ko'mir qo'shish maqsadga muvofiqdir. Birinchi bosqichning davomiy-ligi bir oydan ikki oygacha, natijasida meristema to'qimalarining o'sishi va birlamchi nihollarning shakllanishini kuzatish mumkin.

II bosqich – xususiy mikroko'paytirish. Bu bosqichda meriklonlarning maksimal miqdoriga erishish lozim, lekin shuni unutmaslik kerakki, subkulturalash oshishi bilan g'ayritabiiy morfologiyaga ega regenerant o'simliklar soni ham orta boradi, ba'zi hollarda mutant

o'simliklar ham paydo bo'lishi mumkin. Birinchi bosqichdagi singari turli biologik faol moddalar va o'simliklarni o'sish regulatorlarini tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitidan foydalaniladi. Eksplantlarni kulturalashning optimal sharoitini tanlashda oziqa muhiti tarkibiga kiritilgan sitokinin va auksinlarning miqdori va nisbati asosiy rol o'ynaydi. Sitokininlardan BAP 1–10 mg/l, auksinlardan ISK va NSK ning 0,5 mg/l miqdordagi konsentratsiyalaridan foydalaniladi. O'simlik to'qi-malari auksinning miqdori oshirilgan oziqa muhitlarda uzoq vaqt o'stirilganda, to'qimalarda auksinning asta-sekin to'planib, zarur bo'lgan fiziologik miqdoridan yuqori bo'lganda, zaharli ta'sir etib, morfologiyasi o'zgargan o'simlik paydo bo'lishiga olib keladi. Shuningdek, klonli mikroko'paytirish uchun noxush bo'lgan samarasini ham kuzatish mumkin, bularga uchki meristema hujayralari bo'linishini kamayishi, hujayralar tarkibi suv bilan to'yingan nihollar paydo bo'lishi, o'simlikning ildiz otish va o'sish xususiyatlarining yo'qolishi kabi ta'sir samarasini berishi mumkin. Sitokininlarni nojo'ya ta'sirini bartaraf etish uchun N.V.Kata va R.G.Butenko bergan ma'lumotlardan foydalanib minimal miqdorda sitokinin tutuvchi oziqa muhitlardan foydalanilganda mikroko'paytirishni turg'un ko'effitsiyentiga erishish mumkin.

III, IV bosqichlar – mikronihollarni ildiz ottirish, ularni tuproq sharoitiga ko'niktirish va dalaga ekishga tayyorlash kabi nihoyatda ko'p mehnat talab etadi. Uchinchi bosqichda oziqa muhiting asosiy tarkibi o'zgartiriladi: Murasiga va Skuga bo'yicha qo'shiladigan mineral tuzlar miqdori ikki, uch barobar kamaytiriladi yoki Uayt muhiti bilan almashtiriladi, qand miqdori 0,5–1% gacha kamaytiriladi va gormonlardan faqat auksin ishtirok etadi, sitokininidan umuman foydalanilmaydi. Ildiz hosil bo'lish stimulatori sifatida β -indolil 3-moy kislota (IMK), ISK yoki NSK dan foydalaniladi: Mikronihollarda ildiz hosil qilish ikki xil usul yordamida amalga oshiriladi: 1) mikronihollar bir necha soat davomida (2–4 soat) steril, miqdori oshirilgan (konsentrlangan) auksin eritmasiga (20–50 mg/l) solib qo'yiladi va gormonsiz agarli muhitda yoki bevosita mos keluvchi tuproq substratida (impulsi ishlov) kulturalanadi;

2) mikronihollarni 3–4 hafta davomida past konsentratsiyada (1–5 mg/l) auksin tutuvchi oziqa muhitda to'g'ridan-to'g'ri kulturalash. So'nggi vaqtlarda probirka o'simliklarini gidroponika sharoitida ildiz ottirish usulidan ham foydalanila boshlandi. Bu usul ildiz otish jarayonini bir oz osonlashtirib, bir vaqtning o'zida tabiiy sharoitga moslashgan o'simlik olish imkonini beradi. Kartoshka uchun substratsiz

gidroponikani qo'llab, kichik tugunaklar olish mumkin. Mikronihollarni ildiz otishi uchun kultural idishlarning pastki qismi qalin qora mato bilan o'raladi yoki oziqa muhit tarkibiga aktivlangan ko'mir kiritiladi. Regenerant o'simliklarni substratga ko'chirib o'tkazish mas'uliyatli bosqich bo'lib, mikroko'paytirish jarayonini yakunlaydi. Probirka o'simliklarini ko'chirib o'tkazish uchun eng qulay vaqt bahor va yozning boshlang'ich davri hisoblanadi. Ikki yoki uch bargli va ildiz tizimi yaxshi rivojlangan o'simliklar kolba yoki probirkalardan uzun uchli pinset yoki ilmoqlar yordamida chiqarib olinadi. O'simlik ildizlari agar qoldiqlaridan yuvib tozalanadi va oldindan 85–90°C da 1–2 soat davomida sterillangan tuproqli substratga ekiladi. Ko'pchilik o'simliklar uchun substrat sifatida torf, qum (3:1); torf, tuproq, perlit (1:1:1); torf, qum, perlit (1:1:1) nisbatidan foydalaniladi. Oldindan tayyorlangan tuproqli substrat bilan quti yoki torfli idishlar to'ldiriladi va unga o'simliklar ekiladi. O'simliklar ekilgan idishlar harorati 20–22°C, yorug'ligi 5 ming lk dan ortiq bo'lmagan, namligi 65–90% bo'lgan issiqxonalar (teplitsa)ga joylashtiriladi. O'simliklarni yaxshi o'sishi uchun sun'iy tuman yaratiladi. Bunday sharoitlarni yaratish imkoni bo'lmagan hollarda o'simliklar o'sayotgan idishlar shisha bankalar yoki polietilen plyonka xaltalar bilan yopiladi, so'ng o'simlik batamom ko'nikkunga qadar asta-sekinlik bilan ochib boriladi.

Yaxshi ildiz otgan o'simliklar ko'chirib o'tkazilgach 20–30 kundan so'ng Knudson, Murasiga va Skuga, Chesnokov, Knoplar tomonidan o'simlik turiga bog'liq holda taklif etilgan tarkibdagi mineral tuzlar eritmalari bilan yoki kompleksli mineral o'g'itlar bilan oziqlantiriladi. O'simliklar o'sa borishi bilan ularni yangi substrat solingan kattaroq idishlarga ko'chirib o'tkazish lozim.

Akklimatizatsiyalangan o'simliklarning bundan keyingi o'sishi har bir individual turdagi o'simliklar uchun qabul qilingan agrotexnikaga mos ravishda bo'ladi. Probirka o'simliklarini tuproq sharoitiga moslashish jarayoni ancha qimmatli va ko'p mehnat talab qiladigan operatsiyadir. Ko'pincha o'simliklar tuproqqa ko'chirib o'tqazilganda o'sishdan to'xtashi, barglarini to'kishi va o'simlikning nobud bo'lishi kuzatiladi. Bu birinchi navbatda probirka o'simliklarini barg og'izchasi apparati faoliyatining buzilishi natijasida katta miqdordagi suvning yo'qolishi bilan bog'liqdir.

Ikkinchidan, ba'zi o'simliklarda *in vitro* sharoitida ildiz popuklari hosil bo'lmaydi, bu o'z navbatida tuproqdagi mineral tuzlar va suvni yutilishi buzilishiga olib keladi. Shuning uchun klonli mikroko'pay-

tirishni ikkinchi yoki uchinchi bosqichida o'simliklarni sun'iy mikorizatsiyalashni (mikrotroflar uchun) qo'llash maqsadga muvofiqdir. Ular o'simliklarni mineral va organik oziqa moddalar, suv, biologik faol moddalar bilan ta'minlashda va shuningdek, o'simliklarni patogenlardan himoya qilishda ijobiy rol o'ynaydi. O'simliklarni mikoriza hosil qiluvchi zamburug'lar bilan zararlashning ikki xil usuli mavjud; 1) *in vitro* (steril sharoitda); 2) *in vivo* (tabiiy sharoitda). Birinchi usul qulay usul hisoblanib, bu holatda tuproqning boshqa mikroorganizmlar bilan zararlanishining oldi olinadi. Bundan tashqari, *in vitro* sharoitida mikorizani normal shakllanishi uchun kulturalash sharoitini (yorug'lik, harorat, namlik) nazorat qilish va substrat tanlash (pH, aeratsiya) imkoniyati bor. *In vitro* sharoitida ko'paytirilgan o'simliklar agar ularning ildiz tizimi mikoriza hosil qiluvchi zamburug'lar bilan aloqada bo'lsa yaxshiroq rivojlanadi. Bunday hollarda ularning azot bilan ta'minlanishi yaxshilanib, o'simliklarni tuproqqa ko'chirib o'tkazilganda ularning tutib ketishi 1,5–2 barobarga ortadi, shuningdek, yer usti massasining o'sishi yaxshilanadi. Bunday tajribalar qayin, evkalipt, kashtan, qoraqarag'ay, lox va olxani turli klonlarida o'tkazilgan.

Hind olimlari tomonidan *in vitro*da o'stirilgan o'simliklarni dala sharoitiga ko'chirib o'tkazilganda, o'simlik barglarining tez suvsizlanib qolishini oldini olishning oddiy usuli taklif etilgan. Usulning mohiyati shundan iboratki, o'simlik barglari butun akklimatizatsiya davrida 50% li glitserinning suvdagi eritmasi, yoki parafin aralashmasi, yoki dietil efirdagi moy (1:1) bilan purkalishi lozim. Bu usulni qo'llash orqali probirka o'simliklarini chiniqtirishdek uzoq va qiyin jarayonlardan qutulish va o'simliklarning 100% yashab ketishini ta'minlash mumkin.

Rossiya olimlari tomonidan tokning probirka o'simligi adaptatsiyasini soddalashtirish usuli ishlab chiqilgan bo'lib, bunda o'simliklarning adaptatsiyasi probirkalarda o'tadi, ya'ni buning uchun probirka ichidagi o'simlikning bo'yi probirka tiqiniga yetganda, tiqinlar olib tashlanadi. Shunday holatda o'simlik 1–2 haftaga qoldiriladi. Bu davrning oxirida probirka ustida o'simlikni ikkita bargi paydo bo'ladi va bunday o'simlik tuproqqa o'tkazishga tayyor hisoblanadi. O'simliklar steril tuproqli substratga agar bilan birgalikda ekiladi, bunda o'simlik ildiz tizimi mexanik tarzda zararlanishining oldi olinadi. Nihollar tuproq substratiga ekilganda bir-ikki bargli poyasi tuproq ustida ko'milmay qoladi. Tok o'simligini tuproqda o'sishiga moslashishida bu usulning qo'llanilishi, o'simliklar akklimatizatsiyasi texnikasini soddalashtiradi va

arzonlashtiradi. Bu hollarda tuman hosil qiluvchi qurilmadan foydalanilmaydi (*B. A. Burgutin 1988*).

O'simliklarning klonli mikroko'paytirish sharoitini optimallashtirish. Alohida ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalashning muhim shart-sharoiti oziqa muhitdagi mineral tuzlar, uglevodlar, fitogormonlar va boshqalarni balanslashtirishdan iboratdir.

Kulturaga yangi turdagi o'simlik kiritilganda tadqiqotchilar uni turli oziqa muhitlarida sinaydilar. Bu jarayon uzoq bo'lib, ko'pincha kerakli natijani bermaydi. Optimal tarkibdagi oziqa muhitni aniqlash uchun, tajribani matematik rejalashtirish usulidan foydalaniladi. Bu usul kam hajmdagi tajribalar yordamida ko'paytirishning yuqori tezligini ta'minlovchi kulturalash sharoitini aniqlash, mikroko'paytirish jarayoniga ta'sir etuvchi omillar yig'indisiga bog'liqligini o'rganish, shuningdek, omillararo o'zaro bog'liqlik borligini va samaradorligini o'rganish imkonini beradi. Oldinga qo'yilgan maqsadga muvofiq holda tajriba butun yoki kasriy reja asosida o'tkaziladi.

Optimallashtirishning muvaffaqiyati, optimallashtirish kriteriysining qanchalik to'g'ri tanlanganiga bog'liq. Mikroko'paytirishni birinchi bosqichida keyinchalik yetuk o'simlik organizmini hosil qilishga qodir eksplantning har qanday morfogenetik reaksiyasini miqdoriy baholash kriteriy bo'lib xizmat qiladi. Masalan, niholning uzunligi, differensiyallanayotgan poya apekslari, nihollar, embrioidlarning soni. Ikkinchi bosqichda rivojlanayotgan nihollarni, embrioidlarni, umumiy soni hisobga olinadi. Uchinchi bosqich optimizatsiyasi kriteriysi bo'lib, ildiz otgan o'simliklar foizi, ildiz tizimining uzunligi, bir mikronihol uchun ildizlar soni xizmat qiladi. Bunda ham o'simlikning uzunligi, umumiy holati va uning tuproqqa ko'chirib o'tkazilgandagi tutuvchanligini hisobga olish zarur.

Matematik rejalashtirishni o'rganilayotgan jarayonga (X_1, X_2, X_3) ta'sir etuvchi omillarni tanlashdan, ularning eng asosiy ahamiyati (yuqori va past darajasi) va tajriba sxemasi (matritsa) dan boshlash zarur. Shundan so'ng tajribada foydalaniladigan eksplantlar ajratib olinadi. Bunda boshlang'ich o'simlik materialini xilma-xilligini va kulturalanayotgan to'qimalarni geterogenligini hisobga olish lozim. Shuning uchun, o'simlik materiallarini tajribaning turli variantlari orasida teng taqsimlash kerak. Kulturalashning optimal sharoiti barcha eksplantlarni o'sishini qoniqarli darajada ta'minlashi shart.

Ko'p omilli tajribalar natijalariga statistik tarzda ishlov beriladi va regressiya tenglamasini olish uchun quyidagi ko'rsatgichlar hisoblanadi:

1) erkin a'zo regressiyasi koeffitsiyenti; 2) o'rganilayotgan omillar regressiyasi koeffitsiyenti; 3) omillararo hamkorlik regressiyasi koeffitsiyenti; 4) qatorli dispersiyalar; 5) Koxren kriteriyasining ahamiyati; 6) natijalar adekvatligi.

Masalan, pomidorning oltita genotipi gipokotiliysini (urug'palla osti) kulturalash sharoitini optimallashtirishda $2^4/16$ to'liq omilli tajriba matritsasi bo'yicha birinchi tartibli tajriba qo'yilgan. 2- omillar sinalgan tenglamalar soni; 4- tajribada o'rganilayotgan omillar soni; (X_1 -inozit, X_2 -saxaroza, X_3 -zeatin, X_4 -ISK); 16-eksperiment sxemasi bo'yicha tajribalar soni.

Statistik hisoblash natijasida regressiyaning quyidagi tenglamasi olingan. $Y=3,756 + 1,619X_2 - 0,419 X_1X_2 - 0,244 X_2X_3X_4$ (kallus o'lchami bo'yicha);

$Y_1= 2,438 + 0,738X_2 - 0,662X_3 - 0,43X_4 + 0,433 X_2X_3 + 0,462 X_1X_2X_3 + 0,437 X_1X_4 + 0,537 X_1X_2 X_4 - 0,312 X_1X_2 X_3X_4$ (bitta kallusdagi kurtaklar soni bo'yicha).

Tenglamadan ko'rinib turibdiki, X_1 dan tashqari barcha omillar o'rganilayotgan jarayonlarga ijobiy yoki salbiy ta'sir ko'rsatadi. Demak, ikkala tenglamadagi X_2 omilning ahamiyati shundan iboratki, bu omil oziqa muhitga qo'shilganda unda o'sayotgan kallus to'qimalarining o'sishini va tasodifiy kurtaklarni paydo bo'lishini stimullaydi, zeatin va ISK (X_3 va X_4 omillar) miqdorining kamayishi esa bir kallusdan tasodifiy kurtaklarning paydo bo'lishini oshiradi. Shunday tarzda bitta tajriba orqali kallus va tasodifiy kurtaklarning paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi omillar va pomidorning birlamchi kallusi orqali klonli mikroko'paytirishning boshlang'ich etapi uchun oziqa muhitning optimal tarkibi aniqlandi. Keyingi yillarda qand lavlagi, dukkakkilar, rauvolfiya, jenshenning kallus to'qimalarini kulturalashning sharoitini optimallashtirish uchun, gerberiya, freziya, kaperslar, shuvoq, oddiy qarag'ay va boshqa ba'zi o'simliklarni klonli mikroko'paytirish jarayoni sharoitlarini optimallashtirish uchun ko'p omilli tajribalardan foydalanilmoqda. Matematik rejalashtirish usuli o'simlik to'qimalarini *in vitro* kulturalash va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishni optimallashtirishda samarali va iqtisodiy jihatdan foydali usul hisoblanadi.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga genetik, fiziologik, gormonal va fizik omillar ta'siri. Klonli mikroko'paytirish usullarini yaratishda albatta, genetik, fiziologik, gormonal va fizik omillarning ta'sirini hisobga olish zarur. Ma'lum bir turning kloni uchun ishlab chiqilgan usul, har doim ham shu turning boshqa vakillarini yoki boshqa

turdagi o'simliklarni ko'paytirishda ham qo'llanilmasligi mumkin. Mikroko'paytirishga boshlang'ich o'simlikni genotipi, yoshi, ajratilgan mavsumi, shuningdek, birlamchi eksplantning o'lchami ta'sir ko'rsatadi. Gormonal ta'sirlardan sitokinin va auksinlarning nisbati, oziqa muhitni mineral moddalar, vitaminlar, saxaroza bo'yicha tarkibi, fizik omillardan esa muhit konsistensiyasi (suyuq yoki agarlanganligi), kislotalik darajasi, yoritish sharoiti, shuningdek, harorat rejimi va havoning namligi ta'sir ko'rsatadi.

Genetik va fiziologik omillar. Klonli mikroko'paytirishni muvaffaqiyatini belgilovchi omillardan biri, boshlang'ich o'simlikning genotipidir. Ikki pallali o'tchil o'simliklar bir pallali o'simliklar, daraxtlarga nisbatan katta morfogenetik potensiyaga ega, ya'ni ularning adventiv kurtaklar paydo qilishga, nihollarni o'sishi, ildiz otishi va ko'paytirishning yuqori koeffitsiyentiga ega bo'lishi tajribalarda aniqlangan. Masalan, qand lavlagi, tetraploid shakldagi duragaylardan eng ko'p regenerant o'simliklar olingan, eng kami diploidlardan, triploid duragaylardan olingan o'simliklar soni oraliq holatni egallaydi.

Mikroko'paytirish jarayonida morfogenetik potensialni amalga oshishida boshlang'ich eksplantning nav va turkum xususiyatlari ham muhim ta'sir ko'rsatadi. Ma'lumki, vegetativ ko'paytirishga yaxshi beriladigan o'simliklar *in vitro* kulturada odatda yuqori regeneratsion qobiliyatini namoyon qiladi. Yuqori morfogenetik potensialga ega bo'lgan turkumlar orasida *Solanaceae*, *Umbelliferae*, *Cruciferae*, *Compositae* oilalari vakillari misol bo'ladi, Gramineae oilasiga mansub o'simliklar qiyin regeneratsiyalanadi. Ona o'simlik genotipi ham klonli mikroko'paytirishga katta ta'sir ko'rsatadi.

Xmel o'simligining turli navlaridan ajratilgan, apekslari oziqa muhitidagi gormonlarning ishtirok etishiga turlicha sezgirlik namoyon qilishi aniqlangan. Smolistiy navi uchun BAPning optimal konsentratsiyasi 1 mg/l, Istrinskiy-15 navi uchun 0-5-1,5 mg/l, va ISKning optimal konsentratsiyasi 0,05 m/l deb belgilangan. Smolistiy navi apekslariga oziqa muhitga ISK va 2,4-D qo'shilishi ijobiy ta'sir ko'rsatadi. Istrinskiy - 15 navida esa 0,05 mg/l ISK va 0,05 mg/l 2,4-D solingan oziqa muhitda nihollar o'sishi tezlashishi kuzatiladi. Shuningdek, krijovnik o'simligi navlarining ajratilgan apekslari ham kultu-ralash sharoitiga morfogenetik reaksiyasi turlicha bo'lishi aniqlandi.

Morfogenetik potensialning o'simliklar turkumining o'ziga xosligiga bog'liqligi boshqoqli o'tlarda aniqlangan. Tajribalar natijasida

makro- va mikroelementlar, organik komponentlar (aminokislota, kazein gidrolizati, achitqi ekstrakti, biotin), o'sish regulatorlariga nisbatan ularning ehtiyoji turlicha ekanligi aniqlandi. Boshlang'ich onalik shakllarga nisbatan duragaylar yuqori morfogenetik faollikni namoyon qilishi tasdiqlangan. Mikronihollarni ildiz ottirishda ham navlarning xususiyati yuzaga chiqishi mumkin, masalan, gilos mikronihollariga IMK bilan ishlov berilganda Shubina navining 52 %, Vladimirskeya navining 18 %, Lyubskiy navining esa 13 % ildiz otganligini Rossiya olimlari tomonidan aniqlangan. Qora smorodinaning turli navlari mikronihollarining ildiz otishidagi farqi o'rganilgan.

Boshlang'ich eksplantning yoshi ham morfogenezni namoyon qilish xususiyati jihatidan ahamiyat kasb etadi. Yetilgan murtaqlar, 20–30 kunlik o'simtalar yoki ularning turli qismlari (yuvenil material) yetuk o'simlik to'qimalariga nisbatan yuqori morfogenetik potensialga ega va katta miqdorda adventiv kurtaklarni hosil qiladi, kelgusida yaxshi o'sadigan va ildiz hosil qiladigan nihollar paydo qiluvchi uchki meristemalarni rivojlanishini stimullaydi. Bunday hollarda bitta murtaqdan bir yilda 10–100 ming o'simlik olinsa, yetilgan o'simlikning uchki yoki apikal meristemasidan ko'payish koeffitsiyenti 1–2 barobarga kamayadi.

Birlamchi eksplantning yoshi *in vitro* ko'paytirilgan mikronihollarning ildiz otishiga ham muhim ta'sir ko'rsatadi. Boshlang'ich materialning yoshi kattalasha borgan sari nihollar va qalamchalarning ildiz otishi xususiyati pasayadi.

Masalan, olmaning sakkizta turi bilan ish olib borilganda nihollarining ildiz otishi-yuvenil materialdan olingan mikropoyalarning ildiz otishi 80–90 %, 2–3 yillik o'simliklardan ajratilgan apikal kurtaklarda 50 %, undan kattaroq o'simliklarda 20–30 % ni tashkil qilgan.

Amaliy jihatdan o'simliklarning, ayniqsa, daraxtlarning 20 yildan so'ng, ya'ni xo'jalik ahamiyati muhim belgilari baholanganidan so'ng ko'paytirish maqsadga muvofiqdir. Lekin bunday qari o'simliklarni *in vitro* ko'paytirish katta qiyinchiliklar tug'diradi. Birinchidan, katta yoshdagi o'simliklarni barcha to'qima va organlari zamburug', bakteriyalar bilan endogen zararlangan bo'lib, bu aseptik kultura olishda qiyinchiliklar tug'diradi. Ikkinchidan, yetuk daraxtlarning kurtaklari yoki boshqa organlari o'tchil o'simliklarga nisbatan *in vitro* sharoitini turlicha qabul qiladi. Bu kulturaga qayta o'tkazilgan eksplantlarning yaxshi o'sishi va rivojlanishini ta'minlovchi optimal sharoitni tanlash bo'yicha maxsus tajribalar o'tkazishni taqozo qiladi.

Hozirgi vaqtda o'simliklar yoshi bilan bog'liq bo'lgan to'siqni bartaraf etish uchun, reyuvenilizatsiya (qayta yoshartirish) yo'li bilan, ya'ni *in vivo* va *in vitro* ishlarini birgalikda olib borish orqali amalga oshiriladi.

Reyuvenilizatsiyani quyidagi bir necha usullar bilan: 1) eksplant olishdan avval o'sayotgan daraxt yoki alohida shoxlariga sitokinin eritmasi bilan qayta-qayta ishlov berish; 2) takroriy qalamchalash; 3) daraxt tanasidan nihollarning hosil bo'lishini induksiyalash va ildiz otishini stimullash uchun daraxtlarni tez-tez butab turish; 4) takroriy payvandlash; 5) subkulturalarni (*in vitro*) seriyalash; 6) quyuq daraxtzorlar hosil qilish orqali yon shoxlarning o'sishini to'xtatish va tinim holatidagi kurtaklarning rivojlanishini stimullash orqali amalga oshirish mumkin. Abo El Nil texnologiyasining birinchi bosqichida tinim holatidagi daraxtlarga qayta-qayta sitokinin bilan ishlov berishni taklif etgan. Lekin bu ishda kinetin, 2ip dan foydalanish mumkin. Sitokininning miqdorini ishlov berilayotgan daraxtning ta'sirlanish darajasiga ko'ra tajribalar natijalarini hisobga olgan holda amalga oshirish lozim. Sitokininga boshqa o'sish regulatorlaridan qo'shib ham foydalanish mumkin. Masalan, BAP bilan N-dimetilaminoqahrabo kislotani kam miqdori birgalikda qo'llanilganda ba'zi o'simlik turlarining ta'sirlanishi ortganligi aniqlangan. *In vivo* o'suvchi barcha daraxtlar va alohida shoxlariga ishlov berish mumkin. Ishlov berish uchun o'simliklarning kesilgan shoxlari sitokinin eritmasiga solib qo'yiladi yoki daraxtning o'tkazuvchi tizimlari orqali, masalan, shoxning kesilgan tomonidan in'eksiya qilinadi. Bunday ishlov natijasida kurtak va nihollarning hosil bo'lishi tezlashadi va ular yosh asosning morfologiyasi kabi morfologiyaga ega bo'ladi. Nihollar yoki kurtaklarga ega kalta poya kesimlari, kurtaklari va nihollarining o'sishini induksiyalash uchun *in vitro* oziqa muhitga joylashtiriladi. So'ng shakllangan nihollar ko'paytirish uchun, yoki ildiz chiqarish uchun moslashtirilgan oziqa muhitlarga o'tkaziladi. Bunda oraliq bosqich yangi hosil bo'lgan kurtaklarning ochilishi va undan nihollarning rivojlanishiga imkon beruvchi muhit hisoblanadi.

Fiziologik omillarga eksplantni ajratish davri ham kiradi. O'simliklarning vegetatsiya davrida ajratilgan to'qima va organlar, majburiy va chuqur tinim davrida ajratilganga nisbatan, oziqa muhitning tarkibiga ta'sirchanligi va adventiv kurtaklar paydo qilish, nihollarining shakllanish va ildiz otish qobiliyati yuqori bo'ladi.

Eksplantlar o'Ichami ham muvaffaqiyatli mikroko'paytirishni belgilovchi omillaridan biridir. Eksplant qanchalik kichik bo'lsa, regeneratsiyalanishning xususiyati shunchalik kam bo'ladi yoki aksincha, parenxima, o'tkazuvchi to'qimalar va kambiydan tashkil topgan yirik o'Ichamdagi eksplantlar oziqa muhit tarkibidagi fitogormonlar nisbatidan qat'i nazar, kurtaklar hosil qiladi. Lekin boshqa tomoni ham borki, katta o'Ichamdagi eksplant hujayralarida virus va boshqa patogenlar paydo bo'lish ehtimoli yuqori bo'lib, bu *in vitro* o'simliklar to'qimasini sog'lomlashtirilishiga to'siq bo'ladi. Eksplantlarning optimal o'Ichami birlamchi eksplant manbai bo'lib xizmat qiluvchi donor o'simlikning turiga xos xususiyatlariga va organlari xususiyatlariga bog'liq. Malina uchun birlamchi eksplant o'Ichami 2 mm deb qabul qilingan, bunda o'simlikning apikal uchlarini 60%li Morel muhitida regeneratsiyalangan. Xmel uchun bu ko'rsatkich 0,1 dan 0,2 mm, piyoz va sarimsoq piyoz uchun meristemalarning optimal o'Ichami 0,5–0,8 mm ni tashkil qiladi.

Gormonal omillar. Klonli mikroko'paytirishni muvaffaqiyatli amalga oshishida oziqa muhitining gormon muvozanati ham muhim omillardan biri hisoblanadi. Gormonlarning nisbati (sitokinin, auksin) yuqori bo'lganda uchki meristemalar yoki adventiv kurtaklar rivojlanadi, past bo'lganda ildiz hosil bo'lishi indutsirlanadi, o'rtacha bo'lganda esa kallus to'qimalari hosil bo'lishi va proliferatsiyasi kuzatiladi.

Klonli mikroko'paytirishda auksin komponentlari sifatida ISK, ba'zi hollarda NSK, sitokinin sifatida esa kinetin va BAP qo'llaniladi.

O'simliklarni mikroko'paytirishda foydalaniladigan sitokininlarni uning faolligi bo'yicha quyidagi tartibda joylashtirish mumkin: kinetin < 6 benzil aminopurin (BAP) < 2-izopentiladenin (2 ip) < zeatin.

Sitokinin va auksinlardan tashqari oziqa muhitga ba'zida gibberal kislotasi ham qo'shiladi, u shakllangan kurtaklarni o'sishini va cho'zilishi (elongatsiyasi) ni stimullaydi va yer ustki qismi yaxshi rivojlangan o'simlik olish imkonini beradi.

Umuman olganda, to'qimalar kulturasida turli morfogenetik ta'sirlanishining kam miqdordagi ekzogen fitogormonlari yordamida induksiyalash va stimullash mumkin va gormonlar bilan to'yingan oziqa muhitlarda o'simlik to'qimalarining umumiy faolligini batamom yo'qotishi yoki to'qimalarni nobud qilish mumkin. O'simliklarning kultralanayotgan organ va to'qimalarini fitogormonlarga nisbatan ta'sirlanish xususiyatini o'simliklarni o'stirish maqsadida o'sish regulatorlaridan foydalanganda hisobga olish kerak.

Klonli mikroko'paytirishga gormonlar bilan bir qatorda mineral tuzlar, vitaminlar va uglevodlar ham ta'sir ko'rsatadi. O'simliklarni *in vitro* mikroko'paytirish uchun Murasiga va Skuga, Linsmaer va Skuga, Gresxof va Dou, Nich, Xeller, Shenk va Xildebrandt va boshqa bir-biridan ammoniyli va nitratli azot nisbati bilan farq qiluvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Ko'pincha tadqiqotchilar yuqori miqdorda anorganik moddalar tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitlaridan foydalanishni afzal biladilar. Azot bilan boyitilgan oziqa muhitlardan foydalanilganda, nafaqat kallus to'qimasi hosil bo'lishiga, balki organogenez va ayniqsa, somatik embriogenez jarayonlarini stimullanishiga ham erishish mumkin. Masalan, NH_4NO_3 *Brassica* ni har xil turlari murtaklarini morfogenetik potensialiga ta'sir etadi. Murtaklarni yashovchanlik foizi va nihollar hosil bo'lish chastotasi NH_4NO_3 ning muhitdagi miqdori kamaytirilganda oshadi, nihollarning va murtaklar shakllanishining maksimal darajasiga NH_4NO_3 ishtirok etmaydigan oziqa muhitida erishish mumkin. KNO_3 va NH_4NO_3 ning miqdori 6,7 mM gacha kamaytirilganda krijovnikning ba'zi navlarini morfogenezi yaxshilanadi. Pomidor uchun mineral azotning miqdori oshirilgan oziqa muhitda kallus hosil bo'lish jarayoni to'xtashi va eksplantlarning nobud bo'lishi tajribalarda aniqlangan. Gloksiniya uchun vegetativ va reproduktiv tuzilmalarning hosil bo'lishi oziqa muhit tarkibidagi komponentlarga bog'liq ekanligi aniqlangan. KNO_3 (20 mM) va saxarozaning (100 mM) yuqori miqdorida ko'pincha vegetativ kurtaklarning rivojlanishi, gul kurtaklarning rivojlanishi esa faqat 28% ni tashkil etishi eksplantlarda kuzatilgan. Oziqa muhitda KNO_3 (2 mM) va saxarozaning (15 mM) kam miqdori barcha eksplantlarda faqat gul kurtaklar hosil bo'lishiga sabab bo'ladi.

Mikroko'paytirish jarayonlariga gormon tabiatiga ega bo'lmagan biologik faol moddalar, shuningdek, uglerodli oziqlantirish ham sezilarli ta'sir ko'rsatadi. Ma'lumki, kallus to'qimalari hosil bo'lishi, undan nihollarning regeneratsiyalanishi va embriodlarning paydo bo'lishi uchun, oziqa muhiti tarkibida vitaminlar, aminokislotalar, o'simlik ekstraktlari, kazein gidrolizati ishtirok etishi zarur. Agar nihollarning rivojlanishi mavjud uchki meristemalar hisobiga yoki shakllangan kurtak va embriodlar hisobiga bo'lsa, u holda biologik faol moddalarning zaruriyati yo'q, chunki bunday nihollar o'zining hayot faoliyati uchun zarur bo'lgan moddalarni o'zi sintezlash qobiliyatiga ega. Biologik faol moddalarning yuqori konsentratsiyasi gipervitaminozni

keltirib chiqaradi, natijada o'sish cheklanadi, barglarining qorayishi va qurishi, o'simlik morfologiyasining o'zgarishiga olib keladi.

Klonli mikroko'paytirishning barcha bosqichlarida uglevod manbai sifatida 3%li saxarozadan foydalaniladi. Lekin, bu miqdorni barcha o'simliklarni *in vitro* o'stirish uchun optimal deb bo'lmaydi. Qora qarag'ayning ajratilgan murtaklarini o'sishida saxarozaning yuqori miqdori (23 %) adventiv kurtaklarning paydo bo'lishiga salbiy ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Ikkinchi passajda bu jarayon amalga oshmaganligi va to'rtinchi passajda barcha eksplantlar nobud bo'lganligi kuzatilgan. Oziqa muhitdagi saxaroza konsentratsiyasining kamligi nafaqat adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini, balki uning rivojlanib nihol hosil qilishini ham stimullaydi. Nihollar saxarozaning 0,5–1 % li miqdorida 2–3 oy kulturalanganida 1–1,5 sm uzunlikka ega bo'ladi, ulardan ko'paytirish yoki ildiz ottirish uchun foydalanilgan.

Uglerod manbai sifatida saxaroza bilan bir qatorda glyukoza, fruktoza, galaktoza va boshqalardan ham foydalanish mumkin. Ma'lumki, *in vitro* o'simliklar to'qimasini kulturalashda uglevodli oziqa sifatida foydalaniladigan manbalardan glyukoza saxarozadan keyingi o'rinni egallaydi. O'rganilgan 38 ta o'simlik kulturalaridan (o'tchil va yog'och poyali o'simliklar) 85 %li glyukozali muhitda ham juda yaxshi o'sgan. Glyukozadan keyingi o'rinni fruktoza egallaydi. Minoxning fikricha, kulturalanayotgan o'simliklarning $\frac{2}{3}$ qismi o'sishida fruktozadan muvaffaqiyatli foydalanilgan. Ajratilgan o'simlik to'qimalariga ta'siri bo'yicha, galaktoza glyukoza va fruktozaga nisbatan farq qiladi. O'rganilgan o'simlik kulturalardan deyarli yarmi galaktozali muhitda yomon o'sgan yoki umuman o'smagan. Lekin o'simliklar organ va to'qimalarining o'sishida galaktozaning ijobiy roli haqida ham ma'lumotlar bor. Shunday qilib, gormonlar, biologik faol moddalar va mineral tuzlardan foydalanish muammosini tayyor reseptlar asosida, oziqa muhit tarkibiga bu birikmalarni kiritish orqali emas, balki mikroko'paytirishda foydalanilayotgan u yoki bu o'simlik turlarining aniq morfogenetik reaksiyasini hisobga olgan holda hal etilishi lozim.

Fizik omillar. Oziqa muhitning qattiq, suyuq holatda bo'lishi ham eksplantlarning o'sishi va adventiv kurtaklarning paydo qilish jarayonlariga ta'sir etuvchi muhim omillardan biri hisoblanadi. Ma'lumki, nihollarning uchki qismidan olingan eksplantlar suyuq oziqa muhitlarda roller tipidagi apparatlarda kultralanganda ularning o'sishi sezilarli darajada stimullanadi, nihollarning apikal dominantligi aniq namoyon bo'lmaydi, o'sish davri va qayta ekishlar soni qisqaradi, bu

o'simliklarga oziqa moddalar bilan yaxshi ta'minlanish imkonini beradi. Boshqa tomondan qaraganda, bu sharoitda anomal, egri-bugri nihollarning paydo bo'lish ehtimoli ortadi. Agarli oziqa muhitlardan foydalanish orqali bu muammolarni yo'qotish mumkin, lekin shu bilan birga bu usul eksplantlarni oziqlanish sharoitini yomonlashtiradi va metabolizm mahsulotlari chiqib ketishiga to'sqinlik qiladi.

Shuningdek, o'simliklarning klonli mikroko'payishi va o'sishida oziqa muhitining pHi ham ta'sir etadi. Ma'lumki, kuchli kislotali yoki ishqoriy muhitda ba'zi elementlar masalan, fosfor, temir erimaydi, bundan o'simliklarning o'sishi cheklanadi. Lekin yuqori kislotali muhitda bu elementlarning eruvchanligi oshishi, ko'p miqdorining eritma holatiga o'tishi eksplant uchun zaharli ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklarni organ va to'qimalari pH 5,6–5,8 bo'lgan oziqa muhitlarda kulturalanadi. Ammo bu sharoit har doim ham optimal bo'lavermaydi. Masalan, oddiy qarag'ay murtaklari uchun oziqa muhitining kislotalik darajasi 4,7 dan 5,2 gacha o'zgartirilganda murtaklarning 2,3–3 marotaba ko'p adventiv kurtaklar hosil qilishi aniqlangan, oddiy qoraqarag'ay uchun esa muhitning eng optimal pH ko'rsatkichi 5,2–5,6 oralig'ida deb topilgan. Bu natijalar yuqorida nomlari keltirilgan o'simlik turlari o'sadigan tuproqning kislotalik darajasi bilan deyarli mos keladi. Shuning uchun to'qimalar kulturasi bo'yicha tajribalar o'tkazishda, o'rganilayotgan o'simlik o'sadigan tabiiy sharoitdagi tuproqning kislotalik darajasini ham hisobga olish zarur.

Odatda ajratilgan o'simlik to'qimalari boshlang'ich o'simlikning intensivlik va fotojarayonga bo'lgan talablarini hisobga olgan holda, lyuminessentli lampalar yorug'ligi ostida o'stiriladi. Murasiga o'simliklarni klonli mikroko'paytirishning birinchi va ikkinchi bosqichlarida to'qimalarni 1–5 ming lkda 14–16 soatli fotojarayonda o'stirishni tavsiya qiladi, yoritishning bu sharoiti ko'pchilik o'simliklarning nihol va ildizlarining paydo bo'lishiga yordam beradi.

Ko'pchilik tadqiqotchilarning fikricha, yoritish intensivligi organogenez induksiyasida muhim rol o'ynar ekan. *Begonya* o'simligi kulturasi yoritishni 3 dan 6 ming lk gacha oshirilishi nihol hosil bo'lish intensivligining ortishiga olib kelgan. *Asparagus* to'qimalarida esa 1 ming lk yorug'likda (16 soatlik fotojarayon) maksimal darajada nihollar va ildizlar hosil bo'lganligi aniqlangan, yoritish intensivligini oshirilishi yoki kamaytirilishi to'qimalarning orgogenez xususiyatini pasayishga yoki nobud bo'lishiga olib kelgan.

Ajratilgan to'qimalar o'sishining intensivligi va xarakteri yorug'likning spektral tarkibiga ham bog'liq. Demak, *Heloniopsis orientalis* to'qimalarida kurtaklarning paydo bo'lishini oq, qizil, ko'k nurlar yashil rangli nurga nisbatan tezroq indutsiraydi. Qizil nur tamaki to'qimalarida gul kurtaklarini, qorong'ulik esa ildiz hosil bo'lishini stimullaydi. Tamaki kallusida adventiv kurtaklar paydo bo'lishini ultrabinafsha, ko'k, binafsha nurlar tezlashtiradi. Salat o'simligi eksplantlarida qizil nurlar nihollar hosil bo'lishini tezlashtiradi. Probirkada o'stirilgan kartoshka o'simliklarida ko'rsatilishicha, oziqa muhiti tarkibida NSK va ISKning ishtirok etishi ko'k nurga nisbatan qizil nurda tugunak hosil bo'lishini stimullaydi, BAP yoki kinetin tugunak hosil bo'lishini qizil nurga nisbatan ko'k nurda ko'proq stimullaydi (T.N.Konstaninova va boshqalar, 1988). Qayin nihollarining ildiz otishiga, mavjud meristemalarni faollashtirishga qizil nur yaxshi ta'sir ko'rsatadi, bunda deyarli 100 % mikroqalamchalar ildiz hosil qiladi. Oq nur ta'sirida bu jarayon sekinroq kechadi, ko'k nurda faqat qalamchalarning yarmi, qorong'ida esa undan ham kamrog'i ildiz hosil qiladi. Qizil nur ostida oziqa muhit tarkibida ISK ishtirokida ildiz hosil bo'lish jarayoni tezlashadi va nihollarning o'sish tezligi ortadi, ko'k nur o'simlik to'qimalarida sitokinin miqdorining ortishiga ta'sir qilib, nihollarning hosil bo'lishini stimullaydi.

Harorat metabolizm jarayonlarini faollashtirish orqali o'simlikning ajratilgan to'qimalarini o'sishi va regeneratsiyalanishiga, muhim ta'sir ko'rsatadi. Ko'pchilik o'simlik to'qimalari uchun optimal harorat 23–25°C ni tashkil etadi.

Lekin o'simliklarning haroratga bo'lgan ehtiyoji turlicha bo'lishi mumkin. *Lilium auratum* o'simligi piyozlari hosil bo'lishiga 20°C harorat yaxshi ta'sir ko'rsatadi. Gladiolusning eksplant to'qimalari muzlatilganda, uning regeneratsiyalanish qobiliyati oshadi. Begonya o'simligi qalamchalari kulturasida nihollarning hosil bo'lishini past haroratda (15–18°C) ikki hafta davomida induksiyalash lozim. Harorat rejimi birinchi navbatda, o'simlik turiga bog'liq. Masalan, tropik o'simliklar uchun o'stirishning optimal harorati –27°C atrofida, boshqa ko'pchilik o'simliklar uchun esa –25°Cdir. Klonli mikroko'paytirishda probirka o'simliklari klimatik kameralarda 16 soatli fotoperiodda va havoning namligi 70 % bo'lgan sharoitda o'stiriladi.

Shunday qilib, o'simliklarni ko'paytirish koeffitsiyentini oshirishda, har bir tur uchun, uning tabiiy o'sish sharoitini hisobga olgan holda kulturalashning individual sharoitini yaratish zarur. Demak, klonli

0214

mikroko'paytirish usuli o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi istiqbolli usuli bo'lib, genetik bir xil sog'lomlashtirilgan ekish materiallari olish, ko'paytirishning yuqori koeffitsiyentiga erishish, seleksion jarayonlarni qisqartirish, butun yil davomida ish olib borish, o'simliklarni o'stirish uchun zarur bo'lgan maydonlarni qisqartirish imkonini beradi. Dunyoning ko'pgina mamlakatlarida klonli mikroko'paytirish bioindustriyasi oqimi sanoat asosiga qo'yilgan va o'nlab korxonalar faoliyat yuritmoqda. Masalan, Fransiyada gulli o'simliklar mahsulotlarining 94% ini ajratilgan to'qimalar kulturasini usuli yordamida, AQSHda 100 ga yaqin tijorat korxonalarida manzarali, mevali va o'rmon o'simliklari, sabzavotlarning ekish materiallarini klonli mikroko'paytirish usuli yordamida olinadi. Dunyo bozorida sog'lomlashtirilgan ekish materiallari yetishtirish bo'yicha Gollandiya, olma, olxo'ri va shaftoli ko'chatlarini (har yili 250-500 mingtagacha) yetishtirish bo'yicha Italiya yetakchilik qiladi.

O'simliklar seleksiyasida alohida ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasini

Hujayralar texnologiyasi yo'nalishlaridan biri – bu ulardan seleksiyada foydalanish orqali, o'simliklarning yangi shakllari va navlarini yaratishdagi an'anaviy seleksion jarayonlarning tezlashtirish. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni *in vitro* kulturalash usullarini shartli ravishda ikki guruhga bo'lish mumkin.

Birinchi guruh – bu yordamchi texnologiyalar bo'lib, seleksiyaning o'rmini bosa olmaydi, lekin unga xizmat qiladi. Bunga: *in vitro* urug'lantirish (progam chatishmaslikni yengish), urug' kurtaklarni va yetilmagan duragay kurtaklarni kulturalash (postgam chatishmaslikni yengish), changdon va mikrosporalarni o'stirib gaploidlar olish, alohida ajratilgan hujayra, to'qima va organlarni kriosaqlash, uzoq turlar duragaylarini klonli mikroko'paytirish usullarini kiritish mumkin.

Ikkinchi guruh usullari mustaqil ravishda, seleksiyaning an'anaviy usullariga bog'liq bo'lmagan holda, kallas to'qimalarini qo'llash orqali hujayralar seleksiyasini amalga oshirish, somatik duragaylash (alohida ajratilgan protoplastlarni bir-biriga qo'shish va jinssiz duragaylar olish), gen muhandisli usullaridan foydalanib, o'simliklarni yangi shakllari va navlarini olishga qaratilgandir.

O'simliklar seleksiyasida *in vitro* usullarining yordamchi usul sifatida qo'llanilishi. Genetik uzoq formalarni chatishtirishda ajratilgan

to'qimalar kulturasi: *in vitro* urug'lantirish, embriokultura (alohida ajratilgan murtaqlarni sun'iy oziqa muhitlarda o'stirish), qimmatli duragaylarni *in vitro* gaploidlarini olish, klonli mikroko'paytirish va kriosaqlash kabi usullaridan foydalaniladi.

Agar tabiiy sharoitda tanlangan juftliklar orasida urug'lanish imkoniyati bo'lmasa, *in vitro* sharoitida urug'lantirishni amalga oshirish mumkin: Bu bir necha sabablarga bog'liq bo'lishi mumkin: 1) fiziologik (chang yetilish vaqtining mos kelmasligi,); 2) morfologik (changdon naychasining qisqaligi yoki rivojlanishning turli davrlarida uning o'sishini to'xtatishi va boshqalar). Buni ikki xil yo'l bilan amalga oshirish mumkin: a) tuguncha ustiga yetilgan chang donachalari qo'yilib, sun'iy agarli oziqa muhitlarida o'stiriladi; b) tuguncha yoriladi va urug' kurtak bilan platsenta bo'lagi oziqa muhitiga o'tkaziladi, uning atrofida yoki bevosita murtaq to'qima^{da} yetilgan chang o'stiriladi. Urug' kurtaklar o'lchamiga qarab urug'lanish amalga oshganligini aniqlash mumkin. Urug'langan urug'murtaqlar o'lchami kattalasha boshlaydi.

Shakllangan murtaq tinim davridan o'tmasdan, tezlik bilan o'sadi va duragay avlodni paydo bo'lishiga olib keladi. *in vitro* murtaqlarni urug'lantirish orqali tamakining o'zaro chatishmaydigan *N. tabacum* turi navlari bilan *N. rosulata* va *N. debneyi* yovvoy turlaridan turlararo duragaylar olingan (M.F.Termovskiy va boshqalar 1976), (Shimareva 1986).

Postgam chatishmaslikni yengish. Genetik uzoq formalar chatishtirilganda postgam chatishmaslik yuzaga keladi, natijada puch, unmaydigan urug'lar hosil bo'ladi. Buning sababi murtaq va endospermning rivojlanish vaqtidagi tafovut bo'lishi mumkin. Endospermning rivojlanishi sust bo'lganda murtaq normal o'sishga qodir emas. Bunday hollarda yetilgan puch urug'lardan murtaqlar alohida ajratib olinadi va sun'iy oziqa muhitlarda o'stiriladi.

Murtaqlarni sun'iy oziqa muhitlarda o'stirishga *embriokultura* deb ataladi. Yetilgan murtaqlar fiziologik faol moddalar ishtirokisiz faqat mineral tuzlar va saxaroza tutuvchi oddiy tarkibdagi oziqa muhitlarida o'sadi (masalan, Uayt oziqa muhitida). Uzoq turlar o'zaro chatishtirilganda murtaqlar rivojlanishining buzilishini dastlabki davrdayoq kuzatish mumkin, bunda hujayralar differensiyalanmaydi, o'sishi sekinlashadi. Bunday hollarda murtaq kulturasi o'sishi ikki bosqichdan: murtakning embrional o'sishi, bu vaqtda uning differensiyalanishi davom etadi va yetilayotgan murtakning o'sishidan iborat bo'ladi. Birinchi bosqich

uchun saxaroza miqdori oshirilgan, turli aminokislotalar, vitaminlar va gormonlar qo'shilgan murakkab tarkibli oziqa muhiti kerak bo'ladi.

Hozirgi vaqtda embriokulturalarni seleksiyada qo'llab, donli, boshqoli va boshqa qishloq xo'jalik o'simliklarining uzoq formalaridan duragaylar olish muhim ahamiyat kasb etmoqda, yetilmagan murtaklarni yetiltirish yo'li bilan bug'doy-javdar duragayi chiqishini oshirish, shuningdek, embriokulturalardan bug'doyni ayg'ir qiyoc o'simligi bilan duragaylashda postgam chatishmaslikni yengish uchun foydalanish mumkinligi aniqlangan.

Embriokultura usuli sabzavot ekinlarini o'zaro chatishtirishda tobora keng qo'llanilmoqda. Embriogenezni turli bosqichlaridagi piyozning duragay urug'laridan olingan murtaklarni *in vitro* o'stirish usullari, qisman fertil turlararo duragaylardan murtaklarni o'stirish usullari yo'lga qo'yilgan. Ajratilgan murtaklar kulturasi pomidor va boshqa sabzavot ekinlari seleksiyasida foydalaniladi.

Pomidor murtaklarining *in vitro* o'sishi va rivojlanishi, gormon regulatsiyasi o'rganilgan. Kungaboqarning turlararo duragaylarini olishda yembriokultura usulini qo'llash imkoniyatlari yaratilmoqda, changlanganidan so'ng turli muddatlarda ajratilgan murtaklarni *in vitro* o'sishi va rivojlanishini nazorat qiluvchi omillar o'rganilmoqda.

Alohida ajratilgan murtaklar kulturasi uzoq duragaylar olishda yordamchi usul sifatida nafaqat postgam chatishmaslikni yengishda, shuningdek, xo'jalik ahamiyati qimmatli duragaylarni ko'paytirishda ham qo'llaniladi. Bu holda mikroko'paytirish kallusogenezi, morfogenezi induksiyasi va kallus to'qimasidan regenerant o'simlik olish yo'li bilan boradi. Yetilmagan murtaklarni klonlash texnikasi qimmatli genotipga ega bo'lgan o'simliklarni hayot jarayonining boshlang'ich davrlarida ko'paytirish imkonini beradi. Murtak kulturasi qo'llashning yana bir imkoniyati ulardan hujayralar seleksiyasida foydalanishdir.

Uzoq duragaylarni klonli mikroko'paytirish. Embriokultura to'liq rivojlanmagan murtaklardan duragay o'simlik olish imkonini beradi. Ammo duragaylardan o'simlik olish kamdan-kam hol bo'lib, ko'pincha duragaylar steril bo'ladi, masalan, ba'zan grechixa seleksiyasida, bu o'simlikning chorrahali changlanishi sababli, nodir genotipli avlodlarni yaratish qiyin. Shuning uchun tadqiqotchi olimlar oldida, olingan o'simliklarni saqlash va ko'paytirish vazifasi turadi. Bunda klonli mikroko'paytirish usuli yordam beradi. Duragaylar yashirin kurtaklarining rivojlanishini faollashtirish (steril nihollarni

qalamchalash), adventiv kurtaklardan yoki kallus to'qimalaridan o'simliklarni regeneratsiyalash orqali ko'paytiriladi.

***In vitro* gaploidlar olish va ularni seleksiyada qo'llash.** Gaploid o'simliklarning seleksiyadagi o'mi beqiyosdir. Ularni qo'llash orqali kerakli kombinatsiyani tezroq topish nav yaratish muddatini qisqartiradi. Gaploidlardan barqaror gomozigot tizimlar olishda foydalaniladi. Mutagenез uchun ham gaploidlardan foydalanish qulay, chunki *gaploidlar darajasida retsessiv* mutatsiyalarni tanlash oson kechadi.

Diploid o'simliklarda gomologik xromosomalar allel genlarining ikkalasi ham kamdan-kam hollarda mutatsiyaga uchraydi. Asos odatda geterozigot bo'lib (ikkala geni bilan farq qiladi), bunda faqat dominant genning ta'siri yuzaga chiqadi. Chunki mutatsiya ko'pincha retsessiv bo'lganligi sababli, ularni aniqlash qiyin. Gomologik xromosomalarning faqat bittasini tutuvchi gaploid o'simliklarda esa mutatsiya tez aniqlanadi. Gaploid darajasidagi seleksiya nafaqat dominant, balki retsessiv belgilarni ham to'g'ridan-to'g'ri tanlash imkonini beradi.

Gaploid asoslar sterildir, lekin ularning xromosomalar to'plamini kolxitsin yordamida ikki hissa ko'paytirish va diploid gomozigot o'simliklar olish mumkin. Sun'iy yo'l bilan *in vitro* usullaridan foydalanib, ko'p miqdorda gaploid o'simliklar olishni amalga oshirish mumkin. Ajratilgan to'qimalar kulturasi usulini qo'llash orqali gaploidlar olishning uchta usuli mavjud:

– *androgenез* – alohida ajratilgan changdon va mikrosporani sun'iy oziqa muhitlarda o'stirib gaploid o'simliklar olish.

– *ginogenез* – urug' kurtaklarni sun'iy oziqa muhitlarida o'stirib, gaploid o'simliklar olish.

– *partenogenез*– uzoq formadagi duragaylar chatishtirilganda otalik xromosomalari yo'qolib ketgan duragay murtakdan gaploid o'simliklar olish.

Changdonlarni kulturalash texnologiyasi asosida, bug'doy, makkajo'xori, arpa, kartoshkaning gaploid o'simliklari olingan. Changdonlar kulturasida gaploid o'simliklar paydo qilishning ikki yo'li mavjud: Birinchi – yo'li chang donachalaridan embriogenез yo'li bilan o'simlik hosil qilish. Bunda changdonlar ichida alohida chang donachalaridan embrioidlar paydo bo'ladi. Ular o'sib gaploid o'simliklar hosil qiladi. Ikkinchi yo'li – changdon hujayralaridan kallus to'qimasi olish va keyinchalik kallus hujayralarida morfogenез natijasida o'simlik regeneratsiyalash. Lekin paydo bo'lgan o'simlik har doim ham gaploid bo'lavermaydi va ular ko'pincha ploidliligi bilan farq qiladi. Hozirgacha

ularning poliploidlangan gaploid hujayralardan yoki hujayralar qo'shilishidan hosil bo'lishi oxirigacha aniqlanmagan.

In vitro olingan gaploidlardan nafaqat amaliy seleksiyada, shuningdek, gen muhandisligi ishlarida va hujayralar seleksiyasida ham foydalanish mumkin.

Genetik transformatsiyalash bo'yicha tajribalar uchun, ba'zi hollarda protoplastlarga nisbatan chang donalaridan foydalanish qulaydir.

O'simliklarni kriosaqlash. O'simliklarning somatik hujayralarini suyuq azotda (196°C haroratda) saqlash biotexnologiyada yangi yo'nalish bo'lib, XX asrning 70-yillaridan boshlab keng rivojlana boshladi. Bu texnologiyaning maqsadi *in vitro* kulturasida genofondni saqlash, seleksionerlarni foydali xususiyatlarga ega: genotiplar, duragaylash uchun zarur bo'lgan changlar; noyob nusxadagi urug'lar, shu jumladan, qurg'oqchilikka chidamsizlari bilan ham; har xil turlarga mansub bo'lgan o'simliklarning transformatsiyalangan, mutant, duragay, *in vitro* morfogenezga qodir hujayralari; zigotik va somatik murtaklar va boshqalar bilan har qanday vaqtda ta'minlashdan iboratdir. Hozirgi vaqtda alohida kulturalanayotgan hujayralar, kallus kulturalari, ajratilgan protoplastlar, poya uchlari meristemalarini kriosaqlash usullari yo'lga qo'yilgan.

Kriosaqlashni amalga oshirish uchun o'simlik hujayrasi spetsifikasini (o'ziga xos tomonlarini) hisobga olish zarur. Bunday maqsadlar uchun hujayrasi mayda, mayda vokuolali va tarkibida suvning miqdori kam hujayralar tanlab olinadi. O'simlik hujayralarini muzlatish so'ngra eritish usullari har bir holat uchun alohida ishlab chiqiladi. Kriosaqlashda bir qator qiyinchiliklar yuzaga kelishi mumkin, ulardan biri, muzlatilayotgan hujayra va to'qimalarni osmotik stresslardan va hujayralar ichida muz kristallari hosil bo'lishi natijasida strukturasi mexanik parchalanishidan himoya qilish bilan bog'liq. Shu bilan bir vaqtda hujayralar eritilgandan va rekultivatsiya qilingandan so'ng yashovchanligini ta'minlovchi sharoitni to'g'ri tanlay bilish lozim.

Kriosaqlashda hujayralarni muzlatishdan oldin ishlov berish, krioprotektorlarni qo'llash, muzlatishni ma'lum rejimini $0 - 40^{\circ}\text{C}$ (kamdan-kam hollarda $- 70^{\circ}\text{C}$ gacha) oralig'ida saqlash, shuningdek, obyektlar eritilganda maxsus ehtiyotkorlikni ko'rish kabi umumiy qoidalar belgilangan.

Krikonservatsiya jarayoni hujayralar kulturasini muzlatishga tayyorlashdan boshlanadi. Buning uchun hujayralar kulturasini turli

osmotik faol moddalar: 2–6% konsentratsiyadagi mannit yoki sorbit, aminokislotalar, ulardan o‘simliklar hujayrasidagi suvni o‘ziga tortib olish xususiyati bilan ma’lum bo‘lgan prolin, shuningdek, Y–aminomoy kislova tutuvchi oziqa muhitlarida kulturalanadi.

Krioprotektorlar, ya’ni, hujayralarning mexanik va osmotik stresslar zararlashidan saqlovchi moddalarni tanlash, empirik ravishda, zaharlilik va optimal samarasi tamoyili asosida olib boriladi. Barcha ma’lum krioprotektorlar orasida hujayralarga oson kiruvchilari dimetilsulfoksid (DMSO, 5–10%) gliserin (10–20%), shuningdek, hujayralarga kira olmaydigan yuqori molekular moddalar polivinilpirolidon (PVP), dekstran, polietilenglikol (PEG) (6000 mol. og‘irlikka ega bo‘lgani) ekanligi aniqlangan.

Kriosaqdash uchun muzlatish rejimining to‘g‘ri tanlanishi (0°C dan –40°C) muhim ahamiyatga ega. Hamma obyektlar uchun muzlatishning davomiyligi bir minutda 0–1°C qilib belgilangan va barcha ishlar muzlatish dasturi asosida maxsus qurilmalarda olib boriladi.

Shunday qilib, sekin-asta muzlatish va krioprotektorlarni qo‘llash hujayralarni erkin suvdan holi qilishga yordam beradi va 40°C, ba’zida 60°C haroratda hujayralar batamom suvsizlanadi. Shundan so‘ng o‘simlik materiali solingan ampula muzlatish uchun suyuq azotga solinadi.

Materiallarni suyuq azotda saqlash vaqti chegaralanmagan. Masalan, Rossiya Fanlar Akademiyasi O‘simliklar Fiziologiyasi institutida sabzi to‘qimalari 20 yil, kartoshka meristemasini 10 yildan buyon suyuq azotda saqlanmoqda.

Kriosaqdashning so‘nggi bosqichi, materiallarni eritish va hujayralar tirikligini tekshirishdan iborat. Agar muzlatish asta-sekin amalga oshirilgan bo‘lsa, eritish iloji boricha tezroq bo‘lishi lozim. Buning uchun ampulalar 40–60°C haroratdagi suv hammomida muzning oxirgi kristallari eriguniga qadar qoldiriladi. Kriosaqdashgan hujayralar suyuq azotda saqlanganda o‘zining bo‘linishga, o‘simlik regeneratsiyalashga bo‘lgan qobiliyatini yo‘qotmaydi, ikkilamchi metabolitlar sintez qilishdagi mahsuldorligi kamaymasligi tajribalarda isbotlangan.

Shunday qilib, o‘simlik obyektlarini kriosaqdash bilan bog‘liq bo‘lgan texnologiya rivojlanmoqda va mukammallashmoqda. Shubhasiz, bu texnologiya o‘zining kelajagiga ega, bugungi kunda kriobanklar seleksionerlar ishlarini yengillashtirmoqda, ularga o‘simliklarning turli navlari, yovvoyi turlarini, shuningdek, yo‘qolib borayotgan turlari genlari bilan ishlash imkoniyatlarini yaratib bermoqda.

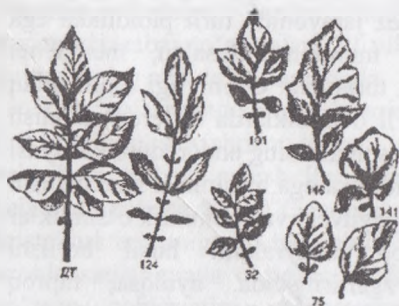
O'simlik hujayralari seleksiyasi. O'simliklar hujayra, to'qima va organlarini *in vitro* kulturalash usuli hujayralar biologiyasi, o'simliklar fiziologiyasi va genetikasi muammolarini hal qilishga xizmat qilib kelmoqda, shu bilan birga, hozirgi kunda yangi biotexnologiyalarni yaratilishida keng qo'llanilmoqda. O'simliklarning hujayra, to'qima va organlarini kulturalash bo'yicha birinchi natijalar olingandan boshlab tadqiqotchilarni sun'iy oziqa muhitlarida o'sayotgan ajratilgan hujayralarda qanday o'zgarishlar yuzaga kelishi va uning sabablari qiziqtirib kelgan. JKallus to'qimalaridan regenerant o'simliklar olish texnikasi ishlab chiqilgandan so'ng, boshlang'ich o'simlikdan fenotipik va genotipik xususiyatlari bilan farq qiluvchi o'simliklarni yangi shakllarini yaratish imkoniyati paydo bo'ldi. Hujayra tizimlari va regenerant-o'simliklar orasidagi bunday xilma-xillik «somaklon» deb ataladi.

Somaklonal o'zgarishlarni genetik tabiati va paydo bo'lish mexanizmi hozirgacha kam o'rganilgan. Ammo somaklon variantlarni paydo bo'lishi boshlang'ich eksplantlar somatik hujayralarining genetik heterogenligi, kulturalashning *in vitro* sharoiti tomonidan indutsirlanuvchi genetik va epigenetik o'zgaruvchanlik, oziqa muhit tarkibi va tuzlar, regulator moddalarning miqdoriga va boshlang'ich eksplantning genotipiga bog'liq.

Normal o'simliklarda differensiyallangan hujayralar turli darajadagi ploidlikka ega bo'ladi, lekin ba'zi turlar uchun faqat diploid hujayralar bo'lishi xarakterlidir. Ammo ontogenez jarayonida turli ploidlikka ega bo'lgan hujayralar paydo bo'lishi mumkin. Masalan, meristema to'qimalarida xromosomal sonining turlardagi doimiyliги omili bilan bir qatorda, deyarli 80% yopiq urug'li o'simliklarda differensiallanish jarayonida somatik hujayralarda xromosomalarning endoreduplikatsiyasi amalga oshishi va turli darajadagi ploidlikka ega to'qimalar shakllanishi tajribalarda isbotlangan. Vegetativ ko'payuvchi va apomiktik o'simliklar uchun yuqori chastotada aneuplod hujayralarni hosil bo'lishi xarakterlidir. O'stirish sharoiti o'zgartirilganda, ayniqsa, tuproq sho'rlanishi, yuqori yoki past harorat, gerbitsidlar yoki pestitsidlar, mineral o'g'itlarning oshirilgan me'yori qo'llanilganda xromosomalarni qayta tashkillanishi kuchayishi natijasida, o'simliklarda ximerlikni va miksploidlikni paydo qilishini kuzatish mumkin. Bu va boshqa omillar anomal mitozlarning paydo bo'lishiga, boshlang'ich to'qimalarda xromosomalar soni bilan farq qiluvchi hujayralarning shakllanishi kabi fiziologik buzilishlarga olib keladi.

Sitologik tadqiqotlar *in vitro* kulturalash sharoiti tufayli indutsirlanuvchi variabellik genetik o'zgarishlar bilan bog'liq ekanligini ko'rsatdi. Fenotipik variantlarning paydo bo'lishining asosiy manbai bo'lib turli kariologik o'zgarishlar va qayta tashkillanishlar xizmat qiladi. Ammo ulardan aynan qaysi biri fenotipik ta'sirga ega ekanligi va barqaror gen mutatsiyasi sifatida avloddan-avlodga berilishini aniqlash ancha qiyin kechadi. Xromosomalardagi mayda bo'linish, duplikatsiya, translokatsiya, inversiya kabi har bir o'zgarish regenerant o'simliklarda va ularning keyingi avlodlarida fenotipik o'zgarishlarni yuzaga keltirishi mumkin. Xromosomalardagi o'zgarishlar ko'pincha meyoza kuzatiladi. Regenerant o'simliklar hujayralarining meyozi tahlil qilinganda, xromosomalardagi translokatsiya, inversiya, subxromatid almashinish, xromosomalarni qisman yo'qolishi kabi qayta tiklanishi jadal ravishda ketayotganing aniqlandi. Bu fenotipik o'zgarishlarga ko'pincha genetik mexanizmlar sabab bo'lishidan dalolat beradi.

Somaklonal o'zgaruvchanlikni molekular darajada yadro DNK sini nozik qayta qurishini baholash orqali kuzatish mumkin. Somaklonal variabellikdan tashqari genomning nasldan-naslga beriluvchi qayta qurilishi bilan bog'liq bo'lgan fenotipik o'zgarishlari (epigenetik) aniqlangan bo'lib, bu o'zgarishlar yangi hujayralarga ham beriladi, lekin regenerant o'simliklarda yoki ularning jinsiy avlodlarida yuzaga chiqmaydi (3.17 rasm).



3.17. rasm. Kartoshkaning *Smena navi* somaklonal variantlarida barg shakllarining o'zgarishi. DT-dastlabki tip. Raqamlar bilan turli tizimlar nomlari belgilangan.

Somaklonlarni turli-tumanligi boshlang'ich genotipga, eksplantning tabiati va rivojlanish bosqichlariga bog'liq. Masalan, turli boshqilalarda somaklonlar orasidagi o'zgaruvchanlik darajasi ancha farq qiladi: bug'doyda ($2n=6x=42$) o'rganilgan 192 ta regenerant o'simliklardan 29% aneuploid, geksoyploid suli ($2n=6x=42$) da ham shunday chastotadagi sitogenetik o'zgarishlar aniqlangan, makkajo'xori uchun esa aneuploid o'simliklar paydo bo'lish chastotasi 2–3% dan oshmagan.

Poliploid va aneuploidlar hosil bo'lishini boshqa o'simliklarda masalan, kartoshkada ham kuzatish mumkin. Yangi variantlar hosil bo'lish ehtimoli kartoshkaning madaniylashtirilgan digaploid tizimlariga nisbatan yovvoyi turlarida ancha past.

Boshlang'ich eksplant tiplari ham miqdor va sifat belgilari bilan farqlanuvchi somaklon variantlarning paydo bo'lishiga ta'sir ko'rsatadi. Masalan, kartoshkaning birlamchi eksplanti sifatida barg mezofil to'qimalaridan foydalanilganda, 12% holatlarda anomal o'simliklar paydo bo'ladi, gultoji barglar yoki to'pgullar o'qidan fenotipik o'zgarishlarga uchragan o'simliklarning shakllanishi normaga nisbatan 50% ini tashkil etadi.

Kulturalash sharoiti va ko'pincha oziqa muhitdagi gormon balansining buzilishi kulturalanayotgan hujayralarning genetik xilma-xilligini yuzaga kelishi so'ng hujayra siklining ayniqsa mitoz jarayoni buzilishining asosiy sababchisidir. Hujayralar populyatsiyalarini sitogenetik strukturasi ko'pincha oziqa muhitlar tarkibidagi fitogormonlar nisbatiga ko'p jihatdan bog'liq bo'ladi. Ammo hujayralar populyatsiyasining morfologik va sitogenetik turli sifatli oziqa muhitining alohida komponentlariga: ba'zi mineral tuzlar, saxaroza yoki uglerod manbai, vitaminlar, o'simlik ekstraktlari, shuningdek, o'stirish tartibiga ham bog'liq. Hujayralarni *in vitro* uzoq vaqt kulturalash ham samoklonlarni genetik xilma-xilligining oshishiga sabab bo'ladi. Shu bilan birga ba'zi o'simliklarda aniqlanishicha, hujayralar kulturasida turli ploiddlikdagi hujayralar ishtirok etsa ham regeneratsiyalangan o'simliklar ko'pincha diploid bo'ladi. Bu holatni, kulturalash jarayonida normal morfologiyaga ega bo'lgan va birinchi navbatda regeneratsiyalangan o'simliklar tanlab olingani sababli deb tushunish mumkin.

Morfogenezning turli-tiplari somatik embriogenez yoki organogenez hamda genetik o'zgarishlarda va o'simlik fenotipiga turlicha ta'sir etadi. Somatik embriogenezda hujayra o'simlik siklini o'tash vaqti organogeneziga nisbatan juda qisqa, shuning uchun olinayotgan material va boshlang'ich genotipni o'xshashlik darajasi ancha yuqori ekanligi tajribalarda isbotlangan.

Somaklonal variantlarning boshlang'ich o'simliklaridan biokimyoviy, miqdor, sifat belgilari bilan shuningdek, sitogenetik xarakteristikasi bilan farqlanuvchi shakllari qishloq xo'jalik amaliyotida amaliy foydalanilmoqda. Masalan, Rossiya olimlari (V.V.Sidorov va boshqalar 1984, 1985) kartoshkani Zarevo navi samoklonlarini olishga muvaffaq bo'lganlar. Bu samoklonlar hosildorligi, kasalliklarga chidam-

liligi, tuganaklarida protein va kraxmal miqdorining yuqoriligi bilan ajralib turadi. Shuningdek, nasldan-naslga beriladigan muhim xususiyatlari tuganaklardan ko'paytirilganda 3 yil davomida saqlanib qoladi. Tamaki o'simligi kallus to'qimalaridan olingan somaklonlar tamaki mozaikasi virusiga chidamli, qand lavlagini yangi navi hosildorligi, kasalliklarga, ayniqsa Piji kasalligiga chidamligi bilan karakterlanadi.

Hozirgi vaqtda to'qimalar kulturasi usulidan nafaqat oziqaviy ekinlar, shuningdek, texnik ekinlar, manzarali o'simliklar va dorivor o'simliklar seleksiyasida ham keng foydalanilmoqda.

Shunday qilib, olingan ijobiy natijalar somaklonal variantlarning turli usullaridan seleksiya ishlari amaliyotida yanada kengroq foydalanish va mavjud tizim va navlarni yaxshilash, yetishmaydigan xususiyatlarni kiritishda somaklonal o'zgaruvchanlikni qo'llash zarurligini taqazo etadi.

Hujayra darajasidagi o'simliklar seleksiyasi. Hujayralar seleksiyasini somaklonlar olish bilan birgalikda qo'llash muhim ahamiyatga ega. *In vitro* kulturasi qishloq xo'jaligi uchun texnologiyalar yaratish—somaklonal variatsiyalar yoki indutsirlangan mutatsiyalar asosida qattiq selektiv sharoitda foydali xususiyatlarga ega hujayralarni tanlash imkonini beradi.

Hujayralar seleksiyasini amalga oshirish uchun quyidagi usullardan foydalaniladi:

– to'g'ri (pozitiv) seleksiya, bunda ma'lum tipdagi mutant hujayralargina yashab ketadi;

– noto'g'ri (negativ) seleksiya, bo'linayotgan chidamsiz hujayralarning nobud bo'lishiga asoslangan, lekin ulardagi mutasion o'zgaruvchanlik qo'shimcha aniqlashni talab etadi;

– umumiy seleksiya, bunda barcha hujayra klonlari individual ravishda sinovdan o'tkaziladi;

– vizual seleksiya va noselektiv tanlash, tizim varianti barcha hujayralar populyatsiyasi orasidan vizual ravishda yoki biokimyoviy usullardan (xromotografiya, radioimmunli analiz, mikrospektrofotometriya va boshq.) foydalangan holda ajratilganda ishlatiladi.

Hujayralar seleksiyasining yuqorida bayon etilgan usullaridan to'g'ri seleksiya keng tarqalgan usul bo'lib, gerbitsidlar, antibiotiklar, toksinlar, og'ir metallar, tuzlar va boshqa antimetabolitlarga chidamli regenerant o'simliklarni ajratishda qo'llaniladi.

In vitro sharoitida o'simliklar hujayra seleksiyasi bo'yicha izlanishlar olib borishda obyekt sifatida kallus, suspenziya kulturalari yoki ajratilgan protoplastlardan foydalaniladi. Obyekt o'simlik turlari, qo'llaniladigan texnologiyalarning mavjudligi, shuningdek, tadqiqot maqsadlariga qarab tanlanadi.

Kallus to'qimasi oson olinadigan material bo'lib, ko'pincha hujayralar seleksiyasida qo'llaniladi. Qoida bo'yicha, tadqiqotlar birlamchi yoki ko'chirib o'tkazilgan, subkulturalash davomida o'zining regeneratsiyalanish xususiyatini yo'qotmaydigan kallus to'qimalarida olib boriladi. Ammo, kallus to'qimasi bilan ish olib borgan tadqiqotchilar, bu obyekt to'qimalarining o'sish tezligining pastligi, selektiv omil sifatida qo'llaniladigan zaharli moddalarning barcha hujayralarga bir xil ta'sir etmasligi, shuningdek, kallus to'qimalarining qayta kulturalash jarayonida regeneratsiyalanish qobiliyatining yo'qotishi kabi kamchiliklari mavjudligi ta'kidlab o'tgan. Shubhasiz, seleksiyani yakka hujayralar darajasi (suspenziya kulturasi, protoplastlar) da o'tkazish maqsadga muvofiqdir. Lekin ko'pchilik o'simlik turlari uchun yakka hujayralarni kulturalashning samarali texnologiyalari va usullari hali yaratilmagan. Shuning uchun, kallus to'qimalari yuqorida keltirilgan kamchiliklarga ega bo'lsa-da, ba'zi o'simlik turlari uchun seleksiyaning bu usuli hozircha yagona bo'lib qolmoqda. Chidamli, barqaror tizimlarni olish uzoq jarayondir. Qoidaga asosan, seleksiya ajratilgan o'simlik eksplantlaridan yetarli miqdorda kallus massasi olishdan boshlanadi, so'ng selektiv omillar miqdorini aniqlash uchun foydalaniladi, bunda bir vaqtning o'zida kallus to'qimasining o'sishi, shu bilan birga kallus koloniyalarining bir qism nobud bo'lishi kuzatiladi. Selektiv omillarning tanlangan miqdori optimal deb topiladi va keyingi tajribalarda foydalaniladi. Shunga qaramay, selektiv omillar tutuvchi oziqa muhitda olingan birlamchi hujayralar koloniyasi fiziologik moslashishlari natijasida yoki hujayralarning ma'lum holatdagi differensiallanishidan genetik barqaror bo'lmasligi mumkin, u holda selektiv kulturada 4-6 marta subkulturalash orqali olingan klonlarning barqarorligi va bardoshliligi tekshiriladi. So'ng bu klonlar selektiv omillar qo'shilmagan oziqa muhitga o'tkaziladi va yana 2-3 marta qayta ekiladi (subkulturalanadi), faqat selektiv sharoitga qaytgandan so'ng barqaror klonlar tanlab olinadi, ulardan regenerant - o'simlik olishga harakat qilinadi. Ammo, tuzlarga, kasallik chaqiruvchi zamburug'lardan ajratilgan toksinlarga chidamli o'simliklarning olish bo'yicha olib borilgan izlanishlarning ko'rsatishicha, hujayralarni va o'simliklarning

chidamliligi o'rganilayotgan selektiv omillarga mos kelishi va mos kelmasligi ham mumkin ekan (*in vitro* o'simlik va hujayralarning past haroratga, gerbitsidga, alyuminiyning yuqori konsentratsiyasiga va boshqa omillarga chidamliligi orasidagi aloqadorligi aniqlangan).

Yangi seleksion materiallar olish maqsadida kallusni kulturalash ko'pgina o'simliklar bug'doy, arpa, sholi, makkajo'xori, shuningdek, kartoshka, pomidor, beda va kamdan-kam hollarda daraxtlar bilan shunday ishlar olib borilgan. Hozirda bug'doy, sholi, kartoshkani NaCl va Na₂SO₄ ga chidamli o'simliklarini olish bo'yicha yaxshi natijalarga erishilgan. Oziqa muhiti tarkibiga aminokislotaning zaharli analogini kiritish orqali sabzining metioninni 20 marta ko'p, triptofanni 30 marta ko'p, lizinni 5 marta ko'p sintezlovchi hujayralari, undan yetuk o'simliklar olingan. Kartoshkaning esa halqasimon chirish kasalligiga bardoshli shakli olingan. Daraxtsimon o'simliklarda olib borilayotgan ishlar bo'yicha hozircha ijobiy natijalar kam, lekin izlanish davom etmoqda. Shunday qilib, seleksiya maqsadlari uchun kallus kulturasiidan foydalanish muhim xususiyatlarga ega bo'lib, insoniyat uchun zarur bo'lgan yangi o'simlik shakllarini yaratishda keng imkoniyatlar ochmoqda.

Yuqorida sanab o'tilgan obyektlar (kallusli suspenziya kulturasi, ajratilgan protoplastlar) bilan birga seleksiya uchun boshlang'ich material sifatida somatik yoki androgen embroidlar kulturasi, barg segmentlari yoki o'simlikni turli meristematik va poya qismlari kabi organogen eksplantlar, shuningdek, ajratilgan murtaqlar kulturasiidan foydalanish mumkin. Masalan, arpaning urug'idan murtakni *in vitro* kulturalash va seleksiyalash yo'li bilan aminokislotalar analoglariga chidamli va oqsil tarkibi boyitilgan o'simligi olindi. Kartoshka uchun nihollar va qalamchalarni mutagenlar bilan ishlov berish orqali xlorofill tanqisligi va antibiotiklarga chidamli ximer mutantlari olishning samarali usullari ishlab chiqildi.

Shunday qilib, seleksiyaning ana'anaviy usullariga nisbatan, hujayra darajasidagi seleksiyani amalga oshirish orqali o'simliklarning yangi shakllarini 2-4 marta tezroq yaratish mumkin.

2 Hujayralar muhandisligi usullari yordamida abiotik va biotik stress omillarga chidamli regenerant o'simliklar olish.

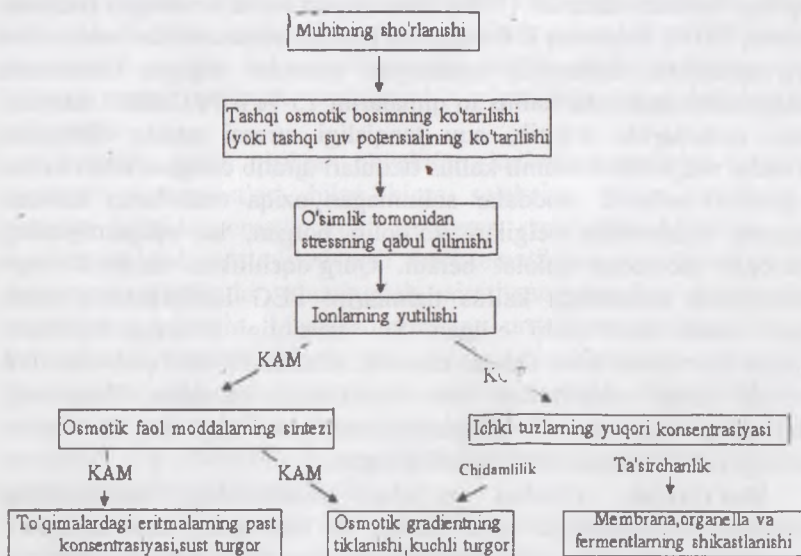
Qurg'oqchilik. Tuproqdagi suv tanqisligi boshqa barcha omillar bilan birgalikda olingandagiga nisbatan, o'simliklarga ko'proq zarar keltiradi. Qurg'oqchilik tuproqda va o'simliklarda suv tanqisligini keltirib chiqaradi va ularda suv stressini chaqiradi «qurg'oqchilik»

iborasi tuproqning suv stressiga nisbatan qo'llanilsa ham, issiqlikning o'simlikka ta'sirini ham o'z ichiga oladi. Suv tanqisligi orqali yuzaga kelgan stress qurg'oqchilik bo'lganda birlamchi, shuningdek, past harorat, issiqlik yoki tuzlar ta'siri ikkilamchi bo'ladi. Qurg'oqchilikdan yuzaga kelgan stress natijasida o'simliklarda fermentlar faolligi buzilishi, biokimyoviy yo'llari ishdan chiqishi, zaharli moddalarning hujayralarda yig'ilishi, ionlarni oqib chiqib ketishi, oziqalar tanqisligi va boshqa sabablar oqibatida o'simliklarning zararlanishiga olib keladi.

In vitro qurg'oqchilik stress samarasini yaratish uchun, tashqi suv potensialini kamaytiruvchi osmotik faol moddalar qo'shilgan oziqa muhitlardan, qurg'oqchilikka chidamlilik seleksiyasi uchun esa selektiv agent sifatida, tarkibida hujayraga kira olmaydigan osmotik faol modda tutuvchi polietilenglikol (PEG) moddalaridan foydalaniladi. PEG yordamida stressga chidamliligi oshirilgan tamaki tizimlari ajratilgani haqidagi birinchi xabarlar 1979-yildan paydo bo'la boshlagan (Heyser, Nabors, 1979). Keyinroq R.Bressan va boshqa hammualliflar tomonidan qurg'oqchilikka chidamlilik seleksiyasi pomidor hujayra tizimlarida amalga oshirilgan, ular kallus to'qimalarini 15 % li PEG 6000 tutuvchi oziqa muhitlarida o'stirib, suv tanqisligi stressi paydo qilishgan, tajribalar natijasida chidamli kallus tizimlari ajratib olingan, lekin kallus to'qimalari osmotik moddalar solinmagan, oziqa muhitlarda kultura-langanda chidamlilik belgilari yo'qolib borgan, bu adaptatsiyaning fiziologik tabiatidan dalolat beradi. Qurg'oqchilikka chidamli soya genotiplarini aniqlashda kallus tizimlarini PEG ishtirokida o'stirish orqali sinash usuli taklif etilgan. Suv tansiqisligi stressiga bardoshli hujayra tizimlarini olish uchun, osmotik sifatida 99-880 mM mannitol tutuvchi oziqa muhitlardan ham foydalanish mumkin. Yuqoridagi holatlardagi kabi osmotik adaptatsiya bo'lgan hujayralar sho'rlanish stressiga ham bardoshli ekanligi aniqlangan.

Sho'rlanish. Qishloq xo'jaligi ekinlarining hosildorligini chegaralovchi omillardan yana bittasi, bu tuproqning sho'rlanishidir. Sayyoramizning 900 mln.ga.ga yaqin maydoni yuqori darajada sho'rlangan va sho'rlanish miqdori yildan-yilga ortib bormoqda. Ayniqsa, sun'iy sug'oriladigan maydonlarda tuproqdagi tuz miqdorining ortishi barchani tashvishiga solmoqda. Bu muammoni hal etish, sug'orishning to'g'ri usullarini topish, sug'orish uchun tuz miqdorining kamaytirilgan yoki umuman tuzlardan xoli suvlardan foydalanish kabi ratsional agrotexnik usullarni ishlab chiqishni taqozo etadi. Shu bilan birga, o'simliklar biotexnologiyasi usullaridan foydalanib, qishloq

xo'jaligi uchun muhim bo'lgan o'simliklarning somatik hujayralari darajasida seleksiya qilib, protoplastlarni bir-biriga qo'shib yoki rekombinant DNK molekulari texnikasidan foydalanib, genlarni ko'chirib o'tkazish orqali sho'rlanishga chidamli genotiplarini yaratish mumkin. Sho'rlanishning zararli ta'siri kompleks xarakterga ega bo'lib, hujayraning osmotik balansi buzilishiga, natriy va xlor ionlarining hujayradagi fiziologik va biokimyoviy jarayonlarga zaharli ta'sir etishiga sabab bo'ladi. Bunday ta'sir natijasida, hujayraning turgor holati buziladi, membranalar funksiyasi va fermentlar faolligi pasayadi, fotosintez to'xtaydi, ionlarning selektiv transporti buzilishi natijasida alohida ionlarning tanqisligi yuzaga keladi, tolerantlikni ushlab turishi uchun ko'p miqdorda energiya sarflanadi. O'simliklarning tashqi muhitda tuzlar miqdorining ortishiga javob reaksiyasi 3.18-rasmda berilgan.



3.18-rasm O'simlikning sho'rlanishga javob reaksiyasining asosiy tiplari.

Ko'pchilik olimlar tomonidan olingan tadqiqot natijalarining ko'rsatishicha, *in vitro* kulturalanayotgan hujayra va o'simliklar uchun sho'rlanishga chidamlilik hujayra mexanizmi bir xil ekan va hujayra darajasidagi seleksiyalash sho'rlanishga chidamli o'simlik shakllarini

yaratishning aniq istiqbolini belgilaydi. Ko'pchilik seleksion dasturlar natriy xlor ishtirok etuvchi oziqa muhitlarida kulturalanayotgan *in vitro* hujayralar tizimini ajratishga yo'naltirilgan. Tamakining gaploid kallus hujayralaridan, ularni muntazam ravishda tuz miqdori oshirib borilgan oziqa muhitda o'stirish orqali, 1% NaCl ishtirokida o'sa oladigan hujayralar tizimi olingan. M.Nabor hammualliflar bilan birgalikda tamaki suspenzion kulturasiga mutagen (0,15 % li EMS da 60 da) bilan ishlov berib, bir bosqichli seleksiya yo'li bilan 0,5 % li NaCl ga bardoshli hujayralar tizimini ajratib oldi. Olingan regenerantlarning sho'rlanishiga chidamliligi butun o'simlik darajasida aks etishi aniqlangan.

Rossiya olimlari tomonidan qattiq va yumshoq bug'doyning sho'rlanishga chidamli o'simliklarini olish bo'yicha olib borgan ilmiy tadqiqot ishlarida birlamchi eksplant sifatida ajratilgan yetilmagan murtaklari, shuningdek, gaploidlaridan foydalanilgan. Hujayralar seleksiyasi 0,3% NaCl va Na₂SO₄ tutuvchi oziqa muhitlarida kulturalanayotgan kallus to'qimarini 5–6 marta qayta ekish orqali o'tkazilgan. Tadqiqotlar natijasida sho'rlanishlikka bardoshli tizimlar va regenerant o'simliklar olingan. Bu regenerat o'simliklar urug'idan olingan birinchi avlodi sekinlashtirilgan flouoessensiyali qayd qilish usuli orqali sinalganda, ba'zi regenerant o'simliklar fotosintez apparatining sho'rga chidamliligi bo'yicha boshlang'ich navga nisbatan yuqori turishi aniqlangan (Nikiforova D 1993,1994). Natriy xloridning turli konsentratsiyalariga chidamli hujayralar tizimini ajratish bo'yicha boshqa misollar 3.4-jadvalda keltirilgan.

Hujayralar kulturasida orqali olingan sho'rga chidamli hujayra tizimlari va o'simliklar

3.4-jadval

Seleksiya uchun boshlang'ich material (ploidligi)	NaCl miqdori	Hujayralar seleksiyasi natijalari
<i>Medicago sativa</i> (2n)	0,17 M	Kallus
<i>Medicago sativa</i> (2n=2x, 2n=4x)	0,08-0,17M	O'simlik
<i>Citrus sinensis</i> (2n)	0,08-0,17M	Kallus
<i>Nicotiana tabacum</i> (2n)	0,17M	Suspenziya, o'simlik
<i>Datura innoxia</i> (2n)	0,17-0,34M	Kallus, o'simlik
<i>Pennisetum americanum</i>	0,19M	Embriogen suspenziya

(2n)		
<i>Ipomea batatas</i> (2n)	0,17M	Suspenziya
<i>Crepis capillaris</i> (2n)	0,12M	Suspenziya
<i>Oryza sativa</i> (2n)	0,17M	Embriogen kallus, o'simlik

O'simliklarni sho'rga chidamliligini osmotik stressga nisbatan seleksiyalash orqali ham oshirish mumkin. Masalan, polietilenglikol yordamida indutsirlangan suv stressiga moslashgan pomidor hujayralarining NaCl ni oshirilgan miqdoriga ham bardoshliligi aniqlangan. Sho'rlanishning yuqori miqdoriga tolerantlik xususiyatini, osmotik modda sifatida 99.870 mM mannitol tutuvchi oziqa muhitda o'stirilgan sabzi hujayralar tizimi ham namoyon qiladi. Bu natijalardan shunday xulosaga kelish mumkinki, osmotik stresslarga moslashgan hujayralar orasidan sho'rlanishga chidamli variantlarni ham tanlash mumkin ekan.

Metallarga chidamli o'simliklar tizimlarini olish. O'simlikka zaharli ta'sir ko'rsatuvchi metallarning tuproqda ko'p miqdorda uchrashi yoki o'simlik tomonidan oziqa modda sifatida o'zlashtiriluvchi ionlarning tanqisligi o'simliklardagi ionlar (minerallar) stressi sababi bo'lishi ham mumkin. Tuproqdagi og'ir metallar ionlarining nafaqat o'simliklarga, shuningdek, hayvonlarga ta'siri olimlarning diqqatini tortmoqda. Rux, kadmiy, mis, simob kabi tuproqda ko'p uchraydigan og'ir metallar o'simliklarda stress holatini paydo qiladi. O'simliklarning zaharli ionlarga chidamlilik mexanizmi, plazmolemma o'tkazuvchanligining kamayishi, ionlarning organik moddalar bilan bog'lanishi natijasidagi zaharsizlanishi (detoksikatsiya), vakuolalar kompartmentligi, shuningdek, ularning nishoni bo'lgan fermentlar strukturasi o'zgarishini o'z ichiga oladi.

Ionlar stressiga chidamli o'simlik hujayralari seleksiyasi bo'yicha ilmiy izlanishlar nisbatan yaqinda boshlangan bo'lsa ham, lekin ijobiy natijalar olingan. Bunday tajribalarda to'g'ridan-to'g'ri seleksiyalash usulidan foydalaniladi va bunda selektiv agent sifatida tuzlarning zaharli miqdori qo'llaniladi. Ammo, *in vitro* sharoitida tabiatdagi kabi stress selektiv sharoitni yaratish ancha qiyin. Tabiiy sharoitda ionlarning zaharli ta'siridan tashqari yana bir qancha boshqa omillar: tuproqda boshqa zaharli moddalarning ishtirok etishi, tuproqdagi kislotali muhitning ham ta'siri bo'ladi. Hujayra darajasidagi seleksiyani amalga oshirish uchun, tabiiy stress sharoitiga xos bo'lgan barcha moddalar kiritilmasa ham, chidamlilik xususiyati ekspressiyasini ta'minlaydigan

va kerakli variantlarni tanlab olishga imkon beradigan moddalar bo'lishi zarur.

In vitro to'g'ridan-to'g'ri seleksiyalash yo'li bilan, petuniyaning simobga, makkajo'xorining alyuminiyga, sabzining alyuminiy va marganetsga; bangidevonaning kadmiyga chidamli hujayra tizimlari hujayralar suspenziyasidan tanlab olingan. Zig'irning kadmiy nitrat tuzlariga chidamli hujayralar tizimi, regenerant o'simligi olingan va bu tuzning o'simlikka ta'siri o'rganilgan. Tajribalardan aniqlanishicha, tuproqdagi kadmiy o'simlikning, poya va ildiz qismini o'sishiga salbiy ta'sir etar ekan

Keskin harorat. O'simliklardagi stress omillarga ma'lum darajada yuqori yoki past harorat sabab bo'lishi mumkin. Hujayralar seleksiyasi bo'yicha bunday stresslarga chidamlilik bo'yicha qilingan ishlar unchalik ko'p emas. Adabiyotlarda issiqlik shokiga chidamlilik bo'yicha hujayralar seleksiyasi haqida ham ma'lumotlar kam. Ammo, hujayralar seleksiyasi bo'yicha past harorat omillariga chidamlilikka oid ma'lumotlar yetarli darajada.

O'simliklarda sovuq stresslar katta diapazondagi 10–15°C dan 0°Cgacha haroratda yuzaga keladi. Bunday stressga tropik va subtropik zonadagi o'simliklari ko'proq uchraydi. O'simliklarni sovuq haroratga bardoshliligi membrana lipidlarining yuqori nisbatda to'yinmagan yog' kislotalar yoki sterollarning yuqori miqdorda tutishi sababli suyuq holatda qolishi bilan bog'liq. O'simliklarning muzlashi (0°C dan past haroratda) hujayralararo muzlar paydo bo'lishi bilan bog'liq. Salbiy ta'sir etadigan harorat ta'siridan yuzaga kelgan buzilishni antifriz moddalar akkumlatsiyasi yordamida suvsizlanish va muzlashga nisbatan xususiyatini oshirish, bog'lanmagan suvlar miqdorini kamaytirish orqali bartaraf etish mumkin. Adabiyotlardan olingan ma'lumotlarga ko'ra, o'simliklarda katta miqdorda zaxira oziqa moddalar, ayniqsa, sovuqqa bardoshli daraxtlarda yog'lar miqdori, kamroq chidamlilarida esa qand moddalari to'planadi.

Kulturalanayotgan o'simlik hujayralaridan past haroratga chidamli hujayralar tizimini ajratib olish bo'yicha o'tkazilgan tajribalar haqidagi birinchi ma'lumotlar 1976-yillarda paydo bo'ldi (*Dix, Street, 1976*). Bu ishda tamaki va qalampir suspenziya kulturasi agarli muhitga ekildi va 21 kun davomida -3 va 4°C haroratda ushlab turildi. Tanlab olingan klonlar orasidan sovuq haroratga chidamli klonlar topildi.

Bu sohada olib borilgan izlanishlar natijasiga asoslanib, o'simliklar *in vitro* seleksiyasi usulini sovuqqa chidamlilikni amalga oshirishda

qo'llash haqida gapirishga hali erta. Lekin *in vitro* induksiyalash orqali genetik xilma-xillikni topishda qo'llash yo'li bilan chidamliroq variantlarni tanlash mumkin.

O'simliklarning kasalliklarga chidamliligini amalga oshirish. Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishni oshirish uchun o'simliklarni kasalliklar va zararkunandalardan himoya qilish iqtisodiy ahamiyat kasb etadi. Hozirgi kunda hujayralar seleksiyasidan chidamlilikni oshirishda foydalanishning real istiqbollari ko'rib chiqilmoqda. Agar dala sharoitida bir yilda kartoshkaning 50 dan 100 minggacha urug'ini kasalliklarga chidamliligini baholash mumkin bo'lsa, *in vitro* sharoitida esa 9 gr kartoshka bargidan olingan 20 mln. ta protoplastlarini bir urinishda sinash mumkin. Hujayralar seleksiyasi uchun selektiv agent sifatida patotoksinlar, kultural filtratlar va to'g'ridan-to'g'ri patogenlardan foydalanish mumkin.

O'simliklarni patogenlarga o'ta sezuvchanligi asosida yotuvchi asosiy himoya mexanizmlaridan biri de navo, ya'ni o'simliklar tomonidan «fitoaleksinlar» deb ataluvchi antimikrob moddalarning sintezlanishi hisoblanadi. O'simliklarni himoya reaksiyasi, masalan, fitoaleksinlar mahsuloti, patogenez bilan bog'liq bo'lgan oqsillarning hosil bo'lishi, lignifikatsiya, «elisatorlar» deb ataluvchi qator biotik va abiotik tabiatga ega moddalar tomonidan induksirlanishi mumkin. Abiotik elisatorlar simob ionlari, poliakril va salitsil kislotalar bo'lishi mumkin. Biotik elisatorlarga esa zamburug'larning hujayra devori komponentlari, kultural filtrlarda ishtirok etuvchi moddalarni kiritish mumkin.

Kasalliklarga chidamlilikni *in vitro* seleksiyasi uchun eng sodd yondashish bu hujayralarni bevosita patogen ishtirok etayotgan oziqa muhitlarda kulturalashdir. Bu yondashuv, ayniqsa, patogenezga javobgar zaharli moddalar haqida kam ma'lumotga ega bo'linganda yoki patogen toksin moddalar ajratib chiqarilmagan hollarda foydalidir. Ammo, seleksiyaning bu usuli tajribalar o'tkazishda ba'zi qiyinchiliklarni tug'diradi. Seleksiyaning to'g'ri sxemasini tuzish uchun patogenning yashash sikli haqida bilimga ega bo'lish zarur. Ko'pchilik patogenlar, masalan, zamburug'larning yashash davri turli bosqichlardan iborat, spora yetilishining bir necha bosqichi, bunga bog'liq holda yashovchanligi, o'sishi va epidemiologiyasi o'zgaradi. Shuning uchun spora etilish davrini hisobga olish zarur, infeksiya bilan zaharlash uchun yorug'lik va harorat, ma'lum darajada namlik, pH, oziqa moddalarning

ishtirok etishi yoki tanqisligi va sporaning o'sishi uchun zarur bo'lgan boshqa narsalarni hisobga olish kerak.

O'simlikni patogenlar ishtirok etuvchi oziqa muhitlarda kulturalash ishlari 1960-yilning o'rtalaridan boshlangan va patogenlar ta'siriga chidamlilikni *in vivo* va *in vitro* o'rganishga yo'naltirilgan. Patogenlarga chidamlilik bo'yicha hujayralar seleksiyasi olib borilgan tajribalar har doim ham muvaffaqiyatli chiqmagan. Ammo shunday bo'lsa-da, bunday tajribalar natijasida Xitoy olimlari tomonidan sholini pirikulyariozga chidamli, hosildor ikkita yangi navi yaratilgan. Ularning seleksiyasi ajratilgan changdonlar kulturasida o'tkazilgan, selektiv omil sifatida zamburug'larning o'nta tizimi aralashmasi qo'llanilgan. Hozirgi paytda yangi navlar Xitoyda 140 ming ga yerni band qilib, har gektaridan o'rtacha 7.5 ming kilogrammgacha hosil olinadi.

Kasalliklarga chidamlilik bo'yicha seleksiyaning istiqbolli usullaridan biri, selektiv agent sifatida patogenlar tomonidan sintezlanuvchi patotoksinlardan foydalanishga asoslangan. Toksinlarning o'simliklar kasalliklaridagi rolini aniqlash qiyin. Ma'lumki, faqat ozgina miqdordagi patotoksinlar kasallikning boshlanishida va rivojlanishida muhim rolni o'ynaydi. Ta'siriga qarab patotoksinlarni uchta guruhga bo'lish mumkin. Birinchi guruhga kasallikni belgilovchi emas, xo'jayinga nisbatan nospetsifik zaharli ta'sir xususiyatiga ega va ko'pchilik o'simlik turlari uchun zaharli bo'lgan toksinlar kiradi. Tamaki va ryabuxani bakterial qo'zg'atuvchisiga *Pseudomonas cyringae pv. tabaci* mahsuloti tabtoksin misol bo'lib xizmat qiladi. Ikkinchi guruh patotoksinlari ham o'simliklarga nisbatan patogen kabi shunday spetsifiklikni namoyon qiladi, lekin ular ham o'simlik kasalligining rivojlanishiga javobgar emas. Bu kategoriyaga T-toksin (yoki HmT) Drechslera maydis (*Helminthosporum maydis*); makkajo'xorining gelminotosporoz kasalligi qo'zg'atuvchisi kiradi. Uchinchi guruh patotoksinlari xo'jayinga nisbatan spetsifik va kasalliklarni tipik belgilarini chaqiradi. Masalan, sulini gelmintosporoz kasalligini qo'zgatuvchisi *viktorin* (HV-toksin) ildiz chirishi va barglarning dog'lanishini chaqiradi.

Chidamlilik bo'yicha hujayra seleksiyasi sxemasi qonuniyati toksinlarning ta'sir etish mexanizmi bilan bevosita bog'liq. Patogenlarning ba'zi turlari hujayralarni zararlaydi, so'ng toksin ajratadi, boshqalari esa oldin toksin ajratadi va hujayrani nobud qiladi, so'ng ularning parchalangan mahsulotlaridan oziqa sifatida foydalanadi. Tabiiyki, birinchi holatda *in vitro* va *in vivo* chidamlilik orasida

bog'liqlik bo'lmaydi, ikkinchi holat bo'yicha hujayralar seleksiyasini amalga oshirish maqsadga muvofiqdir. Birinchi marta *in vitro* sharoitida kasalliklarga chidamli o'simliklarni olish P.Karlson (1973-yil) tomonidan amalga oshirilgan, u tamakining metioninsulfosimin (tabotoksin analogi)ga nisbatan hujayralarning tizimini, so'ng patogenga chidamliligi yuqori bo'lgan o'simliklarni olgan. Patotoksinlarga chidamlilik bo'yicha hujayra seleksiyasida o'tkazilgan ilmiy izlanishlarning ba'zi natijalari 3.5-jadvalda keltirilgan.

Patotoksinlarga chidamli hujayra seleksiyasiga oid misollar
(V.A.Sidorov bo'yicha, 1990 y)

3.5-jadval

Patogen	Xo'jayin o'simlik	Chidamli material
<i>Leptosphaeria maculans</i>	Brassica napus	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
<i>Alternaria alternata</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
<i>Alternaria solani</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	Hujayra tizimlari
<i>Drechslera sativum</i>	<i>Triticum aestivum</i>	Hujayra tizimlari
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolica</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar
<i>Helminthosporium sacchari</i>	<i>Saccharum officinarum</i>	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar olingan avlodlar
<i>Fusarium coeruleum</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar
<i>Helminthosporium maydis</i>	<i>Zea mays</i>	Hujayra tizimlari

Ba'zi patogenlarning patotoksinlarini toza holda ajratilmagan yoki to'liq o'rganilmagan, chidamlilik bo'yicha seleksiyani o'tkazish uchun kultural filtratlardan foydalanish ham maqsadga muvofiqdir. Ularni qo'llashning zaruriy dastlabki sharti ularning kasallikdagi rolini

aniqlash, o'simlik va *in vitro* kulturalanayotgan hujayraning patogenga chidamliligi o'rtasidagi korrelatsiyani o'rganish hisoblanadi. 1980-yilda. M.Benke fraksiyalarga ajratilmagan *Phytophthora* infestans kultural suyuqligini kartoshka seleksiyasida qo'llab yaxshi natijalar olgan. Chidamli o'simliklarning o'sishiga asos bo'luvchi klonlar ajratgan. Barglariga *Phytophthora* sporalari bilan mexanik tarzda inokulatsiya qilingan 34 ta o'simlikdan uchtasida nazoratga nisbatan kamroq zararlanish o'choqlari aniqlangan. Hozirgi kunga qadar Rossiya olimlari tomonidan bug'doyning septorioz, sabzining – alternarioz, kartoshkaning rizoktonioz patogenlariga chidamli shakllari olingan. Selektiv omil sifatida zamburug'larning kultural filtratlaridan foydalanilgan. Olib borilgan tadqiqotlar natijasida bug'doyning regenerant o'simligi olingan. Birinchi avlod urug'larining *Septoria nodorum* patogeniga chidamliligi tekshirilgan. Natijalarga ko'ra olingan urug'larning zamburug'ning kultural filtratiga nisbatan chidamliligi 10–15 %ga ortganligi aniqlandi (*Kalashnikova E.A.Leti Jos, 1998*).

Shu kabi ishlar sabzining beshta genotipida o'tkazilgan. Hujayralar seleksiyasi suspenzion kulturada o'tkazilib, selektiv omil sifatida *Alternaria radicina* kulturasi filtratidan foydalanildi. Natijada chidamli hujayralar ajratilib ulardan regenerant o'simliklar olindi (*Kalashnikova E.A., Raskalieva V.A. 2000*).

Mutagenlar va ularni hujayralar seleksiyasida qo'llanilishi. Hozirgi kunda kimyoviy moddalar, rentgen, gamma va ultrabinafsha nurlarining mutagen faolligi haqida ko'plab tadqiqot natijalari to'plangan. Kimyoviy mutagenlardan ko'pincha etilmetansulfonat (EMS)dan foydalaniladi. Bu modda bilan ishlov berilgan tamaki o'simligi hujayralaridan 25 ta fenotipik variant olingan. Lekin EMS ning mutagen faolligi pastligi haqidagi ma'lumotlar ham mavjud. Hujayralar kulturasi bilan ishlashda mutagen sifatida N–etil–N–nitorozomchevinadan (NEM) ham foydalanish mumkin. Bu kimyoviy birikma barqaror bo'lmay oziqa muhitda tez parchalanib ketadi, shuning uchun bu modda bilan hujayraga ishlov berilgandan so'ng yuvishning hojati yo'q. NEM ning samarali mutagen ta'siri gaploid tamaki suspenziyalarida aniqlangan va nitratreduktazaga defektlil mutantlar ajratilgan. Tamakining gaploid protoplastlariga NEM bilan ishlov berilganda, xloratga chidamli klonlarning paydo bo'lishi 20 marta, shu bilan bir vaqtda xuddi shu turdagi o'simlikning diploid protoplastlari mutagenezida streptomitsinga chidamli klonlar paydo bo'lishi 30 marta

ortgan. Mutagen sifatida N–metil– N–nitro–N–nitrozoguanidin (NG) va N–nitrozometilmochevina (NMM)dan foydalanish mumkin.

Ionli nurlanishdan mutagen sifatida foydalanilganda ham mutatsiya-ning keng spektrini kuzatish mumkin. Hujayralarni rentgen nurlari bilan nurlantirish orqali bangidevona va petuniyaning pigment difektli tizimlari va tamakining parakvatga chidamli tizimlari olingan. Gamma–nurlari bilan nurlangan o‘simlik bargidan olingan kallus to‘qimalari va protoplastlaridan gerbitsidga va valinga chidamli tizimlar ajratib olingan. *In vitro* kulturalanayotgan tamaki hujayralarini ultrabinafsha nurlari bilan nurlantirish orqali ham valinga chidamli tizimlarni olishga muvaffaq bo‘lingan. Nurlantirishning bunday usulini tamaki gaploid protoplastlarida qo‘llanilganda turli xil auksotrof mutantlar paydo bo‘lgan.

Hujayralar koloniyasining yashovchanligi kulturaga qaysi rivojlanish bosqichida mutagenlar bilan ishlov berilganiga qarab turlicha bo‘lishi mumkin. Yakka hujayralarga ularning birinchi bo‘linishigacha bo‘lgan davrida mutagen bilan ishlov berish zarur, aks holda ximer tizimlar paydo bo‘lishi mumkin. Protoplastlarning radiosezgirliги ularning kulturalash bosqichlariga bog‘liqligi aniqlangan. Tajribalarning ko‘rsatishicha, protoplastlarni nurlantirishni ular ajratilgan zahoti yoki bir kundan so‘ng o‘tkazish maqsadga muvofiqdir. Chunki ionli nurlanish ta‘sirida oziqa muhitda hujayra uchun zaharli moddalar paydo bo‘lishi mumkin, shuning uchun protoplastlarni nurlantirish o‘tkazilgan oziqa muhitdan yuvib tozalash zarur.

Kimyoviy mutagenlarning hujayralarga zaharli ta‘siri aniqlangan. Ularning yuqori miqdordagi me‘yori qo‘llanilganda hujayralarni butun populatsiyasining nobud bo‘lishiga olib keladi. Shuning uchun kimyoviy mutagenlar bilan ishlaganda ularning kam konsentratsiyasidan foydalaniladi. Shunday bo‘lganda ba‘zida protoplastlar mutagen moddalardan tozalash maqsadida yuvilmaydi va mutagen s‘qlingan oziqa muhitlarda kulturalanadi. Bundan tashqari, nurlanishning yuqori me‘yori hujayraning metabolitik faolligini ham saqlab qolgan holda reproduksion va regeneratsion qobiliyatini susaytiradi.

Somatik hujayralarni duragaylash. Hujayralar seleksiyasining yana bir usuli – somatik hujayralardan olingan protoplastlarni bir-biriga qo‘shish orqali jinssiz duragaylar olishdir. Bu usul oddiy jinsiy yo‘l bilan chatishtirib bo‘lmaydigan o‘simliklarning filogenetik uzoq turlarini chatishtirish, ikki, uch va undan ko‘proq ota-ona hujayralarni bir-biriga qo‘shilishini amalga oshirish, bu hujayralardan birining to‘liq genlar

to'plamini, bir necha xromosoma yoki genlarini yoki boshqasining faqat organella va sitoplazmasini tutuvchi assimetrik duragaylarni olish imkonini beradi. Somatik hujayralarni duragaylash orqali nafaqat uzoq turlarga mansub o'simliklar genlarini bitta yadroga yig'ish, shuningdek, sheriklarning sitoplazmatik genlarini gibrid hujayraga birlashtirish ham mumkin.

Protoplastlarni ajratish, kulturalash va bir-biriga qo'shish.

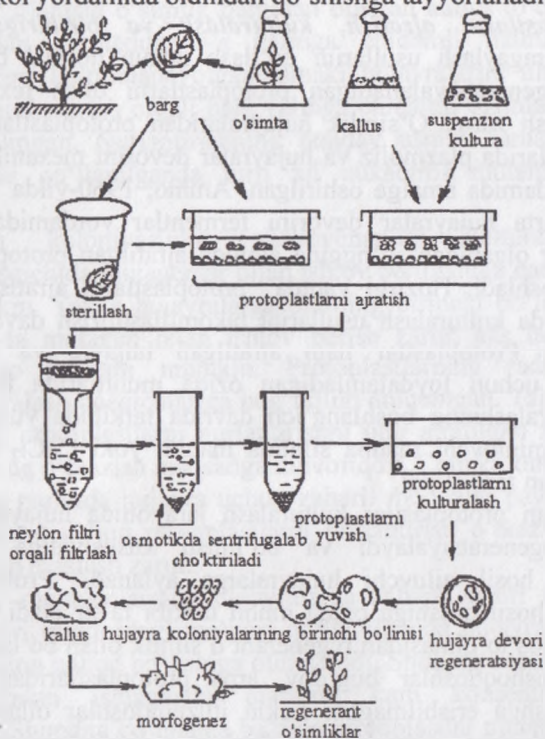
Somatik duragaylash usullarini qo'llash uchun normal bo'linadigan, o'simlik regeneratsiyalanadigan protoplastlarni olish texnologiyasini ishlab chiqish zarur. O'simlik hujayralaridan protoplastlar olish XIX asrning oxirlarida plazmoliz va hujayralar devorini mexanik parchalash usullari yordamida amalga oshirilgan. Ammo, 1960-yilda I.K.Kokking birinchi marta hujayralar devorini fermentlar yordamida parchalab, protoplastlar olganidan so'nggina alohida ajratilgan protoplastlar usuli rivojlana boshladi. Hozirgi vaqtda protoplastlarni ajratish va sun'iy oziqa muhitda kulturalash usullarini takomillashtirish davom etmoqda (3.19-rasm). Protoplastlar ham ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun foydalaniladigan oziqa muhitlarida kulturalanadi. Faqat kulturalashning boshlang'ich davrida tarkibida yuqori osmotik bosimni ta'minlovchi manba sifatida mannit yoki CaCl_2 ning yuqori miqdori bilan farq qiladi.

Ajratilgan protoplastlar kulturalash jarayonida hujayraning yangi devorini regeneratsiyalaydi va bo'linish xususiyatiga ega kallus to'qimasini hosil qiluvchi hujayralarga aylanadi. Protoplastlarning koloniyalar hosil qilishiga oziqa muhit tarkibi ta'sir etadi. Navbatdagi vazifa – kallus to'qimasidan regenerant o'simlik olish bo'ladi. Hozircha ko'pgina boshqoqoshlar bug'doy, arpa protoplastlaridan regenerant o'simlik olishga erishilmagan. Lekin ituzumdoshlar oilasiga mansub (tamaki, kartoshka, pomidor) va boshqa o'simliklarning protoplastlaridan regenerant o'simliklar olish muvaffaqiyatli amalga oshirilmoqda.

Protoplastlarni kallus to'qimalari, hujayralar suspenziyasi, barg hujayralari, meristemalar va poyadan ajratish mumkin. Bargdan protoplast ajratish uchun avval epidermisdan tozalanadi, mayda bo'laklarga bo'linadi va pektinaza yoki sellulaza fermentlari bilan ishlov beriladi (3.19-rasm).

Protoplastlarning qo'shilishi tasodifiy bo'lishi mumkin, ammo bu juda kamdan-kam hollarda ro'y beradi. Ajratilgan protoplastlar qo'shilishini indutsirlash 1970-yilda Kokking laboratoriyasida birinchi marta amalga oshirilgan.

Induktor sifatida natriy nitratdan foydalanilgan. Lekin bu usul kam samara bergan va hozir boshqa fyuzogen eritmalar (protoplastlarni qo'shilish induktorlari) topilgan. Ulardan pH (9-1)ning va kalsiy ionlarining miqdori yuqori bo'lgan (100–300 mM) eritmalar yaxshi samara beradi. Protoplastlar molekular og'irligi 1500–600 bo'lgan polietilenglikol yordamida oldindan qo'shishga tayyorlanadi.



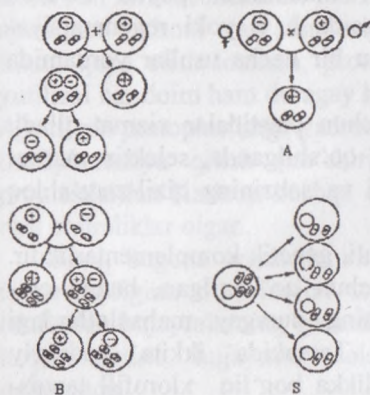
3-19 rasm. O'simlik hujayralaridan protoplastlarni olish va kulturalash sxemasi.

U.Simmerman va uning hamkasblari tomonidan hayvon hujayralari protoplastlarini qo'shishning fizikaviy usuli ishlab chiqildi, bunda induktor sifatida elektr toki impulsidan foydalanildi.

Protoplastlar qo'shilishidan duragaylar (gibrid) yoki sibiridlar hosil bo'ladi. Sibirid hujayralar ikkala sherikning sitoplazmasini va bittasining yadrosini tutadi. Sibirid hosil bo'lishi uchun protoplastlardan birining yadrosi olib tashlanishi yoki nurlantirish orqali faolligi yo'qotilishi kerak (3.20-rasm).

Sibridizatsiya sitoplazmatik SES (sitoplazmatik erkak pushtsizligi yoki sterillik, ya'ni chang donachalarining naslsiz bo'lishi), gerbitsidlar va patogenlarga chidamlilik belgilarini tashuvchi genlarni kiritish imkonini beradi.

1972-yilda ajratilgan protoplastlarini qo'shish orqali yuksak o'simliklarni birinchi turlararo jinssiz duragayi tamakining *Nicotiana glauca* va *N. Langsdorfii* turlarida olingan.



3.20-rasm. Paraseksual duragaylashda irsiylanish sxemasi (Muromsev G.S. va boshq. 1984).

A-paraseksual(chapda)va jinsiy (o'ngda) duragaylashda ota-ona yadroviy (halqasimon) va yadrodan tashqari determinanti (ovalsimon); B-paseksual duragaylashda kamida ikkita yadrodan tashqari genoforlarni hisobga olgan holda; S-somatik segratsiya natijasida yadrodan tashqari genoforlarning sitoplazmatik geterozigotlarga qo'shimcha paydo bo'lgan paraseksual avlodlarning genetik xilma-xilligi.

Hozirgi vaqtda paraseksual duragaylash usuli orqali turlararo va oilalararo duragaylar olingan. Lekin ko'pchilik holatlarda bunday yo'l bilan olingan duragay o'simliklar u yoki bu darajada normal emas. Bunga arabidopsis va turneps (xashaki sholg'om)ning somatik duragayi monstr – o'simligi misol bo'lib xizmat qiladi. Yuzaga kelgan anomaliyaga sabab xromosomaning muvozanatlashmaganligidir (Yu.Yu. Gleb 1982).

Hayvon va o'simlik hujayralari protoplastlari qo'shilishidan hosil bo'lgan hujayralar katta qiziqishga sabab bo'lmoqda. Hozirda kalamush eritrositlari va achitqi hujayralari protoplastlari, sabzi va odam

protoplastlari, tamaki va odam protoplastlari qo'shilishidan hosil bo'lgan duragaylar haqida ma'lumotlar mavjud.

Somatik duragaylarni olish bo'yicha tajribalar mikroorganizmlar genetikasiga oid tadqiqotlar kabi amalga oshiriladi. Boshqacha qilib aytganda, ota-ona hujayralarining katta populatsiyasidan foydalaniladi. Protoplastlar suspeniyasiga fyuzogen eritmalar bilan ishlov berilganda ularning bir qismi bir-biri bilan qo'shiladi, lekin suspenziyada qo'shilmagan protoplastlar ham qoladi. Ularning barchasi keyinchalik hujayra devorini tiklaydi va bo'linishga o'tadi. Shundan so'ng umumiy massadan duragay nusxalarni ajratish muammosi paydo bo'ladi. Duragaylar seleksiyasini hujayra darajasida ham yoki regeneratsiyalanish bosqichida qo'llash mumkin va u bir necha usullar yordamida amalga oshiriladi.

Duragaylarning identifikatsiyasi uchun plastidalar xizmat qiladi. Masalan, tamaki va sabzi protoplastlari qo'shilganda, selektiv marker sifatida tamakining yashil xloroplastlari va sabzining qizil-zarg'aldoq xromoplastlaridan foydalanilgan.

Duragaylarni tanlashning boshqa usuli, genetik komplementarlikdir. Bu usul tamaki duragayini aniqlash uchun qo'llanilgan, bunda ota-onaning xlorofilldefektli mutatsiyalarining duragay mahsulotlardagi komplementatsiyasidan foydalanilgan. Tamakida ikkita yadroviy resessiv mutatsiyalari birgalikda yorug'likka bog'liq xlorofill tanqisligini yuzaga keltiradi. Bu genlarga ega istalgani gomezigot o'simliklar intensiv yoritishi ostida o'stirilganda rangsizlanadi va nobud bo'ladi. Bir-biriga qo'shilgani va regeneratsiyalanganidan so'ng hujayralar koloniyasi organ hosil bo'lishini indutsirlovchi oziqa muhitga ko'chirib o'tkaziladi va yorug'da o'stiriladi.

Fiziologik komplementasiya usulidan ham somatik duragaylarni tanlashda foydalanish mumkin. Bu usul duragay hujayralarning ota-ona hujayralari o'sishga qodir bo'lmagan sharoitda o'sish qobiliyatiga asoslanadi. Ota-ona hujayralarning bunday sharoitda o'sa olmasligi qandaydir mutatsiya bilan bog'liq emas, balki fiziologik sharoitga nisbatan hujayraning normal fiziologik reaksiyasidir. Masalan, *N. glauca* va *N. Langsdorfii* larning jinsiy duragayi shish hosil qilishga moyil bo'ladi, duragay hujayralari esa *in vitro* sharoitida gormonsiz oziqa muhitlarda o'sish va ko'payishga qodir bo'ladi. Tamakining ikkala turi barg mezofil hujayralarining protoplastlari indutsirlangan qo'shilishidan so'ng birmuncha vaqt o'tgach gormonsiz oziqa muhitiga ko'chirib o'tkazildi va shu sharoitda o'sishga qodir koloniyalari tanlab olindi.

Somatik duragaylashning yana boshqa usullari ham mavjud bo'lib, bular fiziologogenetik komplementatsiya, fizikaviy usullarni qo'llash usuli (protoplastlarni sentrifugalash orqali ularning zichligiga qarab ajratishga asoslangan), mexanik ajratish kabilardir.

Ajratilgan protoplastlarni o'simliklar seleksiyasida qo'llash imkoniyati ularning indutsirlangan qo'shilishi va somatik duragaylarini olish bilan cheklanmaydi. Protoplastlar atrof-muhitdan makromolekulalar va organellalarni yutish xususiyatiga ega, shuningdek, ularga boshqa hujayralarning DNK va organellalarini ko'chirib o'tkazmay, yot genetik axborotni kiritish mumkin. Hozirda petuniya va tamaki protoplastlariga ajratilgan yadroni transplantatsiyasi muvaffaqiyatli amalga oshirilgan. Shuni qayd etish lozimki, protoplastlar tomonidan begona yadroning yutilishi har doim ham duragay hosil bo'lishiga olib kelmasligi mumkin. Ajratilgan protoplastlarga yadrodan tashqari begona xloroplastlarni ham transplantatsiya qilish (ko'chirib o'tkazish) amalga oshirilgan. Bu protoplastlardan Karlson boshqa organizm xloroplastini tutuvchi regenerant o'simliklar olgan.

Biroq begona organella va DNK larni ko'chirib o'tkazishga oid ishlar endigina o'z rivojini topmoqda. Umuman, ajratilgan protoplastlardan hujayralarning genetik rekonstruksiyasida foydalanish ko'rib turganimizdek, hujayralar seleksiyasi oldida yangi istiqbollarni ochmoqda.

III BOBGA DOIR NAZORAT SAVOLLARI

1. Biotexnologiyada o'simliklarning ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasidan asosan qaysi yo'nalishlarda foydalaniladi?
2. Kallusogenez, morfogenezning turli tiplarida va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda foydalaniladigan oziqa muhitlarining asosiy komponentlari nomlarini keltiring.
3. O'simliklardan ajratilgan hujayra, to'qima va organlarni kulturalash usullarining rivojlanish tarixining asosiy davrlari haqida ma'lumot bering?
4. Kallus to'qimasi nima va qanday olinadi?
5. Kallus to'qimalaridan biotexnologiyada foydalanish imkoniyatlari.
6. Hujayralar dedifferensirovkasi deganda nimani tushunasiz?
7. Qaysi gormonlar dedifferensirovka induktori hisoblanadi?

8. Nima uchun kallus to'qimalarini yangi oziqa muhitga ko'chirib o'tkazish zarur?

9. Kallus hujayralarining o'sish sikli fazalari.

10. Shish va «moslashgan hujayralar» qanday hosil bo'ladi? Ularning kallus bilan o'xshashligi va farqi qanday?

11. Kallus hujayralarining genetik bir xil emasligining sababi nimada? Ulardan biotexnologiyada qanday maqsadlarda foydalanish mumkin?

12. Somatik duragaylash nima?

13. Ajratilgan protoplastlarni olish va kulturalashning o'ziga xosligi nimada?

14. Kallus to'qimalarining totipotentligi deganda nimani tushunasiz? Uning paydo bo'lish chastotasi qanday?

15. Kallus to'qimasidagi morfogenezning asosiy tiplari nomini keltiring.

16. Somatik embriogenezning asosiy bosqichlari. Uning kelib chiqish sabablari va keyingi rivojlanishi uchun qanday sharoitlar talab qilinadi?

17. Kallus to'qimasi kulturasida organogenezning turli tiplarini qanday qilib indutsirlash mumkin?

18. Morfogenezning genetik va epigenetik asoslari haqida nimalarni bilasiz?

19. Hujayralar suspenziya kulturasida qanday olinadi va qanday maqsadlarda foydalaniladi?

20. Hujayralar seleksiyasining qanday biotexnologik imkoniyatlari mavjud?

21. Seleksion jarayonlarni tezlashtirishning biotexnologik usullari.

22. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish qanday amalga oshiriladi?

23. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishning asosiy bosqichlari.

24. O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni faollashtirish orqali o'simliklarni ko'paytirish qanday amalga oshiriladi?

25. Eksplantada adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini induksiyalash usulidan o'simliklarni ko'paytirishda foydalanish to'g'risida ma'lumot bering.

26. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishda gormonlarning roli nimadan iborat?

27. Ekish materiallarini virusdan xoli qilish usullari.

28. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishning an'anaviy usullarga nisbatan qanday afzallik tomonlari bor?

29. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishni ta'minlovchi sharoitlari nimalardan iborat?

30. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga eksplantning tipi va yoshi qanday ta'sir ko'rsatadi?

31. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga qaysi fizik omillar ta'sir etadi?

32. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish sharoitini optimallashtirish usullari nimalardan iborat?

III BOBGA DOIR TEST SAVOLLARI:

1. Biotexnologik usulda ikkilamchi sintez moddalar nimadan olinadi?

A) o'simliklarni sun'iy o'stirish orqali, tana hujayralaridan

B) *in vitro* sharoitida olingan mikrotugunaklardan

S) o'simliklarning meristemasidan

*D) sun'iy oziqa muhitlarida o'stirilgan kallus to'qimalaridan

E) sun'iy oziqa muhitlarida o'stirilgan alohida a'zoldan

2. Hujayra va to'qimalar kulturasidan foydalanishda muvaffaqiyatga erishish uchun qanday fiziologik jarayonlarni optimallashtirish zarur?

A) gul va meva hosil bo'lishini

V) o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini

S) hujayralar differensiallanishini

D) hujayralarning regeneratsiyasini

*E) S va D javoblar to'g'ri

3. Agar sterill sharoitlarda ekish uchun mo'ljallangan eksplantda ichki infeksiya mavjud bo'lsa, qanday chora ko'riladi?

A) distillangan suvda yuviladi?

B) spirt eritmasiga botirib qo'yiladi

S) natriy gipoxlorid eritmasi bilan ishlov beriladi

D) antibiotiklar bilan ishlov beriladi

*E) barcha javoblar noto'g'ri

4. Sun'iy oziqa muhitlarida sitokinin manbai sifatida quyidagi berilganlarning qaysi biridan foydalaniladi?

A) 2, 4-D

B) ISK

S) kinetin

D)zeatin

*E) S va D

5. Ajratilgan meristemalarni kulturalash va ularni mikroko'paytirishda xonalarning yoritilish darajasi qanday bo'lishi lozim?

A) 2000-8000 lk

B) 1000-2000 lk

*S) 3000-10000 lk

D)30000-50000lk

E) to'g'ri javob berilmagan

6. O'simlik hujayralari differensiallanishi va uning kallusga aylanishi uchun oziqa muhiti tarkibida fitogormonlarning qanday guruhlari bo'lishi zarur?

A) gibberelin, sitokinin

V) etilen, absizov kislotasi

S) brassinosteroidar, fuzikoksin

*D) auksin, sitokinin

E) barcha javoblar bir-birini to'ldiradi

7. Hujayralarning *in vivo* differensiallangan holatidan didefferensiallangan holatiga o'tishiga nima sabab bo'ladi?

A) DNK replikatsiyasi

B) genlarning repressiyasi

*S) genlar faolligining epigenom o'zgaruvchanligi

D) kallus hujayralarida maxsus oqsillar paydo bo'lishi

E) hujayraga xos oqsillar miqdori kamayishi yoki umuman yo'qolib ketishi

8. Kallus hujayralaridan fitopatogenlarga chidamli, hosildorligi yuqori hujayralar olishga imkon beradigan omil nima?

A) kallus hujayralarining genetik bir xilligi

B) kallus hujayralarining didefferensiallanishi

S) hujayralarning poliploidlanishi

*D) hujayralarining genetik xilma-xilligi

E) A va S javoblar to'g'ri

9. Kallus to'qimalari qachon regeneratsiyalanish qobiliyatini yo'qotadi?

A) umuman yo'qotmaydi

B) sabablari hali to'liq aniqlanmagan

S) qariganda

D) to'rtinchi marta qayta ekilganda

*E) S va D javoblar to'g'ri

10. Hujayrlar suspenziyasida tirik hujayralarni o'lik hujayralardan qanday farqlash mumkin?

A) tirik hujayralarni o'sish tezligiga nisbatan hisoblash

B) tirik hujayralarni hisob kamerasida sanash

S) tirik hujayralarga bo'yoqning oson kirishiga ko'ra

D) tirik hujayralarni ko'k rangga bo'yalishiga ko'ra

E) tirik hujayralarni bo'yoq bilan bo'yalmasligiga ko'ra

11. Alohida hujayralarni klonlash qiyinligiga sabab nima?

A) fermentlar ta'sir etganligi uchun

B) mayda agregatlardan iboratligi uchun

S) yirik agregatlardan iboratligi uchun

*D) kallas to'qimalari o'sadigan sharoitda bo'linganligi uchun

E) klonlashda qiyinchiliklar bo'lishi mumkin emas.

12. Somatik embriogeneznining organogenezdand farqi nimada?

A) dastlab alohida organlar regeneratsiyalanadi

B) ildiz va poya mersitemasiga ega bo'lgan kurtaklar hosil bo'ladi

*S) dastlab alohida somatik hujayralar hosil bo'ladi

D) ildiz va poya meristemasiga ega bo'lgan kurtaklar hosil

bo'lmaydi

E) yaxlit organizm paydo bo'lmaydi.

13. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish nima?

A) probirkada o'simliklarni o'stirish

B) o'simliklarni vegetativ ko'paytirish

S) o'simliklarni o'ziga xos ko'paytirish usuli

D) o'simliklarni mayda bo'laklarga bo'lib ko'paytirish

*E) genetik bir xil o'simliklarning *in vitro* sharoitida jinssiz

ko'paytirish

14. O'simliklarda termoterapiya usulini qo'llashdan ko'zlangan maqsad nimadan iborat?

*A) o'simliklarni virusdan holi qilish

B) o'simliklarni zamburug'lardan holi qilish

S) o'simliklarni patogen bakteriyalardan holi qilish

D) o'simliklarni zararkunanda hasharotlardan holi qilish

E) o'simliklarni turli xil kasalliklardan himoya qilish

15. Qurg'oqchilikka chidamli transgen o'simliklar olish uchun *in vitro* sharoitida qaysi moddadan foydalaniladi?

A) glitserin

B) vitaminlar

S) fitogormonlar

- *D) polietilenglikol
E) merkaptolanol
16. O‘simliklarni kasalliklarga chidamliligini oshirish uchun *in vitro* da qaysi moddadan foydalanish mumkin?
A) fitoaleksinlar
B) patotoksinlar
S) kultural filtratlar
D) patogenlar
*E) B, S va D javoblar to‘g‘ri
17. Keskin haroratlarga chidamli o‘simliklar olish uchun qanday tadbir amalga oshiriladi?
A) antifriz moddalar akumulatsiyasini hosil qilish
B) bog‘lanmagan suvlar miqdorini kamaytirish
S) zaxira moddalar miqdorini oshirish
D) bunday o‘simlik olishga hali erishilgani yo‘q
*E) A, V va S javoblar to‘g‘ri
18. Somatik hujayralarni duragaylash nima?
A) jinsiy hujayralarni *in vitro* sharoitida qo‘shish
B) somatik hujayralardan o‘simlik yetishtirish
*S) somatik hujayralar protoplastlarini bir-biriga qo‘shishi
D) somatik hujayralarni bir-biridan ajratish
E) hujayralar devorini parchalab, qayta tiklash

ADABIYOTLAR

1. Биотехнология растений: Культура клеток/Под ред. Р.Г.Бутенко. -М.: Агропромиздат,1989.
2. Бутенко Р.Г. Экспериментальный морфогенез и дифференциация в культуре клеток растений. М.: Наука, 1975 г.
3. Бутенко Р.Г, Культура клеток растений и биотехнология.- М.: Наука. 1986.
4. Бутенко Р.Г., Гусев М.В., Киркин А.Ф., Корженевская Т.Г, Маркарова Е.Н. Клеточная инженерия. М., «Высшая школа», 1987, 127 с.
5. Бутенко Р.Г.Биология клеток высших растений *in fitro* и биотехнологии на их основе.- М.: ФБК-ПРЕСС, 1999.
6. Вилданова Г.В. Индуцированный органогенез у некоторых видов. Среднеазиатских можжевельников в культуре *in fitro* // Лесное хозяйство. №2002 г. с. 35.

7. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе М. «Колос». 1992.
8. Глеба Ю.Ю., Сытник К.М. Слияние протопластов и генетическое конструирование высших растений.-Киев: Наукова думка 1982.
9. Глеба Ю.Ю.,Сытник К.М. Клеточная инженерия растений.-Киев: Наукова думка 1984.
10. Калинин Ф.Л. и др. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев: Наукова думка 1980.
11. Калинин Ф.Л. Кушнир Г.П., Сарнаская В.В. Технология микроклонального размножения. Киев: Наукова думка 1992.
12. Катаева Н.В., Бутенко Р.Г.Клональное микроразмножение растений .- М.: Наука. 1983.
13. Максимов П.Н. Многофакторный эксперимент в биологии.- М.: Изд-во МГУ,1980.
14. Муромцев Г.С., Бутенко Р.Г., Тихоненко Т.И., Прокофев М.И. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. -М.: Наука 1990.
15. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. - Киев: Наукова думка 1990.
16. Шевелуха В.С. Новая биотехнология в селекции и растениеводстве //Вестник с/х науки. 1986 №2.
17. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе.-М.: Колос,1982.
18. Шевелуха В.С., Калашникова Е.А., Воронин и др. Сельскохозяйственная биотехнология. Учеб. -М.: Высшая школа, 2003.

IV bob. BIOTEXNOLOGIYA VA O'SIMLIKSHUNOSLIKDA FITOGORMONLAR HAMDA O'SIMLIKLARNI O'SISHI VA RIVOJLANISHINI BOSHQARUVCHI SUN'IY REGULATORLAR

O'simliklarni o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulatorlar, yoki fitoregulatorlar o'simliklar ontogenezini boshqa-rishda qudratli vosita hisoblanadi. Shuning uchun ulardan qishloq xo'jalik o'simliklari biotexnologiyasida va amaliy o'simlikshunoslikda keng foydalaniladi.

Fitoregulatorlar — hujayralarning differensirovkasi, bo'linishini boshqarishda, yangi to'qima va organlarni hosil bo'lishida, o'simliklarni o'sishi hamda rivojlanishini tezlashtirishda, hosildorligini oshirishda, sifatini yaxshilashdagi zarur moddalardir.

O'simliklar gen muhandisligi ham fitoregulatorlar haqidagi bilimlarga tayanib ish ko'radi.

Zamonaviy o'simlikshunoslikda fitoregulatorlar agrosenzolarning hosildorligini va muhitning noqulay omillariga chidamliligini oshirishda qo'llaniladi, qator texnologik operatsiyalarni birmuncha osonlashtirish imkonini beradi. Hozirgi vaqtda fitoregulatorlarning o'simliklarga minimal (1ga ekinlarga bor yo'g'i 1 necha milligram) miqdorda ta'sir etuvchi yangi avlodlari yaratilmoqda. Bu esa alohida ekologik ahamiyat kasb etadi.

O'simliklarning gormon tizimi

3/ Gormonlar haqida tushuncha. Tirik organizmlar gormon regulatsiyasi ular nasliy dasturining amalga oshishida va muhitning o'zgaruvchan sharoitiga adaptatsiyasida hal qiluvchi rolni o'ynaydi (Defling, 1985).

O'simliklarda ham boshqaruvchi tabiatli moddalarning mavjudligi haqida birinchi bo'lib Ch. Darvin (1880) nihollarning yorug'lik manbai tomon intilishi bo'yicha o'tkazgan tajribalari asosida yozilgan «O'simliklarning harakat qilish qobiliyati» asarida o'z fikrini bayon etgan edi. U bilan bir vaqtda, buyuk nemis botanigi va fiziologi Yu.Saks ham o'simliklarda poya, barg va ildizning shakllanishi hamda

rivojlanishiga javobgar moddalar mavjudligi haqida aytib o'tgan edi, lekin bu taxminlar o'sha davrdagi olimlar tomonidan e'tirof etilmadi.

O'simliklarning regulator moddalarini aniqlash va ajratib olish bo'yicha izlanishlar XX asrning boshlaridan jadal rivojlana boshladi. 1909–1910-yillarda G. Fitting tomonidan orxideya o'simligining tugunchasini o'sib, urug'siz meva hosil bo'lishini yuzaga keltiruvchi moddalari aniqlandi va ularga hayvonlarning regulator moddalari kabi *gormonlar* deb nom berildi. Bundan bir necha yil ilgari etilenning o'simliklarni bo'yiga o'sishini tezlashtiruvchi xususiyati aniqlangan edi. O'sha davrning o'zida N.G. Xolding va F. Ventlar tomonidan o'simliklarning tropizmi nazariyasi yaratilgan va u asoschilari nomi bilan atalgan, 1930-yillarning oxirida M.X. Chaylaxyan o'simliklarni generativ organlarining shakllanishi va gullashini amalga oshiruvchi gipotetik fitoregulatorlar haqidagi florigen nazariyasini ilgari surdi.

O'simliklarning gormonlarini o'rganish va ajratib olish bo'yicha 1950–1960-yillarda yaxshi natijalarga erishildi, sitokinin va abssez kislotalari ajratib olindi va ularning xususiyatlari aniqlandi. Hozirgi kunga qadar yana bir nechta endogen regulator moddalar – brassinosteroidlar, fuzikoksinlar, jasmin va salitsil kislotalari, ba'zi oligosaxaridlar ajratib olindi, shuningdek, o'simliklarni o'sishini boshqaruvchi gormon tabiatiga ega bo'lmagan regulatorlari – poliaminlar, bir qator fenol birikmalari va boshqa moddalar o'rganilmoqda.

Shu bilan bir vaqtda regulator moddalarni aniqlash, yaratish va ularni o'simlikshunoslikda qo'llash ishlari ham olib borilmoqda. Bunday moddalardan dastlab auksinning sun'iy analogi o'simliklarni vegetativ ko'paytirish va ildiz hosil bo'lishini induksiyalash uchun foydalanildi. 1960-yilda o'simliklarning bo'yiga o'sishini sekinlashtiruvchi standart moddalar aniqlandi. Bu moddalar qishloq xo'jaligida qo'llaniladigan, keng tarqalgan fitoregulatorlardir. Hozirgi kunda qimmatli xususiyatlarga ega, ayniqsa, antistress va reparativ ta'sirga ega bo'lgan fitoregulatorlarni aniqlashga katta e'tibor berilmoqda.

Fitogormonlar – deb o'simlikda sintezlanuvchi, uning butun organlari bo'ylab tashiluvchi va ozgina miqdori o'simlikning bo'yiga o'sishi yoki shakllanishiga sintezlangan joyidan yoki masofadan turib ta'sir etuvchi moddalarga aytiladi.

- Fitogormonlarning birinchi xususiyati, ularning endogen kelib chiqqanligidir. Ko'pchilik fitogormonlar organik kislotalardan, ko'pincha aminokislotalardan hosil bo'ladi. U yoki bu fitogormonning sintezlanishi ichki yoki tashqi sabablar ta'sirida o'zgarishi natijasida

o'simlikning bo'yiga o'sishi yoki shakllanish jarayonidagi o'zgarishi bilan uning javob reaksiyasini yuzaga keltiradi.

Fitogormonlarning ikkinchi xususiyati, ularning o'simlikni butun organlari bo'ylab harakatidir. Bir organda hosil bo'lgan fitogormon, boshqa organning o'sish va rivojlanish jarayonlarini boshqarishi mumkin. Aynan shunday tarzda, organlarning o'zaro ta'siri va o'simlikning yaxlitligiga erishiladi. Yuqori regulatorlik qobiliyatiga ega ba'zi moddalarni, masalan, ba'zi fenolli birikmalarni fitogormonlar deb bo'lmaydi, chunki ular o'simlik organlari bo'ylab tashilmaydi va faqat sintezlangan joyigagina ta'sir eta oladi.

Uchinchi xususiyati, bu moddalarning kam miqdorda ham o'simlikni bo'yiga o'sishiga yoki shakllanishiga ta'sir etishidir. Fitogormonlarning juda kam konsentratsiyasi o'simliklarga ta'sir etadi (10^{-13} - 10^{-7} M). Ular o'simliklar poyasining bo'yiga o'sishini tezlashtirishi yoki sekinlashtirishi, barglarini to'kilishiga ham ta'sir etishi mumkin.

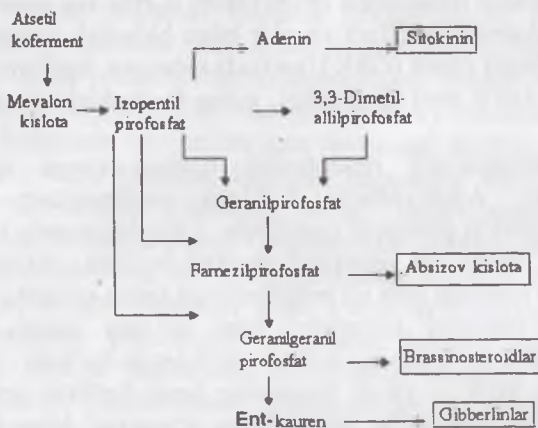
To'rtinchi xususiyati, fitogormonlarning faqat sintez bo'lgan joyidagina emas, masofadan turib ham ta'sir etishidir.

Hayvon gormonlari bilan o'simlik gormonlari bir-birlaridan farq qiladi. Hayvon gormonlari maxsus organlar-ichki sekretiya bezlari orqali sintezlanadi, o'simliklarda esa bunday maxsus shakllangan to'qima va hujayralar yo'q. Hayvonlarning gormonlari o'zi sintez bo'lgan joyiga ta'sir etmaydi, fitogormonlar o'zi sintezlangan hujayralarga ham ta'sir ko'rasata oladi. Fitogormonlarning bu xususiyati hayvonlarni gistogormonlariga o'xshashdir.

Fitogormonlar ta'sirining molekular mexanizmi. Fitogormonlarning amalda qo'llanilishi, ular ta'sirining molekular mexanizmi haqidagi bilimlarga asoslanadi. Hozirgi vaqtda, fitogormonlar hosil bo'lishining umumiy asoslangan sxemasi, ularning o'tmishdoshlari biosintezini o'z ichiga oluvchi regulatorlik ta'sirining amalga oshishi, shu gormonga tegishli bo'lgan oqsil retseptori bilan bog'lanishi va faollashgan gormon-retseptor kompleksini hosil qilishi, bu kompleksning o'simliklar genomiga yoki muayyan fermentlar tizimiga ta'siri aniqlangan.

Fitogormonlar o'simliklarda organik kislotalardan sintezlanadi, ba'zi hollarda bir nechta gormonlar bir xil asosdan sintezlanadi. Masalan, mevalon kislotasi fitogormonlarning 4 ta sinfi-gibberellinlar, sitokininlar, brassinosteroidlar va ingibitor abssez kislotasi uchun boshlang'ich modda bo'lib xizmat qiladi (4.1- rasm).

Tashqi muhit sharoitining o'zgarishi u yoki bu fitogormon sintezidagi o'zgarishga sabab bo'ladi. Fitogormonlarni biosintez yo'llari tarmoqlanishiga ta'sir etuvchi kalit fermentlar muhit omillarining (yoritish, harorat va boshqalar) o'zgarishiga yuqori sezuvchanlik namoyon qiladi, bu esa muayyan oqsillar sintezining tezlashishiga olib keladi. Tashqi muhitning bunday ta'siriga misol bo'lib, yorug'likning davomiyligi ortganda gibberellinlar sintezining oshishi, sho'rlanishning miqdori yuqori bo'lganda esa auksin sintezi oshishi, aksincha bo'lganda esa kamayishi va o'sishda fenol ingibitorlari darajasining ortishi xizmat qiladi.



4.1- rasm. Fitogormonlar biosintezi sxemasi.

Hosil bo'lgan fitogormon molekulasi o'simlik bo'ylab o'zining sintez bo'lgan joyidan nishon-hujayralarga, ya'ni shu fitogormonlarga nisbatan yuqori sezuvchanlik namoyon qilgan hujayralarga tashiladi. Fitogormonlarni tashilishi o'simliklarning o'tkazuvchi tizimi va hujayralararo masofasi orqali amalga oshiriladi.

Fitogormon molekulari nishon -hujayraga ikki xil yo'l bilan:

1. Yonma-yon hujayralarni biriktiruvchi protoplast kanallari-plazmodesmalari bo'yicha gradient konsentratsiyasiga mos ravishda aralashish orqali.

2. Hujayraning chegara membranasi plazmalemmasi orqali tashilish yo'li bilan kira oladi.

Gormonlar o'z ta'sirini hujayradagi strategik muhim bo'lgan oqsil molekularining konformatsiyasini o'zgartirish yo'li bilan amalga

o'shirishi aniqlangan. Bunday oqsillar fitogormonlarning retseptori, muayyan ferment tizimi va retseptorlar orasidagi signallarni qayta hosil qiluvchi, shuningdek, fermentlarning faolashtiruvchilari yoki ingibitorlari, transport tizimi membranasining komponenti sifatida faoliyat yuritishi mumkin. Barcha ta'sirchan hujayralarda gormonlar ta'sirini mazkur hujayraga xos bo'lgan ko'pgina oqsil shakllarining moslashib o'zgartgan zanjiri sifatida ko'rish mumkin.

Oqsilning birlamchi strukturasi (aminokislotalarning muayyan ketma-ketligi) oqsil molekulasining ikkilamchi va uchlamchi strukturalarini hosil qilish uchun zarur bo'lgan axborotga ega bo'ladi.

Hujayralarda fitogormon molekulari o'ziga xos oqsil-retseptorlar bilan o'zaro hamkorlik qiladi va ular bilan birlashib, gormon-retseptor kompleksini hosil qiladi (GRK), natijada retseptor oqsil molekulasining fitogormon bilan o'zaro hamkorligi uning faollashishi hisobiga amalga oshadi.

Fitogormonlarning retseptorlari hozirgi kunga qadar to'liq o'rganilmagan. Adabiyotlarda berilgan ma'lumotlarga qaraganda ularning ko'pchiligi globulyar oqsillardir. Bir hujayrada bitta fitogormonning bir necha xil retseptori mavjud bo'lishi, o'simlikning shu fitogormonga nisbatan turli xil reaksiyalariga sabab bo'ladi.

Gormon-retseptor kompleksi hosil bo'lgan vaqtda fitogormon faolligi namoyon bo'lishining ikki xil yo'li paydo bo'ladi:

Birinchi yo'li – yangi fermentlar hosil bo'lishi yoki oldindan mavjud bo'lgan fermentlar miqdorining o'zgarishi bilan bog'liq. Bu fitogormonlarning genetik jarayonlarga ta'sir etishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun, genlarni qayta qurilishi boshlanadi va yangi oqsillar sintez bo'ladi, fitogormonlar konsentratsiyasi o'zgartgan vaqtdan fitogormonning ta'sir samarasi paydo bo'lguniga qadar o'tgan vaqt bir necha o'n daqiqalardan bir necha soatgacha bo'lishi mumkin.

Ikkinchi yo'li – hujayrada fitogormonlar konsentratsiyasi o'zgarimasdan oldin mavjud bo'lgan oqsillar, fermentlar faolligining ular konformatsiyasining o'zgarishi hisobiga amalga oshadi. Ikkinchi yo'li yangi oqsillarning sintezi bilan bog'liq bo'lmagani uchun fitogormon samarasining yuzaga chiqish vaqti ancha tez bo'lib, bor yo'g'i bir necha minutni tashkil qiladi.

Genlar ekspressiyasini boshqarish. Genlar ekspressiyasini fitogormonlar orqali boshqarish, o'simlik hujayrasi hayotidagi differensirovka va dedifferensirovka, o'sish va yangi metabolitik sharoitga moslashish kabi muhim jarayonlarni boshqarishi bilan bog'liq.

Fitogormonlarning genom ishini boshqarishiga ketgan vaqti bir necha soatni tashkil qiladi. Shu bilan bir vaqtda o'simlik bir necha o'n minutlar ichida ba'zi gormonlar darajasiga javob berishga qodir bo'ladi. Bu kabi «tez» javoblar fitogormonlarning o'simlik hujayrasida mavjud bo'lgan fermentlar faolligini boshqarish xususiyati bilan bog'liq.

Fementlar faolligini boshqarish. Fitogormonlarning ikkilamchi vositachilari. Fitogormonlarga javob reaksiyasi uning konsentratsiyasi keskin oshgan vaqtdan boshlab bir necha minut davomida paydo bo'ladi. Bunday ta'sirlar fermentlar faolligining o'zgarishi bilan bog'liq, chunki u yoki bu fermentning molekulari soni deyarli o'zgarmaydi, lekin allosterik samara natijasida ularning faolligi oshadi yoki pasayadi, bunday rolni fitogormon yoki uning metaboliti bajarishi mumkin va fermentlar bilan substratning o'xshashligini o'zgartirishi mumkin. Shunday qilib, fitogormonlar ta'siriga nisbatan o'simlikning tez javob reaksiyasi hujayrada mavjud bo'lgan fermentlar faolligining o'zgarishi bilan bog'liq ekan. Masalan, koleoptil hujayralari auksin bilan ishlov berilganda 5 daqiqa o'tgandan so'ng, hujayralarning cho'zilishi boshlanishida o'simliklarning fitogormonlar ta'siriga javobini ko'rish mumkin. Buni shunday izohlash mumkinki, auksin o'zining plazmolemmada joylashgan retseptori bilan o'zaro hamkorlikka kirishganda, plazmolemmadagi protonlarni hujayradan hujayra devori sohasiga tashilishini amalga oshiruvchi fermentning transport tizimi proton pompasi ishini faollashtiradi. Hujayra devori tarkibiga kiruvchi gemitselluloza va pektin moddalarining kislotalik darajasining oshishi natijasida, vakuola yaratgan turgor bosim hisobiga, uning komponentlari orasidagi bog'lar zaiflashadi va hujayra cho'ziladi.

Keyingi vaqtlarda fitogormonlarning ikkilamchi vositachilarini (messenjerlari) o'rganish ishlari ham jadal davom etmoqda.

Ikkilamchi vositachilar ta'sirining umumiy ko'rinishi shundan iboratki, uncha ko'p bo'lmagan gormon molekularining soni, hujayrada ikkilamchi vositachining ko'p sonli molekulari mahsulotlarini ishlab chiqarishni yuzaga keltiradi, bu esa o'z navbatida oqsil molekulari faolligiga ijobiy yoki salbiy ta'sir ko'rsatadi. Shunday tarzda gormonning retseptor bilan bog'lanishi natijasida paydo bo'ladigan signalning oshishi amalga oshiriladi.

Fitogormonlar klassifikatsiyasi, strukturasi va funksiyasi

Hozirgi vaqtda fitogormonlarning yettita guruhi aniqlangan bo'lib, bular auksin, sitokinin, giberellin, etilen, abssez kislotasi, brassinosteroid va fuzikoksinlardir. Bu moddalar o'simliklarda juda kam miqdorda uchraydi, shuning uchun, yangi fitogormonning ochilishi kamdan-kam holdir. Shunga qaramasdan, o'simlik regulator tizimlarini o'rganishdagi izlanishlar, ularni aniqlash usullarining takomillashishi bilan bog'liq taraqqiyoti e'tibordan holi emas.

// **Auksinlar.** 1920-yilda o'simliklarning tropizmi omili sifatida topilgan. 1930-yilda F.Kegl tomonidan toza holda ajratilib, uning kimyoviy tarkibi – indolil 3-sirka kislotasi (ISK) ekanligi aniqlangan.

Auksinlarning asosiy sintezlanadigan joyi poyaning apikal meristemi va yosh barglari bo'lib, u yerdan boshqa organlarga tashiladi.

Hujayralar tomonidan auksinning yutilish mexanizmi ikki fazadan iborat:

1. Tez qaytariluvchi reaksiya, diffuziya mexanizmiga yaqin mexanizm asosida hujayra va uni o'rab turgan muhit orasida auksin miqdori bo'yicha muvozanat paydo bo'lganda sodir bo'ladi. Bu muvozanatga erishish nafaqat hujayradagi va eritmadagi ISK miqdorining farqiga, shuningdek, eritma va sitoplazmaning pH iga ham bog'liqdir. ISKning hujayraga tushishida spetsifik o'tkazuvchilar ham qatnashishi mumkin, pH neytralga yaqin bo'lganda ularning roli yanada yuqori bo'ladi. Bu fazaning davomiyligi 25 – 30 min.

2. Metabolitik to'planish. Bu vaqtda auksin ko'pincha hujayralarning turli komponentlari bilan glyukoza efiri yoki indolil 3-atsetilaspargin kislotasi hosil qilib bog'lanadi. Birikkan auksin hujayralar boshqarilishida qatnashmaydi va gormonning zaxira shaklini namoyon qiladi.

Auksinning fiziologik samarasi, hujayra darajasidagi ta'siri bilan bog'liq bo'lib, hujayraning cho'zilishi, bo'linishi va differensiyalanishini amalga oshiradi.

Yuqorida ta'kidlanganidek, auksin ta'sirida hujayralarning cho'zilish mexanizmi hujayra devori pH ning kislotaliligining oshishi, vakuo-laning turgor bosimi hisobiga cho'zilishi, proton pompalarining faollashishi bilan bog'liq. Auksin faollashtiruvchi proton pompalari ta'sirida hujayralarning cho'zilishi va hujayra devorlarining yumshatilishi, hujayra dedifferensirovkasi va uning keyingi bo'linish jarayon-

larida, hujayra devorining shishishida ishtirok etuvchi fermentlar sellulaza va pektinaza bilan bir qatorda muhim rol o'ynashi mumkin.

Auksin tomonidan hujayralar bo'linishining induksiyaning ham nafas olish jarayonini stimullanishi uchun, RNK va oqsil sintezlanishini o'z ichiga oluvchi DNK replikatsiyasi uchun zarur bo'lgan sharoitni yaratilishi bilan bog'liq.

Auksin nafaqat dedifferensirovkani yuzaga keltiradi, u meristema hujayralarining yoki o'tkazuvchi to'qimalardagi dedifferensiyallangan hujayralarning differensiyallanishini stimullash xususiyatiga ega.

Auksin ta'sirida kallus to'qimalarida o'tkazuvchi floema va ksilema elementlarining shakllanishi ham kuzatilgan bo'lib, bu biotexnologiya va o'simlikshunoslik uchun katta ahamiyatga egadir. Auksinning oziqa moddalarni hujayralarga tortish xususiyati, o'simliklar uchun muhim xususiyat bo'lgan apikal dominantlikni amalga oshirishi bilan belgilanadi. Bu fitogormonni ishlab chiqaruvchi apeks oziqa moddalar va boshqa gormonlar (gibberellinlar, sitokininlar) oqib keluvchi markazga aylanadi. Buning natijasida oziqa moddalar va fitogormonlar yashirin kurtaklarga yetib bormaydi, shuning uchun ular uchki kurtaklarga nisbatan sekinroq o'sadi yoki umuman o'smaydi. Auksinlarni o'ziga tortish (attragirlash) mexanizmi hozircha to'liq o'rganilmagan, lekin ularning proton pompalarni faollashishi bilan bog'liq ekanligiga asoslar yetarli.

Sitokininlar – 1955-yilda hujayralar bo'linishini stimullovchi omil sifatida topilgan. Birinchi tabiiy sitokinin zeatin deb atalgan, bu moddalar makkajo'xoring pishib yetilmagan donlaridan ajratib olingan. Hozirgi kunda 12 ta sitokinin aniqlangan bo'lib, ularning kimyoviy tuzilishi zeatinning tuzilishiga yaqin. Difenilmochevina va ularning qator mahsulotlarini ham yuqori sitokininlik faolligi aniqlangan. Sitokininlar asosan ildiz apikal meristemasi sintezlanib, undan ksilema bo'ylab o'tkazuvchi naylar orqali, o'simlikning barcha organlariga transport qilinadi. Shuning uchun sitokininlarning harakat tezligi auksinlarnikiga nisbatan yuqori. Tashilish yo'nalishi-o'simlikning yuqori qismiga qaratilgan bo'lib, ayniqsa, faol meristemalar va urug'larda sitokininning miqdori ko'p bo'ladi.

O'simliklarda sitokininlarning turg'unligi unchalik yuqori emas, zeatinning yarim parchalanish vaqti o'simlikning turiga qarab 6–20 soatni tashkil etadi. Yosh to'qimalarda uning parchalanish tezligi qari to'qimalarga nisbatan kam, ildizda esa bu jarayon yanada sekinroq ketadi. Sitokininlarning destruksiyasi saxaroza (riboza, glyukoza) va

alanin aminokislotalari bilan kon'yugatsiyasidan so'ng boshlanadi. Bunda sitokininlarning O-glyukozidlarini hosil bo'lish yo'lini gormonning zaxiralanishi sifatida, boshqalarini esa-qaytarilmas destruksiya sifatida ko'rish mumkin. Yaqinda sitokininni oldindan glikozidlamasdan oksidlovchi sitokininoksidaza fermenti aniqlandi. Bunda oksidlanish alifatik qismning adeninga birlashgan joyida sodir bo'ladi.

Sitokininning asosiy fiziologik ta'siri-hujayralar bo'linishini faollashtirishdan iboratdir. Sitokinin mitoz uchun zarur sharoitni yaratish uchun RNK – polimeraza faoliyatini, RNK hosil bo'lishi va oqsil sintezi jarayonlarini faollashtiradi. Bu ta'sirlar sitokininning oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyati bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin. Fitogormonning bu xususiyati, boshqa yana bir qancha ta'sirlar bilan ham bog'liq bo'lib, bularga barg va murtaq hujayralari o'sishining stimullanishi, apikal dominantlikdan holi qilinishi, barglar qarishini to'xtatilishi va o'simliklardagi moddalarning qayta harakatlanishini boshqarilishi shular jumlasidandir. Sitokinin ontogenezni boshqarishda muhim rol o'ynaydi. Bu toifa gormonlarning yuqori miqdori ildiz hosil bo'lishini to'xtatadi va poyada kurtaklarning paydo bo'lishini tezlashtiradi. Shuningdek, ular fotoperiodning noqulay sharoitlarida ba'zi turdagi o'simliklarning ma'lum turlarining gullashini indutsiraydi. Sitokinin ta'sirida urug' va tugunaklar tinim davridan chiqadi. Bu gidrolitik fermentlar faollashishi bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin. Sitokininlar barglarning qarishini to'xtatibgina qolmay, shuningdek, ular rivojlanishining boshlang'ich davrida xloroplastlarining shakllanishi, xloroplast RNKsi va oqsillarning sintezini stimullanishi hisobiga, o'sishi va bo'linishini boshqaradi.

Bu fitogormon barglardagi og'izchalarni ochish orqali suv bug'lanishi regulatsiyasida ham ishtirok etishi bilan xloroplastlar shakllanishining stimullanishi va barglarni qarishini to'xtatilishi natijasida fotosintez jarayonini faollashtiradi.

Sitokininlarning juda muhim xususiyatlaridan yana biri, ular o'simlik hujayralarining past yoki yuqori harorat, suv tanqisligi, sho'rlanish, rentgen nurlari, pestitsidlarning fitotoksinlik ta'sirlari kabi tashqi noqulay ta'sirlarga chidamliligini oshiradi. Himoya ta'sirining mexanizmi hali yaxshi o'rganilmagan. Lekin o'simliklar hayotidagi noqulay sharoitlarda sitokininlar miqdorining oshishi natijasida hujayrani himoyalovchi stress oqsillar sintezining stimullanishi aniqlangan.

|| **Gibberellinlar** 1926-yilda aniqlangan bo'lib, 1938-yilda Yaponiya-da patogen zamburug' Gibberella fujjuroining produtsenti sifatida

ajratib olingan. 1955-yilda uning kimyoviy strukturasi va qator o'simliklar hujayralarida ishtirok etishi aniqlangan. Gibberellinlarni o'rganish ishlari hozirgi kunda ham jadal davom etmoqda. Hozirda bu moddalarning 100 ga yaqin vakillari ma'lum bo'lib, ulardan 45 tasi o'simliklardan ajratilgan.

Gibberellinlar biosinteziga to'sqinlik qiluvchi qator birikmalar ham aniqlangan. Bu moddalarning deyarli hammasi retardant ta'sirga ega, ya'ni o'sishni to'xtatuvchi moddalardir. Gibberellinlarning biosintezini muayyan fermentlar faoliyatiga ta'sir etish orqali to'xtatish mumkin.

Gibberellinlar transporti qarama-qarshi tomonga yo'nalgan emas. Ular akropetal va bazipetal ravishda ksilema va floema naylari bo'ylab suvli eritmalar oqimiga qo'shib ketadi. Shuning uchun bu fitogormonning tashilishi va tarqalish tezligi nisbatan yuqori.

Gibberellinlarning fiziologik ta'siri, o'simlik hujayralarining cho'ziluvchanligi va meristema to'qimalarining mitotik faolligining oshishi hisobiga, o'sish jarayonlarini stimullanishida namoyon bo'ladi. Gibberellinlar ta'sirida hujayralar cho'zilishining stimullanishi, auksinlardagi kabi proton pompalarining faollashishi hisobiga emas, balki, hujayra qobig'i materiallari sintezining oshishi bilan bog'liq.

Gibberellinlarning ko'pchiligi kislotalar bo'lgani uchun, ularni o'ziga mos indeks bilan Gibberal kislota (GK) deb belgilash qabul qilingan. Masalan: GK₂₄, GK₅₃ va hokazo. Turli oilalarga mansub o'simliklarning o'sish reaksiyasida u yoki bu gibberellinlarga nisbatan muayyan spetsifikligini kuzatish mumkin. Masalan, qovoqdoshlar va butguldoshlar oilasiga kiruvchi o'simliklarning o'sishiga GK₃ ta'sir etmaydi, lekin uning boshqa ba'zi oilalarga mansub o'simliklar o'sishiga ta'siri kuzatilgan, GK₄ ta'sirida esa ularning bo'yiga sezilarli o'sishini kuzatish mumkin. Gibberellin poyaning o'sishini tezlashtirib, barglar o'sishiga deyarli ta'sir etmaydi va ildiz o'sishini to'xtatadi. Gibberellinlarning ildizga salbiy ta'siri oziqa moddalarni qayta taqsimlanishi natijasida o'simlikning yer ustki qismining o'sishini tezlashishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Gibberellinlarning tanqisligi o'simlikning pakanaligiga ko'ra aniqlanadi. O'simliklarning pakana bo'lishining sababi, ushbu fitogormonlarning ferment biosintezi tizimi ishining buzilishi bilan bog'liqdir.

Gibberellinlar o'simliklarning generativ organlarining shakllanishi va gullashga o'tish jarayonlarida katta rol o'ynaydi. Ko'p yillik o'simliklarda meristemalar rivojlanishini generativ yo'li determinatsiyasi davrida gibberellinlar darajasining oshishi generativ organlarning hosil

bo'lishiga salbiy ta'sir etadi. Shu bilan bir vaqtda gibberellinlar darajasining kamayishi ham meristemada gul elementlarining shakllanishini so'nggi bosqichida generativ rivojlanishga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Ba'zi to'p bargli o'simliklarga gibberellin bilan ishlov berilganda, hatto kunning noqulay sharoitida ham, ularning gullashi tezlashadi. Uning bu xususiyati akademik M.X. Chaylaxyanga (1988y.) gibberellinni gipotetik gormon florigenining zaruriy qismi deb aytishiga asos bo'ldi. Taxmin qilinishicha, florigen tarkibiga gibberellindan tashqari, hali ajratilmagan fitogormonlar- antezinlar ham kirar ekan.

Gibberellinlarni tashqaridan kiritilishi ko'pincha urug'lar rivojlanishini to'xtatadi va partenokarpik mevalar shakllanishini ta'minlaydi.

Gibberellinlar yordamida o'simliklarning jinsini o'zgartirish bo'yicha 1970-yilda bodring va kanop o'simliklarida tajribalar o'tkazilgan. Bodringda changchi hamda urug'chi gullari bitta o'simlikda joylashadi, kanop esa ikki uyli o'simliklarga kiradi. Gibberellin bilan ishlov berilganda, kanop o'simligida urug'chi o'simliklarning, bodring o'simligida esa changchi gullarning paydo bo'lishi ortgan.

Gibberellinlar urug' va tugunaklarni tinim holatidan chiqarish xususiyatiga ham egadir. Ular zaxira kraxmallarni parchalab murtaklarning oziqalanishi uchun qulay shaklga keltirib beruvchi fermentlar, asosan α -amilaza fermentining sintezini indutsirlaydi. Bu jarayon g'alla ekinlari (bug'doy, javdar, arpa)da yaxshi o'rganilgan. Ularning donlari murtak, endosperm va urug' qobig'idan iborat. Zaxira moddalar endospermida kraxmal holatida to'plangan. Don pishish vaqti yaqinlashganda kraxmal qavatida tirik hujayralar qolmaydi, faqatgina endospermning ustki qismida zaxira oqsillarga boy hujayralar yupqa aleyron qavatida qoladi. Boshqoq zarodishi endosperm bilan qalqoncha orqali aloqa qiladi (qalqoncha oziqa moddalarni endospermidan olib, murtakka berib turish uchun xizmat qiladi). Qalqoncha o'sganda gibberellin ajratadi. Bu murtakning – uyg'onganidan va unga oziqa moddalar zarurligidan dalolat beradi. Gibberellinlar endospermning kraxmal donachalari zonasidan endosperma qavatiga diffundirlanadi. Tirik hujayralarda aleyron qavatidan kraxmallarni parchalovchi ferment amilazaning sintezi uchun axborot RNKsi sintezi boshlanadi.

Gibberellinlarning oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyatiga yana bir misol, uning urug'siz mevalarni rivojlanishini stimullashidir. Ularning bu xususiyati, ayniqsa, urug'siz uzum navlarini yetishtirishda juda muhimdir.

Gibberellin qo'llanilganda mevalar yiriklashadi va hosildorlik oshadi. Gibberellinlar nafaqat boshqoli o'simliklarni, shuningdek, boshqa o'simliklarning ham o'sishini stimullaydi. Kungaboqar va qovoq o'simliklarida bu gormonlar zaxira yog'larni parchalaydi va ularni qandgacha oksidlaydi, dukkakilarda zaxira oqsillar granularini va boshqalar moddalarning tashilishini amalga oshiradi. Shuning uchun ham urug', tugunak va piyozlarga ekishdan oldin gibberellin bilan ishlov berilsa, urug'larning unuvchanlik darajasi ortadi va o'sishi jadallashadi.

Etilen moddasi. 1901-yilda Sankt-Peterburg universiteti laboratoriyasida tajriba uchun no'xat o'simligi o'stirilganda, urug'dan qing'ir-qiyshiq, uchki qismi pastga qarab qarmoq shaklida egilgan kalta o'simtalar o'sgan. Issiqxonalarda va ochiq yerlarda o'sayotgan o'simliklar esa o'suvchan, to'ppa-to'g'ri bo'lib o'sgan. Nelyubov bu fiziologik ta'sirni chaqiruvchi omil laboratoriyada ekanligini taxmin qilgan. O'sha vaqtlarda xonalar gaz yordamida yoritilar edi. Havosi tozalangan sharoitda issiqxonadagi o'simliklar normal ravishda rivojlana boshlagan. Aynan qaysi moddalar ta'sir etishini o'rganish maqsadida Nelyubov yorug'lik gazining turli komponentlarini navbatma-navbat berib, etilenning ta'sirida:

- 1) o'simtalar bo'yiga va eniga o'sishida sekinlashishi;
- 2) qayta to'g'rilanmaydigan poya uchining pastga egilishi;
- 3) o'simtalar o'sish yo'nalishidagi o'zgarish kabi fiziologik reaksiyalarini aniqladi va buni o'simtalarning etilenga uch karra javobi deb atadi.

Shuningdek, etilenning o'simlik barglarini to'kilishidagi, mevalarning pishib yetilishidagi ta'sirlari ham aniqlangan. Etilen moddalari o'simliklarda ham sintezlanadi. Bu moddalar yagona gazzimon fitogormon bo'lib, oddiy tuzilishga ega. Etilenni dezaktivatsiyasi uning atrof-muhitga ajralishidan tashqari etilen oksidi hosil bo'lish yo'li bilan ham boradi. Etilenning maksimal faolligi uning maksimal oksidlanish vaqtiga to'g'ri keladi, oksidlanishning sun'iy to'xtatilishi fitogormonning ta'sirini yo'qotadi. Bularning hammasi etilenning oksidlanishi uning fitogormonal faolligining amalga oshirishi bilan bog'liq ekanligi haqida taxmin qilish imkonini beradi.

O'simlikning deyarli barcha tirik hujayralari etilenni biosintez qilishga qodir. Bu fitogormonning hosil bo'lish xarakteri ontogenezda keskin o'zgaradi. Yuvenil davrdagi o'simliklarda etilen asosan meristema to'qimalarida sintezlanadi. Keyinchalik pishib yetilayotgan

mevalarda uning miqdori ortadi. Shuningdek, etilenning biosintezida o'simlik shikastlanganda yoki stress ta'sirlarida keskin oshadi.

O'simlikliklarda etilen biosinteziga metionin aminokislotalari asos bo'lib xizmat qiladi. Etilen o'simlik hujayralarining izodeametrik cho'zilishini (yo'g'onlashishi) oshirish xususiyatiga ega. Etilenning qator ta'sirlari uning antiauksinlik ta'sirlari bilan ham belgilanadi. Auksindan farqli, etilen ajratuvchi qavat hosil qiladi, ya'ni barglarni, gullarni, mevalarning to'kilishiga olib keladi. Bu uning hujayra devorlarini parchalovchi fermentlar endopoligaluktoronaza va sellulazaning sintezini indutsirlashi bilan bog'liq. Etilen ta'sirida auksin tomonidan indutsirlangan hujayralar cho'zilishdan to'xtaydi, mitotik faolligi pasayadi. Shuningdek, etilen auksinning transportini ham to'xtatadi.

Etilen mevalarni to'kibgina qolmay, shuningdek, ularning pishishini tezlashtiradi. Bu fitogormon kauchuk beruvchi o'simliklarda lateks (tabiiy kauchuk) ni chiqishining oshishiga ta'sir ko'rsatadi. O'simliklar o'sishiga etilen turlicha ta'sir ko'rsatadi. Ko'pchilik o'simliklarda hujayralarning bo'linishi va cho'zilishi jarayonlarini sekinlashtirish orqali vegetativ o'sishni to'xtatadi. Ammo ba'zi hollarda, masalan, sholi nihollarida etilen miqdorining oshishi, uning o'sishini jadal-lashtiradi.

Etilenning himoya ta'siri ham katta qiziqish uyg'otadi. Yuqorida aytilganidek, etilenning miqdori stress ta'sirlar va mexanik shikastlarda keskin oshadi. Bu o'simlikning potensial xavfga nisbatan birinchi javobi bo'lishi mumkin. Stress etileni fitoaleksinlar (himoyalovchi moddalar), patogen zamburug'lar hujayra qobig'ini va ba'zi fenol birikmalarni parchalovchi xitinaza fermenti sintezini indutsirlaydi. Fitoaleksinlarni kimyoviy tabiati o'simlikning sistematik holatiga bog'liq. Masalan: kartoshka seskviterpenoidli fitoaleksinlar hosil qiladi, dukkaklilarda fitoaleksinlar fenolli birikmalar asosida sintezlanadi. O'simlikning shikastlangan joyidan fitoaleksinlar va xitinazadan tashqari proteazalarning ingibitorlari ham tashilib, u o'simlikning shikastlangan joyidagi hujayra oqsillarini parchalanishdan himoya qiladi. Bundan tashqari, etilen miqdorining ortishi o'simliklar himoyasida ishtirok etuvchi boshqa gormon-absziss kislotalarining sintezlanishini ham stimullaydi.

Absziss kislota (ABK). 1965-yilda AQSH olimlari Lyu va Kareslar tomonidan g'ozani yashil ko'sagidan ajratib olingan. O'simliklarda mevalon kislotasidan sintezlanadi. ABK ksantofill violaksantinining yorug'lik ta'sirida ajratilgan mahsulotidan yoki lipoksigenaza fermentidan ham hosil bo'lishi mumkin. Stress ta'sirlarida bu fitogormon

sintezining keskin oshishi aniqlangan. ABK o'simliklarning deyarli barcha organlarida sintezlanadi. Uning hosil bo'lish intensivligi o'simlikning qarishi, noqulay ta'sirlar, ayniqsa, namlik yetishmasligi natijasida keskin oshadi. U qari barglar, pishgan mevalar, tinim holatidagi urug' va kurtaklarda ko'p miqdorda bo'ladi. O'simlik urug'ining murtagi pishib yetila borishi bilan o'zi ABK sintezlash xususiyatiga ega bo'lishi orqali, o'zining tinim va chidamlilik jarayonlarini boshqaradi. ABKning sintezi kunduziga nisbatan kechasi 50–60 marta yuqori bo'ladi. ABKning miqdoriga haroratning pasayishi, yurug'lik tarkibida ko'k va ultrabinafsha kvantlarining kam bo'lishi stimullovchi ta'sir ko'rsatadi.

ABK akropetal va bazipetal ravishda floema va ksilema bo'ylab transport qilinadi. Harakat tezligi juda yuqori bo'lgan ABK uchun oziqa moddalarni tortuvchi markaz bo'lib, faol bo'linayotgan meristema xizmat qiladi. ABK metabolizmi qand moddalari bilan kon'yugat hosil qilish orqali amalga oshishi, ular qaytariladigan va qaytarilmaydigan bo'lishi mumkin, shuningdek, fazeev kislotasi orqali oksidlanishi ham mumkin.

ABKning fiziologik samarasi xilma-xildir. Ular ta'sirida muhim fiziologik jarayonlar ingibirlanishi ham yoki aksincha stimullanishi ham mumkin. Abssiz kislota kuchli ingibitor ta'sirga ega fitogormondir. Ular nuklein kislotalar, oqsillar va xlorofillar parchalanishini tezlashtiradi, proton pompaning faolligini pasaytiradi. ABK ta'sirida og'izchalar yopiladi va fotosintetik fosforlanish to'xtaydi.

ABK tomonidan urug', kurtak va tugunaklarning tinim davri boshqariladi, atirgulning partenokarpik mevalari rivojlanishi va kartoshka tugunaklarini hosil bo'lishi, bodring gipoktilini cho'zilishi, loviya qalamchalarida ildiz hosil bo'lishi stimullanadi. Bu fitogormon g'alla ekinlari hujayralaridagi zaxira oqsillar tarkibining o'zgarishiga ham ta'sir etadi.

O'simliklarning stresslarga chidamliligini oshishida abssez kislota-ning roli juda muhim. U ham sitokinin kabi stress oqsillar, shuningdek, oqsillarning o'ziga xos guruhi, *sinikatsiya oqsillarining* sintezini indutsiraydi. Bu moddalar urug' tarkibidagi namlikni tutib turishga javobgar bo'lib, bu uning tinim davriga o'tishida juda muhimdir. Bu gormonni o'zi sintezlash qobiliyatiga ega bo'lmagan o'simliklar tezda nobud bo'ladi.

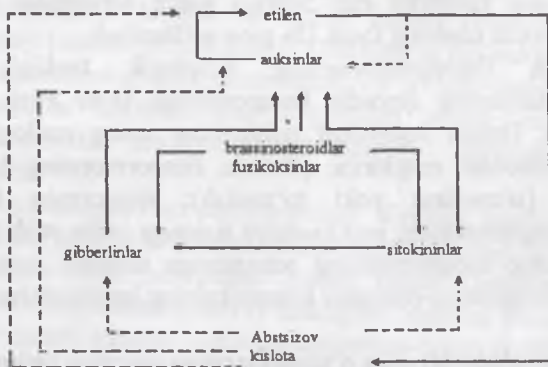
Brassinosteroidlar. Bu fitogormonlar 1979-yilda Grouv va boshq olimlar (Grovtt et al.) tomonidan raps (*Brassica napus*) o'simligi

changining yog'dagi ekstrakti nihollarining bo'yiga o'sishini stimullashi aniqlangan, 10 kg raps changidan 4 milligramm regulator ta'sirga ega moddalar ajratib olingan. Bu moddalarning steroid birikmalar ekanligi aniqlangan. Rapsning lotincha nomidan kelib chiqib brassinolid deb, boshqa shunga o'xshash fiziologik faol moddalar *brassinosteroidlar* deb atalgan. Keyinchalik ma'lum brassinosteroidlar soni ortib bordi. Haqiqiy kashtandan (*Castanea sativa*) – kastasteron, atirguldandan (*Typha*) – tifasterol, choydan (*Thea*) – teasteron, katarangusdan (*Catharanthus*) – kamasteron va boshqalar ajratib olingan. Hozirgi kunga qadar 60 ga yaqin brassinosteroidlik faollikka ega birikmalar aniqlangan. Brassinosteroidlar biosintezi mevalonat yo'li bilan boradi va boshqa terpenli birikmalar uchun umumiy bo'lgan bosqichlar: izopentent ilpirofosfat, geranilpirofosfat, famezilpirofosfat va skvalendan iborat bo'ladi. Ma'lumki, o'simliklarning gul to'qimalari, barglari va yosh poyalarida bu fitogormonlar kam miqdorda bo'ladi. Brassinosteroidlarning maksimal konsentratsiyasi gul changida bo'ladi.

Brassinosteroidlarni fiziologik ta'siri boshqa fitogormonlar ta'siriga yaqin. Ular auksin kabi hujayralar cho'zilishini, gibberellin kabi bodring urug'pallasi o'sishini stimullaydi. Shuningdek, brassinosteroidlar etilenga xos xususiyatlarga ham ega. Bu fitogormonlarning spetsifik ta'siri urug' kurtakning o'sishini boshqarishdir. Brassinosteroidlarning ozgina miqdori chang bilan birgalikda urug' kurtakka tushib, uning rivojlanishi va urug' hosil bo'lishini stimullaydi. U o'simliklarni stresslar va zamburug'li kasalliklardan ham himoya qiladi. Bunday ta'sirning sababi, o'simlikning fitoimmunitet tizimi stress oqsillari, shuningdek, fitoaleksinlari va boshqa komponentlari sintezining oshishi bilan bog'liq. Ko'p miqdordagi brassinosteroidlar o'simliklarning bo'yiga o'sishini to'xtatib, atrof-muhitning noqulay ta'sirlari (past yoki yuqori harorat, qurg'oqchilik, infeksiyalar) ga chidamliligini oshiradi. Hozirgi vaqtda ko'pgina mamlakatlarda brassinosteroidlardan qishloq xo'jalik ekinlarining hosildorligi, chidamliligini oshirish maqsadida foydalanish uchun izlanish ishlari olib borilmoqda.

¶ **Fuzikoksinlar.** Fuzikoksinlar steroid moddalardir. Ilgaridan zamburug'lar hayot faoliyatining mahsuloti sifatida ma'lum bo'lgan, bu fitogormon o'simliklarda ham sintezlanadi va uning o'sish jarayonini boshqaradi (*G.S.Muromsev, 1996*). Fuzikoksinning muhim fiziologik ta'siri uning hujayralarning cho'zilishini stimullashi, qorong'uda og'izchalarni ochishi, suv bug'lanishini kuchaytirishi, urug'larni tinim holatidan chiqarishi va o'sishni jadallashtirishi bilan bog'liqdir.

O'simliklarda fitogormonlarning o'zaro hamkorligi. O'simlik gormonlari bir-birining sintezi, parchalanishi va tashilishiga faol ta'sir ko'rsatadi. Fitogormonlar tizimining biror komponenti miqdorining o'zgarishi, butun tizimning o'zgarishiga olib keladi (4.2-rasm).



4.2-rasm. Gormonlarning o'zaro ta'siri natijasida u yoki bu fitogormonlar miqdorining oshishi (tekis chiziqlar bilan) yoki pasayish (punktir chiziqlar bilan) ko'rsatilgan.

O'simliklarning gormon statusi. O'simliklarning ontogenez davridagi fitogormonal tizimining holati, fitogormonlar miqdori va ular orasidagi nisbat, ularning tashqi ta'sirga javoban hosil bo'lishi, harakatlanishi va inaktivatsiyalanishi – o'simliklarning gormon statusidir.

O'simliklarning gormon statuslari fitogormonlarni miqdoriy aniqlashning murakkabligi sababli kam o'rganilgan.

4.3. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulatorlar

Fitogormonlarni boshqarish mexanizmlari haqidagi bilimlarga ega bo'lish, o'simliklarning hosildorligini, chidamliligini oshirishga erishishda, ularning o'sishi va rivojlanishini boshqarishda katta imkoniyatlar yaratadi.

O'simliklarning fitogormon tizimiga yo'naltirilgan ta'sirlar o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulatorlari (fitoregulator) yordamida amalga oshiriladi.

Fitoregulator – o'simliklarning bo'yiga yoki eniga o'sishiga ta'sir etuvchi, qo'llanilayotgan miqdoriga ko'ra, oziqa manbai va fitotoksin

bo'lmagan tabiiy yoki sun'iy moddalardir. Demak, o'simliklarning o'sishiga ta'sir etuvchi har qanday modda ham, agar u o'simliklar o'sishini o'g'it kabi stimullamasa va gerbitsid kabi o'simliklarning nobud bo'lishiga sabab bo'lmasa, u holda *fitoregulator*dir. Hozirgi kunda regulator faollikka ega 5000ga yaqin birikmalar aniqlangan bo'lib, amaliyotda ularning faqat 1% gina qo'llaniladi.

Ko'pchilik fitoregulatorlarning fiziologik faolligi, ularning fitogormon tizimining qaysidir komponentiga ta'sir etish xususiyati bilan bog'liq. Bunga hujayraga tashqaridan uning analogini kiritish orqali fitogormonlar miqdorini oshirish; fitogormonning biosinteziga ta'sir etish (stimullash yoki to'xtatish); fitogormon transportini to'xtatish; fitogormonning inaktivatsiya tizimiga ta'sir etish (stimullash yoki to'xtatish); fitogormonning retseptoriga ulanishi uchun raqobat hosil qilish; fitogormon-retseptor kompleksining inaktivatsiyasi hisobiga erishiladi.

Sun'iy regulatorlarning o'simliklarning gormon tizimiga ta'siri. *Auksinning analoglari va antogonistlari.* Auksinga ta'sir etuvchi regulator birikmalar orasida, bu fitogormonning sun'iy analoglaridan indolil-3-sirka kislota (*ISK*), indolil-3-moy kislota (*IMK*), 1-naftilsirka kislota (*NSK*) hamda ularning tuzlari va amidlari ildiz hosil qilishni stimullashda keng qo'llanadi. Bu birikmalardan o'simliklarni qalamchalash usuli orqali vegetativ ko'paytirishda, biotexnologik jarayonlarda va an'anaviy o'simlikshunoslikda keng foydalaniladi. Ular bilan ishlov berish- preparatni oziqa muhiti tarkibiga 1–100 mg/l konsentratsiyada kiritish, qalamchanning bazal qismini shu preparatning 200 mg/l konsentratsiyadagi spirtli eritmasiga solish yoki qalamchalarni preparatning 25–50 mg/l konsentratsiyadagi suvli eritmasida 12–14 soat ushlab turish usullari orqali amalga oshiriladi. Bu birikmalarning zaharlilik ta'siri kam bo'lib, ularni odamlar tomonidan iste'mol qilindigan ekinlarga qo'llash mutlaqo xavfsizdir.

Auksin analoglari orasida 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (*2,4-D*); 4-xlorfenoksisirka kislota (*4-X*); 2,4,5-uchxlorfenoksisirka kislota (*2,4,5-T*); 2(2,4,5-uchxlorfenoksi) propion kislota (*2,4,5-UP*) muhim o'rinni egallaydi. Bu birikmalar auksin ta'sir etadigan hududda yuqori auksin faolligiga ega bo'lib, proton pompasini faollashishi va tropizm, hujayralarning cho'zilishi va dedifferensiallanishi jarayonlarini amalga oshiradi. Bu moddalar past konsentratsiyalarda kallus to'qimalarini olish uchun (0,5–2,0 mg/l,), yuqori konsentratsiyalarda esa gerbitsid sifatida qo'llaniladi. Ushbu guruh auksin analoglarining zaharlilik ta'siri boshqa

guruh vakillaririkiga nisbatan kam, ammo ular kuchli mutagen ta'siriga ega bo'lganligi uchun ekologik xavf tug'diradi.

Antiauksin ta'siriga ega qator fitoregulatorlar ham mavjud. Ularning ta'siri bu gormonlar transportini to'xtatishi bilan bog'liq: ular morfaktinlar, naftilftalamin kislota va uning tuzlari, shuningdek, 2,3,5-uchyodbenzoy kislota (UYBK)dir. UYBKning ta'siri auksin tomonidan apikal dominantlikning buzilishida namoyon bo'ladi. Buning natijasida ba'zi o'simliklar kurtaklarining uyg'onishi ortadi, masalan: soya o'simligida hosildor novdalar sonini oshirish hisobiga hosildorligi yuqori bo'ladi.

Sitokinin analoglari va antagonistlari. Keyingi vaqtlarda sitokinin preparatlarining antistress ta'sirlari aniqlanganidan so'ng, ularga bo'lgan qiziqish tobora ortib bormoqda. Zeatin qatori (kinetin, 6-benzilaminopurin) sitokininlarining sun'iy analoglari shunday xususiyatga ega. Sitokininlar qatori analogi – difenilmochevina-dropp (tidiazuron) ning antistresslik xususiyati kam.

Sitokininlar o'simliklar biotexnologiyasida kallus to'qimalari olishda, hujayralar bo'linishini faollashtirishda, kallusda paydo bo'lgan nihollarning differensiyalanishini induksiyalashda, shuningdek, apikal dominantlikni bartaraf etishda va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda, ularning ko'payish koeffitsiyentini oshirishda qo'llaniladi. Bunday maqsadlar uchun, ayniqsa, 6-BAP va kinetinlardan ko'proq foydalaniladi.

Sitokinin analoglari oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyati tufayli, mevali daraxt ko'chatlarining apikal dominantligini bartaraf etish, ko'chatzorlardagi daraxtlarning shoxlari va barglarining tez va sifatli hosil bo'lishi, shuningdek, urug'siz uzum navlarining mevalarini yiriklashtirish va massasini oshirishda qo'llaniladi. Buning uchun sitokinin analoglari sun'iy gibberellinlar bilan birgalikda qo'llanilda yaxshi natija berishi mumkin.

Dropp preparati g'o'za defolianti sifatida muhim ahamiyat kasb etadi. Uning ta'sirida endogen etilenning sintezi stimullanishi natijasida barglar to'kiladi.

Sitokinin analoglari cheklangan miqdorda sabzavotlarni saqlashda, jinsni boshqarishda, shuningdek, urug'larni tinim davridan chiqarishda va o'stirishda qo'llaniladi.

Sitokininlarning antagonistlari aniqlangan, lekin ular amaliyotda qo'llanilmaydi va hozircha faqat ilmiy ahamiyatga ega.

Gibberellinlarning analoglari va antagonistlari. Gibberellinlar analoglari patogen zamburug' *Gibberella fujicurooidan* mikrobiologik sintez yo'li bilan olinadi. Ular o'simlik tomonidan sintezlanadigan gibberellinlarning aniq nusxalaridir. Ulardan, ayniqsa, GK₃, GK₄, GK₇ keng qo'llaniladi. Bu moddalardan asosan urug'siz uzum navlari mevasining o'sishi va pishishini stimullashda foydalaniladi. Bundan tashqari, gibberellinlar urug' va tugunaklarni tinim holatidan chiqarish va ularning unib chiqishini tezlashtirishda ham qo'llaniladi.

O'simliklar biotexnologiyasida gibberellinlardan virussiz ekish materiallari olish uchun apikal meristema hujayralarining cho'zilishi va bo'linishini stimullashda foydalaniladi.

Gibberellinlarning antagonistlari analoglariga nisbatan qishloq xo'jaligida kengroq qo'llaniladi. Uning deyarli barcha antagonistlari retardant ta'sirga ega.

Brassinosteroidlar analoglari va antagonistlari. O'simlik hujayralaridan brassinosteroidlar ajratilishi bilan bir vaqtda, uning analoglarini ham sintezlash ishlari amalga oshirila boshlandi. Hozirgi kunga qadar sintezlangan brassinosteroid analoglari ularning tabiiy fitogormonlaridan yon zanjir strukturasini bilan farq qiladi. Brassinosteroid analoglarining ko'proq tarqalgan turlariga 22S, 23S-izomerlari, *gomobrassinolid*, *norbrassinolid* birikmalari kiradi (*V.A.Xripach va boshq.* 1993).

Brassinosteroidlar va auksinlar o'simliklar ildiz tizimiga ta'siriga ko'ra farq qiladi. Auksinlar yon ildizlarning hosil bo'lishini stimullaydi, brassinosteroidlar esa ularning o'sishiga ingibitorlik ta'sir ko'rsatadi. Brassinosteroidlarning yuqori me'yori o'simliklar o'sishini to'xtatib, uning tashqi noqulay omillar (sovuq urishi, qurg'oqchilik, issiq harorat va infeksiyalar) ga chidamliligini oshiradi.

Fuzikoksinlarning analoglari va antagonistlari. Fuzikoksinlarning gibberellinlar bilan analogiyasi kuchli bo'lib, ularning ikkalasi ham har tomonlama yuqori regulator faollikka ega, fitopatogen zamburug'lar tomonidan sintezlanadi va kimyoviy birikmalarning bitta guruhi – diditerpenlarga kiradi.

Terpenoidlarga brassinosteroidlar va abssez kislota ham mansub bo'lib, bu fitogormonlar fitopatogen zamburug'lar tomonidan sintezlanadi. Shu ma'lumotlar asosida (*G.S.Muromsev* 1987) fuzikoksinning gormon tabiatli modda ekanligi haqidagi taxminlar keltirilgan va ularni o'simlik hujayralarida ham aniqlangan.

Etilen analoglari va antagonistlari. 2-xloretilfosfon kislotaning (2-XEFK, etefon) $\text{pH} > 4,0$ bo'lganda etilen ajratib parchalanish xususiyati aniqlanganidan so'ng, o'simlikshunoslikda etilen analoglaridan foydalanish imkoniyati paydo bo'ladi.

2-XEFK asosida ko'plab preparatlar *etrel, kampozan, flordimeks, gidrel, digidrel, dekstrel* ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. 2-XEFK va uning asosidagi preparatlar issiq qonli organizmlar uchun umuman zararsizdir. Gidrel va digidrel bundan mustasno bo'lib, ularning sintezi uchun simmetrik bo'lmagan *dimetilgidrazin*dan foydalaniladi, uning mazkur preparatlardagi juda kam miqdori ham ularning zaharli va mutagenlik ta'sirini yuzaga keltiradi.

Etilen produtsentlari turli ta'sirlar uchun: ajratuvchi qavatni hosil bo'lishi (barg bilan poya, poya bilan meva o'rtasida), o'simliklarni tinim holati va chidamliligini stimullash va induksiyalash uchun retardant sifatida qo'llaniladi.

Ba'zi hollarda, mevali daraxtlar mevasini to'kishini kamaytirishda va ba'zi bir biotexnologik tadqiqotlarda o'simlikdagi endogen etilenning miqdorini kamaytirish zarur bo'ladi. Buning uchun etilen biosintezini to'xtatuvchi Ag^+ aminosirka kislota (ASK) rizobiotoksin va aminoetoksinivilglitsin (AVG) kabi moddalardan foydalaniladi.

Abssiz kislota analogi va antagonistlari. Abssiz kislotaning fiziologik faol strukturaviy analoglari narxi yuqori bo'lgani uchun qishloq xo'jaligida kam qo'llaniladi. Lekin uning hosil bo'lishini faollashtirish orqali o'simlikdagi miqdorini oshirish mumkin. Abssiz kislota hosil bo'lishining induktori va stimulyatori sifatida boshqa fitogormon-etilen yoki uning produtsentlari xizmat qiladi.

Abssiz kislota miqdorining oshishi, bu fitogormon tomonidan suvni bog'lab turishga javobgar stress oqsillar sintezining induksiyalanishi, shuningdek, o'simlikning tinim holatini stimullash xususiyati bilan bog'liq holda mahsulotlarining isrof bo'lishini kamaytirishni ta'minlaydi.

Biotexnologiyada o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi fitogormon va sun'iy regulatorlar

O'simliklar biotexnologiyasida fitoregulatorlar kallus hosil qilish, hujayralarning differensiyalanishi, regenerant-o'simliklar o'sishi va rivojlanishi jarayonlarini boshqarish imkonini beruvchi asosiy vositadir.

Ontogenezni boshqarish. Yu.Saks 1880-yillardayoq o'simliklarning asosiy organlari – ildiz, poya, barglarining differensiallanishi va rivojlanishini boshqaruvchi moddalar mavjudligi haqida o'z taxminlarini aytgan, hamda ularni mos ravishda *rizokolin*, *kaulikolin* va *faliokolinlar* deb atagan edi.

Qishloq xo'jalik o'simliklari biotexnologiyasi rivojlana borishi bilan fitogormonlarning organogenezni boshqarishi haqidagi ma'lumotlarning ahamiyati tobora ortib bormoqda, chunki aynan fitogormonlar *in vitro* o'simlik to'qimalar va hujayralari kulturasida turli muolajalarni amalga oshirishda asosiy qurol bo'lib xizmat qiladi.

Ildiz hosil bo'lishi. O'simlikshunoslikda novda, barg yoki poyalarda ildiz hosil bo'lishini sun'iy ravishda boshqarish hamma vaqt ham keng qo'llanilgan, 1930-yillar boshlarida auksinning kashf etilishi, uning adventiv ildiz hosil bo'lishini indutsirlash va ildiz tizimining rivojlanishini stimullash xususiyatlari aniqlangandan so'nggina deyarli barcha turdagi o'simliklarni yoppasiga qalamchalab ko'paytirish imkoniyati paydo bo'ldi.

Hozirgi kunda fan- texnikaning yuksak taraqqiyotiga qaramasdan o'simliklarni ko'paytirishda – qalamchalarga ekishdan oldin auksinning analogi bilan ishlov berish orqali ildiz ottirish usulining mohiyati o'zgarimasdan qoldi.

Adventiv ildizlar kambiy hujayralaridan hosil bo'ladi. Ayniqsa, kambiy to'qimalari bo'linishining maksimal faollashgan davrida bu jarayonning samarasi yuqori bo'ladi. Meristema to'qimalari hujayralaridan ildizlarning shakllanishi genetik determinirlangan bo'ladi. Rizogenezga olib keluvchi genetik dasturlarning transkripsiyasidagi o'zgarishlar auksin tomonidan nazorat qilinadi. Auksin muayyan retseptor bilan o'zaro aloqasidan so'ng va mos gormon – retseptor kompleksi hosil bo'lgandan keyin, ildiz hosil bo'lishiga olib keluvchi va metabolizmni o'zgartiruvchi fermentlar genlarining operonlaridan repressor qurshovini yo'qotishga olib keluvchi javob tizimini ishga tushiradi.

| Auksinning barcha sun'iy analoglari ham ildiz hosil bo'lishini indutsirlash xususiyatiga ega emas. Lekin auksinning indolil-3-moy kislota (IMK) va naftilsirka (NSK) kislota kabi sun'iy analoglari ta'siri haqiqiy tabiiy gormon ISKning ta'siridan birmuncha kuchliroqdir. Buning sababi sun'iy analoglarning hujayradagi turg'unligini yuqoriligi va ularning gormonlarni dezaktivatsiyalovchi fermentlarga kam o'xshashligidir. Shu bilan bir vaqtda auksinning boshqa analogi 2,4-

dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D) rizogenez chaqirish xususiyatiga deyarli ega emas va bu moddadan uzoq vaqt foydalanilganda to'qimalar ildiz morfogeneziga bo'lgan xususiyatini yo'qotadi.

Sun'iy auksinlarning ildiz hosil qilish faolligi vitaminlar va ko'pincha askorbin kislotasi bilan birga qo'llanilganda stimullanadi.

Boshlang'ich o'simliklarga retardantlar bilan oldindan ishlov berish ham ildiz hosil bo'lishini sezilarli darajada stimullaydi. Regulatorlarning bunday ta'siri zemlyanika, kartoshka, olma, olcha, qoraqat, krijovnik va boshqa o'simliklarda aniqlangan. Barcha holatlarda ham boshlang'ich o'simlik qalamchalar kesilishidan oldin, yoki meristemalar ajratilishidan oldin, retardantlar bilan ishlov berilgan o'simliklarning ildiz tizimi yaxshi shakllangan bo'ladi.

Nihol hosil bo'lishi. Niholning organogenezi sitokinin guruhi fitogormonlari tomonidan nazorat qilinishi, barcha turdagi o'simliklarning kallusli kulturalarida aniqlangan. Sitokininlarning oziqa muhitida ishtirok etishi kallusda kurtak hosil bo'lishini indutsirlyadi. Kallusda vegetativ kurtaklar shakllanishini stimullashga yo'naltirilganda oziqa muhitidagi auksin va sitokininlarning absolyut darajasiga va bu fitogormonlarning nisbatiga e'tibor qaratish lozim.

F.Skuga va K.O.Miller tomonidan tamakining differensiyallanmagan kallus to'qimalari ontogenezi boshqarishda sitokininlar qatnashishi aniqlangan. Tajribalarda ISK va kinetin yordamida kallusda ildiz va nihollar hosil bo'lishi chaqirilgan.

M.X. Chaylaxyan va boshqa tadqiqotchi olimlarning fikriga ko'ra ildiz hosil qilishni fitogormonlar orqali boshqarish gibberellinlar va abszis kislota yordamida (ABK) quyidagi tartibda amalga oshiriladi: oldin gibberellinlar ta'sirida nihollarning hosil bo'lishi va o'sishi stimullanadi, navbatdagi bosqichda ABK ta'sirida nihollar o'sishi to'xtatilishi natijasida ular yo'g'onlashadi va nihollarda tugunaklar shakllanadi. Kartoshka o'simligiga ABK bilan ishlov berilganda tugunaklar massasining oshishi hisobiga hosildorligi ancha yuqori bo'ladi.

Kallus hosil bo'lishini gormonlar orqali boshqarish. O'simliklar biotexnologiyasi ishlarining asosiy bosqichlaridan biri, nihol, barg va ildizning differensiyalangan to'qimalaridan kallus to'qimasini olish bilan bog'liq. Kallus to'qimalari olishning asosini o'simlik eksplant hujayralarining dedifferensiyalanishi, ularni meristematik, bo'linayotgan holatiga qaytarish tashkil etadi. Buning uchun 1) hujayralarning bo'linish jarayoniga to'sqinlik qilayotgan hujayraning struktura

elementlari modifikatsiyasi (ikkilamchi qalin hujayra qobig'ining yupqalanishi); 2) mitoz jarayoniga javobgar genlarning ekspressiyasi amalga oshishi zarur.

O'simliklarning shikastlangan joyi kallus to'qimasi bilan tez qoplanib, so'ng differensiyalanadi. Ko'p hollarda kallus meristema to'qimalaridan, asosan kambiydan hosil bo'ladi. Bunday hollarda hujayra strukturalarining modifikatsiyasiga ehtiyoj paydo bo'lmaydi.

Ko'pincha *in vitro* sharoitida kallus hosil qilish uchun eksplant differensiallanishi jarayonini stimullovchisi sifatida tarkibida yuqori miqdorda auksinning sun'iy analogi 2,4-D tutuvchi oziqa muhitiga ekiladi.

Kallus to'qimalari uzoq vaqt o'stirilganda ular shish to'qimalariga, ya'ni o'sishi organizm tomonidan nazorat qilinmaydigan to'qimalarga aylanishi mumkin. Buning sababi, to'qima o'zining bo'linishi uchun zarur bo'lgan fitogormonlar (auksin va sitokinin) ni boshqa organlardan olmay, o'zini ichida sintezlash xususiyatiga ega bo'lishidir. Tashqi muhitdagi fitogormonlar konsentratsiyasining o'zgarishiga ta'sirlanmaydigan *in vitro* kulturasidagi shish to'qimalari, gormonga bog'liq bo'lmagan yoki «moslashgan» to'qimalar deyiladi.

Gormonga bog'liq bo'lmaslik holatining paydo bo'lishi o'simliklar biotexnologiyasi imkoniyatlarini chegaralab qo'yadi, chunki bu xususiyatga ega to'qima hujayralari differensiyallanish, so'ngra yetuk o'simlik regeneratsiyalashga umuman qodir emas. Gormonga qaram bo'lmaslik sabablari va mexanizmini o'rganish juda muhim bo'lib, nafaqat qishloq xo'jalik biotexnologiyasi muammolarini hal qilishda, shuningdek, insonlardagi onkologik kasalliklarni davolash yo'llarini topishda ham yordam berishi mumkin.

Gormon statusi o'zgartirilgan transgen o'simliklar olish

Tabiatda gormon statusi o'zgartirilgan transgen to'qimalar paydo bo'lish jarayonlari insoniyat aralashuvisiz sodir bo'ladi.

Evolutsiya jarayonida agrobakteriyalarning ikki turida (*Agrobacterium tumefaciens* va *A. rizogenes*) nafaqat xo'jayin o'simlik genetik apparatidan foydalanib zarur oqsillarni sintezlash, balki shikastlangan hujayralarga plastik moddalarning doimiy oqib kelishi, zararlangan hujayralarning dedifferensiyalanishi va proliferatsiyasini amalga oshirish mexanizmlari ham shakllangan.

Agrobakteriyalar parazitlik mexanizmining asosini ularning bakteriya oqsillarining spetsifik genlari (nopalini va oktapi) bilan bir qatorda, auksin va sitokinin fitogormonlari sinteziga javobgar fermentlar genlarini ham tutuvchi va o'simlik xromosoma DNKsiga ulanuvchi plazmidalarni o'simlik hujayrasiga kiritilishi tashkil etadi. Natijada bu fitogormonlar darajasi ortadi, ixtisoslashgan o'simlik hujayralari dedifferensiyallanadi va to'xtovsiz bo'linib, *A. tumifaciens* bilan zararlangan hujayralar gallar (shishlar), *A. rizogenes* bilan zararlangan hujayralar esa ko'plab ipsimon yengil ildizlar hosil qiladi. Agrobakteriya plazmidasi xo'jayin o'simlik genomiga birikkanida, o'simlik hujayrasiga xos bo'lgan fitogormonlarning sintezi to'xtatilishi haqidagi yangi ma'lumotlar ham mavjud.

Agrobakteriya plazmidalari asosida o'simlikning xromosoma genomiga genlarni kiritish uchun vektor tizimlar yaratilgan.

Hozirgi vaqtda o'simliklar gen muhandisligi sohasidagi ishlar gerbitsidlar, patogenlar yoki zararkunanda hasharotlarga chidamli o'simliklarning boshlang'ich shakllarini olish bilan bog'liq. Bunday tor darajadagi yo'naltirishni, asosan ikkita sababga bog'liq deb ko'rsatish mumkin: birinchidan, o'simliklarga yuqorida qayd etilgan xususiyatlarni berish zaharli kimyoviy moddalarni qo'llanish zaruriyatini ancha qisqartiradi, o'simlikshunoslikda katta ekologik xavfsizlikni ta'minlaydi; Ikkinchidan, o'simliklar genetik muhandisligini rivojlanish darajasi bugungi kunda o'simlik genomiga genlarni kiritish va ularning ekspessiyalanishini amalga oshirish imkoniyatini beradi.

Sanoat o'simlikshunosligi amaliyotida nafaqat serhosil va noqulay sharoitda chidamli, o'sishning muayyan xarakteriga ega, ob-havo va agrotexnika sharoitlariga hamda qishloq xo'jalik texnikasiga moslashtirilgan o'simliklarni yaratish juda muhim bo'lib qoldi. Bu hosilni yetishtirish jarayonini mexanizatsiyalashtirishda muhim ahamiyatga ega. Bunday hollarda o'simliklarning fitogormon statusini, ferment genlari «me'yorini», sintezini o'zgartirish yoki uning promotorini almashtirish hisobiga u yoki bu fitogormon mahsulotini oshirish yoki kamaytirish orqali boshqarish maqsadga muvofiqdir.

Rossiya olimlari I.V. Korneeva, V.V. Mazin, M.N. Agafyodorova (1999) lar tomonidan bedaning gormonal statusi o'zgartirilgan transgen o'simligini olingan. Transformant o'simliklar boshlang'ich shakllaridan yer ustki qismi, barglarining yashil rangini uzoq vaqt saqlashi, nihollarining uzunligi, butadagi shoxlar oralig'ini yaqinligi va sonining ko'pligi, ildizining massasi, rizogenezga bo'lgan qobiliyati, reproduktiv

organlarining morfofiziologik xarakteristikasi bo'yicha, erkin prolinning miqdori bo'yicha, protein, xlorofill va karotinoidlarni yuqori miqdorda tutishi bo'yicha farqlanadi. Mualliflar bu farqlarni o'simliklardagi fitogormonlar va gormonsimon moddalarning nisbati va konsentratsiyasidagi siljish va genlarning geterologik ekspressiyasiga o'simliklarning korrelatsion va adaptatsion jarayonlari bilan javobi ekanligini ta'kidlashadi. Barglarining yashil rangini uzoq vaqt saqlashi, barglarning qarishi va xlorofillning parchalanishini to'xtatuvchi sitokininlar miqdorining yuqoriligi bilan bog'liq.

Transformatsiyalangan o'simliklardan xo'jalik ahamiyati qimmatli xususiyatlar manbai sifatida: bedaning ozuqalik sifatini yaxshilanishi, urug' mahsuldorligining va stresslarga chidamliligining oshishi, ularning yaylovlarda o'sishga moslashgan, raqobatbardosh navlarini yaratishda qimmatli seleksion material sifatida foydalanish mumkin.

Fitogormon va fitoregulatorlarni olishning biotexnologik usullari

Mikroorganizmlar yordamida fitogormonlarni yaxlitligicha yoki qisman sintezlash mumkin. Aynan shu yo'l bilan gibberellinlar, fuzikoksinlar olinadi, abssez kislota ishlab chiqarish yo'lga qo'yilmoqda, brassinosteroidlarni sintezlash uchun zarur mahsulotlar ishlab chiqarilmoqda.

So'nggi vaqtlarda mikroorganizmlardan, ayniqsa, vizikulyar-arbuskulyar mikoriza kompleksi komponentlaridan ajratilgan, umumiy stimulatorlik ta'sirga ega, yuqori samarali fitoregulatorlar paydo bo'ldi. Bunga *simbiont-2* va *emistim* preparatlarini misol qilib keltirish mumkin. Bu birikmalar auksinlar va sitokininlar tipi bo'yicha ta'sir etib, u yoki bu o'simlik kulturasida turlicha namoyon bo'luvchi qator xususiyatlarga ham ega. Ko'pchilik mikrobiologik sintez qilingan preparatlar vitaminlar kabi ta'sir etib, bir qator biokimyoviy reaksiyalarni faollashtirishi natijasida hosildorlikni oshiradi yoki boshqa ijobiy xususiyatlarni namoyon qiladi. Bunday preparatlarning jiddiy kamchiliklariga ularning ko'p tarkiblilik sababli ta'sir etuvchi asosini ajratish, ularning regulator aralashmalari komponentlarining zaharli ta'sirini aniqlash, butun preparat va ularning qoldiqlari aralashmasini nazorat qilishning qiyinligidir.

§ O'simlikshunoslikda fitogormon va o'sishni boshqaruvchi regulatorlar

O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulatorlar 1950–1960-yillardan ko'p yillik o'simliklar qalamchalarida ildiz hosil qilish, so'ngra g'alla ekinlarining yerga yotib qolishini oldini olishda qo'llanila boshlandi, hozirgi kunda esa regulator moddalar qishloq xo'jaligi o'simliklarini ko'paytirishning barcha intensiv texnologiyalarida foydalaniladi. Fitoregulatorlar yordamida o'simliklarning tashqi noqulay ta'sirlarga chidamliligini oshirish, ba'zan yuqori hosilli navlarning kamchiliklarini yo'qotish mumkin.

Ontogenezni boshqarish. *Tinim davri va uni boshqarish usullari.* O'simliklarning tinim davri bu organizmning tashqi noqulay sharoitga bardoshliligining evolyutsion moslashishidir. Shuningdek, u qish kunlarining past haroratiga chidamlilik hosil qilib, yashash usuli sifatida ham shakllangan. Tinim davri shakllanishining boshqa sharoitlari ham ma'lum bo'lib, ularga yarim cho'llardagi qurg'oqchilikni kiritish mumkin. Bunday sharoitlarda o'sishga efemer-o'simliklar moslashgan bo'lib, ularning vegetativ davri juda qisqa, zaxiralovchi organ (piyozdan) dan unib, urug' hosil qilgunga qadar o'tgan vaqt bor yo'g'i bir necha o'n kunni tashkil etadi. O'simliklarning tinim davriga o'tishini endogen omillar bilan bir qatorda tashqi omillar ham indutsirlyadi.

Tinim davriga butun o'simlik va uning alohida qismlari yoki organlari o'tishi mumkin. Bunday holatga misol qilib, o'simlikning yer ustki qismi va ildizi jadal o'sishi davom etayotgan vaqtda piyozi, tugunaklari, kurtaklari va urug'ining tinim davriga o'tishini keltirish mumkin.

Kuz boshidan to bahor oylarigacha cho'ziladigan tinim davri *uzoq davomli tinim davri* deb ataladi. O'simlikning tinim davrida moddalar almashinishi butunlay to'xtab qoimaydi. Uzoq davomli tinim davri chuqur va majburiy tinim davrlaridan iborat:

Chuqur (fiziologik) tinim davrini kartoshka va daraxt kurtaklarida kuzatish mumkin. Daraxtlar yoz, kuz fasllari davomida, ya'ni o'sish uchun juda qulay bo'lgan sharoitda tinim davridagi himoyasini ta'minlovchi tangachalar bilan qoplangan urug' va qishlovchi kurtaklar hosil qiladi. O'simliklarning chuqur tinim davridan chiqishi ko'pincha ularning past haroratli (0–5°C) sharoitda yetarli darajada uzoq vaqt (250–1000 soat) bo'lishi bilan bog'liqdir. Ma'lum muddat o'tgandan so'ng sharoit noqulay bo'lishiga qaramay, kurtak va tugunaklarda o'sish jarayoni boshlanganini kuzatish mumkin.

Tashqi noqulay omillar ta'sirida o'simliklar o'sishdan to'xtashi va o'sish sharoiti yaxshilanganda esa, darhol yana o'sishga o'tishini *majburiy tinim davri* deyish mumkin. Ko'pchilik o'tchil o'simliklar, masalan, turli boshqoqli va ikki pallali begona o'tlar qishda vegetatsiya uchun past bo'lgan 0° C ga yaqin harorat ta'sirida majburiy tinim davriga o'tadi. Harorat ko'tarilganda esa bunday o'simliklar yana o'sishni davom ettiradi.

O'simliklarning tinim davrini boshqarib—o'simliklar o'sishi uchun qulay sharoitlar yuzaga kelganda ularning o'sishini ta'minlash orqali ularning yaxshi rivojlanishi va hosildorligini oshirishga erishish mumkin.

Urug' unishi va o'sishini regulator moddalar va yana bir qancha ta'sirlar hisobiga stimullash mumkin. Masalan, ra'noguldoshlar oilasiga mansub mevali daraxtlar urug'ning tinim davri davomiyligi urug' qobig'ining o'tkazuvchanligi bilan belgilanadi. Ularning urug' qobig'ini eritishga qodir moddalarni ajratish faoliyati yuqori mikroflorida uzoq vaqt bo'lishi natijasidagina urug'lar unishi tabiiy sharoitda stimullanadi. Bunday hollarda urug' unishini skarifikatsiya qilish, ya'ni urug' qobig'ini qandaydir yo'l bilan parchalash orqali tezlashtirish mumkin.

Urug' sekin unishining asosiy sababi, uning tarkibidagi ingibitor tabiatli moddalarning ishtirok etishidir. Murtak shakllana borishi bilan o'sishni ingibirlovchi moddalar uning o'zida, yoki uni o'rab turuvchi to'qimalarda to'planib boradi. Ular bu yerga murtakning moddalarni o'ziga tortish xususiyati orqali yoki murtakni o'rab turgan to'qimalarda sintezlanishi orqali asta-sekin assimlyantlar bilan birga tushadi. Urug' unishining tabiiy ingibitorlariga abssez, jasmin kislota kabi fitogormonlar, shuningdek, hozirgi kunga qadar to'liq o'rganilmagan qator fenolli birikmalar kiradi.

Urug'ning unuvchanligi pastligining boshqa sababi, murtakning o'sishi uchun zarur bo'lgan zaxira moddalarni oson eruvchi monomerlarga parchalovchi gidrolazalar faolligini oshiruvchi stimulator moddalar, ayniqsa, gibberellinning va hujayralarning bo'linish jarayonlarini faollashtiruvchi sitokininlarning tanqisligidir. Stimulator moddalarning tanqisligining sababi, murtakning ona o'simlikdan erta ajratilishi, uning fitogormonlar sintezlash qobiliyatining yo'qligi, fitogormonlarning zaxira shaklidan faol shaklga o'tkazuvchi fermentlar faolligining pastligi, gormonlarni parchalovchi ferment komplekslarning yuqori faolligi bilan bog'liqdir.

Stimulator moddalar miqdorini oshiruvchi yoki ingibitor moddalar miqdorini kamaytiruvchi fitoregulatorlar urug' unishini tezlashtiradi va aksincha.

Urug' unishini fitoregulatorlar yordamida stimullash o'simliklarda keng qo'llaniladi. Ular ta'sirida murtaklarning tuproq namligidan foydalanish, begona o'tlar bilan raqobatlashish qobiliyati ham ortadi va hosildorligi oshadi. Ayniqsa, sabzavotlardan bu yo'nalish bo'yicha yaxshi natijalar olingan.

O'sishni to'xtatish orqali urug'ning tinim davrini uzoqroq cho'zish ham mumkin. Bu tinim davri sust bo'lgan o'simliklar uchun katta ahamiyatga ega bo'lib, hosil yig'im-terim vaqtida namlikning yuqori bo'lishi ularda enzim mikoz tanqisligining paydo bo'lishi (EMT) ga, sabab bo'ladi. Yuqorida qayd etilgan kamchiliklarga qarshi kurashda bu fitogormonlar miqdorini kamaytiruvchi yoki faolligini oshiruvchi, gidrolitik fermentlar faolligini oshiruvchi antigibberellin ta'siriga ega fitogormonlarni qo'llash, shuningdek, o'sishni to'xtatuvchi ingibitorlar miqdorini oshiruvchi fitoregulatorlar, masalan, etilen mahsulotlaridan foydalanish katta ahamiyat kasb etadi. EMT ga qarshi fitoregulatorlar bilan ishlov berish ham donni saqlashdagi yo'qotishlarning oldini olishda qo'shimcha ijobiy ta'sirga ega bo'ladi.

Urug'ning tinim holatining stimullanishi qishloq xo'jalik o'simliklarini kuzda ekilishida ham ahamiyatga ega. Kuzda ekilgan urug' erta bahorda unib chiqadi, bunda nihollar erigan qorning namligidan o'zining o'sishi va rivojlanishi uchun foydalanish imkoniyatiga ega bo'ladi, bu esa yuqori hosilni ta'minlaydi. Shu bilan bir vaqtda kunlar iliy boshlashi bilan chuqur tinim holatidan chiqqan urug' unib o'sa boshlaydi, lekin kunning takroriy sovishi bunday ekinlarga tuzatib bo'lmas zarar keltirishi mumkin. Bunday hollarda urug'ning chuqur tinim davrining davomiyligini boshqarish, urug'ning vaqtidan oldin unishini oldini olish, tuproq namligidan maksimal darajada foydalanishining optimal sharoitini topish imkonini beradi. Buning uchun, ekish oldidan urug'larga gidrofob plyonkalar qoplash bilan birgalikda o'sishga ingibitor ta'sir ko'rsatuvchi fitoregulatorlarning qo'llanishi yaxshi samara beradi.

Mamlakatimizda kartoshkadan bir yilda ikki marta hosil olish uchun tuganaklarning tinim holatidan chiqishini o'sishini stimullovchi fitoregulatorlardan foydalanish orqali amalga oshirish mumkin. Buning uchun tuganaklar gibberellin va tiomochevina eritmalarida qisqa vaqt ivitiladi.

Aksincha, chuqur tinim holati stimullanganda, tuganaklarning unishi keskin ravishda to'xtaydi va qishloq xo'jalik ekinlarini saqlash uchun qo'yilgan ildiz mevalar, piyozlarning sifati buzilmaydi va yoz oylarigacha deyarli to'liq saqlanadi. Tinim davrini cho'zish uchun tuganaklarni saqlash, joylashtirishdan oldin yoki o'simlik hosili yig'ib olinishidan oldin etilen produsentlari bilan ishlov beriladi.

Poyaning o'sishini tezlashtirish. O'simliklar o'sishi – hujayralarning bo'linish va cho'zilish jarayonlaridan tashkil topgan bo'lib, nafas olish, fotosintez, o'simliklardagi moddalarning transporti, suv va mineral oziqaning tushishini ta'minlovchi biologik jarayonlar yig'indisidir. Har qanday fitoregulator qo'llanilganda o'simliklar o'sishiga qandaydir ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklar olamida gigantizm va pakanalik faktlari kuzatilib, ulardan o'simlikshunoslik amaliyotida keng qo'llaniladi. Bunday holatning asosiy sababi fitogormonlarni boshqarish tizimning buzilishi bo'lib, natijada o'simlik bo'yining haddan ziyod o'sib ketishi yoki pakana bo'lishi kuzatiladi.

O'simliklarning ildiz tizimi auksinlar, poyasi gibberellinlar, generativ a'zolari brassinosteroidlar, gibberellinlar va sitokininlar tomonidan stimullanadi. Ko'pchilik o'simlik nihollarining o'sishi subapikal zonadagi hujayralarning bo'linishi va cho'zilishini faollashtiruvchi gibberellinlar tomonidan stimullanadi, etilen, abssez kislotasi va ba'zi fenolli moddalar, tomonidan to'xtatiladi (ingibirlanadi). Niholning o'sish xarakteri apikal dominantlikni stimullovchi auksinlar tomonidan va bu jarayonni to'xtatuvchi sitokininlar tomonidan belgilanadi. O'simlik hujayralariga gibberellin analoglari kiritilganda, gibberellinlar miqdorining ortishi natijasida, uning o'sishi bo'g'in oraliq'i masofasining cho'zilishi hisobiga stimullanadi. Ammo, bunda poya ingichkalashadi, uning mexanik mustahkamligi va yo'gochlanish darajasi pasayadi. Turli xil oilalarga mansub o'simliklarning gibberellinlarga ta'sirchanligi turlichadir. Masalan, qovoqdoshlar oilasi vakillari nihollarining o'sishi faqat GK_4 va GK_7 tomonidan, g'alladoshlarda esa GK_1 va GK_3 tomonidan stimullanadi. Gibberellin analoglarining narxi qimmatligi sababli amaliyotda nihollarning vegetativ o'sishini stimullash hozircha keng tarqalmagan. Bu preparatlarni olishning arzon texnologiyalari ishlab chiqarilsa, o'simliklarni yashil massasini o'stirishda qo'llash muhim ahamiyat kasb etish mumkin.

O'simliklarga brassinosteriod va fuzikoxsinlar analoglari bilan ishlov berish orqali ham ularning o'sishini tezlashtirish mumkin.

Shuningdek, nihollar o'sishini tezlashtirish uchun gumin va fulvokislota preparati eritmalaridan, simbiotik bakteriyalar va zamburug'lardan mikrobiologik sintez qilingan bir qator preparatlardan foydalanish ham mumkin.

O'simlikshunoslik amaliyotida nihollarning bo'yiga o'sishini to'xtatishni ham boshqarish mumkin. Fitoregulatorlar orasida o'simliklarning vegetativ o'sishini to'xtatuvchi *retardantlar* ham muhim o'rinni egallaydi. Bu sinf fitoregulatorlarining birinchi preparati 1950-yilda AQSH professori Tolbert tomonidan sintezlangan va bug'doyning yerga yotib qolishini oldini olishda samarali qo'llanilgan.

Fotosintezni boshqarish. Fitogormon tizimining barcha komponentlari fotosintezga qandaydir ta'sir ko'rsatadi. Lekin bu jarayon asosan sitokininlar va abssez kislotasi tomonidan nazorat qilinadi.

Sitokininlar xlorofill sintezini, xloroplastlarning differensiyalanishini stimullaydi va barg og'izchalari ochilishini ta'minlaydi. Abssez kislotasi esa barg og'izchalarni yopilishiga javobgardir.

Fitoregulatorlarning fotosintez jarayoniga ta'siri morfologiya bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin, masalan, fotosintezning mahsuldorligi barg plastinkasi qiyalik burchagining poyaga nisbatan o'zgarishi bilan o'lchanadi.

Fotosintez jarayoniga retardantlar ham ta'sir ko'rsatadi. Bu preparatlar o'simliklarning vegetativ o'sishini qisqartirish va generativ organlar paydo bo'lish jarayonlarini stimullash maqsadida qo'llanilganda, ko'pincha, barglar maydoni, xlorofill miqdori, bargdagi qand miqdorining oshishi kuzatilgan.

Moddalar tashilishini va hosilning sifatini boshqarish. O'simliklarda moddalarning transporti jarayonini boshqarishda auksinlar, gibberellinlar va sitokininlar hamkorlikda qatnashishi aniqlangan.

Fotosintez mahsulotlarining bargdan zaxira organlarga tashilishini stimullovchi qator sun'iy fitoregulatorlar yaratilgan. Ular orasida 3,6-dixlor-2-metoksibenzoy kislotasining metil efiri (dizugran yoki rakuza) va N,N-bis (fosfometil) glitsin (glifosin yoki polaris) ning samarasi yuqoridir. Bulardan birinchisi qand lavlagida, ikkinchisi esa shakar qamishda yaxshi samara berganligi haqida ma'lumotlar olingan. Fitoregulatorlar bargdan assimilyantlarning tashilishini faollashtirib, fotosintezning umumiy mahsuldorligini oshiradi, hosilning sifatini yaxshilaydi.

O'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini boshqarish

Yerda haroratning ko'tarilishi qurg'oqchilikning ortishiga sabab bo'ladi va natijada qishloq xo'jalik mahsulotlarini yetishtirishning kamayishiga olib kelishi mumkin. Bunga yo'l qo'ymaslik uchun o'simliklarning suv tanqisligiga chidamli navlari seleksiyasi olib borilmoqda. Yuqori haroratning noqulay ta'sirlarini yengishga yo'naltirilgan choralar ishlab chiqilmoqda. Bunda antistress ta'sirga ega fitoregulatorlar yaratishga katta e'tibor qaratilmoqda.

Ma'lumki, sitokinin, absiz kislotasi va brassinosteriod fitogormonlar o'simliklarni stress ta'sirlarga chidamliligini oshiradi. Fitogormonlarning bu xususiyati, ularning o'simlik hujayralarida stress oqsillar sintezini stimullashi bilan bog'liq.

Stress oqsillar – tirik organizmning stress ta'sirlardan o'z-o'zini himoya qilishining maxsus mexanizmidir. Bu moddalar organizm tomonidan tashqi muhit sharoitining keskin o'zgarishiga javoban ishlab chiqariladi, shu bilan birga stressning tabiatiga qarab, maxsus, ya'ni aynan shu ta'sir turiga xarakterli stress oqsillarni paydo qilishi mumkin. Stress oqsillar orasida issiqlik shoki oqsillari (IShO) guruhi ko'proq o'rganilgan.

IShO 1974-yilda hayvonlarda, biroz keyinroq o'simliklarda aniqlangan. IShOning mikroorganizmlar, o'simliklar, hasharotlar, parrandalar va sutemizuvchilarda ham bir xil ekanligi e'tiborni tortadi. Bu oqsilning kelib chiqishi barcha organizmlar konservativligidan va qadimiyligidan dalolat beradi. IShO organizmda stress harorat yuzaga kelganda, ya'ni harorat normadan $8-10^{\circ}\text{C}$ yuqori bo'lganda sintezlana boshlaydi. Uning sintezlanish harorati turli o'simliklarda turlicha bo'lib, masalan, arabidopsida – 37°C , bug'doyda – 40°C , sholida – 45°C ni tashkil etadi. IShO ning sintezi juda tez amalga oshadi. IShO ning axborot RNKsi stress boshlangandan 5 daqiqa o'tganidan so'ng paydo bo'ladi, yana 10 daqiqadan so'ng esa IShOning o'zini aniqlash mumkin. Stress boshlangandan 1,5–2 soat o'tganidan so'ng, hujayrada IShO ning maksimal konsentratsiyasi yuzaga keladi va bu miqdor 2–4 soat davomida ushlab turiladi. Stress ta'sir davom ettirilganda organizm nobud bo'ladi. Stress ta'sir to'xtatilganidan ikki soat o'tgandan so'ng esa IShO biosintezi to'xtaydi, IShOni o'simliklarda taxminan ikki kungacha aniqlash mumkin.

IShOning biosintezini boshqarilishi gen darajasida IShO genlarining promotori hududida maxsus regulator elementlar (RE) yordamida,

shuningdek, trans-omil (tO) regulator oqsillar yordamida amalga oshiriladi. Stress yuzaga kelganda trans omil regulator elementlar bilan qaytar hamkorlikka kirishadi va bu bilan ISHO sintezini amalga oshiradi.

ISHO kelib chiqishining umumiyligi va qadimiyligining isboti oddiy organizmlar, o'simlik, hayvonlar regulator elementlari va trans omillarning tuzilishidagi o'xshashlikdir.

Hujayrada ISHO sintezi boshlanishi bilan boshqa oqsillarning sintezi sekinlashadi yoki umuman to'xtaydi. Bu uning quyidagi xususiyatlari bilan bog'liq: qoida bo'yicha ISHO genlarida intronlar mavjud emasligi, prosessingga ketadigan vaqt va energiya sarflarini keskin qisqartiradi, polisomalar hosil bo'lishida ISHO matritsasi boshqa oqsillarning axborot RNKsiga nisbatan ustunlik qiladi. Bu ularning 3'-uchidagi lider izchilliklarning tuzilishi bilan bog'liqdir.

ISHO va boshqa stress oqsillarning absolyut miqdori hatto ularning eng yuqori konsentratsiyasida ham juda kam bo'lib, faqat radioaktiv nishon yordamidagina aniqlanishi mumkin. Hozirgi kunga qadar hammasi bo'lib 100 ga yaqin individual ISHOlar o'rganilgan.

O'simlik hujayralarida sitokininlar va brassinosteriodlar tomonidan sintezi stimullanadigan oqsillarga, ISHOdan tashqari, stress oqsillarning yana qator guruhlarini kiritish mumkin, ular orasida sintezi absiz kislotasi tomonidan faollashtiriladigan sinikatsiya oqsillari (SO) ham olimlarning e'tiborini tortmoqda. Bu oqsillar o'simlik urug'larining namligini saqlashi, osmotik va tuz stresslariga chidamliligi, kuchli suv bug'lanishida suvni keskin yo'qotilishi kabi jarayonlarda suvning saqlanishini ta'minlaydi. SO ISHO oqsillariga nisbatan kam o'rganilgan. Ular haqida faqat yuqori darajadagi gidrofil oqsillarni namoyon qilishigina ma'lum. Bu ularning kolloid eritmalar hosil qilish orqali hujayrada gubka kabi suv zaxirasini yaratish xususiyati bilan bog'liq.

Osmotik yoki sho'rlanish stresslariga javob tariqasida hosil bo'ladigan SONing darajasidan ko'pincha o'simliklarning qurg'oqchilik va sho'rlanishga chidamlilik ko'rsatkichi sifatida foydalaniladi.

O'simlikshunoslik amaliyotida o'simlikga tashqi omillarni asta-sekin ta'sir ettirish orqali ularni noqulay sharoitida o'sishga chiniqtirish ishlari amalga oshirilmoqda. Chiniqtirishning fiziologik mohiyati stress-oqsillar miqdorini sekinlik bilan oshirish orqali organizmning o'zgarigan tashqi muhitida yashashini ta'minlashdan iboratdir. Fitogormonlarning bu xususiyati aniqlanishi bilan o'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini oshirishning qo'shimcha imkoniyati paydo bo'ldi.

Hozir butun dunyoda o'simlik kimyogarlari va fiziologlari antistress ta'sirga ega preparatlarni izlab topish ishlarini olib bormoqdalar. Aniqlanishicha, sitokinin analoglari shunday ta'sirini paydo qilishi mumkin ekan. Ammo, sitokininlarning yaqin strukturaviy analoglari (6-BAP, kinetin) tannarxining qimmatligi uchun keng foydalanilmaydi. Sitokininlarning uzoq struktural analogi kartolinlarning topilishi yuzaga kelgan vaziyatdan chiqishga sabab bo'lsa ajab emas.

Kartolinlardan ilgari o'simlik hujayralari kulturasi o'sishini boshqarish uchun sitokininlarning o'rnini bosuvchi sifatida foydalanilgan. Keyingi izlanishlar natijasida bu moddalarning keng ta'sir spektriga ega ekanligi aniqlandi, masalan, g'alla o'simliklari (arpa, bug'doy, suli) kartolinlar bilan ishlov berilganda ularning suv tanqisligiga, yuqori va past haroratga, shuningdek, zamburug' patogenlarga chidamliligi oshganligi aniqlandi.

Kartolin bilan ishlov berish bilan bug'doy va arpaning sovuqqa chidamliligini oshirishga, quruq massasining ho'l massasiga nisbatan, hujayradagi bog'langan suvning erkin suvga nisbatining oshishi, shuningdek, uglevodlar va suvda eruvchi oqsillarning hujayrada to'planishi hisobiga erishiladi. Bu shundan dalolat beradiki, biosun'iy jarayonlar intensivatsiyasi natijasida hujayralarning cho'zilish orqali o'sish vaqtincha to'xtaydi, ularning vakuolizatsiyasi, sitoplazma hajmining ortishi va to'qimalarning qattiq sovuqqa chidash imkonini beruvchi strukturaviy va fazoviy tashkillanishi amalga oshiriladi.

Kartolin bilan ishlov berilgan o'simliklarda qurg'oqchilikka chidamlilikning rivojlanishida metabolizmning faollashishi ham aniqlangan. U suv tanqisligini boshdan kechirayotgan hujayralardagi RNK- polimeraza faolligi, oqsillar sintezining tezlashishi va ularning denaturatsiyalanish haroratining oshishi, polisomalarning parchalanishini to'xtatilishi, xlorofillar biosintezini va uning fotokimyoviy faolligini ta'minlovchi xloroplastlar membrana tizimining turg'unligini stimullanishi natijasi hisoblanadi,

O'simliklarni himoya qilish tizimida fitoregulatorlar. 1940–1950-yillarda fitoregulatorlardan qishloq xo'jalik o'simliklarining zararkunanda va kasalliklariga qarshi kurashda foydalanishi mumkinligi aniqlangan, lekin faqat, hozirga kelib, regulator moddalar haqidagi bir tomondan patogen yoki zararkunandalar orasidagi hamkorligi va ikkinchi tomondan, xo'jayin o'simlik bilan o'zaro aloqasi haqidagi zamonaviy tasavvurlar rivojlanishi natijasida fitoregulatorlardan o'sim-

liklar tizimini himoya qilishda samarali va yo'naltirilgan foydalanish imkoniyati paydo bo'ldi.

Zararkunandalar va kasallik chaqiruvchi organizmlar o'zi uchun qulay sharoit yaratish orqali xo'jayin o'simlikka regulatorlik ta'sir ko'rsatadi. Juda ko'p parazit organizmlar sitokinin analoglarini sintezlaydi, ular hujayralarni zararlab sitokinin bilan boyitadi, o'zining rivojlanayotgan joyiga o'simlikning boshqa qismlaridan oziqa moddalarning tushishini ta'minlaydi. Masalan, sarg'aygan bargning zamburug'lar bilan zararlangan qismi «yashil orolchalar» ko'rinishida bo'ladi, chunki sarg'aygan qismidan oziqa moddalarni o'ziga tortib oladi. Shunday «yashil orolchalar» o'simlik bargida hasharotlarning lichinkalarini paydo qiladi, bu lichinkalar barg hujayralariga so'lak bezlaridan sitokininlarni yuboradi. Parazit o'simlik zarpechak (*Cuscuta reflexa*) ham yuqori miqdorda sitokinin tutadi, bu unga xo'jayin o'simlik hujayrasidan oziqa moddalarni olishiga yordam berishi ehtimoldan holi emas.

So'nggi yillarda o'tkazilgan qator izlanishlar natijasida hasharotlar o'zining rivojlanishi uchun o'simliklarning ba'zi gormonlariga ehtiyoj sezishi, bu gormonlar hasharotlar organizmida o'simliklarning regulator moddalariga aylanishi ko'rsatilgan. Bu birinchi marta cho'l chigirtkasining normal jinsiy yetilishi uchun oziqa bilan birgalikda gibberellin GK₃ ning normada tushishi talab etilishi orqali aniqlangan. Boshqa fitogormon brassinolid hasharotlarning tullashini tezlashtiradi, bu brassinosteriodlar va ekdizonlarning kimyoviy tuzilishi o'xshashligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Shuningdek, abssez kislotaning hasharotlarning yuvenil gormonlari va tuban zamburug'lar jinsiy rivojlanish gormoni trispora kislotasi bilan ham o'xshash tuzilishga ega ekanligi aniqlangan.

Zararkunandalar o'zlarining normal rivojlanishi uchun oziqa bilan birga o'simlik gormonlarini ham olish zarurati tadqiqotchilarning bu yoki tuzilishi jihatidan shunga yaqin boshqa shu kabi moddalardan insektisidlarning yangi avlodlarini yaratishda foydalanish haqidagi fikrlarining paydo bo'lishiga turtki bo'ldi. Bu preparatlardan foydalanilganda hasharotlar sonini kamaytirish yoki ular keltirgan zararni qisqartirishga metabolizmning qaysidir zaruriy zvenosini to'xtatish hisobiga emas, balki metamorfoz boshlanish vaqtini o'zgartirish yoki jinsiy yetilishga ta'sir etish orqali erishish mumkin.

O'simliklar evolutsiya jarayonida patogen va zararkunandalarga qarshi o'zining himoya tizimini yaratgan. Bu tizimning signal va

regulator markazi etilen fitogormoni hisoblanadi. Patogen va zararkunandalar ta'sirida paydo bo'lgan jarohatlarda etilen biosintezi keskin oshadi. Etilen sintezining avtokatoliz xususiyati bu fitogormonning miqdori faqatgina shikastlangan joyida emas, balki butun o'simlikda oshishiga olib keladi.

O'simlik hujayralaridagi etilenning yuqori miqdori fitoaleksinlar (o'simliklarda antibiotik rolini boshqaruvchi moddalar)ning hosil bo'lishini stimullaydi, xitinazaning (hasharotlar ovqat hazm qilish tizimida xitinni va patogen zamburug'lar giflari qobig'ini tashkil etuvchi xitinsimon moddalarni parchalovchi fermentlar) faolligini oshiradi, hujayralarning bo'linish va o'sish jarayonlarini to'xtatuvchi va stress oqsillar sintezini stimullovchi fitogormon – absiss kislotaning sintezini stimullaydi. Etilen ba'zi o'simliklarda ko'pgina hayvonlar uchun zararli bo'lgan va o'simliklar o'sishini ingibirlovchi fenolli moddalar miqdorini oshiradi.

Etilenning himoyalovchi ta'siridan qishloq xo'jalik ekinlari mahsulotlari (kartoshka, piyoz, ildizmevalar)ni saqlashdagi kasalliklardan himoya qilishda qo'llaniladi. Bunday maqsadlar uchun o'simlik mahsulotlarini saqlashga qo'yishdan oldin etilen produsentlari eritmalarini purkash yoki ularda ivitish orqali ishlov berish mumkin. Brassinosteroidlar bilan kartoshka o'simligiga vegetatsiyalanayotgan shonalash davrida va tugunaklarini yig'ish davrida ishlov berilganda fitoaleksinlar hosil bo'lish intensivligini oshishi hisobiga ham shunday samara berishi aniqlangan.

Yangi ma'lumotlarga qaraganda, o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulatorlari o'simliklarning bo'yiga o'sishi va shakllanishiga regulatorlik ta'sir etishi bilan bir qatorda ularning zararkunanda organizmlarga nisbatan chidamliligini ham oshirar ekan. Ru quyidagi sabablar bilan bog'liq bo'lishi mumkin: 1) preparat regulatorlik ta'siri bilan birga qaysidir parazitga nisbatan zaharli ta'sirga ham ega bo'ladi. *Paklobutazol* retardanti (*kultar*) olma va nokning un shudring va parsha kasalligini keltirib chiqaruvchilariga nisbatan shunday xususiyatga ega; 2) fitoregulatorlar ta'sirida o'simlikning qaysidir morfologik ko'rsatkichlarining va umumiy holatining yaxshilanishi, uning kasallik va zararkunandalar ta'siriga chidamliligi oshadi. Masalan, g'alla ekinlari *xolinxlorid* bilan ishlov berilganda poyasining qisqarishi, yo'g'onlashishi natijasida yerga yotib qolmaydi zamburug'li kasalliklar bilan zararlanishi kamayadi; 3) fitoregulator ta'sirida xo'jayin o'simlik metabolizmidagi o'zgarishning parazit organizmlar uchun

nomuqobilligi; 4) xo'jayin o'simlik rivojlanish fazasining parazit fazasiga nisbatan o'zgarishi, oziqlanish davrining qisqarishi, shuningdek, zararkunanda ta'sirining kamayishini ta'minlaydi (shu kabi ta'sirlar natijasida urug'lar unishi va nihollar o'sishi boshlang'ich bosqichlarida stimullanishi hisobiga madaniy o'simliklarning o'sishi tezlashgani kuzatilgan).

O'simlikshunoslik va biotexnologiyada fitoregulatsiyani o'rganish va qo'llashning rivoshlanish istiqbollari

So'nggi yillarda jamoatchilikning qishloq xo'jaligini kimyolash-tirishga qarshi e'tirozi fitoregulatorlarni qo'llashga qaratilgan bo'lsa ham, bu preparatlarning tavsiya etilayotgan me'yori zaharlilik ta'siri juda kam va o'simliklarda to'planmaydi, shubhasiz, kelgusida istiqbolga ega bo'ladi. Mazkur moddalar o'simliklarning hosildorligini, chidamliligini oshiradi, o'simlik mahsulotlarini ishlab chiqarishni ko'paytiradi.

Yaqin kelajakda o'simliklarning o'sishini boshqaruvchi regula-torlarni o'rganishning rivojlanishi quyidagi yo'nalishlar bo'yicha amalga oshirilishi ko'zda tutilmoqda (bashorat):

- o'simliklarning o'sishini boshqarishda tabiiy regulatorlarni qo'llash, ularning gormon balansi va ta'sir mexanizmini o'rganish;
- zaharlilik ta'siri kam, samarali, tor doiradagi ta'sirga ega preparatlarni sintez qilish;
- o'simliklarning o'sishini boshqaruvchi regulatorlarni hujayralar seleksiyasida va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda qo'llash;
- o'simliklarning o'sishini boshqaruvchi regulatorlarni o'g'itlar, pestitsidlar va mikroob preparatlar bilan birgalikda qo'llash texnologiyasini yaratish;
- o'simlik o'sishini boshqaruvchi fitoregulatorlarni o'simliklar himoyasida qo'llash;
- ekinlarning holatini baholash usullari va kriteriyalarini ishlab chiqish;
- fitoregulatorlar qo'llanilishining ekologik va genetik nazorati.

IV BOBGA DOIR NAZORAT SAVOLLARI

1. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini genetik boshqarish qanday amalga oshiriladi?

2. Qanday mexanizmlar yordamida fitogormonlar sintezini boshqarish mumkin?

3. Fitogormonal boshqarish bilan bog'liq bo'lgan qanday sabablar o'simliklarning pakanaligini yuzaga keltiradi?

4. Ildiz, poya va barg hujayralarining auksinni bir xil konsentratsiyasiga ta'sirchanligi turlicha bo'lishining sababi nimada?

5. Fitogormon va fitoregulatorlar tushunchalari orasidagi farq nimada? O'simliklarning gormonal statusi va uning monitoringi usullari.

6. O'simliklardagi abssez kislota miqdorini qanday usullar yordamida oshirish mumkin?

7. O'simlikshunoslikda o'sish regulatorlarini qo'llashning genetik va ekologik xavfsizligini nazorat qilish usullari.

8. Nima uchun kallus to'qimalari 2,4-D tutuvchi oziqa muhitida uzoq vaqt o'stirilganda ildiz hosil qilish qobiliyatini yo'qotadi?

9. Chuqur tinim davrining fiziologik o'ziga xosligi nimada? Fitoregulatorlar yordamida urug'larning o'sishi va tinim davriga o'tishini boshqarishga misollar keltiring.

10. Fitoregulatorlarning ta'sir samarasini qanday oshirish mumkin?

11. Qishloq xo'jalik ekinlarida fitoregulatorlarni qo'llashning samarasi qaysi omillarga bog'liq?

IV BOBGA DOIR TEST SAVOLLARI

1. Fitoregulatorlar qanday maqsadlarda qo'llaniladi?

A) o'simlik hujayralarning differensiallanishi, bo'linishini boshqarishda

B) o'simliklarda yangi to'qima va organlarni hosil bo'lishida

S) o'simliklarni o'sish va rivojlanishini tezlashtirishda

D) o'simliklarning hosildorligi va sifatini oshirishda

*E) barcha javoblar to'g'ri

2. Fitogormonlar qaysi moddalardan hosil bo'ladi?

A) uglevodlar va yog'lardan

B) oligosaxaridlardan

S) organik kislotalardan

D) aminokislotalardan

*E) S va D javoblar to'g'ri

3. Fitogormonlarning faollashishi nima hisobiga ro'y beradi?

*A) gormon-retseptor kompleksini hosil bo'lishi

B) fitogormon molekularining faollashishi

- S) yangi oqsillar hosil bo'lishi
 E) barcha javoblar to'g'ri
4. Auksinning fiziologik samarasi qanday amalga oshadi?
 A) ontogenezni boshqaradi
 B) o'simlik hujayralarining cho'ziluvchanligini ta'minlaydi
 S) o'simliklarni tinim holatidan chiqaradi
 D) mevalarning pishib yetilishini tezlashtiradi
 *E) hujayralarning cho'zilishi, bo'linishi, differensiallanishini amalga oshiradi
5. Sitokininning asosiy fiziologik ta'siri nimadan iborat?
 *A) hujayralar bo'linishini faollashtirish
 B) ontogenezni boshqarish
 S) o'sishni jadallashtirish
 D) mevalarning to'kilishiga ta'sir ko'rsatadi
 E) muhim fiziologik jarayonlarni ingibirlyadi
6. Quyida berilgan qaysi fitogormon qovoqdoshlar va butguldoshlar oilasiga kiruvchi o'simliklarga ta'sir ko'rsatmaydi?
 A) 3-ISK
 B) GK₄
 *S) GK₃
 D) sitokini
 E) auksin
7. O'simliklar tarkibidagi qanday moddalar ularning stress omillarga chidamliligini oshiradi?
 *A) sinikatsiya oqsillari
 B) nuklein kislotalar
 S) uglevodlar
 D) namlik
 E) barcha javoblar bir-birini to'ldiradi
8. Brassinosteroidlarning ko'p miqdorda uchrashi o'simlikdagi qanday o'zgarishlarga sabab bo'ladi?
 A) o'simliklarning bo'yiga o'sishini to'xtatadi
 B) atrof-muhitning noqulay ta'sirlariga chidamliligini oshiradi
 S) infeksiyalarga chidamliligini oshiradi
 D) past yoki yuqori harorat, qurg'oqchilikka chidamliligini oshiradi
 *E) barcha javoblar bir-birini to'ldiradi

IV BOBGA OID ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Alimova R.A., Sagdiev M. O'simliklar fiziologiyasi. Toshkent. 2006 y.
2. Деева В.П., Шелег З.И., Синко Н.В. Избирательное действие химических регуляторов роста на растение. Физиологические основы. -Минск. Наука и техника, 1988.
3. Дерфлинг К. Гормоны растений. Системный подход. М.: Мир, 1985.
4. Жученко А.А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы) –Кишинев: Штинса, 1990.
5. Кефли В.И. Физиологические основы конструирования габитуса растений, -М., Наука, 1994.
6. Ковалев В.М. Теоретические основы оптимизации формирования урожая-М.: МСХА, 1997.
7. Муромцев Г.С., Достижения и перспективы исследований по биологии сельскохозяйственных растений // С/х биология –М., 1996, №5 С.3-9.
8. Насиров Ю.С. Физиологическая стратегия селекции растений //Селекция продуктивных сортов. Сер.Биология –М., 1982. с.31-43.
9. Никелл Л.Дж. Регуляторы роста растений. -М.: Колос, 1984.
10. Полевой В.В. Фитогормоны – Л.: ЛГУ, 1982.
11. Сельскохозяйственная биотехнология// В.С.Шевелуха. -М.: Высшая школа, 1998
12. Сельскохозяйственная биотехнология// В.С.Шевелуха. -1-том. М.: Воскресене, 2000.

9 V bob. TUPROQ UNUMDORLIGINI OSHIRISHDA BIOTEXNOLOGIYA

Tuproq unumdorligini oshirish, yerlarning tabiiy holatini yaxshilash respublikamiz qishloq xo'jaligi oldida turgan asosiy vazifalardan biridir. Ushbu vazifani amalga oshirishda tuproqda o'simliklarning oziqa elementlarining to'planishiga, ularning o'sib rivojlanishiga samarali ta'sir ko'rsatadigan rizosfera mikroorganizmlarining monokulturalari va kompleksidan foydalanish alohida o'rin tutadi.

Qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishini intensivlashtirish sharoitida kuchli zaharlilik xususiyatiga ega mutagen tabiatli preparatlardan foydalanila boshlagani bois, ekin ekiladigan yerlarning unumdorligining pasayishi kuzatilmoqda. Bu esa yangi texnologik ishlanmalar asosida ekinlardan yuqori hosil olishni talab etadi.

Ekologik toza, inson va hayvonlar uchun zarar keltirmaydigan va eng muhimi iqtisodiy jihatdan arzon biologik preparatlardan foydalanish istiqbolli usullardan biri bo'lib hisoblanadi. Dunyo amaliyotida qishloq xo'jalik ekinlari hosildorligi, tuproq unumdorligini oshirish, o'simliklarni kasalliklardan asrashda mikroblil preparatlardan keng foydalaniladi. Bunday preparatlar Yaponiyada *Kyussey-EM* nomi bilan (ko'k yashil suv o'tlari va aktinomitsetlar asosida), Rossiyada *APM*, *agrostim*, *mobilin*, *mizorin*, *Baykal - EM azotobakterin*, *nitragin*, *fosfobakterin*, *Chexiyada rizoargin* va hokazo nomlar bilan ishlab chiqarilib, ular tarkibida turli xil saprofit mikroorganizmlar bo'lib; nitrogenaza, fosfataza, ureaza va boshqa turdagi ferment faolligiga egadir.

Dunyo amaliyotida foydalanib kelinayotgan bakterial preparatlarining asosiy qismi neytral muhitli, organik moddalar va fosfor bilan yetarli darajada ta'minlangan tuproqlarda qo'llanilganda yaxshi samara berib o'simliklar hosildorligini 10-15% ga qadar oshirish imkonini beradi.

Bundan tashqari, tuproq unumdorligi va ekinlar hosildorligini oshirishda turli maishiy va sanoat chiqindilari asosida an'anaviy organik o'g'itlar (go'ng, kompost, o'simlik chiqindilari)dan maxsus preparatlar - *BAMIL*, *biogumus*, *gumat*, *florgumat*, *Plorodie-1,2* va hokazolar ishlab chiqariladi. Ularni mikroblil preparatlar bilan ishlatish mumkinligi va

samarasi yuqoriligi ta'kidlanib, sinovdan o'tgan preparatlar INTERNET saytlari orqali xaridor uchun taklif etiladi.

Tuproq unumdorligini oshirish va qishloq xo'jalik ekinlaridan mo'l hosil olishda tuproq mikroorganizmlarini har tomonlama o'rganish va ulardan ma'lum yo'naltirilgan maqsadlarda foydalanish eng muhim omillardan biri hisoblanadi.

Stress omillar ta'sirida unumdorligi pasaygan tuproqlarda patogen mikrofloraning ham mavjud bo'lishi ularga qarshi kurashda ilmiy asoslangan holda mikroob antagonistlarining faoliyatidan maqsadli foydalanish va mazkur usul orqali tuproqni patogen mikroorganizmlardan tozalashda asosiy o'rin tutadi.

Xitoyda *Bacillus cerius* va *B.mucilaginosus* kabi mikroorganizmlarning tuproq biologik statusiga ta'siri o'rganilgan bo'lib, sabzavot ekinlarida qo'shimcha ildizlar hosil bo'lishi 10–59%, uzunligi -30,9%, ildizlar faolligi -17,2% va barglardagi P, K, Ca, Mg miqdori ham birmuncha oshganligi qayd etiladi. Barglardagi xlorofillning miqdori 53% ga ortib, uning fotosintez qilish sathi -26,8 ga yetganligi ma'lumot sifatida keltiriladi. O'simliklarning nafas olish tezligi 10–23%ga kamayadi. Bakteriyalarning metabolizmi davrida Ade, PA, KT, IAA, BA va GA₃ gormonlari sintezlangan. Olingan mahsulotning sifati va miqdori oshib, tannarxi pasayishi izohlanadi.

Ba'zi ma'lumotlarga ko'ra, spora hosil qilmaydigan bakteriyalar *Pseudomonas putida* va *P. fluorescens* turli o'simliklar rizosferasidan ajratib olinib o'rganilganda ularning ba'zi rizobakteriyalar bilan munosabati mavjudligi aniqlangan. Muallif tomonidan ushbu bakteriyalarning o'sish va rivojlanishini tezlashtiruvchi moddalar – ISK (indoliisirka kislota), gibberill kislota, B guruhga mansub vitaminlar, shuningdek, etilen, siderofor va hokazolarni sintezlashi qayd etiladi. Tajribalar davomida psevdomonaslarning makkajo'xori, bug'doy, olma, qulupnay o'simliklar ildiz qismlarida yashovchanligi yuqori bo'lganligi, bu esa ularning massasi, fosfor va azot miqdorining ortishiga sabab bo'lganligi keltiriladi.

Masalan, kartoshka tugunaklariga ekish oldidan rizosferaga antibiotik va o'sish-rivojlanishning tezlashtiruvchi birikmalarni ajratib chiqarish xususiyatiga ega *Klebsiella planticiola* assosiativ bakteriyalari, yuqori samarador achitqi zamburug'lari (Fs₂ Fs₄ Fs₁₁ shtammlari aralashmasi) va tuproqning gil qismi minerallarini o'simliklar uchun o'zlashtira oladigan K va Si ga aylantiruvchi silikat bakteriyalarning suspenziyasi bilan ishlov berish yuqori samara beradi. Jumladan,

assosiativ bakteriyalar qo'llanilganda hosildorlik- 20 t/ga, achitqisimon zamburug'lar ishtirokida -18,4 t/ga, silikat bakteriyalar bilan-18,8 t/ga, aralastirib qo'llanilganda -22,9 t/ga ni tashkil etgan bo'lsa, nazorat variantlarida bu ko'rsatkich 16,6 t/ga dan oshmagan.

Respublikamizda ham tuproq stress omillari sharoitida yashashga moslashgan, tuproq unumdorligini, o'simliklar hosildorligini oshiradigan mikroorganizmlarni ajratib olish va laboratoriya sharoitida ko'paytirish texnologiyasini yaratish lozim.

Ilmiy adabiyotlardan ma'lumki, o'simliklar rizosferasining tipik vakillari bo'lgan foydali mikroorganizmlar asosida olingan, kompleks ta'sirga ega bakterial preparatlar o'simlikshunoslikdagi an'anaviy yondashishlarni ma'lum darajada o'zgartirish imkonini beradi. Bunday preparatlar tuproqning ildizlar yashovchi qatlamini sog'lomlashtirish, undagi fitopatogenlarning miqdorini kamaytirish, tuproqning organo-mineral balansini tartibga solishga yordam beradi.

Kompleks ta'sir – biostimullovchi va fungisid ta'sir spektriga ega mikroorganizmlar ikki xil muammoni, ya'ni o'simliklarni biologik himoya qilish va olinadigan hosil miqdori va sifatini oshirish imkonini beradi. Bu esa o'z navbatida o'simliklarning kimyoviy himoya qilish vositalaridan foydalanishni qisqartirish yoki butunlay inkor etilishiga olib keladi. Natijada tuproqqa, aniqrog'i foydali faol mikroorganizmlarga zararli kimyoviy moddalar ta'sirining keskin pasayishiga erishiladi va tuproqning biologik faolligi ortib, unumdorligi ham yuqori bo'ladi.

Tuproq ko'plab tabiiy va antropogen toifadagi ta'sirlar qurshovida bo'ladi, bu ekologik holatni qayta tuzilishi natijasida uning tarkibiga kiruvchi tuzilmalarning va ulardan metabolitik faolligini o'zgarishlarga olib keladi. O'zbekiston tuproqlari sharoitida tabiiy mikroorganizmlarning funksional imkoniyatlari turli stress omillarga chidamlilikni va muhitning dinamik muvozanatini saqlab turish uchun yetarli emas.

Shuning uchun bunday imkoniyatlar faqat mikroob tizimidagi ichki biotik bog'lanishlarni tahlil qilish, turli mikroob guruhlarini xarakterli vazifalarini hisobga olish, «*gumus*» birikmalarini minerallashtirish va qaytarish jarayonlarini amalga oshiruvchi geterotrof mikrofloraning faoliyatini chuqur o'rganish va buning mantiqiy yakuni sifatida tuproqda kechadigan biokimyoviy jarayonlarni boshqarish bilan unumdorligini oshirish imkonini beradi.

Tuproq mikroob guruhlariga ta'sir etish orqali qishloq xo'jaligi ekinlarining o'sish-rivojlanishini yaxshilash, sifatli va yuqori hosil olishga erishish mumkin.

O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqarishda mikroorganizmlar regulatorlaridan foydalanish maqsadga muvofiq, chunki ularning olinishi arzon, ajratishga qulay, samaradorligi yuqoridir.

Sho'rlangan sharoitlarda stimullovchi ta'sir ko'rsatadigan mikroorganizmlar kolleksiyasini tashkil qilishda, asosan, ularni yig'ish, saqlash, turkumini va turini (toksonomiyasi) aniqlash, ularning biologik biokimyoviy va boshqa xususiyatlarini aniqlash hamda ularni yashash sharoitlari, tarqalishi, oziqlanishi ma'lum biosenoz doirasida ularning o'zaro munosabatlari haqidagi ma'lumotlarni berish talab etiladi. Shu nuqtayi nazardan hududning sho'rlangan tuproqlarining biologik faolligini dinamikada o'rganib borish va uni oshirishning optimal yo'li sifatida sho'rlangan sharoitlarda yashashga moslashgan va biologik faol mikroorganizmlar kolleksiyasini to'plash va muntazam ravishda yangi shtammlar namunasi bilan to'ldirib borish, O'zbekistonning dolzarb iqtisodiy muammolarini hal qilishga yordam beradi.

Simbiotik azotni o'zlashtirilishida biotexnologiyaning genetik asoslari

O'simliklar rivojlanishini cheklovchi asosiy omillardan biri ularning azotli birikmalar bilan yetarli darajada ta'minlab turilmasligidir. Faqat ba'zi tuproqlar, masalan, qora tuproqlarda harakatchan azot birikmalarining miqdori o'simliklar ehtiyojini to'liq qondirishi mumkin. Bunday holatda, ya'ni azot tanqisligi sharoitida o'simliklar atmosfera havosining qariyb 80% ini tashkil etadigan molekular azot (N_2) qurshovida bo'ladi.

Biologik bog'langan azotning ahamiyati, birinchidan, uni olish iqtisodiy jihatdan arzon, tejimli jarayon ekanligiga asoslanadi. Texnik azotni ishlab chiqarish yuqori harorat ($300^{\circ}C$) va yuqori bosim (350 atm) ni talab qilsa, atmosfera azotini o'zlashtirilishi oddiy harorat va bosimda amalga oshadi. Azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar tomonidan olinadigan azot, mohiyati jihatidan mutlaqo «tekin» hisoblanadi. Ikkinchidan, mikroorganizmlar tomonidan havodan o'zlashtirilishi hisobiga hosil bo'ladigan biologik azotning ahamiyati va uning miqdori juda kattaligidadir.

Ilmiy adabiyotlardagi ma'lumotlarda butun yer yuzidagi qishloq xo'jaligi ekinlari tuproqdan bir yilda 100 mln tonna azotni o'zlashtirishi; undan mineral o'g'itlar bilan birga 12 mln tonnasining qaytarilishi, qolgan yetishmaydigan 88 mln tonna azotfiksator mikroorganizmlar hisobiga kompensatsiya qilinishi qayd etiladi.

Ko'plab mikroorganizmlar biologik azotni o'zlashtirish xususiyatiga egadir. Keyingi yillarda olib borilgan tadqiqotlar mikroob-azotfiksatorlar guruhi to'g'risida ma'lumotlarni boyitdi. Ular taxmin qilingandan ko'ra ko'proq bo'lib chiqdi. Hozirda tugunak bakteriyalar va azotobakterdan tashqari anaerob azot to'plovchi (*Clostridium pasteurianum*), shuningdek, bir qator mikobakteriyalar, ba'zi termofil bakteriyalar, ko'pgina zamburug'lar, alvon rang bakteriyalarni ham uchrashi isbotlangan.

Ko'pgina tadqiqotchilarning erkin yashovchi azotfiksatorlarning bir yilda 1 ga yerga 10–15 kg atrofida azot to'plashiga oid fikrlari o'xshash bo'lib, dukkakli o'simliklar va tugunak bakteriyalar faoliyati natijasida turli o'simliklarning ildiz va yer usti qismlarida yiliga har gektariga 75–100 kg va undan ortiq azot to'planishi isbotlangan. Dukkakli o'simliklarning turli xil turlari fosfor va kaliy bilan to'liq ta'minlanganda yiliga har bir gektar yerda: sebarga-150–160, bo'ri dukkagi-160, beda-300 kg gacha azot to'play oladi (5.1-rasm).



5.1-rasm. Dukkakli o'simliklar tugunaklarining umumiy ko'rinishi.

Ma'lumki, azot o'simliklar tomonidan bevosita o'zlashtirilmaydi. Uning o'zlashtirilishi uchun nitrogenaza fermenti zarur bo'lib, o'simliklarda boshqa eukariot organizmlar singari bu ferment uchra-maydi. Faqat ba'zi prokariotlar – molekular azot - N_2 ni o'zlashtirish xususiyatiga ega bo'lib, ular bilan ko'plab o'simliklar simbioz munosabatiga kirishadi. Simbiotik azotfiksatsiya tizimlari genetikasi tizimini

ishlab chiqilishi ularning yo'naltirilgan konstruksiyalarini tuzish qishloq xo'jaligida keng foydalanish imkonini beradi.

V BOBGA DOIR NAZORAT SAVOLLARI:

1. O'simliklar bilan simbioz munosabatga kirish xususiyatiga ega bo'lgan mikroorganizmlarning asosiy vazifalarini tavsiflab bering.

2. Simbiotik azotfiksatsiyaning evolutsiyasi va kelib chiqishi qanday yo'llar bilan amalga oshgan bo'lishi mumkin?

3. Azotni o'zlashtiruvchi mikroorganizmlar va o'simliklarning simbiotik juftlari seleksiyasini simbiotik munosabatlar samarasiga ta'sirining o'ziga xos xususiyatlari.

V BOBGA DOIR TEST SAVOLLARI

1. Quyida berilgan prokaroitlarning qaysi guruhleri orasida azotfiksatorlar uchraydi?

*A) eubakteriyalar, sianobakteriyalar, aktinomitsetlar, arxebakteriyalar

B) aktinomitsetlar, miksomitsetlar, yashil suvo'tlari

S) grammanfiy va grammusbat bakteriyalar

D) simbiotik mikroorganizmlar

E) barcha javoblar to'g'ri

2. Yerlarning tabiiy holatini yaxshilashda qanday biotexnologik choralar qo'llaniladi?

A) tuproq unumdorligini oshirish

B) sho'rlanishning oldini olish

* C) biologik preparatlardan foydalanish

D) ekologik vaziyatni sog'lomlashtirish

ADABIYOTLAR

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., Шилникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973.

4. Симаров Б.В. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий. – Л.: Агропромиздат, 1990.

5. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. – СПб.: Наука, 1998.

6. Проворов Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе. Журн. Об. Биол. 2001, Т., 62 №6, с. 472-495.

7. Spaink X., Kondorosi A., Hokeras P.J.J. *The Rhizobiaceae*. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ. 1998. 566 p.

8. Stacey G., Burris R.X., Evans X.J. *Biological Nitrogen Fixation*. Нью-Йорк, Лондон/ Chapman and Hall. 1992. 755 P.

VI bob. O'SIMLIKLARNI HIMOYA QILISHDA BIOTEXNOLOGIYA

Hozirgi vaqtda qishloq xo'jalik ekinlarining katta qismi-30% ga yaqini zararkunanda va hasharotlar hisobiga nobud bo'ladi. O'simliklar himoyasi bo'yicha mutaxassislarni madaniy ekinlarning kasallik, zararkunandalari va begona o'tlariga qarshi kurash borasidagi barcha urinishlari kutilgan natijalarni bermayapti. Shuning uchun o'simliklarni himoya qilishdagi dolzarb muammolarni hal etishda tubdan yangilangan usullar va yo'nalishlarni izlash lozim. Bunday muammolarning yechimini topishda biotexnologiyaning o'rni g'oyatda muhimdir. Masalan, ajratib olingan to'qima va organlar kulturasidan foydalanish, o'simlikshunoslikda katta hajmdagi sog'lomlashtirilgan ekish materiallarini olish imkonini beradi.

Biotexnologiyaning mazkur soha bo'yicha erishgan yutuqlari bilan bir qatorda, qishloq xo'jalik ekinlarini kasallik va zararkunandalardan himoya qilishda an'anaviy biologik va kimyoviy kurash choralarini ham inkor etib bo'lmaydi. Hozirgi zamon biotexnologiyasining rivojlanishi tufayli insektisid viruslarni ishlab chiqarish va ulardan qishloq xo'jaligida foydalanish imkoniyati paydo bo'ldi. Ularni keng hajmda ishlab chiqarish va hayvon hujayralarida o'stirish ishlari amalga oshirilmoqda.

Ma'lumki, **o'simliklarni biologik yo'l bilan himoya qilish** deganda tirik organizmlar yoki ularning faoliyati mahsulotlaridan zararkunanda organizmlar yetkazadigan zararning oldini olish va kamaytirish maqsadida foydalanish tushuniladi.

O'simliklarni himoya qilishda turli xil zaharli kimyoviy moddalardan foydalanish natijasida hasharotlarda ularga nisbatan ko'nikish paydo bo'ladi. Bundan tashqari kimyoviy preparatlar maqsadga muvofiq ta'sir ko'rsatmasdan, foydali hasharotlar va mikroorganizmlarga bir xilda zararli ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklarni himoya qilishda kimyoviy usullarni qo'llashning asosiy kamchiliklarini bartaraf etishda biotexnologik usullariga katta e'tibor qaratilmoqda. Biotexnologiya o'simliklarni himoya qilishda viruslar, bakteriyalar, zamburug'lar, sodd hayvonlar va hasharotlar, shuningdek, tirik organizmlarning biologik faol moddalari (antibio-

tiklar, gormonlar, feromonlar va h.k) ishlab chiqarish texnologiyalari bilan shug'ullanadi.

Shunday qilib, mutaxassislarni o'simliklarni himoya qilish borasida tegishli vositalardan foydalanish muammosi qiziqtirsa, biotexnologlarni ularni ishlab chiqarishni qanday tashkil etish muammosi qiziqtiradi. Bu yerda shuni ham qayd etish lozimki, bakteriya va zamburug'larni o'simliklarni himoya qilish maqsadida yetishtirish, turli xil moddalar, masalan, antibiotiklarni olish borasidagi ishlanmalardan tubdan farq qilmaydi. Shu bilan birga biotexnologiya va gen muhandisligi o'simliklarni himoya qilish vositalaridan foydalanish imkoniyatlarini yanada kengaytiradi.

O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish istiqbollari

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

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

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

Ekish materiallarini sog'lomlashtirish va ularni virusli infeksiyalardan himoya qilishda ajratib olingan to'qima va organlardan foydalanish usuli keng imkoniyatlar ochdi.

Tabiiy sharoitlarda o'simliklarning kasallik chaqiruvchi fitopatogen zamburug'lar boshqa zamburug'larning parazit holda yashab, ko'payish holatlari ham ko'p uchraydi. Boshqa parazit zamburug'larda

rivojlanadigan parazit zamburug'lar *ikkilamchi* tartibdagi *giper-parazitlar* degan nom bilan yuritiladi. Agar birinchi parazit qaysidir kasallikni chaqiruvchisi bo'lsa, ikkinchisidan shu kasallik bilan kurashda foydalanish mumkin.

Biotexnologiyaning vazifasi ochiq va himoyalangan yer sharoitidagi fitopatogenlarga qarshi kurashda ishlatiladigan mikrobiologik preparatlarni ishlab chiqarish jarayonlarining ishlanmasini tuzishdir.

O'simliklarni kasalliklardan himoya qilishda mikroorganizmlar ishlab chiqaradigan antibiotik moddalar alohida o'rin tutadi. Ular evolutsiya jarayonida mikroorganizmlarning bir-biriga nisbatan kuchli kurash vositasi sifatida kelib chiqqan. O'simliklarni himoya qilishda ba'zi antibiotiklardan foydalanish biotexnologiyada yangi yo'nalishlar - turli xil agroximikatsiyalar, ular orasida mikroblar asosida olingan gerbitsidlar, hayvonlardan olinadigan attraktantlar, ekdizonlar, fitogormonlar va boshqa xil moddalarni ham o'z ichiga olish yo'llari va qishloq xo'jaligida qo'llash istiqbollari ochib berdi.

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

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

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

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

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

O'simliklarning turli kasallik va zararkunandalariga qarshi dunyoning ko'plab mamlakatlari – Kanada, Niderlandiya, Avstraliya, Ruminiya, Polsha, Misr, Pokiston va Filippin, Yaponiyada ishlab chiqarilgan antibiotik va sintetik fungitsidlar tutuvchi kompleks preparatlar qo'llanilmoqda.

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

Bunday antibiotiklardan biri – *fitobakteriomisin*, u bakteriya va zamburug'larga qarshi keng spektrga ega. Uni *Actinomyces lavendulae* aktinomitsetidan ajratib olinadi. Fitobakteriomitsin asosida bir necha xil tovar ko'rinishidagi preparatlar ishlab chiqariladi: urug'larga ishlov berish uchun 2–5% li fitobakteriomitsin dusti, o'simliklarga sepish uchun fitolavin-100 ning 10% li eruvchan kukuni qo'llaniladi.

Fitobakteriomitsinning 12% li dusti loviya bakterioziga, 5% lisi bug'doy va ildiz chirishiga qarshi qo'llaniladi. Urug'larga ekish oldidan ishlov berilganda loviya o'simligida bakterioz bilan kasallanish 70% ga kamayishi va hosildorlik 1,5–3 s/ga oshishi aniqlangan. Umuman, bu preparatlarni urug'larga ekish oldidan ishlov berishda 2–3kg/t miqdorda qo'llaniladi.

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

Preparatlarning samaradorligini aniqlash asosida uni sanoat miqyosida ishlab chiqarish texnologiyasi yo'lga qo'yilgan. Yangi texnologik ishlanmalarni amaliyotga joriy etish, ularni qo'llash samardorligining ortishiga sabab bo'lgan, bunday preparatlarni qo'llash yetishtiriladigan hosil tannarxining arzon bo'lishiga olib keladi.

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

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

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

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

Antagonist mikroblardan tuproqni sog'lomlashtirish maqsadida ham foydalaniladi.

Antibiotiklar kashf etilgach, mikroorganizmlarning o'zi emas, balki ular ajratib chiqaradigan moddalar qo'llanila boshlandi. Biroq hozirda ham ko'pchilik mamlakatlarda mikroob preparatlari ishlab chiqarilmoqda. Ular o'simlik kasalliklariga qarshi nobud qiluvchi ta'sir ko'rsatadi. Shu yo'sinda ushbu sohada ikki xil yo'nalish – antibiotiklar va mikroob – antogonistlardan foydalanish tarmoqlari kelib chiqdi. O'simlik urug'laridagi infeksiyalar va o'simliklarning o'suv davridagi kasalliklariga qarshi ishlov berish uchun antibiotik moddalaridan foydalanilsa, o'simlik qoldiqlari bilan birga saqlanib qolgan tuproq infeksiyalariga qarshi yoki tuproqni boyitish maqsadida kompost sifatida mikroob antagonistlarning o'zidan yoki toza kulturasidan foydalaniladi. Chunki antibiotiklarning o'zidan foydalanish samaradorligi past bo'lib, bu ularning tuproq mikroorganizmlari ishtirokida tez parchalanib ketishi bilan bog'liqdir. Antagonist sifatida bakteriyalar, viruslar, zamburug'lar qo'llanilishi mumkin.

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

Trixodermin preparati trixoderma zamburug'ini turli xildagi o'simlik chiqindilari va boshqa substratlar (non mag'zi, somon, g'alla chiqindilari, torf) da o'stirish asosida olinadi. U tuproqda uchraydigan turli xil qishloq xo'jalik ekinlarining kasalliklari – ildiz chirishi, zig'ir o'simligi kasalliklari, g'o'zaning vertisellez so'lishi va boshqalarga qarshi qo'llaniladi.

Yashil trixoderma (*Trichoderma viridae*) va u asosida ishlab chiqarilgan preparat tarkibida ikki xil antibiotik – gliotoksin va viridin bo'lib, ular antibakterial va zamburug'larga qarshi ta'sir xususiyatiga ega.

Trixodermin chuqur davomli ekish usulida maxsus uskunada o'stirish yo'li bilan olinadi.

Tadqiqot natijalarining ko'rsatishicha, bug'doy urug'lariga ekish oldidan 4 kg/ga miqdorda trixodermin bilan ishlov berish o'simliklarning butun vegetatsiya davomida kasallanishini 54–71% ga kamaytirib, hosilni 2 s/ga oshiradi.

Trioxodermini torf chiqindisi solingan tuvakchalarga 50 mg miqdorda kiritish bodringni ildiz chirish bilan kasallanishini 60% ga kamaytirib, hosilini 31–74% ga oshiradi. 1 gramm trioxodermini g'ozga o'simligida qo'llash samaradorligi +51,2% ga teng.

Biotexnologiya va gen muhandisligi usullari o'simlik kasalliklariga qarshi mikroorganizmlarning odam va hayvonlarga zararsiz va yuqori samarador yangi shakllarini yaratishga imkon beradi.

Qishloq xo'jalik ekinlari zararkunanda hasharotlariga qarshi kurash usullari. Bakterial preparatlar

✓ Hozirgi vaqtda o'simlik zararkunanda hasharotlariga qarshi ko'plab mikroorganizmlar majmualari o'rganilgan va ular asosida mikrob biopreparatlari tayyorlashning ilmiy asoslari yaratilgan. Sanoat asosida ko'plab preparatlar ishlab chiqarilmoqda va amaliyotda keng qo'llanilmoqda.

Bunday preparatlarni tayyorlash uchun bakteriyalar, zamburug'lar va viruslardan foydalaniladi. Preparatlarni ishlab chiqarish texnologiyalari ham xilma-xildir. Ularni ishlab chiqarishda mikroorganizmlarning fiziologiyasi va biokimyoviy xususiyatlari hamda preparat nima maqsadda qo'llanilishi e'tiborga olinadi.

Dunyoda ushbu preparatlarni ishlab chiqarishning 20 ga yaqin sanoat shakllari yaratilgan, ularning barchasi asosida *Bac. thuringiensis* ning u yoki bu turlari yotadi. Asosan sanoat asosida quyidagi turlardan foydalaniladi: *Bacillus thuringiensis*, *var.thuringiensis*, *kurstaki*, *galleriae dendrolimus*, *israelensis*.

Mamlakatimizda, Respublika Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya institutida, professorlar Q.D. Davronov va T.YU. Yusupovlar rahbarligida *Bac. thuringiensis*ning mahalliy shtammlari asosida biopreparat ishlab chiqarish texnologiyasining ilmiy asosi yaratildi. N.A.Xo'jamshukurov tomonidan kolorado qo'ng'izi lichinkalariga qarshi *Bac. thuringiensis* entomopatogen bakteriyasining mutant shtammlari asosida «Biokristal» insektisid biopreparati yaratildi va preparatning dastlabki nusxalari laboratoriya va dala sharoitida sinovdan o'tkazilib muvaffaqiyatli deb topildi.

Hozirgi kunda shunga o'xshash, turli xil nomlar bilan bir qancha preparatlar butun dunyoda ishlab chiqarilmoqda va o'simlik zararkunanda hasharotlariga qarshi kurashish amaliyotida keng qo'llanilib kelinmoqda. Masalan: *dendrobatsillin*, *bitoksibatsillin (BTB)*, *BIP-*

biologik insektitsid preparat, gomelin, lepidotsid, baktokulitsid, dipel, baktospein va boshqalar. *Bac. thuriengiensis* bakteriyasi asosida tayyorlangan biopreparatlar yuqori samaradorlikka ega. Bu preparatlarning barchasi *Bac. thuriengiensis* bakteriyasi shtammlari asosida tayyorlangan bo'lib, hasharotlar turiga ko'ra ta'siri, preparatni tayyorlash texnologiyasi, samadorligi va boshqa bir qancha xususiyatlari bilan bir-birlaridan farq qiladi.

O'zbekistonda bu preparatlarni yetarli miqdorda ishlab chiqarish va keng miqyosda qishloq xo'jalik ekinlari, meva va sabzavot ekinlari zararkunanda hasharotlariga qarshi qo'llash kimyoviy insektitsidlarga nisbatan istiqbolli va ekologik xavfsiz choralardan biri bo'lib hisoblanadi.

O'simlik zararkunanda hasharotlariga qarshi kurashda biologik faol moddalardan foydalanish

Feromonlar biologik faol moddalar bo'lib, hayvonlar tomonidan tashqi muhitga ajratib chiqariladi va ayni turning boshqa jinsining metabolizmi, fiziologik va emotsional holati, xatti-harakatiga ta'sir ko'rsatadi. Odatda feromonlar hayvonlarnig maxsus bezlaridan hosil bo'ladi. Ta'sir xususiyatiga ko'ra, ularni agregasion feromonlar (to'plovchi-g'ujlovchi feromonlar), himoya va ogohlantirish reaksiyalarini yuzaga chiqaradigan feromonlar, hasharotning ovqat qidirish yo'lini belgilovchi, iz qoldiruvchi feromonlar, jinsni tanib olishda yordam beruvchi, boshqaruvchi feromonlarga bo'linadi. Eng yaxshi o'rganilgan feromonlar turli jins vakillarining uchrashuvi va bir-birini tanib olishini ta'minlaydigan, jinsiy xatti-harakatlarni tartibga solishda ishtirok etadigan feromonlardir. Qarama-qarshi jins vakillarini jalb etadigan feromonlarni attraktantlar deb ataladi.

1959-yilda nemis biokimyogari Adolf Butenant tut ipak qurti urg'ochisining jinsiy attraktantining tuzilishini o'rganib chiqdi. Bu feromon bombikol deb nomlandi.

Havodagi konsentratsiyasi 10^{-12} mg/l bo'lganda ular erkak individlarda jinsiy qo'zg'alish reaksiyasini chaqiradi. 1980-yillarda 700 dan ortiq hasharotlardagi feromonlar o'rganilib, ulardan 220 turining kimyoviy tuzilishi aniqlandi. Kimyoviy tabiatiga ko'ra, feromonlar kimyoviy birikmalarning biror sinfiga kiritiladi. Tangacha qanotlilarning jinsiy feromonlari odatda 10–18 uglerod atomli spirt, asetat va aldegidlarga yaqin bo'ladi. Ular alohida kimyoviy birikmalar sifatida

ifodalanadi, lekin biologik ta'siri bir necha xil komponentlarni o'z ichiga oladi. Odatda feromonlarning biologik ta'siri uchun tur spetsifikligi xosdir. Hasharotlarning turli xil turlari feromonlari sifatida muayyan kimyoviy birikmalar yoki muayyan tartibdagi komponentlar aralashmasidan foydalanadi.

Feromonlarning kashf etilishi ularni zararkunanda hasharotlarga qarshi qo'llashda keng imkoniyatlar ochdi. Hasharot bezlaridan ajratib olingan attraktantlarni ishlab chiqarish samaradorligi ko'p mehnat talab qilishi va mahsulot chiqishi unumi pastligi sababli kam samaraga ega.

Kimyoviy feromonlarning ham spetsifikligi past bo'lib hisoblanadi, chunki ko'plab hasharotlarning tabiiy feromonlari alohida kimyoviy birikmalarning yig'indisidan iborat bo'lib, bir qator feromonlarning ba'zi komponentlari bir necha hasharot turlari uchun umumiy bo'ladi. Yuqori spetsifik feromonlarni ishlab chiqarish kimyoviy toza birikmalar va ularning muayyan nisbatdagi kombinatsiyalarini olishning qiyinligi sababli, shuningdek, hasharotlarning juftlashish jarayonidagi xatti-harakatlarini boshqarishda jinslarning alohida o'rni to'g'risidagi ma'lumotlarning yo'qligi kabi ko'plab muammolarga duch kelinmoqda. Ma'lumki, sharq mevaxo'rida juftlashish to'rt bosqichda amalga oshadi: erkagini urg'ochiga jalb qilinishi, uning yaqinlashishi, urg'ochining orietatsiyasi va kopulatsiya. Har bir bosqich muayyan kimyoviy komponent ta'siri bilan tavsiflanadi.

Sun'iy feromonlarning samarasi pastligi sababli o'simliklarning tabiiy attraktantlar hosil qilishdagi rolini alohida qayd etish lozim. Masalan, daraxtlarning lub qavatini kemirib zarar keltiruvchi lubxo'r qo'ng'izning feromon kompleksiga mirsen kiradi, u o'simliklarda ham hosil bo'ladi. Hasharotlar o'simliklarning ba'zi alkoidlaridan jinsiy feromonlari sintezida oraliq mahsulot sifatida foydalanadi. Xo'jayin o'simliklarda uchraydigan α -pinen moddasi *Ips paraconfusus* qo'ng'izlari sis-verbenoli biosintezida dastlabki birikma sifatida xizmat qiladi.

Shuni ham qayd etish lozimki, α -pinenning verbenolga aylanishini *Bacillus cereus* shtammi amalga oshiradi. Feromonlarning oraliq mahsulotlari o'simlik hujayralarida sintezlanib, bakteriyalar ishtirokida hasharot feromonlariga aylanishi ularning kimyoviy yo'l bilan emas, biologik yo'l bilan olingan turlaridan amaliyotda foydalanish imkonini beradi. Biotexnologik usullar, jumladan, o'simlik to'qimalari kulturasi usullari, shuningdek, gen muhandisligi usullari yuqori samarador feromonlar ishlab chiqarishni tashkil etishda istiqbolli hisoblanadi.

O'simliklarni himoya qilishda feromonlardan foydalanishning uch xil yo'li mavjud;

- hasharot turlarini topish;
- hasharotlarni ommaviy tutish;
- turli xil jins vakillarining fazoviy juftlashishiga xizmat qiladigan hid bo'yicha mo'ljal olish tizimini izdan chiqarish.

Kimyoviy va tabiiy feromonlarni zararkunanda hasharotlarga qarshi amaliyotda qo'llashning asosiy yo'llaridan biri - ularning populyatsiyalarini monitoringini o'tkazish, tutqich yordamida zararkunandalarning sonini aniqlashdan iborat. Oddiy kuzatuvlarni ekin maydonlarida olib borish zararkunandalarning uchrash darajasi va ekin maydonlarining zararlanganlik holati to'g'risida aniq va to'liq ma'lumot bera olmaydi. Tutqichga tushgan alohida hasharotlar ma'lum turdagi hasharotning yaqin atrofda uchrashidan dalolat bersa, tutilgan hasharotlarning soni ularga qarshi kurash choralari to'g'risida bir to'xtamga kelish imkonini beradi. Bunday tadqiqotlar natijasida, zararkunanda hasharotlarga qarshi kurash uchun sarflanadigan xarajatlarni keskin qisqartirish, hasharotlarning boshqa hududlarga tarqalmasligini oldini olish mumkin.

Feromonli tutqichlar karantin zararkunandalarni topish imkonini beradi. Hozirgi vaqtda karantin obyektlarini erta aniqlashda feromonlardan dunyo amaliyotida keng foydalanilmoqda (sharq mevaxo'ri, kartoshka kuyasi, amerika oq kapalagi, kaliforniya qalqondori va h.k.) 1976-yilda AQSHda birinchi marta yirik hajmdagi maydonlarda 17 mingdan ortiq *trimedlyur*, *kyulyur* va *metilevgenol* feromoni saqlovchi tutqichlar qo'yilib mamlakat janubidagi uch xil havfli zararkunandalar: O'rta yer dengizi meva pashshasi, qovun pashshasi va sharq meva pashshasini topishga muvaffaq bo'lingan. Ular zararkunandalarni yangi maydonlarga o'rmaslaridan oldin topish va yo'qotish imkonini beradi. Zararkunandalarni bunday erta aniqlash ularni qirish uchun ishlatiladigan o'ta xavfli introdusentlarni qo'llashga sarflanadigan millionlab dollarlarni tejashga sharoit yaratadi. Bunday maqsadlarda import mahsulotlari olib o'tiladigan portlarda tutqichlar halqa shaklida qo'yiladi. Agar qaysidir zararkunanda hasharot joylashib olgan bo'lsa, feromonli tutqichlar zararkunandalarni joylashgan joyini aniqlab, ularga qarshi qo'llaniladigan kimyoviy insektitsidlarni mo'ljal bo'yicha qo'llash imkonini beradi va tabiatning ifloslanishni oldini oladi. Masalan, 1956-yilda Floridada o'rta yer dengizi meva pashshasi 0,4 mln ga yerga tarqalib ketadi. Attraktantlar bilan qo'llanilgan tutqichlar

zararkunanda hasharot joylashgan joyni aniqlash va O'rt a yer dengizi meva pashshasini kimyoviy insektitsidlar bilan to'liq qirib tashlash imkonini beradi.

Olimlarning hisob-kitoblariga qaraganda, zararkunandalar populyatsiyasini yo'qotish uchun agar ularning soni ko'p bo'lsa, 1 ga yerga 4,5 mingga yoki har bir daraxtga 50 ta tutqich zarur. Agar zararkunanda hasharotlar soni birmuncha kam bo'lsa, bog' zarar-kunandalarga qarshi 1 ga yerga 30–50 ta tutqich kifoya qiladi.

O'zbekistonda ham feromonlar zararkunanda hasharotlarga qarshi kurashda foydalaniladi. Feromon tutqichlar o'simlikning o'suv davrida himoya tadbirlari o'tkazishning zarurati va muddatlarini aniqlash maqsadida qo'llaniladi. Jumladan, Armigal preparati (sis-11-geksadetsinalis-9-geksadetsinal) 2 gektarga 1 dona miqdorda g'o'za tunlamiga qarshi, atrakton (trans-10, trans -12, sis-14-geksadektri enil atsetat) tut parvonasiga qarshi qo'llaniladi.

Zararkunanda hasharotlarga qarshi yuqori samarador preparatlarni yangicha turlarini yaratish zarur. Feromonlarning narxi juda qimmat, shuning uchun olimlar ulardan foydalanishda boshqa usullarni ham taklif qilmoqdalar, bunda ta'sir etuvchi moddaning bug'lanishi sekin borib, uzoq vaqt davom etadi. Ularga misol sifatida *disparlyur* – mikro kapsulalarini keltirish mumkin. U toq ipak qurtining jinsiy attraktanti hisoblanadi.

Mikro kapsulalar jelatin yoki poliamid sharchalar bo'lib, diametri 3–40 mkm gacha, ichki qismiga sekin bug'lanuvchi feromon joylashtirilgan. Bu feromon yordamida toq ipak qurtini to'rt hafta ichida 98% gacha yo'qotish mumkin.

Shuningdek, hozirgi vaqtda olimlar polimer dispenser (tashuvchi)lar va ularni qo'llash ustida ham izlanishlar olib bormoqdalar.

AQSI da Konrel firmasining ikki xil turdagi dispenseri va uch qavatli polimer plastinkalar (Gerkon firmasi mahsuloti) dan foydalaniladi. Feromonning 1 ga yerga bir mavsumda ishlatiladigan miqdori bir necha grammni tashkil etadi. Zararkunanda hasharotlarning fiziologik faol moddlaridan foydalanish ham juda istiqbolli soha hisoblanadi.

Feromonlar bilan birga o'simliklarni himoya qilishda hasharotlarning boshqa xil fiziologik faol moddalarini ham qo'llash mumkin. Ichki sekretiya bezlari turli xil gormonlarni ishlab chiqaradi. Ular ichida eng ko'p o'rganilgani yuvenil (lichinka gormoni) va tullash gormoni (ekdizon)dir. Ular hasharotlarning gormon boshqariluvida

asosiy ahamiyatga ega. O'simliklarni himoya qilish sohasi mutaxassislari bu gormonlardan hasharotlardagi normal rivojlanish va ko'payish jarayonlarini izdan chiqarishda foydalanishlari mumkin.

Begona o'tlarga qarshi kurash usullari

O'simliklarni himoya qilishdagi yana bir muhim yo'nalish – begona o'tlarga qarshi kurash. Hozirgi vaqtda begona o'tlarga qarshi kurash gerbitsidlarni qo'llashga asoslangan kimyoviy usullar bilan olib boriladi. Zamonaviy o'simlikshunoslikda gerbitsidlarni qo'llash qishloq xo'jalik ekinlarining hosildorligini oshirish va ishlab chiqarishi samaradorligini yuqori ko'tarish yo'llaridan biridir. Gerbitsidlarning asosiy kamchiligi – ularning hayvon va odam organizmi uchun oz yoki ko'p darajada zaharlilik bilan bog'liq.

Ko'plab mutaxassislar begona o'tlarga qarshi kurashda biologik usullar, tirik organizmlar va ularning mahsulotlaridan foydalanish ustida tinimsiz izlanmoqdalar. Bunda biotexnologiya va gen muhandisligi yutuqlarini qo'llash keng imkoniyatlar ochmoqda. Biotexnologik usullar vositasida begona o'tlarni nobud qiluvchi organizmlarni ko'paytirish, mazkur maqsad yo'lida tegishli moddalarni ham ishlab chiqarish mumkin.

Hozirgi vaqtda ekotoksikologik va samaradorligi jihatdan ham yuqori bo'lgan gerbitsidlarning yangi avlodlari yaratilmoqda. Ularni ko'pincha mikroorganizmlardan olinadi. Mikroob gerbitsidlari ishlab chiqarishning afzalligi – gerbitsid sintezlovchi mikroorganizmlarni o'stirish uskunalari (fermenterlar) ning universalligidir. Ikkinchi yana bir muhim afzalligi – ularni ishlab chiqarishdagi chiqindilarning atrof-muhitga nisbatan zararsizligidir. Uchinchidan, mikroblar gerbitsidlar tabiat uchun begona emas. Chunki tuproqda yashovchi aktinomitsetlar ularni doimiy ravishda ishlab chiqib, tashqi muhitga ajratib turadi. Tabiiyki, tuproq biosenozi evolyutsiya davomida aktinomitsetlar tomonidan ishlab chiqariladigan moddalarni parchalaydigan tizimlar ham kelib chiqqan. Mazkur tizimlar o'simliklarga faqat aktinomitsetlar asosida olingan gerbitsidlar bilan ishlov berilganda ishga tushadi. Natijada tabiatda zaharli moddalar to'planmaydi. Bu xususiyat o'z navbatida inobatga olinishi lozim, chunki ularni ko'pchiligining samarasi bevosita tuproqqa kiritilganda yuqori emas.

Hozirgi vaqtda gerbitsid ishlab chiquvchi mikroorganizmlarning bir qator turlari aniqlangan. Ularni amaliyotga joriy etish, gen muhan-

disligiga oid chuqur tadqiqotlarni o'tkazish, biotexnologik ishlab chiqarishda mikroorganizmlardan keng foydalanish imkoniyatlarini ochadi.

Yaponiyada begona o'tlarga qarshi *Streptomyces hygrosroricus* va *S.viridochromogenes* aktinomitsitlari ajratib chiqaradigan bialofos gerbitsidan foydalanish taklif etilmoqda. Bu gerbitsid keng spektrga ega bo'lib, bir qator begona o'tlarga qarshi unib chiqish davridan boshlab butun o'suv davri mobaynida foydalanish imkonini beradi. Biroq, bialofosni bevosita tuproqqa kiritilganda, uning samarasi deyarli bo'lmaydi, buning sababi yuqorida keltirilgan edi.

O'simliklarga gerbitsid eritmasi purkalganda, u o'simlik ildizlariga o'tadi va o'simlik nobud bo'ladi. Ushbu gerbitsidning bu boradagi ta'siri glifosat (fosfonametilglitsin)ga o'xshash, lekin uning begona o'tlarga ta'siri birmuncha kuchlidir. Uning tavsiya etiladigan me'yori 1 kg/ga. Hozirgi vaqtda Yaponiyada bu preparatni ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan.

Aktinomitsitlarning ba'zi shtamlari anisomitsin deb nomlanuvchi modda ishlab chiqaradi. U maymunjon, beda, pomidor kabi o'simliklarning o'simtalarida ildiz o'sishini pasaytiradi. Bir yillik begona o'tlarning ko'pchiligiga qarshi samarali ta'sir ko'rsatadi. Bu modda anisomitsinning juda ko'p hosilalarini olish uchun dastlabki material bo'lib xizmat qiladi. Bunday hosilalarning tuzilishi va biologik faolligini o'rganish natijasida yangi gerbitsid «Metoksifenon» olingan. «Metoksifenon» o'simliklarning unib chiqishi oldidan qo'llaniladi. Unib chiqqan ko'plab bir yillik begona o't o'simtalarini gerbitsid ta'sirida xlorozga uchraydi va nobud bo'ladi. Bu gerbitsid sholi ekinlaridagi begona o'tlarga qarshi kurashda qo'llaniladi.

S. saganonensis 4075 shtammi filtratlarida gerbitsid faolligiga ega ikkita metabolit topilgan bo'lib, keyinchilik yana uchta aniqlandi – C, D, E. Ular ikki pallali begona o'tlarga qarshi tanlab ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega bo'lib, urug' unuvchanligini pasaytiradi.

Ilmiy manbalarda mikroorganizmlarning gerbitsidsimon moddalaridan yana boshqa xil turlari – naramitsin, toyokamitsin, piolyuterion, sitobaritsin, formitsin A va B turlari ham keltiriladi.

Gerbitsidsimon moddalarning istiqbolli produsentlari sifatida *S.toyocaensis*, *irpeks* zamburug'lari (*Ipex pacyodon*) kabilarni ko'rsatish mumkin. Shuningdek, *Rhizobium japonicum* bakteriyasining ba'zi shtamlari 0,2 kg/ga me'yorida gerbitsid ta'sirga ega rizobitoksin ishlab chiqarishi ham ma'lumdır.

O'simliklarni begona o'tlardan himoya qilishda qo'llaniladigan mikroblı gerbitsid preparatlari hajmi an'anaviy gerbitsidlarga nisbatan ko'p emas. Lekin mikroblı preparatlar tevarak-atrof va odamga zararsizligi bilan yangi istiqbolli imkoniyatlarni ochadi. O'simliklarni himoya qilish sohasi mutaxassislarining fikricha, biotexnologik sanoat asosida mikroblı gerbitsidlar ishlab chiqarish ko'lamı yaqin kelajakda ancha ortadi. Bu borada ularni ishlab chiqarishda gen muhandisligi ham alohida o'rin tutadi.

Gerbitsidlarni nafaqat mikroorganizmlardan, balki o'simliklardan ham olish mumkin. Chunki ular ham ildizlari orqali tuproqqa ajralib chiqadigan turli xil fiziologik faol moddalarni ishlab chiqaradilar. Bu moddalar orasida boshqa o'simliklarni nobud qiluvchi ta'sirga ega moddalar ham mavjud. Bakteriotsid, fungitsid va shu bilan birga gerbitsid ta'sirga ega *agropirin* shular jumlasidandir. Bu modda o'rmalovchi bug'doyiq begona o'ti tomonidan ajratib chiqariladi. Agar ushbu o'simlik ildizidan efir moylari ajratib olinsa, uning 95% i agropiringa to'g'ri keladi. Agropirin ildiz va barglarga shimilib dastlab ildiz qinchasi, keyin butun ildiz tizimining nobud bo'lishiga olib keladi. U nay-tolali bog'lamlar orqali o'simlik bo'ylab tarqaladi va o'simlikning birmuncha yosh a'zolarini zaharlaydi.

Hozirda dunyo olimlari begona o'tlarga qarshi maxsus moddalar ishlab chiqaradigan o'simliklar kolleksiyalaridan turli ekin navlarini topishni tadqiq etmoqdalar. Bunday xususiyatga ega navlar ekilganda gerbitsidlarni qo'llash talab qilinmaydi.

VI BOBGA DOIR NAZORAT SAVOLLARI

1. O'simliklarni kimyoviy va biologik usulda himoya qilishdan biotexnologik usullarning afzalligi nimada?
2. O'simlik kasalliklarining qanday turlarini bilasiz va ularga qarshi biotexnologik kurash choralari nimalardan iborat?
3. O'simliklarni viruslardan holi qilish yo'llarini izohlab bering.
4. Qishloq xo'jalik ekinlarini kasalliklardan himoya qilishda mikroorganizmlar ishlab chiqaradigan antibiotiklarning o'rni qanday?
5. Antagonist mikroorganizmlardan o'simlik kasalliklariga qarshi kurashda foydalanishning afzalliklari.
6. Qishloq xo'jalik ekinlari zararkunandalariga qarshi kurashda mikroorganizmlardan olinadigan qanday preparatlar mavjud?

7. Zararkunanda hasharotlarga qarshi qo'llaniladigan bakterial preparatlarning afzalliklari va kamchiliklari nimada?

8. Qishloq xo'jalik ekinlari zararkunandalariga qarshi kurashda qanday biologik faol moddalar qo'llaniladi?

9. Feromonlardan foydalanishning yutuq va kamchiliklari nimalardan iborat?

10. Begona o'tlarga qarshi biotexnologik kurash choralarining o'ziga xosligi nimada?

11. Hozirgi vaqtda mikroorganizmlar asosida olinadigan qanday gerbitsid preparatlari mavjud?

VI BOBGA DOIR TEST SAVOLLARI

1. Odam uchun xavfli pestitsidlar qanday tabiatga ega va nima uchun xavfli hisoblanadi?

A) anoragnik tabiatga ega, hasharotlarning neytral turlarining cheksiz ko'payishiga sabab bo'ladi

B) organik tabiatga ega, odamlarda turli xil kasalliklar chaqiradi

S) kimyoviy tabiatga ega, odamlarning zaharlanishi oqibatida halok bo'lishlariga sabab bo'ladi

*D) xloroorganik tabiatga ega; tuproqda odam va hayvon to'qimalarida to'planadi

E) xavfsiz bo'lgani uchun shu paytgacha qo'llanilib kelinmoqda

2. O'simliklarni himoya qilish borasidagi biotexnolog olimlarni qaysi muammo qiziqtiradi?

A) kimyoviy usullardan foydalanishni takomillashtirish

B) tegishli o'simliklarni himoya qilish vositalaridan to'g'ri foydalanish

*S) o'simliklarni himoya qilish vositalarini ishlab chiqarishni qanday tashkil etish lozimligi

D) o'simliklarni himoya qilishda kimyoviy vositalarini iloji boricha kamaytirish

E) kimyoviy va biologik usullardan uyg'unlashgan holda foydalanish

3. Fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi kurashda nima uchun antibiotiklar boshqa vositalarga qaraganda afzalliklarga ega hisoblanadi?

A) organ va to'qimalarga oson kirib boradi

B) ta'sir etish mexanizmi tashqi muhit omillariga juda kam darajada bog'liq bo'ladi

- S) nisbatan qiyin parchalanishi
D) a'zolar bo'ylab tez tarqaladi
*E) barcha javoblar bir-birini to'ldiradi
4. Yaponiyada ishlab chiqariladigan faqat o'simliklarda kasallik tug'diruvchi mikroorganizmlarga qarshi qo'llaniladigan antibiotikning nomini ko'rasting:
- A) fitobakteriomitsin
B) fitolavin
S) trixotsetin
*D) kasugamin
E) oksitetratsiklin
5. *Actinomyces lavendulae* aktinomitsetindan ajratib olinadigan antibiotik preparatning nomini ko'rsating:
- *A) fitobakteriomitsin
B) blastisidin
S) validamitsin
D) sellotsidin
E) tetranaktin
6. Ochiq va himoyalangan yer sharoitida yetishtiriladigan bodringni un shudring kasalligida qo'llash yaxshi samara beradigan antibiotikli preparatning nomi qanday?
- A) fitolavin -100
B) fitobakteriomitsin
S) nikomitsin
D) aurefungin
*E) trixotsetin
7. Qaysi preparatni ishlab chiqarishda turli xildagi o'simlik chiqindilari va boshqa substratlar (non mag'zi, somon, g'alla chiqindilari) dan foydalanish mumkin?
- A) fitobakteriomitsin
B) fitolavin
S) trixotsetin
D) tetranaktin
*E) trixodermin

ADABIYOTLAR

1. В.И.Артамонов. Биотехнология агропромышленному комплексу. М.: «Наука», 1989 157с.
2. Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы /Под ред. Шевелухи В.С. «Евразия», 2000 , 264 с.
3. Бекер М.Е., Лиепинш 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. N.A.Xo'jamshukurov *Bacillus thuringiensis* entomopotogen bakteriyasining mutant shtammlari asosida kolorado qo'ng'iziga (*Leptinotarsa desemlineata* Say L.) qarshi insektisid biopreparat yaratish (nomzodlik dissertatsiya ishining avtoreferati), 2002 y.

ASOSIY BIOTEKNOLOGIK TERMINLAR LUG'ATI

Agar-agar – ba'zi dengiz o'simliklaridan olinadigan mahsulot; uning tarkibiy qismi uglevodlar qatoriga kiradi, u sovuq suvga solinganida bo'kadi, qaynoq suvda batamom eriydi, eritmasi soviganda ta'amsiz va hidsiz, tiniq, iviq cho'kma hosil bo'ladi. Bu mahsulot mikroorga-nizmlarga qattiq oziqa muhiti tayyorlashda, qandolatchilikda shirinliklar tayyorlashda ishlatiladi.

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

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

Agrobiotsenoz – ekin ekiladigan erlarda yashaydigan organizmlar yig'indisi.

Adaptatsiya – moslashish, organizmlarning evolyusiya jarayonida yuzaga kelgan yashash sharoitiga moslashuvi.

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

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

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

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

Azotobakteriya – erkin holda yashab, havodan azot to'plovchi bakte-riyalar turi.

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

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

Anaeroblar – kislorodsiz muhitda modda almashinishi va ko'pa-yishini davom ettira oladigan mikroorganizmlar; faqat anaerob sharoitda o'sadigan mikroorganizmlar; fakultativ anaeroblar, kislorodli yoki kislorodsiz sharoitda o'sa oladigan mikroorganizmlar.

Androgenez – mikrospora yoki chang donachalaridan somatik embriogenez yoki kallus hosil qilish orqali o'simlik yoki uning organlarining hosil bo'lish jarayoni.

Antagonist – raqib-mikroorganizmlar hayotini to'xtatuvchi yoki butunlay barbod qiluvchi boshqa bir mikroorganizm.

Antibiotiklar – mikroorganizmlar hayot faoliyati davomida hosil bo‘ladigan kimyoviy moddalar; juda oz miqdori ham boshqa mikroorganizmlarga zaharli ta‘sir etadi.

Apikal dominantlik – apikal meristemadagi gormonlar yordamida yon navdalarning yuqori meristemi kurtaklari o‘shini to‘xtatilishi.

Attragirlash xususiyati – stimulyator fitogormonlarning oziqa moddalarni o‘sovchi organga katta miqdorda tashilishini faollash xususiyati.

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

Bazipetal transport – o‘simlikdagi moddalarning ildizning apikal meristemasi ga transporti.

Bakteriofaglar – bakteriyalarni infeksiyalovchi viruslar.

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

Biogenez – tirik organizmlar tomonidan organik birikmalarning hosil bo‘lishi.

Biomassa – mikroorganizmlarni o‘stirilganida hujayralar massasi yoki tirik organizm massasi; faol biomassa-biologik faollik ko‘rsatuvchi massa; quruq biomassa-organizmlarning quruq biomassasi. U ho‘l biomassaning 15-30% ini tashkil etadi; ho‘l biomassa-suzish yoki aylantirish, cho‘ktirish natijasida suyuq uzuqa muhitidan ajratib olingan hujayra massasi.

Bioreaktor – biologik reaksiyalarni amalga oshirishga mo‘ljallangan sig‘im. Bu atama aerob va anaerob organizm hujayralarini o‘stirish uchun zarur bo‘lgan sig‘imlarda hamda hujayra va fermentlarni to‘plashda foydalanadigan naychalarga nisbatan ishlatiladi.

Biosintez – fermentlar ta‘sirida tirik organizmlarda oddiy birikmalardan murakkab organik moddalarning hosil bo‘lishi.

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

Vektor – genlarni klonlashda foydalaniladigan replikon. Tabiiy vektorlar-kichik plazmidalar, viruslar va bakteriofaglar. Sun‘iy vektorlar esa DNK-ligaza yordamida har xil manbalardan olingan DNKni birlashtirish asosida tuziladi.

Viruslar – birorta tirik organizmda rivojlanish xususiyatiga ega bo‘lgan, tarkibida nuklein kislotalar, oqsillar, ayrim hollarda lipidlar bo‘lgan zarrachalar.

Gaploid – bir organizm turiga xos bo‘lgan butun to‘plamning yarmi, xromosomalar to‘plami bilan xarakterlanuvchi yadro, hujayra, organizm.

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

Gen muhandisligi – usullar va texnologiyalar; rekombinant ribonuklein va dezoksiribonukleinkislotalar olish texnologiyasi, organizmlardan genlarni ajratish, ular bilan turli manipulyatsiyalar o‘tkazish va ularni boshqa organizmlarga kiritish texnologiyalari.

Genetik kod (GK) – nuklein kislotalari molekularida ketma-ketlik ko‘rinishida «yozilgan» irsiy axborotning tirik organizmlarga xos yagona tizimi. Genetik kodning birligi kodondir.

Genetik modifikatsiyalangan transgen organizmlar (GMO) – gen – muhandisligi usullari yordamida genomiga begona genlarni kiritilish orqali irsiyati o‘zgartirgan o‘simlik, hayvon, mikroorganizm va viruslar.

Genetik xavf – insonlar hayoti va sog‘ligi, atrof-muhit uchun havfli bo‘lgan kutilmagan irsiy o‘zgarishlarning genomda paydo bo‘lishi va organizmlar sifatining o‘zgarishi.

Genlar bibliotekasi – butun genomni tutuvchi klonlangan DNK fragmentlari to‘plami.

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

Genoterapiya-retsipient genomiga begona genlarni kiritish yoki biologik obyekt to‘qimalarida genetik sog‘lom somatik hujayralarni olish yordamida irsiy kasalliklarini davolash.

Genotip – asos genlarining to‘plami. Irsiy asos-organizmlarning genetik (irsiy) konstitusiyasining va uning barcha genlarining majmui.

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

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

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

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

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

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

Gormon statusi – ontogenezda o'simlik va hayvon gormon tizimining umumiy holati, endogen va ekzogen ta'sirlarga nisbatan hosil bo'lish jarayonlarida gormonlar miqdori va ular orasidagi nisbati.

Destruksiya – moddalarning parchalanish orqali fiziologik faolligini yo'qotishi.

Didifferensiya – ixtisoslashgan, bo'linmaydigan hujayralarning differensiyalanmasdan bo'linayotgan kallus hujayralariga aylanishi.

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

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

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

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

DNK bo'shlig'i – DNK zanjirida bitta yoki bir necha nukleotidlarning etishmasligi.

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

DNK replikasiyasi – fermentlar to'plami (DNK polimeraza, ligaza va boshqalar) yordamida DNK nusxasini hosil qilish orqali uning molekularini ikkilanishi (ikkimarta ko'payishi).

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

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

Zatravka – DNKning bitta zanjiri bilan komplementar hamkorlik qiluvchi qisqa izchillik (ko'pincha RNK); erkin 3 – ON – uch hosil qilib

u asosida DNK-polimeraza dezoksiribonukleotid zanjir sintez qila boshlaydi.

Identifikatsiya – aynan o'xshatish, tenglashtirish, modda yoki mikro-organizmlar turi va xillarini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar turi.

Invertirlangan takroriy izchilliklar – Bir molekula tarkibidagi bir-biriga qarama-qarshi tomonlarda joylashgan bir xil izchillikning ikkita nusxasi. Bir-birlariga yonma-yon joylashgan invertirlangan takroriy izchilliklar palindrom hosil qiladi.

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

Induktor – repressor bilan qo'shilib, uning operator bilan qo'shilish xususiyatini yo'qotadigan, nafaol holatga o'tkazadigan past molekullali modda.

Induksiya – ferment sintezi, faglar rivojlanishi va mutatsiyaga o'xshagan biologik jarayonni harakatga tushirish.

Inisiatsiya – molekular biologiyadagi translyatsiya jarayonining birinchi bosqichi.

Intron – genning transkripsiyalanayotgan «indamas» prossessing jarayonida RNK molekulari ajralib chiqayotgan va kodonlar mavjud bo'lmagan qismi.

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

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

Klonlash – populatsiyalarning organlari bilan genetik bir xil hujayralar olish.

Klonli mikroko'paytirish – *in vitro* jinssiz usul yordamida boshlang'ich o'simlik bilan genetik bir xil o'simliklar olish.

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

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

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

Ligaza – DNK zanjiridagi uzilgan qismni fosfodiefir bog' hosil qilish yordamida birlashtiruvchi ferment.

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

Lizis – erib ketish, parchalanish, fermentlar, kislotalar va ishqorlar ta’sirida hujayralarning parchalanishi; bakteriya hujayrasida bakteriofag-larning ko‘payishi natijasida uning erib ketishi.

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

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

Matritsa – 1) ma’lum bir tana (shakl) bo‘lib, unga qarab yangi shaklning hosil bo‘lishi; 2) DNK va RNK iplarini komplementlar sintezlanishi uchun asos sifatida xizmat qiladigan va nuklein kislotalardagi azot asoslarining ketma-ketligi.

Mahsuldorlik jarayoni – moddalar hosil bo‘lishi va metabo-lizmning o‘simlikda bir vaqtda kechayotgan fiziologik, biokimyoviy, biofizik va boshqa jarayonlarning yig‘indisi, donor-akseptor munosa-batlar va genetik nazorat asosida o‘simliklarning xo‘jalik ahamiyati qimmatli organlarining shakllanishi, ikkilamchi almashinishni ta’mi-nlanishi.

Meristema – faol bo‘linayotgan differensiyallanmagan hujayra-lardan iborat to‘qimalar.

Metabolizm – oraliq almashinish, ya’ni moddalarning hujayra ichiga tushgan vaqtidan oxirgi mahsulotlar hosil bo‘lgunga qadar aylanishi.

Metabolitlar – metabolizm jarayonida hosil bo‘ladigan moddalar.

Modifikatsiya – mikroorganizmlarning fenotipik o‘zgarishi, ya’ni hujayraning genetik apparatlariga aloqador bo‘lmagan o‘zgarishlar.

Morfogenez – organ (organogenez), to‘qima(gistogenez) va hujay-ralarning (sitogenez yoki hujayralarning differensiyallanishi) shakllanish jarayoni. Organizmlarning rivojlanishi jarayonida tizimlarning tabaqalanishi.

Mutagenез – mutagenез o‘zgarishning (mutagenезning) ro‘y berishi-organizmda irsiy o‘zgarishlar-mutatsiyalarning vujudga kelish jarayoni. Bu jarayon asosida irsiy axborotni saqlovchi va nasldan-nzslga o‘tkazuvchi nuklein kislotalar molekulasi o‘zgarishi yotadi.

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

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

Nishon – hujayra – u yoki bu fitogormon retseptorini tutuvchi va fitogormonning konsentratsiyasi o'zgarganda metabolizmni o'zgartiruvchi hujayra.

Nuklein kislotalar – turli nukleotidlar qoldiqlaridan tashkil topgan yuqori molekular tabiiy birikmalar (polimerlar). Hujayra mag'zining asosini tashkil qiladi. Nuklein kislotalarning ikki turi: RNK, DNK hujayralarning doimiy komponentlaridir.

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

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

Partenogenez – asosning faqat ona hujayra genlari ishtirokida rivojlanishi.

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

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

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

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

Promotor – genning transkripsiyasi boshlanishi uchun javobgar qismi.

Pronukleus – urug'langan tuxum hujayra yadrosi.

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

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

Profag – bakteriya xromosomasiga o'mashgan fag genomi.

Protssing – RNK ning yetilish jarayoni.

Regeneratsiya – hujayralar tiklanishi.

Rekombinant gen – turli genlar komponentlaridan tarkib topgan gen.

Rekombinant DNK – turli manbalardan olingan DNK qismlaridan iborat DNK.

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

Reparatsiya – DNKning sintezi vaqtida hamda har xil fizik va kimyoviy omillar ta'sirida DNK ning uzilib qolgan yoki shikastlangan molekulasini tuzatishga bo'lgan hujayralarning maxsus vazifasi.

Repressiya – gen ekspressiyasini va yoki shunga taalluqli ferment sintezini to'xtatish mexanizmi.

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

Restriktazalar – DNK ni ma'lum bir nukleotidlar izchilligida kesadigan fermentlar.

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

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

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

RNK blottingi – RNKni agarozali geldan nitrotsellyuloza filtriga komplementar DNK bilan duragaylash uchun olinishi.

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

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

Segment – karj, bo'lak.

Sekvenirlash – oqsildagi aminokislota qoldig'ini va nuklein kislotalardagi nukleotidlarning ketma-ketligini aniqlash.

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

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

Skrining – bitta hujayradan klon olish yo‘li bilan mikroorganizmlarning aralash populyasiyasidan keragini ajratish.

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

Somaklonlar – boshlang‘ich shakllaridan muayyan farqlar bilan farqlanuvchi somatik hujayralardan olingan regerant o‘simliklar.

Somatik duragay – somatik hujayralar qo‘shilishi (duragaylanishi) orqali olingan regerant o‘simlik.

Somatik duragaylash – jinsiy jarayondan tashqarida yadro va organellalar genlari va xromosomalarni genetik rekombinatsiyaga chaqirish jarayoni.

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

Stimulyatorlar – o‘simliklarning o‘shishini kuchaytiruvchi omil-o‘simliklarning o‘shishini, hujayralarning bo‘linishini tezlashtiradigan, kuchaytiruvchi moddalar. Ular tabiiy yoki sintetik holda bo‘lishi mumkin. Tabiiylari auksinlar, giberellinlar va sitokininlar.

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

Subbirlilik – oqsil molekularini tashkil etuvchi (to‘rtlamchi strukturalari) oqsil globulalari.

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

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

Transgenoz – turli vektorlar yordamida donor, begona genlarni retsipient o‘simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayrasiga kiritish jarayoni. Transduksiyaga moyil faglar yordamida genetik axborotni bakteriya hujayrasidan eukariotlar hujayrasiga sun‘iy yo‘l bilan o‘tkazish.

Transduksiya – bakteriofaglar yordamida genetik materialni donor hujayradan retsipient hujayraga olib o‘tish.

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

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

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

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

Transformatsiya – alohida ajratilgan DNK yordamida hujayraga genetik axborotni kiritish. Transformatsiya yordamida olingan hujayrada va undan keyingi avlodlarda yangi belgilar DNK yordamida olingan manbadagiga o‘xshagan bo‘ladi.

O‘simliklarni gormon tizimi – fitogormonlar, ularning retseptorlari va ikkilamchi vositachilaridan iborat regulator kompleks.

Faglar – mikroorganizmlar ichiga kirib, unda ko‘payib, keyin ularni eritib yuboruvchi viruslar.

Faollashtirish – 1) faollikni qo‘zg‘atish va kuchaytirish; 2) molekular faolligini qo‘zg‘atib kimyoviy reaksiyaga kirishni tezlatish.

Fenotip – organizmlarning rivojlanishi jarayonida yuzaga kelgan hamma belgi va xususiyatlar yig‘indisi.

Ferment – biologik katalizator, enzimlar-oqsilning o‘ziga xos turi; tirik hujayralarda ham tezlatkich rolini bajaradi.

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

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

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

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

Fragmentlar – parchalar, qismlar.

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

Hujayralar seleksiyasi – selektiv sharoitlar yordamida genetik modifikatsiyalangan mutant hujayralar va somoklonal variantlar ajratish usuli.

Sentrifuga – ajratkich, cho‘ktirgich-markazdan qochima kuchga asoslangan turli xil aralashmalarni qismlarga ajratuvchi asbob.

Sitozin – DNK va RNK tarkibida bo‘lgan pirimidin asosi.

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

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

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

Endonukleazalar – fosfodiefir bog‘larini parchalovchi fermentlar.

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

In vivo – tirik materialni tabiiy sharoitda o‘stirish.

MUNDARIJA

I bob. GEN MUHANDISLIGI ASOSLARI

Molekular genetika va molekular biologiya – gen muhandisligining asosiy po'ydevori.....	11
3 Gen muhandisligi fermentlari.....	12
DNK bo'laklarini qirqish va restriksion xaritalarni tuzish (fizikaviy xaritalash).....	16

II bob. O'SIMLIKLARNING GENETIK MUHANDISLIGI

Agrobakteriyalar asosida o'simliklar transformatsiyasi.....	45
O'simlik hujayralari transformatsiyasi usullari.....	59
O'simlik genomiga begona genlarning ekspressiyasi.....	65
7 Biotexnologiyada gen muhandisligi usullari yordamida o'simliklarning sifat ko'rsatgichlarini yaxshilash va hosildorligini oshirish.....	67
8 6 Stress ta'sirlarga bardoshli transgen o'simliklar olish.....	73
Zararkunanda hasharotlarga bardoshli transgen o'simliklar yaratish.....	74
4 6 Zamburug', bakteriya va virusli infeksiyalarga chidamli transgen o'simliklar olish.....	75
4 6 Gerbitsidlariga chidamli transgen o'simliklar olish.....	77
O'simliklar gen muhandisligining hal etilmagan muammolari.....	79

III bob. O'SIMLIKSHUNOSLIK VA SELEKSIYADA HUJAYRA HAMDA TO'QIMALAR BIOTEXNOLOGIYASI

2 Hujayra va to'qimalar kulturasi.....	85
O'simlik hujayra va to'qimalarini kulturalash texnikasi.....	88
Kallus to'qimalari kulturasi.....	93
Gormonga bog'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari.....	99
Hujayralarning suspenziyali kulturasi.....	103
Yakka hujayralar kulturasi.....	104
Kallus to'qimalarida morfogenez.....	106
Ikkilamchi sintez moddalarini olishda kallus hujayralari kulturasi.....	113
O'simliklarni klonli mikroko'paytirish.....	116
O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari.....	118
O'simliklar seleksiyasida alohida ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasi.....	143

**IV bob. BIOTEXNOLOGIYA VA O'SIMLIKSHUNOSLIKDA
FITOGORMONLAR HAMDA O'SIMLIKLARNI O'SISHI VA
RIVOJLANISHINI BOSHQARUVCHI SUN'IY
REGULATORLAR**

O'simliklarning gormon tizimi.....	176
Fitogormonlar klassifikatsiyasi, strukturasi va funksiyasi.....	182
O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regula- torlar.....	191
Biotexnologiyada o'simliklarni o'sishini va rivojlanishini boshqa- ruvchi fitogormon va sun'iy regulatorlar.....	195
Gormon statusi o'zgartirilgan transgen o'simliklar olish.....	198
Fitogormon va fitoregulatorlarni olishning biotexnologik usullari.....	200
O'simlikshunoslikda fitogormon va o'sishni boshqaruvchi regula- torlar.....	201
O'simlikshunoslik va biotexnologiyada fitoregulatsiyani o'rganish va qo'llashni rivoshlantirish istiqbollari.....	206

**V bob. TUPROQ UNUMDORLIGINI OSHIRISHDA
BIOTEXNOLOGIYA**

Simbiotik azotni o'zlashtirilishida biotexnologiyaning genetik asoslari.....	218
---	-----

**VI bob. O'SIMLIKLARNI HIMOYA QILISHDA
BIOTEXNOLOGIYA**

O'simlik kasalliklariga qarshi kurashda biotexnologik usullardan foydalanish istiqbollari.....	223
Qishloq xo'jalik ekinlari zararkunanda hasharotlariga qarshi kurash usullari. Bakterial preparatlar.....	228
O'simlik zararkunda hasharotlariga qarshi kurashda biologik faol moddalardan foydalanish.....	229
Begona o'tlarga qarshi kurash usullari.....	233
Asosiy biotexnologik terminlar lug'ati.....	239

RA'NO ARTIKOVA, SAYYORA MURODOVA

QISHLOQ XO'JALIK BIOTEXNOLOGIYASI

Toshkent – «Fan va texnologiya» – 2010

Muharrir: F. Ismoilova
Texnik muharrir: A. Moydinov
Musahhih: M. Hayitova
Kompyuterda
sahifalovchi: N. Hasanova

Bosishga ruxsat etildi 24.08.2010. Bichimi 60x84 ¹/₁₆.
«Timez Uz» garniturasida. Ofset bosma usulida bosildi.
Shartli bosma tabog'i 16,0. Nashriyot bosma tabog'i 15,75.
Tiraji 500. Buyurtma № 140.

Ushbu kitob «O'zbekiston Respublikasi Fan va Texnologiya Markazining bosmaxonasi»da chop etildi.
Olmazor sh., Olmazor ko'chasi, 171-uy.

Mol
asos
Ger
DN
xar

Ag
O'
O'

7 Bi
sif

St

Za

Za

o'

4v G

O

A

H

C

K

O

H

Y

F

H

F

H

F

H

F

H

F

H

F

H

F

H

F

H

Amey

P. P.

100003, Tallinn, Estonia

44 835 6365

ISBN 978-9943-10-369-6



9 789943 103696