

Қ. ДАВРАНОВ



БИОТЕХНОЛОГИЯ:

ИЛМИЙ, АМАЛИЙ ВА УСЛУБИЙ АСОСЛАРИ

ТОШКЕНТ - 2008

Давранов Қ. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. Т.: “Patent-Press”, 2008. – 506 бет, чизма-87, жадвал-60

Монографияда ген ва хужайра биотехнологиясида қўлланиладиган усуллар, биотехнологик жараёнларни биокимёвий асослари, хусусан, ферментацияда кечадиган биокимёвий жараёнлар ва уларни моҳияти ҳақида умумий тушунчалар, микроорганизмлар культураларида модда алмашинуви жараёнларини бошқариш усуллари шунингдек, қишлоқ хўжалиги, озиқ-овқат саноати, атроф-муҳитни муҳофаза қилишида ишлатиладиган биотехнологик жараёнларда намуналар келтирилган.

Бундан ташқари университетларда биотехнология соҳасида малакали кадрлар тайёрлаш тарихи, бугуни ва истиқболлари ҳақида ҳамда одоб ва касбга оид муаммолар тўғрисида фикрлар келтирилган.

Монография биотехнология соҳасида ишлайдиган мутахассислар, талабалар, аспирантлар ва олий ўқув юртларининг биотехнология мутахассислиги бўйича дарс берадиган ўқитувчиларга мўлжалланган.

Маъсул муҳаррир:

М.М.Рахимов – биология фанлари доктори, профессор, Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети Биология-тупрокшунослик факультети Микробиология ва биотехнология кафедраси мудири.

Такризчилар:

биология фанлари доктори, проф. Ҳ.Ч.Буриев.

биология фанлари доктори Б.О.Бекназаров

Монография 2008 йил 29 февралда Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университети Биология-тупрокшунослик факультети 6-сонли Илмий кенгашида кўриб чиқилди ва очик ҳолда чоп этишга рухсат берилди.

Монография INTAS M2 69-69 лойиҳасининг молиявий кўмаги асосида чоп этилади.

“Patent-Press”, 2008, заказ № 423. 31,5 п.л. 60x84 1/8

Тел 2320017. г. Ташкент, ул. Тойтепа, 2А.

Сўз боши

Замонавий биотехнология кўп тармоқли илмий-амалий йўналиш бўлиб, у биология (микробиология, генетика, молекуляр биология, биохимия ва ҳ.к) ва муҳандислик фанлари ютуқлари асосида пайдо бўлган.

Биотехнологиянинг ривожланиши, ўз навбатида унга тегишли бўлган бир неча фанлар бўйича олиб бориладиган илмий-амалий изланишларни жадалланишига олиб келди. Айниқса микроорганизмлар асосида хилма-хил физиологик фаол моддаларни синтез қилиш, бунинг учун керакли ва иқтисодий самара берадиган, рақобатбардош микроб продуцентларини яратиш, улардан керакли маҳсулотни ажратиб олишни йўлга қўйиш, шу мақсадда ўсимлик ва ҳайвон ҳужайра ва тўқималаридан фойдаланиш масалалари бўйича эришилган ютуқлар юқоридаги фикрларни тасдиқлайди.

Биотехнология кўп тармоқли бўлганлиги учун ҳам, уни барча йўналишларини бир китобда тўплаш анча муаммоли вазифа. Шундай бўлишига қарамасдан, ушбу китобда биотехнология фанининг тарихи, кечаги, бугунги ҳолати ва эртаси ҳақида фикрлар берилган. Китобда замонавий биотехнологиянинг илмий, амалий ва услубий асосларини ёритишга ҳаракат қилинган, хусусан микроорганизмларни кўпайтириш усуллари, улардан физиологик фаол бирикмалар ажратиш, улардан фойдаланиш, алоҳида ажратиб олинган ҳужайра ва тўқималарни ўстириш техникаси, ўстириш шароити ва озуқа мухити, ўсимликларни клонал микрокўпайтириш, тупроқ биотехнологияси, бактериал ўғитлар, энтомопатоген препаратлар тайёрлаш, чорвачиликда биотехнологик жараёнлардан фойдаланиш усуллари, ветеринария препаратлари олиш масалалари ёритилган.

Китобни кейинги боблари озиқ-овқат биотехнологиясига қаратилган бўлиб, унда аминокислоталар, органик кислоталар, оксил моддалари, турли таркибли озуқа препаратлари, витаминлар, липидлар, фермент препаратлари ишлаб-чиқариш технологиялари келтирилган. Шу масалаларга монан равишда озиқ-овқат саноатида биотехнологиядан фойдаланиш чегаралари қисқача кўрсатиб ўтилган.

Китобда фермент препаратлари олиш, уларни тозалашда ишлатиладиган усуллар алоҳида келтирилган

Шунингдек, биотехнологик жараёнларни энг муҳим биокимёвий асослари: бижғиш, фотосинтез, нафас олиш жараёнларининг биокимёсини очиб беришга ҳаракат қилинган.

Биотехнологияда биохавфсизлик масаласи энг асосий, мунозараларга эга бўлган муаммо бўлганлиги учун ҳам бу масала алоҳида кўриб чиқилган.

Китобда биотехнология ва таълим масаласи, биотехнология мутахассислиги бўйича кадрлар тайёрлашда хорижий мамлакатларда олиб борилаётган ибратли ишлардан мисоллар келтирилган.

Қўлингиздаги китоб ўзбек тилида чоп этилган биринчи фундаментал китоб бўлганлиги учун ҳам у хато ва камчиликлардан ҳоли эмаслиги муқаррар. Шунинг учун ҳам муаллиф китобни мазмун ва моҳиятини тузатиш бўйича бериладиган маслаҳатларни бажонидил қабул қилади ва таклиф ва мулоҳазаларда қатнашганларга ўзининг миннатдорчилигини билдиради.

Шунингдек, муаллиф китобни тайёрлаш жараёнида фаол иштирок этган олимлар биология фанлари номзоди Нортожи Хўжамшукуровга, биология фанлари номзоди Сайёра Муродовага, Дилфуза Эгамбердиевага, Ҳамид Азизовга ўз миннатдорчилигини билдиради.

Қўлёзмани ўқиб, берган маслаҳатлари учун профессорлар Мирзаатхам Мирзаҳакимович Раҳимов, Ҳасан Чўтбоевич Бўриев ва Бегали Очилович Бекназаров, Абдурасул Ҳакимович Ваҳабовларга ҳамда Ўзбекистон Миллий Университети биология ва тупроқшунослик факультетининг микробиология ва биотехнология кафедрасининг профессор-ўқитувчилари ва барча ходимларига ўзининг бениҳоя миннатдор эканлигини билдиради.

Китобхонга!

Инсониятни ривожланишини ҳар қайси босқичи, қандайдир ҳаётӣ муҳим бўлган ҳўжалик тармоғини устувор ривожланиши билан характерланади. Ибтидоий жамоа даврида яшаган инсоннинг асосий фаолияти овчилик билан боғлиқ бўлган, аммо ҳар хил сабабларга кўра ов қилиш қийинлашиб боргани сари, инсониятда ўтироқ ҳаёт ташкил топа бошлаган, бу эса цивилизациянинг дастлабки кўринишларини пайдо бўлишига туртки бўлган. Масалан, дастлаб чорвачилик, кейинроқ эса деҳқончилик ишларига асос солина бошланган. Кейинроқ, инсон ўзи учун қулайроқ бўлган шароитни қидириб топиш билан шуғулланган ва шу жойда ҳаёт кечириб қолган, бу эса тахминан Ер юзидаги миллатларни ва халқларни ҳозирги географик жойлашишига асос бўлган. Шунинг билан бир даврда озиқ-овқат тайёрлаш усуллари такомиллашиб ва кенгайиб борган. Оқибатда инсон бундан тахминан 6-8 минг йиллар илгари ўзи билиб-билмасдан нон, вино, пиво тайёрлашда бижғиш жараёнидан фойдаланган. Бу жараёнларни асосини спиртли бижғиш ташкил этади. Кейинроқ, бугунги кун классиклари томонидан тан олинган, бижғишнинг бошқа хиллари ҳам қўшилиб борган. Худди ўша даврларда замонавий биотехнологияга асос солинган. Аммо XX-асргача биотехнологиянинг ривожланиши бир тартибда бўлмаган.

Замонавий биотехнология бир неча фанларни ўзаро муносабатлари чегарасида пайдо бўлди. У кўп тармоқли, биологик ва муҳандислик фанлари асосида фаолият кўрсатувчи илмий-амалий йўналиш ҳисобланади. Биотехнологияга бўлган қизиқиш ва талаблар унга тааллуқли бўлган ҳар хил фан соҳаларни ривожланишига асос бўлди ва уни йўналишини аниқлаб берди, чунки бусиз биотехнология саноат миқёсига кўтарила олмас эди. Энг аввало бу мутлақо янги сифатга эга бўлган маҳсулотларни ишлаб чиқарилиши, биотехнологик моддаларни бир-биридан ажратиш, уларни тозалашни замонавий усулларини яратилиши, шу туфайли аппаратлар ҳамда ушбу жараёнларни бутунлай янги хиллари ва йўналишларини пайдо бўлишига олиб келди.

Биотехнология атамасининг бир неча изоҳи маълум. Фикримизча шулардан иккитасини келтириш мақсадга мувофиқ кўринади. Назарий ва амалий кимёнинг ҳалқаро бирлашмасини 1981 йилда эълон қилган фикрига кўра биотехнология—“биокимё, микробиология, ва кимёвий технологиянинг саноат жараёнларида, янги маҳсулотлар яратишда ва атроф муҳитни муҳофаза қилиш йўлида амалий ишлатилиш”дир.

Европанинг биотехнология федерациясининг (ЕБР) аниқлашича, биотехнология табиий ва муҳандислик фанларининг шундай ҳамоҳанглиги, уларни ёрдамида ҳужайралардан, ҳужайра органелларидан ва алоҳида ажратиб олинган биомолекулалардан фойдаланиш орқали сифати яхшиланган, арзон, тиббиёт ва саноат маҳсулотлари ёки бошқа моддалар ишлаб чиқариш имконияти яратилади.

Шундай қилиб, биотехнологиянинг асоси микробиология, биокимё, молекуляр биология, генетика, органик, ноорганик, аналитик кимё фанларининг назарий ва амалий синтези бўлиб, у шунингдек кимё ва озиқ-овқат саноатларининг жараёнлари ва аппаратларини ўз ичига қамраб олади.

Шундай экан, биотехнология фан сифатида замонавий биологиянинг энг муҳим қисми ҳисобланади ва у XX-асрнинг охирларига келиб, дунё фани ва иқтисодиётининг энг етакчи соҳасига айланди. Биотехнологиянинг дунё миқёсида тан олиниши 1953 йилда Джеймс Уотсон ва Фрексис Крикларни ДНКни икки спиралли фазовий тузилишини эълон қилган буюк янгилигидан бошланди. Биологияда янги йўналиш-ген муҳандислигини шартли равишда 1972 йилда Бэргни лабораториясида рекомбинант ДНК молекуласини синтез қилинган кундан деб аташ ҳам мумкин.

Албатта, бу янгилик биотехнологияни бошқа замонавий фанлар орасида мавқиени янада кўтарди. Бу соҳада хизмат қилган буюк олимлар, А.А.Баев, А.Н.Белозерский, Эйвери, Г.Гамов, К.Корана, Ф.Жакоб, Ж.Моно, Беквиста, Ю.А.Овчинников, А.С.Спирин, Р.В.Петров ва бошқаларни XX-аср биотехнологиясини ривожланишига қўшган ҳиссалари бекиёсдир.

Ўтган асрнинг 50-йилларида биологияда яна бир янги йўналиш-хужайра муҳандислиги ва шунга алоқадор бўлган хужайра биотехнологияси пайдо бўлди. Бу йўналишни асосчилари П.Ф.Уайт (АҚШ) ва Р.Готре (Франция) бўлганлар. Россияда ўша даврларда А.А.Курсанов ва Р.Г. Бутенколар бу соҳада жуда катта ва чуқур илмий ва амалий ишларни олиб борганлар.

Генетик ва хужайра муҳандислиги, замонавий биотехнологиянинг энг муҳим асосини аниқловчи ва уни йўналтирувчи куч бўлди десак хато бўлмайди. Ўтган асрнинг охирларига келиб бу икки йўналишни усуллари жуда ҳам ривожланиб кетди, бу эса биотехнологиянинг инқилобий ривожланишига асос бўлди. Биотехнологияни тезкорлик билан ривожланиши ва уни иқтисодиётга қўшган ҳиссасини эътиборга олиб ЕБФ Европа мамлакатлари олдига қуйидаги вазифаларни энг долзарб деб белгилаб қуйди:

- биотехнология ва бошқа унга яқин бўлган соҳалар орасидаги ўзаро алоқаларни янада чуқурлаштириш;
- Европанинг барча мамлакатларида биотехнологиянинг имкониятларини ўрганиб чиқадиган ҳукумат ташкилотлари тузиш;
- Барча таълим босқичларида (ўрта ва ўрта махсус мактабларида, университетларда) биотехнологияни ўқитишни йўлга қўйиш, бу фан ютуқларини ва истиқболини доимий равишда тарғибот қилиш.

Ўзбекистонда ҳам бу фан чуқур ўрганилиб борилмоқда. Ўзбекистон Миллий университетида ва мамлакатимизнинг қатор университетларида махсус кафедралар ташкил қилинган. Мамлакатда биотехнологияни ривожлантириш концепцияси ишлаб чиқилган. Ўзбекистон Республикаси

Фанлар Академиясининг бир неча институтларида ҳамда Ўзбекистон Миллий университетларида, Тошкент кимё-технология институтида, Тошкент фармацевтика институтида ва бошқа қатор илм даргоҳларида биотехнология мутахассислиги бўйича аспирантура фаолият кўрсатиб келмоқда.

Бугунги кун талабларидан келиб чиққан ҳолда озиқ-овқат саноатида, агросаноатда, фармацевтикада фаолият кўрсатаётган замонавий мутахассис, биотехнология усулларида нафақат хабардор бўлмоғи уларни яхши билмоғи, улардан ўз соҳасида унумли фойдаланмоғи зарур. Айниқса, қишлоқ хўжалик ва озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқаришни кўпайтириш, уларни сифатини янада яхшилаш, экологик ҳафвсиз маҳсулотлар етиштириш, атроф-муҳитни муҳофаза қилиш бўйича олиб бориладиган ишларга бош бўлмоғи лозим. Шунинг учун ҳам 1989 йилда Мирзо Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий университетида (аввалги Тошкент Давлат университети) Марказий Осиё мамлакатларида биринчилардан бўлиб биотехнология кафедраси ташкил топган эди.

Қўлингиздаги китобни тайёрлашда муаллиф бутун жаҳон биотехнологиясининг бугунги ҳолатидан келиб чиққан ҳолда илмий, амалий ва услубий тажрибалар асосида, биотехнология фанидан педагогик кадрлар, қишлоқ хўжалиги ва озиқ-овқат биотехнологияси бўйича мутахассислар тайёрлашда, ҳамда биотехнология соҳасида илм қилаётган магистрлар, аспирантлар ва ёш олимларга ёрдам бера оладиган тўпلام тайёрлашга ҳаракат қилган ва қўйилган мақсадга эришган. Шунинг ҳам алоҳида таъкидлаш лозимки, ушбу китоб ўзбек тилида биотехнология соҳасида ёзилган биринчи фундаментал китобдир.

Маъсул муҳаррир. М.М.Рахимов.

МУНДАРИЖА

Кириш	12
1. Биотехнология фанининг моҳияти ва вазифалари	12
2. Ўзбекистонда биотехнологиянинг ривожланиш тарихи	21
3. Микроорганизмлардан биотехнологик жараёнларда фойдаланиш	26
4. Микроорганизмлар асосида биотехнологик жараёнлар яратиш усуллари	28
4.1. Продуцентларни яратиш усуллари	28
4.1.1. Табиатдан ажратиш усуллари	31
4.1.2. Селекция усуллари	34
4.1.3. Ген муҳандислиги усуллари	37
5. Биотехнологик жараёнларнинг хом ашёси ва улардан олинадиган маҳсулотлари	40
5.1. Хом ашё ва озиқа муҳитлари	41
5.1.1. Анъанавий углерод манбалари	43
5.1.2. Ишлаб чиқаришдаги қўшимча маҳсулотлар	44
5.1.3. Озиқанинг минерал манбалари	46
5.1.4. Бошқа минерал тузлар	47
5.1.5. Озиқани комплекс бойитувчилар	49
5.1.6. Кўпикланишни босувчи моддалар	50
5.1.7. Кислород ва сув	50
5.2. Озиқа муҳити таркибини тузиш	52
5.2.1. Микроорганизмларни ўстириш учун озиқа муҳитлари	52
5.2.2. Қўшимча ингредиентлар	55
6. Биотехнологияда ген муҳандислиги	56
6.1. ДНК, РНК ва оксил молекулаларининг биосинтези	59
6.1.1. ДНК репликацияси	59
6.1.2. Мутация жараёни ва ДНК репарацияси	60
6.2. Ген муҳандислигининг моҳияти ва вазифалари	61
6.3. Транспозонлар	63
6.4. Плазмида, фаг векторлари ва рестриктазалар	64
6.5. Рекомбинант ДНК олиш усуллари	66
6.6. Вектор молекулалар, генлар банкини яратиш ва алоҳида генларни ажратиш технологияси	67
7. Ҳужайра ва тўқималар биотехнологияси	72
7.1. Ҳужайра биотехнологияси (ўсимликшунослик асосида)	72
7.2. Ажратиб олинган ҳужайра ва тўқималарни ўстириш техникаси	75
7.2.1. Озиқа муҳити	76
7.2.2. Ўстириш шароити	78
7.3. Каллус тўқималар культураси	79
7.3.1. Умумий ҳолати	79
7.3.2. Каллусли ҳужайраларни ўзига хослиги	83
7.3.3. Каллус ҳужайралари генетикаси	84
7.4. Гормонларга боғлиқ бўлмаган ўсимлик тўқималари	85

7.5. Ҳужайра суспензиялари культураси	89
7.6. Ягона ҳужайралар культураси	91
7.7. Каллусли тўқималарда морфогенез	92
7.8. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш	98
7.8.1. Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари	100
8. Тупроқ микроббиотехнологияси	107
8.1. Тупроқ микроббиотехнологияси ва унинг вазифалари	107
8.2. Тупроқ микроб ценози - биологик тизим сифатида	108
8.3. Тупроқда микроб ценозлари фаолиятини бошқаришда, органик ва минерал ўғитлар, алмашлаб экишни роли	110
8.4. Нитрификация жараёнини пасайтирувчи омиллар	111
8.5. Гербицидларни тупроқ микроб ценозига таъсири	112
9. Симбиотик азотфиксацияда биотехнологиянинг генетик асослари	114
9.1. Азотфиксация тизимининг хилма-хиллиги ва уларнинг асосий хусусиятлари	114
9.2. Ўсимликларнинг азотфиксаторлар билан симбиози	116
9.3. Дуккакли ўсимликлар ва ризобиял бактериялар симбиози	117
9.3.1. Дастлабки ўзаро муносабатлар	118
9.3.2. Сигналлар синтези ва ажралиши	119
9.3.3. Сигналлар рецепцияси ва процессинги	123
9.3.4. Симбиознинг тузилмавий асоси тараққиёти	124
9.4. Тугунаклар морфогенези	125
9.5. Генетик таҳлил	127
9.6. Эндосимбионтлар ривожланишини бошқариш	130
9.6.1. Симбионтларни ҳўжайин организмнинг ҳимоя тизимлари билан ўзаро муносабати	130
9.7. Тугунаклар ҳосил бўлишининг авторегуляцияси	131
9.8. Азотнинг ўзлаштирилиши	132
9.8.1. Нитрогеназа комплексининг биогенези	133
9.8.2. Нитрогеназанинг кислороддан ҳимоя қилиниши	134
9.8.3. Азотфиксациянинг энергетик таъминоти	135
9.8.4. Ўзлаштирилган азотнинг ассимиляцияси	137
9.9. Ўсимликларнинг цианобактериялар билан симбиотик муносабатлари	140
9.9.1. Ҳужайранинг ихтисослашуви	141
9.9.2. Молекуляр ихтисослашув	142
9.9.3. Симбиознинг тараққиёти	143
9.10. Азот ўзлаштирувчи симбиотик биотизимлар эволюцияси ва генетик асослари концепцияси	144
10. Бактериал ўғитлар ишлаб чиқариш технологияси	150
10.1. Тугунак бактериялар асосида препаратлар тайёрлаш технологияси	152
10.1.1. Нитрагин	154
10.1.2. Азотобактерин	156
10.1.3. Қуруқ азотобактерин ишлаб чиқариш технологияси	156
10.1.4. Торфли ва тупроқли азотобактерин олиш технологияси	157

10.2. Фосфобактерин	158
10.2.1. Фосфобактерин олиш технологияси	158
11. Энтомопатоген препаратлар ишлаб чиқариш биотехнологияси	161
11.1. Бактериал энтомопатоген препаратлар	161
11.1.1. Энтомобактерин ишлаб чиқариш технологияси	165
11.2.Замбуруғлар асосида олинадиган энтомопатоген препаратлар	168
11.2.1. Суюқ озиқада ўстириш усули орқали боверин ишлаб-чиқариш Технологияси	169
11.2.2. Юза қисмда ўстириш усули орқали боверин ишлаб-чиқариш технологияси	171
11.3.Вирусли энтомопатоген препаратлар	173
12. Чорвачиликда биотехнология	176
12.1.Қишлоқ хўжалик ҳайвонларининг кўпайишини биотехнологик назорат қилиш	176
12.1.1.Ҳайвонларнинг кўпайишини эндокрин назорати	176
12.1.2. Ҳайвонларнинг жинсий давр (цикл)ини бошқариш	178
12.1.3.Эмбрионларни трансплантацияси	184
12.1.4. Эмбрионларни ажратиб олиш	185
12.1.5. Эмбрионларни кўчириб ўтказиш	186
12.1.6. Эмбрионларни сақлаш	188
12.1.7. Тухум хужайраларни ҳайвон организмидан ташқарида уруғлантириш	189
12.1.8. Ооцитларни <i>in vitro</i> етилиши	190
12.1.9. Сперматозоидларни капацитацияси	193
12.2. <i>in vitro</i> шароитида уруғлантириш ва эмбрионларни дастлабки босқичда ривожланишини таъминлаш	195
12.2.1. Ҳар-хил ҳайвонларнинг <i>in vitro</i> уруғлантириш шароитида ишлатиладиган усуллар	195
12.3. Эмбрионларни турлараро кўчириб ўтказилиши ва химерли ҳайвонларни олиниши	196
12.4. Ҳайвонларни клонлаш	197
12.5. Ген муҳандислиги йўли билан трансген ҳайвонлар яратиш	202
12.5.1. Ҳар хил турдаги трансген ҳайвонлар яратиш	206
12.5.2. Янги, фойдали (хўжалик нуқтаи назаридан) хоссаларга эга бўлган трансген ҳайвонлар	207
12.5.3. Касалликларга чидамли бўлган трансген ҳайвонлар	208
12.5.4. Трансген техникасидан сут таркибини яхшилаш мақсадида фойдаланиш	210
12.5.5. Трансген ҳайвонлар ёрдамида амалга ошириладиган, сут таркибидаги сифат ўзгаришлари	211
13. Ветеринар тиббиётда биотехнология	218
14. Озиқ-овқат ва озиқа маҳсулотлари ишлаб чиқаришда биотехнология	226
14.1. Озиқа маҳсулотлари ва ичимликлар ишлаб чиқариш биотехнологияси	226
14.2. Сабзавотларни ферментация қилиш	230

14.3. Чой, кофе	231
14.4. Пишлоқ тайёрлаш	233
14.5. Алькоголли ичимликлар	237
14.5.1. Вино	240
14.6. Пиво	242
14.7. Нон	244
14.8. Шакар ўрнини босувчи моддалар	246
14.9. Озиқ-овқат саноати чиқиндилари	248
14.10. Микроорганизмлардан олинадиган озиқа компонентлари	248
14.10.1. Озиқ-овқатда ишлатиладиган органик кислоталар	248
14.10.2. Аминокислоталар	249
14.10.3. Витаминлар	250
14.10.4. Полисахаридлар	251
14.10.5. Таъм берувчи қўшимча моддалар	252
14.11. Сифатни баҳолаш	255
14.12. Сунъий овқат тайёрлашда замонавий йўналишлар	256
14.13. Қайта ишлаш асосида маҳсулотлар тайёрлаш	258
14.13.1. Микроорганизмлар биомассасини комплекс қайта ишлаш	258
14.13.2. Микроорганизмлар биомассасидан озиқа оқсили тайёрлаш	260
15. Аминокислоталар ишлаб чиқариш	263
15.1. Лизин ишлаб чиқариш	265
15.1.1 Экиш материаллини олиш	268
15.1.2. Озиқа муҳити тайёрлаш ва стерилизациялаш	269
15.1.3. Ферментация	269
15.1.4. L – лизинни ажратиш	270
15.2. Глутамин кислота ишлаб чиқариш	274
15.2.1. Натрий глутамат тайёрлаш	278
15.3. Алмашинмайдиган аминокислоталар ишлаб чиқариш	278
15.3.1. Триптофаннинг микробиологик синтези	279
16. Органик кислоталар ишлаб чиқариш	284
16.1. Сирка кислота ишлаб чиқариш	284
16.2. Лимон кислота ишлаб чиқариш	286
16.3. Сут кислотаси ишлаб чиқариш	293
17. Оқсил препаратлари ишлаб чиқариш	299
17.1. Озиқа оқсили тайёрлаш	299
17.2. Озиқа ачитқилари	302
17.3. Бактериялардан олинадиган оқсил концентратлари	308
17.4. Сувўтларидан олинадиган озиқа оқсиллари	311
17.5. Микроскопик замбуруғлардан олинадиган озиқа оқсиллари	314
17.6. Ўсимликлардан олинадиган оқсил концентратлари	316
18. Турли таркибли озиқа препаратлари ишлаб чиқариш	319
18.1. Оқсил-витаминли препаратлар ишлаб чиқариш	319
18.2. Витамин В ₂ -сақловчи озиқа препаратлари	319
18.3. Витамин В ₁₂ озиқа препаратлари	321

18.4. Озиқа липидлари	325
18.5. Ферментли озиқа препаратлари	329
18.6. Озиқ-овқат саноатида биотехнологиянинг ишлатилиш чегаралари	335
19. Биотехнологик жараёнларнинг энг муҳим биокимёвий асослари	339
19.1. Бижғиш	339
19.1.1. Спиртли бижғиш	341
19.1.2. Сут кислотали бижғиш	347
19.1.3. Гомоферментатив бижғиш	347
19.1.4. Гетероферментатив бижғиш	349
19.1.5. Пропион кислотали бижғиш	350
19.1.6. Ёғ кислотали ва ацетон бутилли бижғиш	353
19.1.7. Чумоли кислотали бижғиш	355
19.1.8. Гомоацетатли бижғиш	356
19.1.9. Метанли бижғиш	358
19.2. Фотосинтез	361
19.2.1. Сайёрамизнинг фотосинтетик маҳсулдорлиги	366
19.2.2. Фотосинтез орқали қайта тикланадиган ўсимлик полимерлари	371
а) Целлюлоза	372
б) Гемицеллюлоза (ксилан)	375
в) Крахмал	375
г) Пектин	377
д) Лигнин	377
е) Фруктанлар, маннанлар ва инулин	379
ё) Агар	379
ж) Хитин	379
19.3. Нафас олиш	380
19.4. Уч карбон кислоталар ҳалқаси (Кребс ҳалқаси)	383
19.4.1. Кребс ҳалқаси ферментлари фаоллигини бошқариш	393
19.5. Нафас олиш занжири ва оксидланишли фосфорланиш	396
19.6. Микросомалардаги оксидланиш	405
19.7. Тўлиқ бўлмаган (чала) оксидланиш	406
20. Ферментлар	410
20.1. Ферментларни ажратиш.	411
20.2. Ферментатив реакциялар кинетикаси.	412
20.3. Ферментларни оқсил муҳандислиги.	418
20.4. Изоферментлар.	420
20.5. Мультиферментли оқсиллар.	420
21. Фермент ишлаб чиқариш биотехнологияси	422
21.1. Ферментлар биосинтезини бошқариш.	422
21.2. Фермент продуцентларини селекцияси ва уларни ўстириш.	429
21.3. Продуцентлар селекцияси.	429
21.4. Ферментация учун озиқа муҳитлари таркиби.	432
21.5. Экув культурасини озиқа муҳитига солиш.	434
21.6. Продуцентларни ўстириш усуллари.	435

21.7. Хужайрадан ташқаридаги ферментлар.	436
21.8. Фермент препаратларини ажратиш олиш.	437
21.9. Табиий бирикмаларни ажратишни асосий усуллари.	439
21.9.1. Оксилларни чўктириш.	439
21.9.2. Оксилларни фракцияларга ажратиш усуллари.	446
21.9.3. Ион алмашинувчи сорбентлар.	448
21.9.4. Аффин хроматография.	452
21.9.5. Гидрофоб хроматография.	454
21.9.6. Гель-фильтрация.	456
21.10. Фермент препаратларини ишлатилиши.	463
21.10.1. Ферментларни детергентлар билан ишлатиш.	465
21.10.2. Иммуобилизация қилинган ферментлар.	467
21.10.3. Ферментлар ишлатиладиган соҳалар.	471
22. Биотехнология ва биохавфсизлик	477
22.1. Хавфсизлик ҳақида умумий тушунчалар	477
22.2. Биомухандислик ва трансгенозда биологик хавфсизлик ва генетик хавф	479
22.3. Генетик модификация қилинган организмлар ва улардан олинадиган маҳсулотларни биологик хавфсизликка таъсири	481
22.4. Ген мухандислиги, генетик ўзгартирилган организмлар ва улардан олинган маҳсулотлар устидан давлат назорати ва бошқаруви	482
22.5. АҚШда генетик ўзгартирилган организмлар бўйича биологик хавфсизликни назорат қилишда давлат бошқаруви	483
22.6. Биотехнология ва биомухандисликда стандартлаш	485
22.7. Биотехнология ва биомухандисликни ривожлантириш бўйича олиб борилаётган ишларга жаҳон ҳамжамиятларининг қарашлари	486
23. Биотехнология ва таълим	489
23.1. Биотехнология соҳасида малакали кадрлар тайёрлаш тарихи, бугуни ва истиқболлари	491
23.2. Университетлар билан ишлаб-чиқариш корхоналари орасидаги янги муносабатлар	491
23.3. Тирик микроорганизмларни патентлаш мумкинми?	495
23.4. Одоб ва касбга оид муаммолар	499
24. Хотима	502

КИРИШ

1. БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАНИНИНГ МОҲИЯТИ ВА ВАЗИФАЛАРИ

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

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

- а) *Анбаш, А.Хемфери, Н.Миллисларнинг (1975) фикрига кўра “Биотехнология” - янги биокимёвий ишлаб чиқаришлар маҳсулидир (витаминлар, антибиотиклар).*
- б) *“Биотехнология” моддаларни биосинтез усули орқали озиқа олиш фанининг бўлими бўлиб, у «биоинженерия» соҳаси билан боғлиқдир.*
- в) *А.Хастинг (1983) фикри бўйича «Биотехнология» - пиво, вино, пишлоқ, витаминларни саноат асосида ишлаб чиқариш жараёнидир.*
- г) *1980 йил Европа федерацияси Кенгаши муҳокомасида “Биотехнология” - биологик тизимлар асосидаги саноат жараёни деб қаралган.*
- д) *1983 йил Братиславада бўлиб ўтган кенгашида «Биотехнология» - моддаларни катта миқдордаги саноат асосида (биокатализаторлар орқали) олиш ва атроф муҳитни ҳимоя қиладиган фан деб таърифланган.*
- е) *А.А.Баев (1986), Ю.А.Овчинников (1982) “Биотехнология” биологик жараёнларни ишлаб чиқаришга жорий этиш тўғрисидаги фан деб таърифлаган.*

Биотехнологик жараёнлардан микроорганизмлар, ўсимлик ва ҳайвон ҳужайралари ва тўқималари, ҳужайра органеллалари, уларни ўраб турган мембраналардан соф ҳолатда оқсил, органик кислоталар, аминокислоталар, спиртлар, доривор моддалар, ферментлар, гормонлар ва бошқа органик моддаларни (масалан, биогаз) ишлаб чиқариш (синтез қилишда), табиий қазилмалардан соф ҳолда металл ажратиш, оқова сувларни тозалаш ва қишлоқ хўжалик ёки саноат чиқиндиларини қайта ишлаш каби соҳаларда кенг фойдаланилади.

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

бир қанча биотехнологик жараёнларнинг қачон ихтиро қилинганлиги ҳозирча аниқ маълум эмас.

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

Биотехнологиянинг асосини замонавий микробиология ташкил этади. Микроб ҳужайралари кўз илғамас, жуда кичик бўлганлиги сабабли, уларни юзаси ҳажмига нисбатан жуда баланд ва шунинг учун ҳам озиқа моддаларни ҳужайрага диффузияси жуда юқори, бу эса микроб метаболизмини ўта тезкорлик билан ўтишига асос бўлиб хизмат қилади.

Биотехнологиянинг моҳиятини тушуниш учун мисолларга мурожаат қилайлик. Бактерия ҳужайраси ҳар 20-60 минутда, ачитқи замбуруғлари 1,5-2,0 соатда иккига бўлиниб кўпайсалар, сут эмизувчилар ҳужайраларининг иккига бўлиниши учун 24 соат керак бўлади. Бир кечакундузда оғирлиги 500 килограммли бўлган қорамол 500 грамм оксил моддаси тўпласа, 500 килограмм ачитқи замбуруғи 500000 килограмм ёки ундан 1000 маротаба кўпроқ оксил тўплайди. Қолаверса, микроб етиштириш на об-ҳавога ва на фаслга боғлиқ. Уларни энг арзон озиқа муҳитида ҳар хил чиқиндилар; клетчатка, метанол, метан гази ва водородда ўстириш мумкин. Микроорганизмлар нафақат оксил, балки турли ферментлар, ёғлар, витаминлар, полисахаридлар ва бошқа бир қатор фойдали маҳсулотлар синтез қилади.

Бугунга келиб, замонавий биотехнологик усуллар ва ген муҳандислиги ёрдамида фармацевтика учун интерферонлар, инсулин, соматотропин, гепатитга қарши вакцина, ферментлар, клиник тадқиқотлар учун диагностик ашёлар (гиёҳвандлик, гепатит ва бошқа бир қатор юқумли касалликларни аниқлаш учун тест тизимлар, биокимёвий текширишлар учун турли хилдаги реактивлар, эгилувчан биологик пластмассалар, антибиотиклар, ва бошқа кўплаб биоаралашмали маҳсулотлар) ишлаб чиқарилади. Пиво, спирт, кир ювиш воситалари ишлаб чиқариш, тўқимачилик ва тери ошлаш каби жараёнларда ишлатиладиган фермент препаратлари ишлаб чиқариш ва қўллаш ҳам кенг йўлга қўйилган.

Биотехнологиянинг асосий йўналишларини, шартли равишда, қуйидагича тавсифлаш мумкин:

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

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

қилади. Бинобарин, микроорганизмлар биз яшаб турган дунёнинг энг қудратли ишлаб чиқарувчи кучидир. Улар ҳар хил физик-кимёвий муҳитга чидамли, тез мосланувчан, турли озиқа муҳитида яшаш қобилиятига эга.

Биологик жараёнларда ачитқи замбуруғлари, микромицетлар, бактериялар ва актиномицетлар (шуълали замбуруғлар) каби микроорганизмлардан фойдаланилади.

Бутун мавжудот микроорганизмларсиз яшай олмайди, микроорганизмларнинг ўзи эса яшайверади. Айтайлик, овқат ҳазм қилиш тизимида фаол қатнашадиган микроорганизмлар миқдори камайиб кетса, дисбактериоз ва у билан боғлиқ бўлган бошқа касалликлар рўй беради. Яна бир мисол, тупроғи стерилланган, яъни микроблари ўлдирилган тувакларга ўсимлик ўтказиб барча керакли минерал ўғитларни ҳам стерилланган ҳолда солсангиз, кўчат 4-5 кундаёқ сўлиб қолади.

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

Ўтган асрнинг 80 – 90 йилларидан бошлаб, дунё олимларининг “XXI – аср биотехнология асри бўлади” деган башоратомуз сўзлари бежиз эмаслиги кўплаб мисоллар билан ўз тасдиғини топмоқда. Ривожланган, замонавий биотехнология фанининг асосида унинг улкан ютуқлар манбаи бўлмиш микроорганизмлар дунёси ётади. Шундай экан эришилган ютуқларда кўз илғамас, жажжи организмларнинг ҳам ўз ўрни бор, албатта.

Келинг, энди ушбу тармоқларнинг республикамизда ривожланиши учун нималарга эътибор беришимиз лозимлиги ҳақида фикр юритайлик. Дастлаб, эътиборимизни бутун жаҳон диққат эътиборида турган оқсил танқислиги муаммосига қаратмоқчимиз. Статистик маълумотларга кўра: дунёда оқсил танқислиги йилига деярли 12 – 15 млн. тоннани ташкил этади. Бу билан боғлиқ бўлган қуйидаги маълумотлар сизларни бефарқ қолдирмайди деб ўйлаймиз: Дунё бўйича 850 млн. дан ортиқ киши оқсилга муҳтож, шундан 200 млн. дан ортиқроғи 5 ёшгача бўлган болалардир. 50 млн. дан ортиқ киши очликдан вафот этади, улардан 40 млн дан ортиқроғи ёш болалардир. 1 суткада ўртача 11000 ёш бола ҳаётдан кўз юмади. Албатта, келтирилган жумлалар ҳар бир инсонни ларзага солмай қўймайди.

Хўш, оқсил танқислиги муаммосини ҳал қилиш учун қандай ишлар амалга оширилмоқда, қолаверса, биотехнология саноати бунга қай даражада ҳисса қўшмоқда. Оқсил муаммосини ҳал қилиш учун дастлабки уринишлар эру-хотин Таусонларнинг ачитқилар ва бактерияларни ўстириш учун парафиндан фойдаланишни таклиф этишгандан бошланган эди. Т.А.Таусон ачитқиларнинг парафиндан оксидланиш жараёнининг айрим оралиқ маҳсулотлари ва В₁ витаминини синтез қилишини исботлаб берди. Бу дастлабки уринишлар эди, албатта. Шундан кейин

С.И.Кузнецова, Б.И.Исоченко, Л.Д.Штурим, Г.Н.Могилевский ва бошқа шу каби олимларнинг изланишлари, назарий ва амалий тажрибалари кўпгина микроорганизмлар углеводородларни оксидлай олиши мумкинлигини рад этиб бўлмас даражада исботлади. Бу тадқиқотлар инсоният олдида, айниқса оксил танқислиги ўткир муаммо бўлиб турган бир пайтда эътиборни ўзига жалб этади. Франция, Италия, Япония ва АҚШ каби жаҳоннинг ривожланган мамлакатларида ҳам нефтдан оксил олиш муаммоларини ечиш учун илмий изланишлар олиб борилди ва бир қадар ўз ечимини топди. Фикримизни кенгайтирган ҳолда ўқувчиларга тушунарли бўлиши учун бу жараёнда микроорганизмлар фаолияти механизмлари ҳақида тўхталиб ўтишни жоиз деб ҳисоблаймиз.

Ачитқи ва бактериялар парафиндан биомасса ҳосил қилиш учун ўзига керакли бўлган углеродни ва ҳужайранинг ҳаётӣй фаолияти учун энергия манбаи бўлиб хизмат қиладиган, оксил ва витаминларни синтезлайдиган, рақиб ва душманлардан ҳимоя қиладиган водородни топиб оладилар. Шунинг учун ҳам биосинтезнинг ниҳоятда юқори босқичда ўтиши ва ўта маҳсулдорлиги ажабланарли ҳол эмас. Фикримизнинг исботи сифатида қўйидаги мисолларни келтирмоқчимиз: Микроорганизмлар 1т. мўтадил тузилишдаги парафинлардан (10% намликдаги тайёр маҳсулотга ҳисобланганда) 580–630 кг оксил сақлаган 1 т. биомасса ҳосил қилади. Айни пайтда ферментатив гидролиз жараёнини амалга оширувчи заводларда, эса шунча миқдордаги ачитқи маҳсулоти ишлаб чиқариш учун 5,5–6,4 тонна мутлақо куруқ ҳолатдаги ёғоч қипиқларидан фойдаланадилар. Орадаги фарқ албатта жиддий, қолаверса, парафинда ёғочга нисбатан углерод ва водородлар миқдори ниҳоятда кўп бўлиб, биосинтез жараёнига сезиларли таъсир кўрсатади.

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

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

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

Ҳайвонларнинг маҳсулдорлигини унга бериладиган озиқанинг тўйимлилиги, шунингдек ундаги оксилнинг танқис аминокислоталарга бойлигини таъминлайди. Бироқ, асосий ем-хашак экинлари – маккажўхори

ва буғдой–бу талабларга жавоб бермайди. Фикримизнинг исботи сифатида қишлоқ хўжалик фанлари доктори Г.В.Редчиковнинг қуйидаги илмий маълумотини келтирамиз: “Буғдой, арпа, маккажўхори донида оқсил миқдори жуда кам бўлиб, энг муҳими чўчка болалари учун зарур бўлган лизиннинг атиги 23 – 37%, жўжалар учун эса атиги 20 – 32% мавжуд. Лизиннинг бунча етарли бўлмаган миқдорини ҳам ҳайвонлар тўлалигича ўзлаштира олмайдилар, яъни чўчка арпа дони таркибидаги лизиннинг 26, маккажўхоридаги лизиннинг 72, буғдойдагининг 50 фоизини ўзлаштириши мумкин холос. (Дон оқсилени яхшилаш ва уларни баҳолаш: М. Колос, 1978. 168 б)

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

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

Мутахассисларнинг ҳисобларига кўра, ишлаб чиқариш ҳажмининг энг юқори унумдорлиги шароитида қорамолларни боқиш учун балиқ ва суяк уни, сут кукуни, соя кунжараси ишлатилиб, 1995–2000 йилларда чорвачиликнинг оқсилга бўлган талабини бор йўғи 28–30% миқдорида қондиради. Бу етишмовчиликни бартараф этиш учун биотехнологияда саноат маҳсулотлари энг аввало чорвачиликни комплекс омухта еми билан бойитишга мўлжалланган турли маҳсулотлардан фойдаланилади. Улар орасида озиқа ачитқиси алоҳида ўрин тутати.

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

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

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

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

Микроб биотехнологияси саноати таклиф этаётган озиқа ачитқилари, В гуруҳи витаминларининг ҳам манбаи бўлиб ҳисобланадилар. Маълумки, чорва моллари учун зарур бўлган витаминлардан ҳатто бирортаси етишмаган тақдирда ҳам чорва моллари меъёридагидек ривожлана олмайдилар. Модда ва энергия алмашинуви бузилиб, организмнинг ҳимоя кучи заифлашади. Ўсимлик озиқасида эса витамин кам бўлади ва ҳатто бор витаминлар ҳам уларни тайёрлаш, сақлаш ва қайта ишлаш вақтида тез бузилади, айрим ҳаётий зарур бўлган витаминлар эса ўсимликларда умуман ҳосил бўлмайди.

Озиқа ачитқиси таркибида арпа, сўли, нўхат ва сояга нисбатан–рибофлавин (B_2) миқдори 20–75 марта, пантатен кислотаси (B_3 витамини) 5–10 марта, холин (B_4) эса 2–6 марта кўп бўлади. Бу витаминлар ҳайвон организмда аминокислоталар алмашинувида, ўсимлик озиқасидаги протеиндан фойдаланишда ва оксил биосинтезида ҳал қилувчи рол ўйнайди. Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, озиқа ачитқисида B_{12} (цианокобаламин) витамини бўлмайди. У ўсимликларда ҳам синтез бўлмайди. Уни фақат одам ва ҳайвонлар ичагида яшовчи бактериялар ва актиномицетлар синтез қиладилар. Чўчқалар, паррандалар ва ёш қорамолларда бу витамин жуда кам ҳосил бўлади.

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

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

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

Бундан ташқари чорвачиликда биотехнологик саноатнинг ажойиб маҳсулоти – ферментли препаратлардан фойдаланиб қўшимча гўшт ва сут етиштириш мумкин. Рацион таркибига қўшилган фермент препаратлари тирик организмга, (айниқса улар анча ёш бўлганда) озиқа моддаларининг яхши ҳазм бўлишида ёрдам беради. Шу туфайли чўчқа болалари, бузоқлар ва кўзичоқлар ўсиши тезлашади. Уларнинг ўртача суткали вазни 10–12%

га ортади, озиқа сарфи тежалади. Бироқ бу ҳали ҳаммаси эмас. Яхши озиқа массасини сут ачитувчи бактериялар ҳосил қиладиган сут кислотаси билан қишга силос тайёрлаш, консервалаш мумкин. Силос тайёрланганда озиқа моддалари, жумладан, витаминлар одатдаги пичан тайёрлашдагига нисбатан анча кам нобуд бўлади.

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

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

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

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

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

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

Аминокислота ва ачитқилардан биринчи навбатда энг асосий озиқа маҳсулоти, ризқ-рўзимиз бўлган ноннинг озиқа қийматини оширишда фойдаланиш мумкин.

Олимларнинг аниқлашича нонда оксил миқдори унчалик кўп эмас: жавдар унидан тайёрланган ноннинг 100 грамида ҳаммаси бўлиб 6,5 граммгача, буғдой унидан тайёрланган нонда – 8,3 грамм оксил бўлади, холос. Бироқ, олимлар ўрта ёшли кишининг бир кунда 450 г нон ейиши туфайли оладиган оксил миқдори бор – йўғи 29 граммга яъни унинг ўртача

суткалик эҳтиёжининг учдан бирига тенг келишини аниқлаганлар. Шунингдек, нонда лизин, триптофан, метионин етишмайди. Умуман буғдой ноннинг биологик қиймати 38% ни ташкил этса, оксилнинг соф парчаланиши 33% га тенг. Хўш, қандай усуллар билан ноннинг биологик самарадорлигини ошириш мумкин?

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

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

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

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

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

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

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

Глюкозаизомеразанинг кашф этилиши ва унинг кенг қўлланилиши шакарли моддалар ишлаб чиқариш йўлида катта бурилиш ясади. Иммобилизация қилинган бу фермент ёрдамида АҚШ, Япония, Дания, Финландия каби бир қатор ривожланган мамлакатларда қанд лавлагидан эмас, балки анча арзон ва етарли бўлган хом-ашё маккажўхори донидан

миллионлаб тонна шакарли озиқа маҳсулотлари ишлаб чиқарилмоқда. 2000 йилнинг ўзида 3 млн. тонна глюкоза фруктоза шарбати ишлаб чиқарилган ва бу жараён учун зарур бўлган глюкозаизомераза ферменти 40 млн. АҚШ доллари ҳажмида ишлаб чиқарилган.

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

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

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

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

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

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

Адабиётлар

1. Биотехнология А.А. Баев ред.остида М.: Наука, 1984.
2. Ида Х. Канхе дзехо кагаку. 1983 . т. 12, №

2. ЎЗБЕКИСТОНДА БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ РИВОЖЛАНИШ ТАРИХИ

Биотехнология Ўзбекистон учун энг кенжа фанлардан бўлиб, унинг тарихи узоққа бормайди (қадимий биотехнологиялар нон ёпиш, қатик тайёрлаш ва ҳ.к. бундан истисно).

Биотехнология ихтисослиги бўйича биринчи ўзбек академиги А.Г.Холмуродов (1939-1996) фузариум авлодига мансуб замбуруғлардан НАД-коферменти ва витаминлар комплекси (В гуруҳига кирувчи витаминлар, витамин РР, 10Q ва ҳ.к.) тайёрлаш технологиясини яратди. Академик М.И.Мавлоний Ўзбекистонда учрайдиган ачитқи замбуруғларни таҳлил қилиб, уларни нонвойчилик, виночилик ва чорвачиликка қўл келадиган турларини топди ва улар асосида махсус хамиртурушлар ва виночилик учун ачитқи тайёрлаш технологияларни яратди.

Профессор Қ.Д.Давранов МДХ мамлакатларида биринчилардан бўлиб, ёғ парчаловчи липаза ферментини тайёрлаш технологиясини яратди. Бу ферментни кўп шакллилик сабабларини таҳлил қила туриб, ҳар бир биотехнологик жараён учун ўзига хос хусусиятга эга бўлган липаза ферменти зарур деган фикрга келди ва буни амалиётда исботлаб берди. Қ.Д.Давранов яратган "Ер малҳами" биопрепарати азот ўзлаштирувчи микроорганизмлар асосида тайёрланган бўлиб, мамлакатимиз кишлоқ хўжалигида кенг қўлланилмоқда. Бундан ташқари Қ.Д.Давранов раҳбарлигида З.Р.Ахмедова табиий целлюлоза-лигнин биокаркасини (ғўзапоя, сомон, каноппояси, қипиқ ва бошқалар) шу мақсад учун махсус тайёрланган базидиомицетларнинг ферментлари иштирокида парчаланиш шароитларини ишлаб чиқдилар.

Б.ф.д. Ж.Ташпўлатов (1938-2005) сомон ва ғўзапояни парчалашда "триходерма харзианум" деб аталмиш замбуруғ ферментларидан фойдаланиш мумкинлигини илмий асослаб берди ва бу технологияни амалиётга қўллаш бўйича таклиф ва мулоҳазаларни чоп этди. Ж.Ташпўлатов яратган бу технология қўлланилганда сомонда шакар миқдори 6-7% га етгани, унда витаминлар, аминокислоталар пайдо бўлганлиги ва шу туфайли сомоннинг озиқа-бирлиги бир неча баробар ошганлиги исботлаб берилган.

Ўзбекистонда биотехнология фанининг ривожланишига бош бўлган олим, б.ф.д., профессор М.М.Рахимовдир. Бу олим мамлакатимизнинг бир неча олийгоҳларида биотехнология кафедраларини очишда бош бўлди. Олимнинг озиқ-овқат саноатида ферментлар ёрдамида, янги самарадор технологиялар яратганлиги таҳсинга сазовордир.

Ўзбек олимларидан Т.Г.Гулямова, А.Х.Ваҳобов, Х.А.Бердиқулов, Р.Шоякубов, З.Р.Ахмедова, З.Ф.Исмоилов, И.Ж.Жуманиёзов ва бошқалар мамлакатимизда микроб биотехнологиясининг ривожлантириш устида чуқур илмий ва амалий ишлар олиб бормоқдалар. Шунингдек, марҳум

профессорлар М.М.Муродов ва Т.Ю.Юсуповлар олиб борган чуқур илмий изланишлар асосида катта илмий амалий назариялар яратилган.

Шу ўринда, Ўзбекистонда биотехнология фанининг ривожланишига катта ҳисса қўшган айрим йирик олимлар ҳақида қисқа маълумотлар бериб ўтишни лозим топдик. Зероки уларнинг улкан меҳнатлари туфайли маҳаллий биотехнология соҳаси пайдо бўлган.

Холмуродов Асқар Ғаниевич (1939-1997) – Қашқадарё вилоятида туғилган. 1960 йилда Ўрта Осиё Университетини тамомлаган. Сўнгра Украина фанлар академиясига қарашли Биокимё институтида номзодлик (1965) ва докторлик диссертациясини (1976) ҳимоя қилган ва ушбу институтда йигирма йил давомида фаолият олиб борган. 1980 йилдан бошлаб профессор. 1986-1997 йиллар давомида ЎзФА Микробиология институти директори ЎзР ФА мухбир аъзоси (1987) ва ҳақиқий академиги (1989) шунингдек, ЎзР ФА Президиуми бош илмий котиби (1988) ва вице-президент (1990) лавозимларида фаолият юритган. 1994 йилда Ўзбекистон Республикаси Олий мажлисига депутат бўлиб сайланган ва фан, таълим, маъданият ва спорт қўмитасини бошқарган. Биокимё ва биотехнология соҳасида дунё тан олган йирик олим ҳисобланади. Илмий фаолияти давомида 300 дан ортиқ илмий мақолалар ва ихтиролар муаллифи. 40 дан ортиқ фан доктори ва фан номзодларига раҳбарлик қилган. 1979 йилда “Витаминология” ҳамда “Энзимология усуллари” номли иккита китоби чоп этилган. Бундан ташқари “Транспорт жирорастворимых витаминов” (1980) ва «Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов» (1982) номли монографияларида биринчи мартаба алмашинмайдиган биологик фаол бирикмалар гуруҳининг мембранада ташилиши, рецепцияси ва боғланиш механизмлари ҳақидаги маълумотларни систематикага солганлиги учун дунё бўйича фундаментал аҳамиятга эга бўлган қўлланма ҳисобланади ва шу сабабли бир қанча давлатларда хорижий тилларга таржима қилинган. Бундан ташқари “Тиаминфосфатлар” бўйича тайёрлаган услубий қўлланмаси ҳам дунё миқёсида аҳамиятга эга бўлган капитал ишланма ҳисобланади, бу қўлланма АҚШ да чоп этилган. Биринчи мартаба қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандалар учун никотин кислотаси ўрнини босувчи “Корник” номли озиқа препаратини яратган ва амалиётга жорий этганлиги учун собиқ иттифоқнинг Халқ Хўжалиги Ютуқлари Кўргазмаси бронза медалига сазовор бўлган. Бундан ташқари академик А.В.Палладин номидаги мукофотга сазовор бўлган. АҚШ нинг “Кто есть кто в науке и технологиях” номли фахрийлар китобига 1996-1997 йилларда совриндор сифатида номи киритилган ва махсус диплом билан мукофотланган.

Музаффаров Ахрор Музаффарович (1909-1987) – ботаника, экология, альгология, гидробиология, гидроэкология ва сув ўтлари биотехнологияси соҳалари бўйича фаолият олиб борган йирик олим. ЎзР ФА нинг ҳақиқий аъзоси (1960). ЎзР ФА Ботаника институтининг директори (1956-1960), ЎзР ФА Президиуми аъзоси ва кимё-технология ва

биология фанлари бўлимининг академик-котиби (1966-1970), ЎзР ФА Микробиология бўлими раҳбари (1970-1977) кейин эса шу бўлим асосида микробиология институтини ташкил этиб унга раҳбарлик қилган (1977-1985). Мамлакатнинг кўплаб орден, медаллари ва мукофотларига сазовор бўлган. Марказий Осиё сув ҳавзаларининг экологик ва типологик ўзига хослигини чуқур ўрганиб, улардан сув ўтларининг серҳосил штамmlарини ажратиб, уларнинг очик ҳавода ва ёпиқ ускуналарда ўстириш усулларини яратган ва улар асосида янги биотехнологик жараёнларнинг яратилишига раҳбарлик қилган. Ўнлаб монографиялар ва 200 дан ортиқ илмий мақолалар чоп эттирган. Уларни ҳаёти ва илмий-педогогик фаолияти ҳақида ўндан ортиқ китоблар ва мақолалар тайёрланган. Абу Райхон Беруний номидаги давлат мукофоти совриндори (1979). Ўзбекистонда хизмат кўрсатган фан арбоби.

Асқарова Салима Асқаровна (1922-1997) – ЎзР ФА қошидаги институт мақомига эга бўлган Микробиология бўлимининг ташкилотчиси ва биринчи директори. Асосий илмий йўналиши микроорганизмлар физиологияси ва биокимёсига бағишланган. Республикамизда қишлоқ хўжалик экинларини микробиологик усулда ҳимоя қилиш муаммолари бўйича йирик илмий лойиҳаларни амалга оширган. Ўзбекистон микробиологлар жамияти асосчиси ва биринчи президенти. Ўзбекистонда саноат микробиологияси ривожланишига қўшган катта ҳиссаси ва педагогик, илмий ташкилий ишлардаги самарали меҳнатлари учун хизмат кўрсатган фан арбоби даражасига эришган. Ҳалқ Маориф аълочиси, биология фанлари доктори, профессор. Унинг раҳбарлигида йигирмадан ортиқ фан докторлари ва фан номзодлари тайёрланган.

Ибрагимов Аҳмад Поччаевич – 1928 йил 12 декабрда кўҳна Туркистон шаҳрида туғилган. 1950 йилда Тошкент Фармацевтика институтини тамомлаган. 1954 йилда ЎзР ФА Кимё институтининг аспирантурасида таҳсил олиб, кимё фани бўйича номзодлик диссертациясини ҳимоя қилган. 1954-1957 йиллар давомида Самарқанд Давлат Қишлоқ хўжалик институтида Органик ва биологик кимё кафедраси мудири, 1957 йилдан бошлаб ЎзР ФА Ядро физикаси институтининг радиоцион кимё лабораториясини бошқарган. 1966 йилда “Ўза уруғида физик-кимёвий, биокимёвий ва гамма нурлари таъсирида айрим муҳим биологик моддаларнинг ўзгаришини тадқиқ этиш” мавзусидаги докторлик диссертациясини ҳимоя қилган. 1967 йилда ЎзР ФА Биокимё институти директорининг муовини ва айни пайтда Нуклеин кислоталар биокимёси лабораториясига раҳбарлик қилиб келган. 1969 йилдан профессор. 1976 йилда у бошқараётган лаборатория ЎзР ФА Ўсимликлар экспериментал биологияси институти таркибига ўтказилиб “Молекуляр генетика” лабораторияси номи билан атала бошланди. 1984 йили ЎзР ФА мухбир аъзоси. Асосий илмий йўналишини ўсимликлар ҳужайрасининг ташкилий тузилиши, генетик ахборот функцияси ҳамда ушбу жараёнларнинг онтогенетик ва революцион кўриниши, стресс

омиллар – ионлаштирувчи нурлар ва ҳар хил касалликлар таъсирига генетик ахборот системаларининг чидамлилиги масалаларини ечишга бағишлаган таниқли молекуляр генетик, биокимёгар олим, биология фанлари доктори, профессор, ЎзР ФА академиги (2000), Ўзбекистонда хизмат кўрсатган фан арбоби (1989) унвонлари совриндори. Унинг муаллифлигида 300 дан ортиқ илмий мақолалар ва бешта монография чоп этилган. 40 дан ортиқ фан докторлари ва фан номзодларига раҳбарлик қилган ва айни кунларда ЎзР ФА Ботаника илмий ишлаб чиқариш марказида ўсимликлар молекуляр биологияси лабораториясини ташкил этиб ғўза молекуляр генетикаси соҳасида олиб борилаётган илмий тадқиқот ишларига раҳбарлик қилиб келмоқда.

Рахимов Мирзаатхам Мирзаҳакимович—1943 йил Тошкент шаҳрида туғилган. Олий маълумотни М.В.Ломоносов номидаги Москва Давлат Университетида олган. Ушбу олийгоҳда аспирантурада таҳсил олиб кимё фанлар номзоди илмий унвонига сазовор бўлган (1968). Ўзбекистонда биотехнология фанининг ташкилотчиларидан бири ҳисобланади. Ўзбекистон Миллий Университети ва бошқа қатор олий ўқув юртларида биотехнология кафедралари ва марказларини ташкил этган. Асосий илмий йўналиши ферментатив катализ асосида биотехнологик жараёнлар яратиш бўлсада, биология, тиббиёт, кимё, озиқ-овқат ва бошқа йўналишларда ўта кенг фаолият кўрсатиб келаётган йирик олимдир. Юзга яқин фан докторлари ва фан номзодларига устозлик қилиб келмоқда. 600 га яқин илмий мақолалар, ўқув қўлланмалар, дарсликлар ва патентлар муаллифи. Меҳнат Шухрати ордени совриндори.

Абдукаримов Абдусаттор Абдукаримович – 04.04.1942 йилда Тошкент вилоятида туғилган. Олий маълумотни Тошкент Давлат Университетида олган (1966). 1961-1967 йилларда ЎзР ФА Ядро физикаси институтида фаолият юритган. 1967-1969 йилларда ЎзР ФА Биокимё институти аспиранти, шу институтда 1967-1992 йилларда кичик, катта илмий ходими ва лаборатория мудири, 1982 йилда республикамизда илк бор ген муҳандислиги лабораториясини ташкиллаштирган. 1979 йилда академиклар Ё.Х.Тўракулов ва Д.Х.Хамидовлар раҳбарлигида фан доктори илмий даражасига эришган. 1992 йилдан ЎзР ФА Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институти директори лавозимида фаолият олиб бормоқда. 1994 йилдан ЎзР ФА муҳбир аъзоси, 2000 йилдан ЎзР ФА академиги. Илмий фаолияти ген муҳандислиги ва молекуляр генетикага асосланган биотехнология фанини ривожлантиришга бағишланган. Ген муҳандислиги бўйича ЎзР ФА ва ДФТҚ сининг трансген ўсимликлар яратиш бўйича қўшма дастури “Генинмар” нинг илмий раҳбари, илмий техник кенгаш раиси, институтнинг молекуляр генетика бўлими мудири, айни пайтда ЎзР ўсимлик генетик ресурсларини сақлаш ва ўрганиш бўйича ДФТҚ таркибидаги мувофиқлаштирувчи кенгаш раиси. Ўсимлик генетик ресурсларини сақлаш бўйича ФАО халқаро институти (IPGRI) нинг Марказий Осиё мамлакатлари бўйича мувофиқлаштирувчи кенгаш

рахбари. Унинг асосий илмий йўналиши Республикамизда экиладиган ғўза навларини ген муҳандислиги усули билан янада яхшилаш муаммоларига бағишланган. Шу билан бир пайтда ғўзанинг янги навларини яратишнинг молекуляр, физиологик, генетик ва селекцион ҳамда агротехнологик асосларини бир тизимга келтириш борасида самарали меҳнат қилмоқда. “Умумий биология” дарслиги муаллифларидан бири, Маориф Вазирлигининг биология фанини ўқитиш услубий кенгаши раиси сифати жамоат ишларида ҳам фаол иштирок этиб келмоқда. Бир дарслик, битта монография ва 100 дан ортиқ илмий мақолалар муаллифи, 4 нафар фан доктори ва 11 нафар фан номзодларига илмий раҳбарлик қилган. Айни кунларда ҳам ёшларга илмий раҳбарлик қилиш билан бирга Ўзбекистоннинг молекуляр генетика ва биотехнология фани ютуқларини жаҳон миқёсига олиб чиқиш ва ривожлантириш бўйича самарали меҳнат қилмоқда.

Бу каби биотехнологик ишлаб чиқариш назарияларини яратиш, уни амалиётга тадбиқ этиш ишлари юзасидан ЎзР ФА Микробиология институти, М.Улуғбек номидаги Ўзбекистон Миллий Университети, биология ва тупроқшунослик факультетининг Микробиология ва Биотехнология кафедраси, Тошкент кимё-технология институтининг Биотехнология кафедраси ва Тошкент давлат аграр университети, қишлоқ хўжалик биотехнологияси ва фитопатологияси кафедраси, Ўсимликлар биотехнологияси лабораторияси ҳамда Самарқанд Давлат Университети Биотехнология кафедраси олимлари ҳам фаол илмий изланишлар олиб бормоқдалар. 2004 йилда Тошкент кимё технология институти таркибида ҳам биотехнология кафедраси ташкил этилиб, айни кунларда республикамизда биринчи бўлиб, биотехнология йўналиши бўйича мутахассислар тайёрлайдиган олий ўқув юртига айланди.

Мамлакатимиз равнақи, унинг иқтисодини янада юксалтириш мақсадида энг аввало қуйидаги биопрепаратларни ишлаб чиқаришни йўлга қўймоқ зарур:

- *Озиқ-овқат ва чорвачилик учун оқсил моддалари;*
- *Аминокислоталар (лизин, метионин ва бошқалар);*
- *Органик кислоталар (лимон кислотаси ва уни ўрнини босадиганлар);*
- *Антибиотиклар (биринчи навбатда 4-5 авлодга мансуб антибиотиклар);*
- *Витаминлар;*
- *Ўсимликларни ҳимоя қилиш воситалари ишлаб чиқариш ва ҳ.к.*

Афсуски, юқоридагилар ҳозиргача мамлакатимизга хориж давлатларидан валютага келтирилади.

Биотехнология инсоният олдида турган энг муҳим муаммолардан бири-озиқ-овқат муаммосини ечишда катта рол ўйнамоғи зарур. Энг аввало, тўғридан-тўғри озиқ-овқат маҳсулотлари тайёрлаш орқали эмас, балки, ўсимликларни хилма-хил касалликлардан, зараркунанда

ҳашоратлардан муҳофаза қилиш, тупроқ унумдорлигини ошириш, тупроқ ҳолатини қайта тиклаш, сувсизлик ва шўрланиш шароитида ўсимликлардан юқори сифатли ҳосил олиш, чорвачиликда экологик тоза ва инсон саломатлигига зарар етказмайдиган маҳсулот етиштириш каби ўта долзарб масалаларни ҳал қилиш билан боғлиқ.

Маълумки, XX асрнинг охирига келиб, сайёрамизда инсонлар сони 6 млрд дан ошиб кетди. 2020 йилга бориб, бу кўрсаткич 8 млрд га, 2050 йилда эса 11 млрд га етиши башорат қилинмоқда. Охирги 40 йилда бошоқчилардан олинадиган ҳосил бор-йўғи 2,5 маротаба ошган ҳолос. У ҳам бўлса, асосан янги ҳосилдор навларни яратилиши, минерал ўғитларни кўплаб ишлатилиши ва бошқа агрокимёвий чора-тадбирлар натижаси сифатида амалга оширилган. Шунинг билан бирга урбанизация оқибатида охирги 20 йилда қишлоқ-хўжалик маҳсулотлари 15% дан кўпроққа камайиб кетган. Кўриниб турибдики, анъанавий технологиялар асосида озиқ-овқат муаммосини ҳал қилиш мумкин эмас.

Олимларимизнинг қолаверса бугунги кунда таълим олаётган талабаларнинг олдиларига қўйиладиган кўп сонли масалаларнинг энг долзарблари юқоридагилардан иборат.

3. МИКРООРГАНИЗМЛАРДАН БИОТЕХНОЛОГИК ЖАРАЁНЛАРДА ФОЙДАЛАНИШ

Микроб биотехнологиясининг ривожланиш тарихи кўп маънода XX-асрнинг иккинчи ярми билан боғлиқ. Ўтган асрнинг 40-йилларида микроорганизмлардан пенициллин олиш технологиясининг яратилиши бу фан ривожига ижобий бурилиш ясади. Пенициллин ишлаб чиқарилишининг йўлга қўйилиши ва муваффақият билан ишлатилишида кейинги авлод антибиотикларини қидириб топиш, уларни ишлаб чиқариш технологияларини яратиш ва қўллаш усуллари устида ишларни ташкил қилиш зарурлигини олдиндан белгилаб қўйди. Бугунги кунда юздан ортиқ антибиотиклар ишлаб-чиқариш технологиялари ҳаётга тадбиқ қилинган.

Антибиотиклар ишлаб-чиқариш билан бир қаторда аминокислоталар, ферментлар, гормонлар ва бошқа физиологик фаол бирикмалар тайёрлаш технологиялари ҳам яратила бошланди. Бугунги кунда тиббиёт ва қишлоқ хўжалиги учун зарур бўлган аминокислоталар (айниқса организмда синтез бўлмайдиган аминокислоталар), ферментлар ва бошқа физиологик фаол моддалар ишлаб чиқариш технологиялари йўлга қўйилган.

Охирги 20-30 йилда, айнқса микроб оқсиллини олиш технологияси ривожланиб кетди. Инсоният учун ўта зарур бўлган бу маҳсулотни ишлаб чиқариш билан бир қаторда ундан унумли ва оқилона фойдаланиш йўллари амалга оширилмоқда. Оқсил ишлаб чиқаришда ҳар хил чиқиндиларидан (зардоб, гўшт қолдиқлари) ва парафиндан фойдаланиш мумкинлиги исботланган. Ҳозирги пайтда бунинг учун метан ва метанолдан фойдаланиш мумкинлиги ҳам кўрсатиб ўтилган.

Кейинги вақтда микроб биотехнологиясининг ривожланиши иммобиллашган (махсус сорбентларга боғланган) ферментлар ва микроорганизмлар тайёрлаш технологияларининг яратилиши билан узвий боғлиқ бўлди. Иммобилизация қилинган ферментларнинг ҳар хил жараёнларда ишлатилиши (ферментлар муҳандислиги) бу биокатализаторлардан фойдаланишни янада фаоллаштириб юборди. Эндиликда ферментлар бир маротаба эмас, бир неча маротаба узлуксиз (ҳатто бир неча ойлаб) ишлатиладиган бўлиб қолди.

Микроорганизмлар фаолияти ва имкониятидан фойдаланиш, уларнинг ҳосилдор турларини (штаммларини) яратиш билан боғлиқ. Бундай вазифани микробиологлар билан узвий ҳамкорликда генетиклар ва ген муҳандислиги усулларида хабардор бўлган бошқа мутахассислар амалга оширадилар. Микроб препаратларини ишлаб чиқаришни фаоллаштиришнинг яна бир йўли икки ёки ундан ортиқ бўлган, бири иккинчисининг фаоллигини ошириб бераоладиган (симбиозда ишлайдиган) микроорганизмлар ассоциациясидан фойдаланишдир. Бу йўл ҳозирги вақтда ферментлар, антибиотиклар, витаминлар ва метан газини олишда ҳамда оқова сувларни тозалаш жараёнларида кенг қўлланилиб келинмоқда.

Биотехнологиянинг асосини микроб фаолияти ташкил қилади. Шундай экан фаол микроорганизмлар яратиш, уларни фаглардан ва ташқи салбий муҳит таъсиридан асраш масалалари ҳам энг муҳим вазифалардан биридир.

Шу каби қатор ўта муҳим муаммоларни ечишда нафақат микробиологлар, биокимёгарлар, биотехнологлар, балки муҳандислар ва технологлар иштирок этишлари зарур бўлади.

Бу эса, биотехнология фанини яхши ўзлаштириб олиш учун юқорида эслаб ўтилган фанлардан хабардор бўлмоқликни тақоза этади.

4. МИКРООРГАНИЗМЛАР АСОСИДА БИОТЕХНОЛОГИК ЖАРАЁНЛАР ЯРАТИШ УСУЛЛАРИ

Биотехнология саноатида продуцент сифатида прокариотлар—(бир хужайрали, ядроси мукаммал бўлмаган организмлар)—бактериялар, актиномицетлар, риккецийлар ва тубан эукариотлар (бир ва кўп хужайрали, ядроси мукаммал, хромосомалари махсус липопроteid табиатли мембраналар билан ўралган)—ачитқи ва мицелиал замбуруғлар, энг содда жониворлар ва сув ўтлари ҳамда уларнинг ҳар хил усуллар (селекция, мутагенез, хужайра ва ген муҳандислиги) орқали олинган мутантларидан фойдаланилади.

Бугунги кунда биотехнологик жараёнларда табиатда тарқалган 100 мингдан ортиқ туркумга мансуб бўлган микроорганизмлардан фақатгина бир неча юзтаси ишлатилади, холос.

Биотехнология жараёнларида ишлатиш учун тавсия этиладиган продуцентларга катта талаблар қўйилади, уларнинг умумийлари қуйидагилардан иборат:

- ўсиш тезлигининг баландлиги,
- арзон озиқа муҳитида ўсиши,
- бошқа микрофлорага ва фагга чидамлилиги,
- юқори ҳосилдорлиги.

4.1. ПРОДУЦЕНТЛАРНИ ЯРАТИШ УСУЛЛАРИ

Микроорганизмларнинг табиий штаммларини ҳосилдорлиги кўпинча талаб даражасидан паст бўлади.

Ҳосилдор штаммлар яратиш учун, йўналтирилган селекция усулидан фойдаланилади.

Бунинг учун кимёвий мутагенлар ёки радиацион нурлардан фойдаланилади. Селекция ва танлов ишлари баъзида йиллаб вақт эгаллайди ва натижада микроб ҳосилдорлигини 100 ва ундан ҳам кўпроқ маротабалаб ошириш мумкин бўлади. Масалан, ҳозирги даврда саноат усулида ишлатиб келинаётган пенициллин антибиотики синтез қиладиган продуцентнинг фаоллиги дастлабки штаммларга қараганда 10 минг маротабадан ошиб кетган. (1-чизма)



1-чизма. Микроорганизмлар селекцияси

Юқори фаолликка ёки ҳосилдорликка эга бўлган штамм яратиш учун селекционер, табиий штаммни генетик материалларини ўрганиш борасида ўта мураккаб, ўта нафис ишларни амалга ошириши лозим бўлади. Бунда, генларнинг рекомбинацияси билан боғлиқ бўлган барча усуллардан, хусусан: конъюгация, трансдукция, трансформация ва бошқа генетик жараёнлардан фойдаланишга тўғри келади (2-чизма).

Масалан, конъюгация усули (бактериялар орасида генетик материаллар алмашиш), нефт колдикларини фаол парчаловчи *Pseudomonas putida* штаммини яратишда самарали фойдаланилган эди. Кўпинча трансдукция (бактерия вируслари-бактериофаглар ёрдамида бир бактериядан бошқа бактерияга генлар ўтказиш) ва амплификация (керакли генларни нусха сонини кўпайтириш) усулларида кенг фойдаланиш орқали ҳар хил физиологик фаол моддалар синтез қилувчи ҳосилдор штаммлар яратилган. Кўпгина микроорганизмларда антибиотик синтез қилувчи генлар ва уларни бошқарувчилари хромосомаларда эмас, балки плазмидаларда (хромосомадан ташқаридаги ДНК) жойлашган бўлади.

Бундай пайтда амплификация орқали (хужайрадаги плазмидалар сонини кўпайтириш) штаммларнинг ҳосилдорлигини ошириш мумкин.

Селекция ишларини яна бир йўли бу ҳар хил бактериялар протопластларини бир-бирига бирлаштириш натижасида генетик рекомбинантлар олиш йўлидир (3-чизма).

Масалан: *Streptomyces reptomyces* бактериясининг икки хил штаммларидан олинган протопластларни бир-бирларига бирлаштириш оқибатида С-рифамицин синтез қилувчи ҳосилдор штамм яратилган. Рифамицин синтез қилмайдиган *Nocardia mediterranei* штаммлари протопластларини бир-бирларига қўшиш оқибатида рифамицинни 3 янги ҳосиласини синтез қилувчи штамм яратилган.

Генлар манбаси

- геном фрагментлари
- ревертазалар ёрдамида мРНК да мДНК синтези
- кимёвий синтез

Векторлар

- плазмидалар
- фаглар
- космидалар

Рекомбинант молекула яратиш

- йиғиш ва улаш
- охирги учларини улаш
- линкерлардан фойдаланиш
- гомополимерларни “тикиш”

Хужайин ҳужайрасига киритиш

- трансформация
- трансфекция
- трансдукция

Киритилган ген сақловчи ҳужайрани ажратиш

комплементация
иммунологик усуллар
нуклеин кислоталар гибридизацияси

2-чизма. Генларни клонлаш стратегияси



3-чизма. Протопластларнинг қўшилиши орқали махсуддор мутант штаммлар олиш механизми

Протопластларнинг қўшилиши орқали табиий шароитда бир-бирлари билан қўшилмайдиган микроорганизмларни генетик материалларини бирлаштириш ҳам мумкин.

4.1.1. Табиатдан ажратиш усуллари

Микроблар дунёси кенг ва хилма-хилдир. Уларга прокариотлар-бактериялар, актиномицетлар (шуълали замбуруғлар), риккецийлар ва қисман эукариотлар-ачитки замбуруғлари, ипсимон замбуруғлар, энг содда жониворлар ва сув ўтлари киради. Уларни умумлаштириб турган хусусиятлари-кичиклиги бўлиб, улар фақат микроскоп остида яққол кўринадилар.

Ҳозиргача микроорганизмларнинг 100 мингдан кўпроқ турлари аниқланган. Аниқланмаганлари ҳам шундан кўпроқ бўлса ажаб эмас. Шунча кўп микроорганизмлардан кераклисини қандай танлаб олиш мумкин, қандай қилиб витаминлар, оксил моддалари, антибиотиклар, декстрин, қўйингки, бизга керакли бўлган моддаларни ишлаб чиқариш имкониятига эга бўлганларини танлаб олишимиз мумкин?

Бу саволларга жавоб олиш учун энг аввало микроорганизмларни ажратишни тўғри йўлга қўйиш зарур. Ўзига хос жойлардан, яъни ёғ парчаловчи фермент синтез қиладиган микроорганизмларни—ёғ завод тупроқларидан; углеводород оксидловчиларни—бензин қуйиш шахобчалари тупроқларидан, виночиликда қўл келадиган ачиткиларни—ток ўсимлигидан, кислородсиз шароитда целлюлоза парчаловчи ва метан ҳосил қилувчиларни йирик шохли ҳайвонларни оғиз бўшлиғидан ва ҳ.к. қидирмоқ ва ажратмоқ даркор. Ажратиб олинган тажриба нусхалари махсус таркибга эга бўлган суюқ озиқа муҳитига ўтказилади. Бу озиқа муҳити-**электив озиқа муҳити** деб аталади. Бу муҳит таркиби ва шароитини танлаб, ўзгартириш натижасида махсус биотехнологик шароит учун зарур бўлган микроорганизмлар ажратиб олинади. Танлов омилларига энг аввало, энергия манбаи, углерод, азот манбалари, рН, ҳарорат, босим ва бошқалар киради. Масалан, амилаза ферменти ишлаб чиқариш муаммосини ечиш учун ягона углерод манбаи қилиб крахмал; протеаза ферменти учун оксил моддалар; целлюлаза ферменти учун целлюлоза сақловчи моддалардан фойдаланилади. Шу тарзда микроорганизм тўпламлари олинади.

Кейинги босқич тоза культурани (штамм ёки микроорганизм деб аташ мумкин) ажратиш. Бунинг учун куюқ озиқа муҳити ишлатилиб, уни юзасига, олдинги босқичдан олинган микроорганизмлар тўплами экилади. Петри ликобчасига экилган микроорганизмлар алоҳида-алоҳида тўпламлар ҳосил қилиб ўсиб чиқади. Алоҳида униб чиққан тўпламлар, қайта экиш натижасида тоза продуцент (маълум физиологик фаол модда (ФФМ) синтез қилувчи микроблар) культураси ажратиб олинади. Кўпчилик ҳолларда бу культура бир турга мансуб микроорганизмлардан иборат бўлади.

Микроорганизмлар танлашнинг иккинчи йўли микроорганизмлар тўпламида мавжуд культуралар орасидан танлаб олиш. Бу ҳолда микроорганизмларни физиологияси ва биокимёсини ўрганиш асосида амалга оширилади. Масалан, антибиотиклар ҳосил қилувчиларни актиномицетлар орасидан; гидролитик ферментлар синтез қилувчиларни грамм мусбат бактериялар орасидан; этанол ҳосил қилувчиларни эса ачитки замбуруғлар орасидан ахтармоқ лозим бўлади ва ҳ.к.

Ажратиб олинган микроорганизмларни мақсадли моддалар (ферментлар, антибиотиклар, витаминлар ва ҳ.к.) синтез қилиш хусусиятлари асосий кўрсаткич бўлиб хизмат қилсада, замонавий биотехнология продуцентларга бир қатор қўшимча талаблар қўяди. Энг аввало, бу талаблар қуйидагилардан иборат:

- *ўсиш тезлигининг юқорилиги;*
- *арзон озиқа муҳитида ўсиш қобилияти;*
- *бошқа микроорганизмлар билан зарарланишдан сақланиш хусусияти;*
- *фагга чидамлилиги ва ҳ.к.*

Дарҳақиқат, бу кўрсаткичлар мақсадли моддаларни таннархининг пастроқ бўлиши учун хизмат қилади.

Бир хужайралилар, кўп хужайралик ҳайвонларга нисбатан синтез қилиш жараёнининг баландлиги билан фарқ қилади. Масалан, юқорида таъкидланганидек, оғирлиги 500 кг келадиган буқа бир суткада атиги 0,5 кг оксил синтез қилади. Шунча микдордаги оксилни бир суткада 5 г ачитқи замбуруғи синтез қилиши мумкин.

Бундай тезликда кўпайиш имконияти барча микроорганизмларга ҳам хос эмас. Масалан, олиготроф микроорганизмлар жуда ҳам секин кўпайишади. Бу гуруҳга кирувчи микроорганизмлар кам текширилган бўлсада, уларни ҳар хил физиологик фаол моддалар ҳосил қилиш хусусияти жуда катта қизиқиш уйғотмоқда. Шунинг учун ҳам микроорганизмларнинг ўсиши, кўпайиши ва ривожланишига таъсир этувчи омилларни ўрганиш ҳам назарий, ҳам амалий аҳамият касб этади.

Биотехнология нуқтаи назаридан фотосинтез қилувчи микроорганизмлар алоҳида эътиборга лойиқ. Улар ўзларининг ҳаёт шароитларида куёш энергиясини ютиб, хужайра учун зарур бўлган бир қатор моддалар синтез қиладилар ва бу жараёнда карбонат ангидридни қайтариш ва сувни оксидлаш (цианобактериялар ва баъзи бир эукариотлар), ҳаводаги азотни ютиш (прокариотлар) имкониятларига эгалар. Бошқача қилиб айтганда, энг арзон энергия ва углерод манбаи, қайтариш эквивалентлари ва азот ҳисобидан ҳаёт кечиришлари мумкин.

Фотосинтетик микроорганизмларнинг асосий фарқи ва устунлиги ҳам шундан иборат.

Фототроф микроорганизмлар-аммиак, водород, оксил моддалар ва бошқа биопрепаратлар олиш учун истиқболли манбалардан ҳисобланади. Бу гуруҳга кирувчи микроорганизмлар яқин келажакда ген муҳандислиги йўли билан куёш энергияси асосида қурилажак янги биотехнологиялар яратишда катта аҳамият касб этиши турган гап. Фақатгина фототроф микроорганизмларни генетикаси ва молекуляр биологиясини чуқур билмаслик бу йўналишнинг жуда секин ривожланишига сабаб бўлиб турибди.

Биотехнология учун қулай манба, бу термофил микроорганизмлар асосида яратилган жараёнлардир. Термофиллар юқори даражада ўсадилар (60-80°C), баъзилари эса ундан ҳам баландроқ ҳароратда (110°C), қайноқ сув чиқадиган манбаларда, айниқса катта океан тагларидан отилиб чиқадиган сувларда (3000°C) гача яшай оладиган микроорганизмлар топилган. Бундай баланд ҳароратда бошқа микроорганизмлар ўса олмаслиги аниқ. Термофил микроорганизмлар асосида спиртлар, аминокислоталар, ферментлар, молекуляр водород синтез қиладиганлари илмий адабиётларда келтирилган. Термофиллардан фойдаланиш стерилизацияга кетадиган харажатларнинг пасайишига сабаб бўлади. Бундан ташқари уларда (термофилларда) ўсиш тезлиги ва метаболитик фаоллик мезофилларга нисбатан 1,5-2,0 баробар баланд туради.

Термофиллар ҳосил қиладиган ферментлар ўзларининг мўътадиллиги билан ажралиб туради. Масалан, *Thermus caldophilus* ёки *Thermus aquaticus* ҳосил қиладиган протеаза ферменти ҳароратга, органик эритувчилар, оксидловчилар, детергентлар таъсирига ўта чидамлиликлари билан ажралиб турадилар. Шунинг билан бир вақтда улар оддий ҳароратда паст фаолликка эгалар. Масалан, *Thermus caldophilus* дан ажратилган протеазанинг фаоллиги 20°C да 75°C га нисбатан 100 маротаба пастроқ. Ферментнинг бу хусусияти жуда катта аҳамиятга эга, масалан, озиқ-овқат саноатида. Термофилларни яна бир афзал томони биореакторларни совутиш билан боғлиқ.

Термофилларни ўстириш учун ишлатиладиган реакторлар-ферментёрлар, атроф муҳит ҳароратидан бир мунча баланд ҳароратда ишлашини ҳамда юқори ҳароратда иссиқликни тез ўтказилишини ҳисобга олган ҳолда, биореакторларни соддалаштирилган чизмаларидан фойдаланиш мумкин. Хусусан, иссиқ ҳарорат берувчи ускуна, аэрация, аралаштиргич, кўпик босувчи ускуналари анча соддалашган бўлиши мумкин, бу эса анча маблағ иқтисод қилинишига олиб келади.

Биотехнологик жараёнлар учун зарур манбаларни ажратиш, танлаш жуда муҳим босқич бўлсада, оддий танлаш билан керакли, барча хусусиятлари (фаоллиги, ўсиш тезлиги, технологияга мослиги, мўътадиллиги ва ҳ.к.) тўғри келадиган микроорганизмларни топиш ўта мушкул масала. Шунинг учун ҳам танлаб олинган микроорганизмларнинг баъзи бир хусусиятларини, унинг табиатини керакли йўналишда ўзгартириш лозим бўлади. Бунинг учун эса селекция усулларида фойдаланилади. Худди шу йўллари қўллаш натижасида микроорганизмларнинг фаоллиги ўн, юз ва ундан ҳам ортиқроқ маротаба кўпайиши мумкин.

4.1.2 Селекция усуллари

Мутантлар – *ДНК ни ташиқил этувчи нуклеотидлар кетма-кетлигининг ўзгарганлиги сабабли, наслдан-наслга ўтувчи ирсий хусусияти ўзгарган ҳужайралардир.*

Селекциянинг бош йўли - продуцентларни таваккал қилиб танлашдан-геном тузилишини ақлий ўзгартиришгача бўлган йўлдир. Шунга қарамасдан, тасодиф танлаш усули микроб биотехнологияси учун жуда катта рол ўйнайди.

Шу йўл билан узоқ вақтлар мобайнида пиво, вино, озиқ-овқат (нон) ачитқилари, уксус, пропион кислоталари ҳосил қилувчи бактериялар танлаб олинган.

Бу ерда, босқичма-босқич танлов ҳақида гап кетади, яъни ҳар бир босқичда танлаб бориш. Ўзидан олдинги босқичдагисидан фаолроқ бўлган штаммларни танлаб олиш йўли билан биотехнология талабларига жавоб бера оладиган штаммларни танлаш мумкин бўлади. Бу усулни камчилиги,

биотехнологик жараёнларнинг бирданига кўтарилмаслигидир. Бундай мутантлар ДНКсида ўзгаришлар жуда ҳам кам учрайди. Умуман олганда ирсият ўзгариши учун (мутация бўлиши учун) ген ўрта ҳисобда 10^6 - 10^8 маротаба иккиланиши лозим.

Шунга қарамасдан, бу усулнинг имкониятлари ҳозирча тугагани йўқ. Микроб ҳужайралари сони кўп бўлган (1 мл суюқликда камида 10^9 ҳужайра бўлган) шароитда ва катта ҳажмда, узоқ вақт тўхтовсиз ўстириш натижасида янги мутантлар кўпроқ ҳосил бўлиши кузатилган. Бунга мисол қилиб, *Saccharomyces uvarum* ачитқисининг серҳосилроқ ва спиртга чидамли мутантини кўрсатиш мумкин. Бу ачитқини узоқ вақт ўстириш натижасида (650 соат), ҳатто, 10% ли спирт эритмасига чидамли бўлган мутанти ҳосил бўлган.

Индукциялаш (мутацияни бирданига, сакраб ҳосил қилувчи омил) мутагенез - селекцияни тез ва соз ўтказишга олиб келадиган омиллардан биридир.

Бундай хусусиятларга ультрабинафша, рентген нурлари, баъзи-бир кимёвий моддалар (этилметансульфонат, N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидин ва бошқа нитрозаминлар) акридин бўёқлар, бромурацил ва бошқалар киради. Бу омиллар таъсир қилганда ДНКнинг бирламчи тузилиши бузилади.

Бу усул билан селекция қилганда ҳам босқичма-босқич, микроорганизм клонлари (ҳужайра ёки микроорганизмлар тўплами) биокимёвий (барча керакли хусусиятлари бўйича) текширувдан ўтказилади ва энг фаоллари ажратиб олиниб, мутагенлар билан қайта таъсир этилади. Бу жараён токи, кўзда тутилган натижага эришилгунгача олиб борилади.

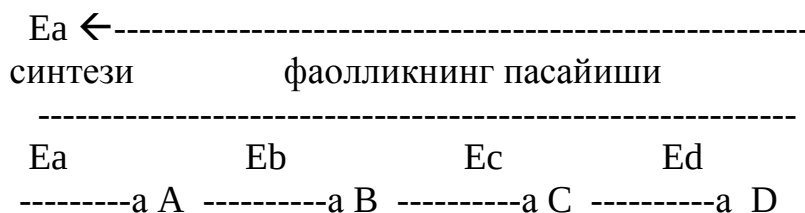
Бу усулнинг энг катта камчилиги – кўп меҳнат талаб қилиниши ҳамда мутациянинг нима ҳисобидан бўлганлигини билмасликдир. Масалан, оғир металлларга чидамли мутантлар тўғрисида фикр юритилганда қуйидаги фикрларга келиш мумкин:

- *бактериялар томонидан катионларни ютиш тизимининг пасайганлиги;*
- *ҳужайра томонидан ютилган металлларни чиқариб ташлаш жараёнининг тезлашганлиги;*
- *бактерияларнинг оғир металллар таъсири остида сусайиши системасини қайта қурилиши ва ҳ.к.*

Молекуляр генетика фани ютуқлари селекцияни янги, ўта таъсирчан йўлининг яратилишига олиб келди, у ҳам бўлса мутантларни, кўзда тутилган маҳсулотга кимёвий ўхшаш бўлган моддаларга нисбатан мўътадиллигидир.

Бу усул керакли маҳсулот синтезида қатнашадиган ферментлар тизимини бошқаришга асосланган. Маълумки, керакли маҳсулот миқдорининг ошиши, шу маҳсулотни синтез қилувчи ферментлар фаоллигининг пасайишига ёки шу фермент синтезининг тўхташига олиб келади (4-чизма).

РЕПРЕССИЯ



4-чизма. Охирги маҳсулот билан бошқариладиган биосинтез йўли

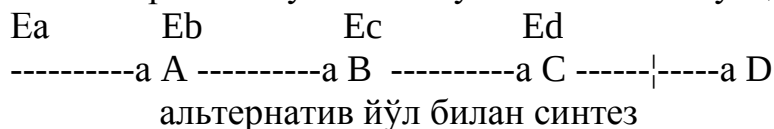
Масалан, глюкоза ва NH_4^+ иштирокида бактериялар ҳужайраларида барча ҳаётий зарур азот сақловчи моддалар синтези бўлади. Агар озиқа муҳитига у ёки бу аминокислота солинса, синтез тез тўхтайди. Худди шундай таъсирни, тузилиши охирги маҳсулотга ўхшаш бўлган - аналоглар ҳам кўрсата олади.

Масалан, аминокислоталарнинг аналоглари оксил синтези жараёнида оксил структурасига кира олмайди, оқибатда бундай шароитга тушиб қолган ҳужайрада "очлик" бошланади ва ҳужайра ўсишдан тўхтайди. Шундай оғир шароитда бир ёки иккита (умуман унча кўп бўлмаган) ҳужайралар яшаб қолиш имкониятига эга бўлади. У ҳам бўлса, ферментатив фаоллигини бошқариш тизими бузилган мутантлар. 5-чизмани мулоҳаза қиладиган бўлсак, қуйидаги мутантлар аҳамият касб этади:

- ✓ *функционал фаоллигини сақлаб қолган, аммо охирги маҳсулот ёки уни аналогига нисбатан ўзини сезгирлигини йўқотган Ea ферменти бор мутант;*
- ✓ *охирги маҳсулот ёки унинг аналогининг юқори миқдориди ҳам Ea ферментини синтез қилиш қобилиятига эга бўлган мутант.*

Бу ҳолдаги мутациялар ўта баланд продуцентлар яратилишига олиб келади.

Интермедиатдан кейинги босқичи беркитилган мутантларда охирги маҳсулот эмас, балки оралик маҳсулотни тўпланишига эришилади (5-чизма). Бундай мутантлар ауксотроф мутант бўлиб, озиқа муҳитига фақатгина беркитилган реакциянинг маҳсулоти кўшилгандагина ўсиш қобилиятига эга бўлади. Шунинг билан бирга супрессорли (ўрнини босадиган) мутантлар ҳам мавжуд бўлиб, уларда етишмай турган маҳсулот синтезини альтернатив йўл билан тўплаш имкони бўлади.



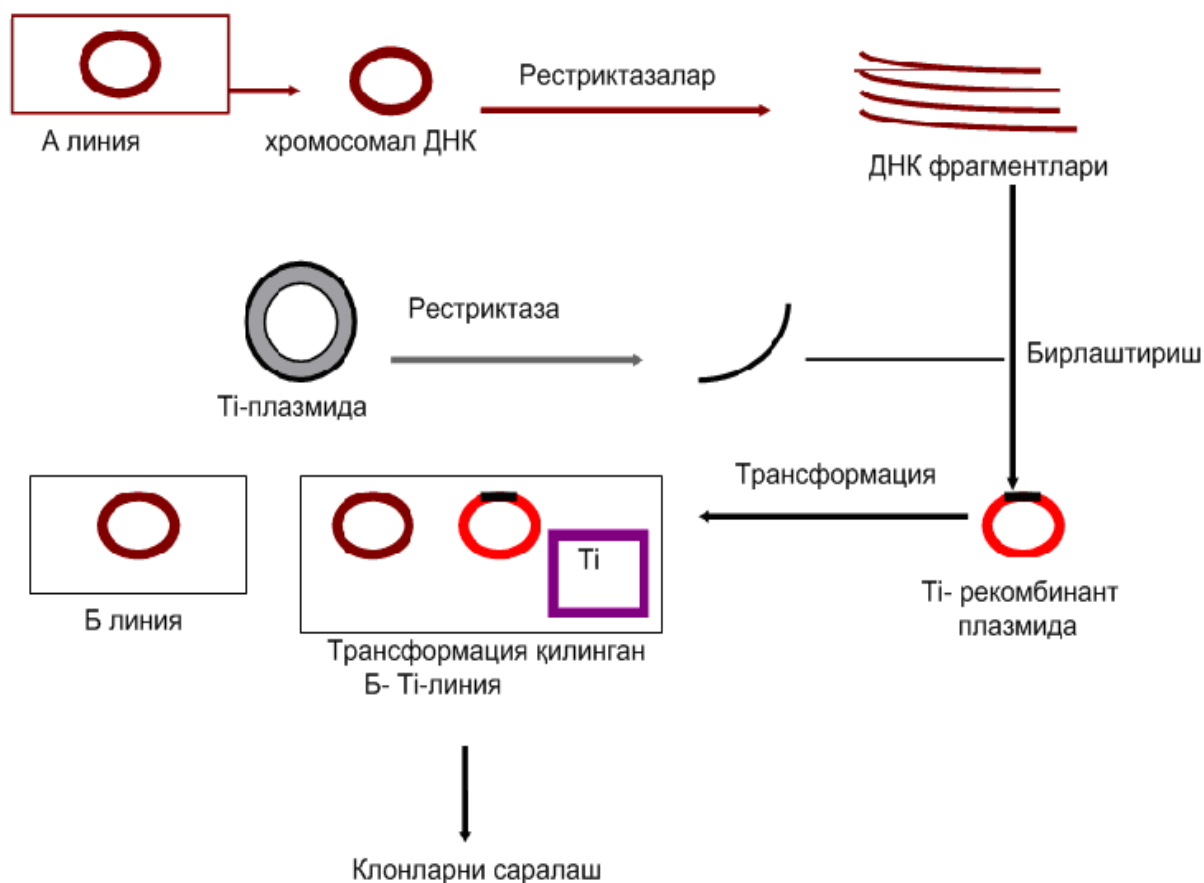
5-чизма. Ўта юқори ҳосилдор продуцент олиш учун, биосинтетик йўлни оралик реакциясини беркитиш (шартли белгилар 4-чизмадагидек)

Бу ҳолда дастлабки ҳолатга (ёввойи ҳолатга) қайтган организм D моддасига муҳтожлик сезмайди ва бир вақтнинг ўзида C моддасини ўта юқори ҳосилдор мутанти ҳисобланади.

Шундай қилиб, селекциянинг бу йўли микроорганизмларни прототрофдан ауксотроф (маълум моддаларга) ҳолатига ўтиб боришига асосланган. Баъзи вақтларда тескари яъни ауксотрофдан прототрофга ўтказиш масаласини ечишга тўғри келади. Масалан, мўътадил шароитда ўсимлик ҳужайралари фитогормонларсиз (ауксинлар, цитокининлар) ўсмайдилар. Охирги йилларда ўсимлик ҳужайраларини шундай клонлари топилдики, улар триптофанни индолацетамидга, кейин эса ауксин типига табиий гормон - индолилсирка кислотасига айлантириб беради. Ажратилган клонларнинг баъзилари цитокининга ўхшаган, златинрибозин гормони синтез қилиш мумкинлиги ҳам исботланган. Ўсимлик тўқималарининг бу турда мутантланиши, ўсимликда рак шишларини ҳосил қиладилар, чунки улар назоратсиз ўсадилар. Бундай клонлар асосида кўплаб, бебаҳо бирикмалар синтез қилиш мумкин.

4.1.3. Ген муҳандислиги усуллари

Ўтган асрнинг 70–йилларида биотехнологияда янги тажриба технологияси–генетик (ген) муҳандислик яратилди. Бу усулнинг асосида ҳужайрадан ташқарида рекомбинант ДНК яратиш ётади. Бу технологиядан фойдаланиш оқибатида генларни соф ҳолда ажратиш, уларни модификация қилиш, бирини иккинчисига улаш, “генлар мажмуаси” яратиш, оқибатида бутунлай янги хусусиятга эга бўлган оқсил синтез қилиш имконияти яратилди ва уни оқсиллар муҳандислиги деб аталди (6–чизма). Бу усул ҳужайра ферментларини барча жараёнлар бошланишини ёки охирини танишига асосланганида. Матрицадан нусха олиш ёки матрицада ишлайдиган ферментлар учун жараённи боши ва охири оралиғидаги нуклеотидларларни бирин-кетинлиги қандай бўлиши аҳамият касб этмайди. Структура гени таркибига ДНК киритиш ҳолати ба-чизмада келтирилган. Ҳар хил организмларни ДНКси бир типда бўлганлиги сабабли, бу техникани организмни тури ёки авлоди каби кўрсаткичларга боғлиқлик томони йўқ. Бошқача қилиб айтганда, бугунги кунда ҳар қандай организм генини бошқа организмга ўтказиш мумкин. Бу жараённи яхши ташкил қилиш учун энг аввало яхши ишланган ҳўжайин-вектор тизимига эга бўлиш керак. Вектор деганда, маълум микроорганизмда мустақил репликацияга учрай оладиган ДНКни кичик молекуласи тушунилади. Бу бактериофаг ёки плазмида бўлиши мумкин. Вектор бегона ДНК молекуласига кириш ва экспрессия бўлиш билан боғлиқ бўлган хоссаларга эга бўлиши керак.



6-чизма. Плазмида ДНК си ва бактерия хужайрасидан фойдаланиб генни клонлаш чизмаси

Вектор ген билан лигаза ферменти ёрдамида бириккандан кейин рекомбинант ДНК ҳосил бўлади. Кейин, бу бирикма (вектор ген) микроорганизм хужайрасига юборилади (трансформация) ва у ерда амплификация (кўпайиш) амалга ошади.

Натижада бир геннинг бир неча нусхаси – клон пайдо бўлади. Шунинг учун ҳам бу йўлни **клонлаш** деб аталади.

Агар клонлаш мақсадида ҳамма генлар сақловчи одам ДНК си ишлатилса, одамнинг ген кутубхонаси (клонотека) ҳосил бўлади.

Бу усулда бактерияларга клонлаштирилган инсон, ҳайвон ёки ўсимликлар генлари тўғридан-тўғри бактерияда фаолият кўрсата олмайди.

Бундай генларнинг ишлаб кетиши учун эса, уларни бактериядан ажратиш, бактерия генини бошқарувчиси (регулятор) билан жиҳозлаш ва қайтадан бактерияга киритиш зарур.

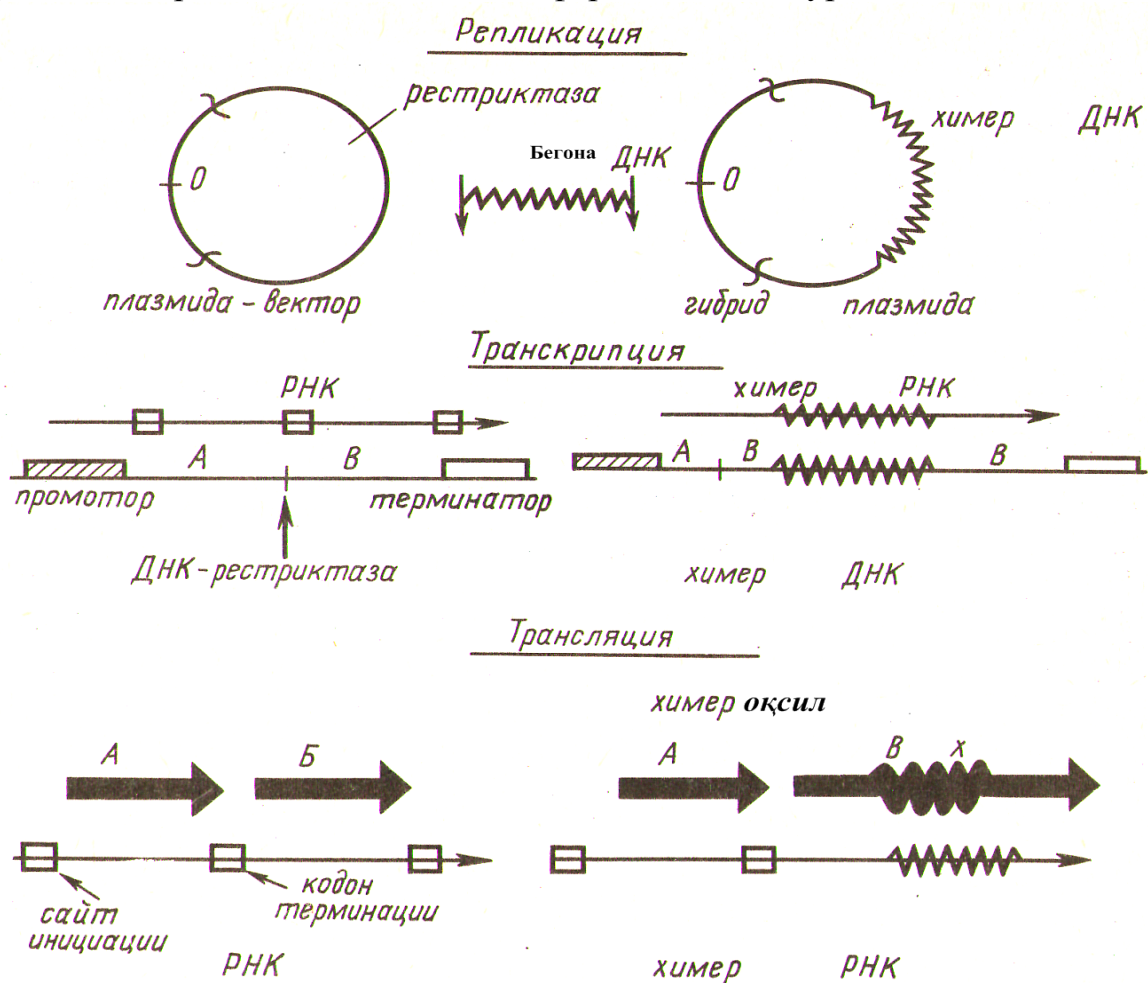
Бугунги кунда ҳар хил генлар сақловчи ва керакли маҳсулот синтез қилувчи бир қатор трансген бактериялар яратилган ва муваффақият билан ишлатилиб келинмоқда.

Шу сабабли ҳам табиий штаммлар ёрдамида олинadиган маҳсулотлар (биринчи авлод маҳсулотлари) билан бир қаторда трансген штаммлар ёрдамида рекомбинант оқсиллар (иккинчи авлод маҳсулотлари)ни саноат миқёсида ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. Биологик маҳсулотларни

учинчи авлоди–табiiй оқсилларнинг вазифаларини тўлиқ бажара оладиган, аммо табiiй бўлмаган маҳсулотларни синтез қилиш натижасида пайдо бўлади.

Ген муҳандислиги усуллари (рекомбинант ДНК технологияси) тиббиёт учун зарур бўлган қимматбаҳо оқсил моддалари ишлаб чиқариш ёки кўп тонналик оқсил моддалари ишлаб чиқариш жараёнларида кенг қўлланиб келинмоқда. Энг аввало, инсон организмда синтез бўладиган ва доривор модда сифатида ишлатиладиган оқсил ва пептидларни синтез қилишни йўлга қўйиш катта аҳамият касб этади.

Ген муҳандислиги муаммолари билан шуғулланадиган омилларни асосий вазифаларидан бири ҳам шундай бирикмаларни етарлича синтез қила оладиган бактериялар штамmlарини яратишга бағишланган. Бу жараённинг асосий қийинчиликлари, штамм яратиш билан боғлиқ эмас, балки, яратилган штаммда синтез қилинган оқсил моддаларини керакли меъёрда ушлаб туриш, уларни модификацияга учраб, микроорганизм ҳужайрасида парчаланиб кетмаслиги учун шароит яратиш билан ҳам узвий боғлиқдир. ба-чизмада ҳужайранинг фермент тизимини жараённи бошланиш ва тугаш сигналини билиши ва бу жараёнлар орасидаги нуклеотидларни кетма-кетлигига бефарқ эканлиги кўрсатилган.



ба-чизма. Прокариот ҳужайраларга бегона генетик ахборот киритиш.

5. БИОТЕХНОЛОГИК ЖАРАЁНЛАРНИНГ ХОМ АШЁСИ ВА УЛАРДАН ОЛИНАДИГАН МАҲСУЛОТЛАРИ

Биотехнологик жараёнларда фойдаланиладиган хом ашё ва ундан олинадиган маҳсулотлар турли тумандир (1-2-жадваллар).

1-жадвал.

Фойдали маҳсулотлар олишда қўлланиладиган биологик агентлар ва асосий хом ашё гуруҳлари

Хом ашёлар	Биологик агентлар	Маҳсулотлар
Меласса, шакарқамиш шарбати, ўсимлик полимерлари, гидролизатлари. Шакар, спирт, органик кислоталар ва турли хил тоза маҳсулотлар. Нефт маҳсулотлари (парафин)	Микроорганизмлар ҳужайраси (бактерия, актиномицет, замбуруғ, содда ҳайвонлар), ҳайвон ва ўсимликларнинг (ҳужайра ва ген муҳандислиги йўли билан олинган) ҳужайраси	Бактериал ўғитлар ва ўсимликларни ҳимоя қилиш маҳсулотлари, яшовчанлик берувчи биомасса, вакцина ва диагностикумлар
Ярим тайёр маҳсулотлар, содда организмлар био-трансформацияси. Табиий газ, водород, кишлоқ ва ўрмон хўжалиги чиқиндилари	Вируслар, бактериофаглар. Ҳужайра компонентлари: протопласт, мембрана, митохондрия, хлоропласт, ҳужайра ички ферментлари ва бошқалар	CH ₄ - ёқилғи (биогаз) Тоза маҳсулотлар, медикаментлар, дори ва реагентлар, гормонлар ва бошқа биотрансформация маҳсулотлари; Органик кислота ва полисахаридлар
Ишлаб чиқариш, чорвачилик чиқиндилари ва мева сабзавотларни қайта ишлаш чиқиндилари. Маиший хизмат чиқиндилари, оқава сувлар, зардоблар (сут маҳсулотлариники). Картошка, ғалла ва бошқа крахмал сақловчи маҳсулотлар. Ўсимлик чиқиндилари, яшил барглар, рудалар, нефть	Ҳужайра ички маҳсулотлари: ферментлар, коферментлар. Имобилланган микроорганизм ҳужайралари, ҳайвон, ўсимликлар ва уларнинг ички ҳужайра маҳсулотлари	Ем хашак препаратлари (оксиллар); Озиқ-овқат маҳсулотлари, экстрактлар, гидролизатлар, спирт, органик эритувчилар, антибиотик, фермент, аминокислоталар, витаминлар, металллар, металмаслар, моно-клонал антителлолар

**Жаҳон миқёсида биотехнологик маҳсулотларнинг сотилиш ҳажми
ва унинг келажақда ўсиши (2000й)**

Маҳсулотнинг қўлланилиш соҳалари	Маҳсулот	АҚШ долларида сотилиш ҳажми, млн	Келажақда сотилишнинг ўсиши, %
Энергетика	Этанол	6124	8
Озиқ овқат ишлаб чиқариш Бошқа ишлаб чиқаришларда	Фруктозали шарбатлар	3000	10
	Витаминлар	1500	8
	L-глутамин кислота	1100	0
	Хушбўй қўшилмалар	300	0
	Микробиологик тоза ферментлар	200	3
	Полисахаридлар	40	8
	Органик кислоталар	1090	4
	Техник ферментлар	600	9
Фармакология	Антибиотиклар	19260	7
	Полисинтетик стероидлар		
	Моноклоналли антителлолар	4000	20
	вакцина	700 млн.долл. 1900	ҳамиша юқори 7
Қишлоқ хўжалиги	Ўсишни тезлатувчи антибиотиклар	535	7
	Аминокислоталар	490	10
	Витаминлар	170	8
	Ўсимликларни биологик ҳимоялаш маҳсулотлари	45	3
	Биопроtein	45	10

5.1. ХОМ АШЁ ВА ОЗИҚА МУҲИТЛАРИ

Ҳар қандай ишлаб чиқариш жараёни хом ашё танлаш билан бошланади. Бутун дунё бўйича биотехнологик маҳсулотлар ишлаб чиқариш ҳажми тахминан ҳар йили бир миллион тонна миқдорида ошиб бормоқда. Микробиология саноатида қўлланиладиган хом ашёнинг асосий қисми (90% га яқини) этанол ишлаб чиқаришга сарфланади, шунингдек, нон маҳсулотлари ачитқилари ишлаб чиқаришга 5%, антибиотикларга 1,7%, органик кислоталар ва аминокислоталарга 1,65%, қолганлари эса бошқа маҳсулотлар ишлаб чиқаришга сарф этилади.

Ферментлар биотехнологияси йирик миқдорда крахмал талаб қилади, масалан биргина фруктоза қиёмидан ҳар йили 3,5 млн.тонна тайёрланади ва истеъмолчига етказиб берилади. Иқтисодий нуқтаи назардан биотехнологик жараёнларда ишлатиладиган хом ашё кўп тонналик бўлиб, маҳсулотнинг умумий баҳосининг 40-65% ини ташкил этади ва сарф-харажатда биринчи ўринни эгаллайди. Озиқа субстрати ёки озиқа муҳити

Саноатда ишлаб чиқариладиган кўпгина ферментлар ҳужайранинг сиртида жойлашган ёки унинг озиқа муҳитида тўпланган бўлади. Бундан ташқари, биосинтез маҳсулотларининг кўпчилиги ҳужайра парчаланганда озиқа муҳитида тўпланади. Баъзи бир оралик метаболитлар заҳира озиқа вазифасини ўтайди, қачонки асосий озиқа манбаи тугаганда ҳужайра ундан фойдаланади. Ўстириладиган биоманба ва озиқа муҳити физик-кимёвий хусусиятлари орасида узвий боғлиқлик мавжудки, бунда бир тарафдан физик-кимёвий факторлар (pH , H , O_2 , осмотик босим ва ҳ.к.) продуцентларнинг биокимёвий фаоллиги ва ҳужайра ўсишини назорат қилади. Иккинчи томондан эса ҳужайралар яшаши натижасида озиқа муҳити физик-кимёвий хусусиятлари ва кимёвий таркиби ўзгариб туради. Бу ҳолатлар эса ўстириладиган субстратда ҳужайра ички муҳитида кечаётган жараёнлар давомийлиги қай ҳолатда кетаётганлиги кузатиб боришни тақозо этади.

Табиий газ, тош кўмир ва ёғоч қипиғи, техник спирт ва сирка кислоталари олишда хом ашё вазифасини ўтаб, ўз навбатида микробиологик ишлаб чиқаришда аъло даражадаги хом ашё ҳисобланади. Кўпчилик биотехнологларнинг асосий эътибори органик хом ашёлардан осон ассимиляция қилиш жараёнида баъзи бир микроорганизмларгина (масалан, *Aspergillus* замбуруғи турлари, *Bac.subtillis* ва бошқалар) ажрата оладиган, мураккаб амилолитик ферментлар комплекси талаб этадиган, органик хом ашё - *крахмалга* қаратилган.

44

Асосий микробиологик хом ашёларнинг таннархи

Хом ашё	Глюкозада % ҳисобида углерод сақлаши	1 т. глюкоза эквиваленти, доллар ҳисобида
Маккажўхори крахмали	100	64-91
Глюкоза	100	290
Сахароза - хом ашёлари	105	133
Рафинирланган сахароза	105	629
Меласса	50	140
Сирка кислота	100	550
Метанол	94	160
Этанол	130	430
Метан	180	-
Маккажўхори ёғи хом ашёлари	200	105
Пальма ёғи	200	300
Парафинлар	218	-

5.1.1. Анъанавий углерод манбалари

Микроб синтезида углерод сақловчи маҳсулотлар асосий хом ашёлар ҳисобланади. Саноат асосида ишлаб чиқаришда кенг қўлланиладиган углерод манбалари кейинги жадвалда акс эттирилган (4-жадвал).

Микроб синтезида қўлланиладиган асосий углерод манбалари

Субстрат	Асосий маҳсулот сақлаши	Тавсифи
Кристалл глюкоза	99,5% куруқ моддага (ҚМ) айлантирилган эрувчан модда (ЭМ)	9% сув, 0,07% гача кулли маҳсулотлар, шу билан бирга 0,004% дан кам бўлмаган темир сақлайди
Техник сахароза	Сахароза 99,75% дан кўпроқ	Намлиги 0,15% гача, кулли маҳсулот 0,03%
Техник лактоза	92% дан кам бўлмаган лактоза	Намлиги 3%, кулли маҳсулот 2% ва 1% сут кислота сақлайди.
Гидрол	70% дан кам бўлмаган ҚМ га айлантирилган ЭМ	Шарбатсимон суюқлик, ЭМ асосан глюкоза, кулли маҳсулот 0,7% гача, рН 4,0.
Крахмал	ҚМ 80% кўпроқ	ҚМга айлантирилган кулли маҳсулот 0,35-1,2%
Сирка кислота	60% дан кўпроқ сирка кислота	Формальдегид ва 1% гача чумоли кислота сақлайди
Синтетик этил спирти	92 % дан кўпроқ этанол	0,21% гача изопропил спирт ва 15 мг/л гача органик кислота сақлайди.
Суюқ парафиннинг киска фракцияси	87-93% н-Алканлар	0,5% гача ароматик углеводородлар ва 0,5% гача олтингугурт сақлайди

Изоҳ: ҚМ-куруқ маҳсулот; ЭМ-эрувчан модда.

Кўпчилик микроорганизмлар углеродни жуда яхши ассимиляция қилади. Катаболизмда углеродлар молекуласи тузилиши (тўғри, ҳалқасимон, тармоқланган) ва углерод атомлари оксидланиш даражаси муҳим аҳамият касб этади. Енгил ва қулай бўлган хом ашёлар сахароза, гексозалар, кўп атомли спиртлар (глицерин, маннит ва ҳ.к.) ва карбон кислоталардир. Яқин вақтларгача кўпчилик микроорганизмларнинг органик кислоталарни парчалай олмайди деб ҳисобланар эди, бироқ амалда баъзи бир микроорганизмлар анаэроб шароитда органик кислоталарни муваффақиятли парчалаши ва улар асосида кўплаб биофаол моддалар синтез қилиши маълум. Кўплаб микробиологик хом ашёлар асосида кичик молекулали спиртларни (метанол, этанол) ҳосил қилиш мумкин ва бу жараён кимёвий синтезга нисбатан бир қатор афзалликларга эга эканлиги маълум. Кўпчилик ачиткиларнинг *Candida*, *Hansenula*, *Rhodosporidium*, *Endomycopsis* каби турлари этанолни ассимиляция қилиш қобилиятига эгадир. *Pichia*, *Candida*, *Torulopsis* каби ачитки турлари ва *Methylomonas*, *Protaminobacter*, *Flavobacterium* каби бактерия турларининг биомассасида юқори миқдорда оксил сақлаши (60-70%) ва метанол ҳосил қилиш жараёнида озиқа манбаи сифатида углероддан фойдаланишлари аниқланган. 1939 йил В.О.Тоусон томонидан турли хил микроорганизмларнинг турлари н-алканлар энергияси ва нефтнинг баъзи бир фракцияларини углерод манбалари сифатида фойдаланиш қобилиятига эга эканлигини исботланган. Углеводородлар бошқа микробиологик хом ашёларга нисбатан фарқи сувда ёмон эриши билан ажралиб туради. Шунинг учун ҳам табиатда микроорганизмларнинг фактгина баъзи бир турларигина углеводородларни ассимиляция қилиш қобилиятига эгалар холос.

5.1.2. Ишлаб чиқаришдаги қўшимча маҳсулотлар

Илгари ишлаб чиқаришнинг кўпгина қимматбаҳо қўшимча маҳсулотларига чиқинди сифатида қаралар эди. Шулардан бири юқори молекулали парафинлардир. Улар кўпинча денгизларга ташлаб юборилар эди. Ҳозирги вақтда парафинлардан кимёвий ва микробиологик ишлаб чиқаришда жуда қимматли хом ашё сифатида фойдаланилади.

Шунингдек, маккажўхори сўтаси майдаланиб, қайта ишланиб, ундан крахмал ва глюкоза олингандан сўнг ундан қолган сув канализацияга ташлаб юборилар эди. Ҳозирги вақтда эса бу сув буғлантирилиб экстракт олинади ва ундан микробиологик ишлаб чиқарилишда самарали фойдаланилмоқда. Микробиологик манба сифатида, шунингдек, кимёвий ишлаб чиқаришнинг чиқинди маҳсулотлари (қаҳрабо, кетоглутар, адипин кислоталарнинг карбон кислота билан аралашмалари) ҳамда сульфит кули, ғалла ва картошка бардаси, меласса, гидрол ва бошқалар муваффақиятли қўлланилмоқда. Микробиологик ишлаб чиқаришда крахмалдан глюкоза ишлаб чиқаришнинг қўшимча маҳсулотлари бўлган меласса ва гидролдан

муваффақиятли фойдаланилмоқда. Меласса юқори даражада сахарозага ўхшаш шакарлар (43-57%) сақлаши билан характерланади (5-жадвал).

5-жадвал.

Лавлаги мелассасининг кимёвий таркиби

Номлари	Моддалар сақлаши, % ҳисобида	
	ўртача	ачиткилар учун мўътадил
Қуруқ маҳсулот	75-77	-
Сахароза	45	-
Инвертли шакар	0,5-1,2	-
Раффиноза	0,5-1,0	-
Шакарга айланиши	46-48	50
Коллоидлар	3-4	-
Юқори сифатлилиги	62-65	65
Қулли моддалар	6,6-7,5	7
K ₂ O	2,5-3,5	3,5
MgO	0,1-0,24	-
CaO	0,5-0,8	1,0
Умумий аминли азот	1,1-1,5	1,4
Гидролизгача	0,2-0,35	-
Гидролиздан кейин	0,5-0,6	0,4

Мелассанинг аминокислоталар таркиби кейинги жадвалда акс эттирилган (6-жадвал).

6-жадвал.

Мелассанинг аминокислоталар таркиби

(100 граммда қуруқ модда ҳисобида)

Аминокислоталар	Қуруқ маҳсулот, мг/100 г	Аминокислоталар	Қуруқ маҳсулот, мг/100 г
Лизин	41	Изолейцин	13
Гистидин	24	Серин	101
Аргинин	26	Глутамин кислота	2534
Аспарагин кислота	251	Пролин	103
Треонин	41	Глицин	117
Аланин	118	Лейцин	120
Цистин	жуда кам	Тирозин	89
Валин	89	Фенилаланин	35
Метионин	120		
Лавлаги мелассаси таркибида (мг/кг): биотин-0,03-0,04; пантотен кислота-50-110; инозит - 800-5700 ни ташкил этади.			

Микробиологик ишлаб чиқаришда қатор бошқа қўшимча маҳсулотлардан ҳам фойдаланилади (7-жадвал).

Ҳозирги вақтда фотосинтезнинг бирламчи маҳсулотлари, шу жумладан биринчи навбатда ёғочлар ва ўсимликларни оксилсизлантирилган шарбатлари асосий хом ашё захираси сифатида эътироф этилмоқда.

**Микробиологик ишлаб чиқаришда асосий хом ашё сифатида
қўлланиладиган қўшимча маҳсулотлар**

Маҳсулот	Тавсифи	Қўлланилиш соҳаси
Сульфит кули	ҚМ 4,0-4,5% шундан ЭМ 3,3-3,5%	Озиқа ачитқиси ишлаб чиқаришда
Картошка бардаси	ҚМ 4,3-4,5% шундан ЭМ 2,0-2,2%	Озиқа ачитқиси ишлаб чиқаришда
Арпа бардаси	ҚМ 7,3-8,1% шундан ЭМ 2,5-2,9%	Озиқа ачитқиси ишлаб чиқаришда
Гидрол	ҚМ 76-78%, шундан шакарга айланадиганлари 50%	Антибиотиклар, этанол ачитқиларини ишлаб чиқаришда
Солод суслоси	ҚМ 15-20%, шундан ЭМ (мальтоза, декстринлар) 8-12%, витами́нлар	Ачитқи, бактерия ва актиномицетларни ўстиришда
Сут зардоби	ҚМ 6,5-7,5%, шундан лактозалар 4,0-4,8%, оксиллар 0,5-1,0%, ёғлар 0,05-0,4%, витаминлар	Лактонлар, этанол, ачитқилар олишда
Оқсилсизлантирилган ўсимлик шарбати	ҚМ 5-8% шундан ЭМ 0,8-2,0%, аминокислоталар, витаминлар	Озиқа ачитқиларини ўстиришда
Оқсилсизлантирилган картошка шарбати	ҚМ 4,0-5% шундан ЭМ 0,5-1,0%, витами́нлар, аминокислоталар	Антибиотиклар ва нон маҳсулотлари ачитқиларини ишлаб чиқаришда
Ёғочсозлик қолдиқлари	ҚМ 6-9% шундан ЭМ 3-4%, органик кислоталар 0,3-0,4%	Озиқа ачитқиларини ўстиришда
Торф гидролизати (парчаланишдаги)	ҚМ 48-52%, шундан ЭМ 26-33% (галактоза, глюкоза, манноза, ксилоза, рамноза); гуминли маҳсулотлар	Озиқа ачитқилари олишда
Буғдой кепаги	ҚМ 90-92%, шундан экстрактив маҳсулотлар 48-50%, крахмал 25- 30%, оксиллар 11-13%, ёғлар 2,5- 3,0%, целлюлозалар 15-17%	Ферментлар ишлаб чиқаришда

Изоҳ: (ҚМ) - куруқ маҳсулот; (ЭМ) – сувда эрувчан моддалар.

5.1.3. Озиқанинг минерал манбалари

Азот. Бактериал ҳужайраларда куруқ биомассага нисбатан азот 12% гача, мицелиал замбуруғларда эса 10% гача мавжуд бўлади. Микроорганизмлар органик ва анорганик азот манбаларидан тўлиқ фойдаланиш қобилиятига эгадирлар. Маълумки, бактериялар актиномицетлар, микромицетлар ва ачитқиларга нисбатан азотга ўта талабчандир. Ҳайвонлар ва ўсимликлар ҳужайралари ҳам азот манбаларига талабчанлиги билан характерланади. Биомассада маҳсулдорлик доимо ҳам мақсаддаги метаболит маҳсулдорлиги ва ўстириш жараёнига боғлиқ бўлмасдан азот манбаларига ҳам боғлиқ бўлади (8-жадвал).

Биомассани ўстириш жараёнида, 1 литрга 30г озика сақловчи муҳит таркибида 0,3-0,4% миқдорида азот бўлиши талаб этилади. Ўстиришнинг даврий жараёнида, ўсишнинг 6-12 соатларида (экспоненциал фазада) азот манбаи тугайди, натижада биосинтез жараёни учун яна азот сақловчи манбаларга эҳтиёж туғилади. Кўпчилик ачиткилар аммоний сульфат, аммоний фосфат каби аммиак тузларини ҳамда аммиакнинг сувдаги эритмаларини яхши ўзлаштиради, азот кислотаси тузларини яхши ўзлаштира олмайди.

8-жадвал.

A. niger культураси мутант штаммининг лимон кислотаси биосинтези ва биомасса тўплашига минерал азот манбаларининг таъсири

Азот манбаи	Юза қатламда ўстирилганда		Суюқликда ўстирилганда	
	АҚБ, г/л	Лимон кислотаси, г/л	АҚБ, г/л	Лимон кислотаси, г/л
(NH ₄) ₂ SO ₄	6,2	40	12	82
(NH ₄) ₂ HPO ₄	4,2	59	15	95
NH ₄ Cl	5,5	60	14	101
KNO ₃	5,0	30	11	30
Ca(NO ₃) ₂	3,5	35	9	30
NH ₂ CONH ₂	6,9	58	15	88

Изох: АҚБ-абсолют куруқ биомасса

Фақатгина ачитки замбуруғининг баъзи бир турларигина нитратларни ўзлаштириш қобилиятига эгадирлар. Баъзан, азот манбаи сифатида озика муҳити таркибига мочевино қўшилиши ҳам мумкин.

Йўналтирилган биосинтез жараёнида, масалан целлюлотик ферментлар синтез қилувчи *Peniophora gigantea* замбуруғи хужайрасида органик азотлар (аспарагин, пептон ва бошқалар) биокимёвий фаолликни ошириб юбориши қайд этилган.

5.1.4. Бошқа минерал тузлар

Фосфор - хужайрада энг керакли компонентлардан бири ҳисобланади. Бундан ташқари микроорганизмлар учун яна 10 хилдаги минерал элементларлар зарур бўлиб, улар жуда кам миқдорда талаб этилади (10^{-3} - 10^{-4} M).

Агар микроорганизмлар ёрдамида олинадиган мақсаддаги метаболитлар таркибида микроэлементлар сақласа, микроорганизмларнинг микроэлементларга бўлган талаби ортиб боради. Масалан, В₁₂ витамини биосинтезида озика муҳити таркибига кобальт киради, тугунак бактериялар хужайрасида тиамин биосинтези учун молибден ва бор стимуляторлик қилади. Мис эса бир қатор ферментларда субстратдан электронларни кислородга ўтказишда иштирок этади (9-жадвал).

Микроорганизмлар ва уларнинг асосий функцияларида иштирок этувчи
макро- ва микроэлементлар

Элемент	Манба	Бажарадиган вазифаси
Макроэлементлар		
C	Органик маҳсулотлар, CO ₂	Ҳужайра материалининг асосий компоненти
O	Органик маҳсулотлар, O ₂ , H ₂ O, CO ₂	Ҳужайра материалининг асосий компоненти
H	Органик бирикмалар, H ₂ , H ₂ O	Ҳужайра материалининг асосий компоненти
N	Органик бирикмалар, NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ , N ₂	Ҳужайра материалининг асосий компонентлари
S	Органик бирикмалар, SO ₄ ²⁻ , HS ⁻ , S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻	Цистеин, метионин, тиаминпирофосфат, А кофермент, биотин ва бошқаларнинг компоненти
P	HPO ₄ ²⁻	Нуклеин кислота, фосфолипидлар, нуклеотид ва бошқалар компонентлари
K	K ⁺	Ҳужайрани асосий анионик катиони, баъзи бир ферментлар кофактори
Mg	Mg ²⁺	Кўпгина ферментлар кофактори (масалан, киназа), ҳужайра мембранасида иштирок этади, тРНК аминоксилланишида қатнашади,
Ca	Ca ²⁺	Ферментлар кофактори, экзоферментларда қатнашади (амилаза, протеаза, Са-дипиколинат), эндоспорада зарур компонент
Fe	Fe ²⁺	Цитохромда сақланади, кўпгина ферментлар кофактори,
Микроэлементлар		
Zn	Zn ²⁺	Алькогольдегидрогеназа, ишқорий фосфатаза, альдолаза, РНК ва ДНК полимеразада иштирок этади.
Mn	Mn	Бактериал пероксидисмутазада сақланади; баъзи ферментлар кофактори (фосфоенолпируват-карбоксикиназа, цитратсинтетаза ва бошқалар).
Na	Na ⁺	Мембрана жараёнларида иштирок этади.
Cl	Cl ⁻	Галофиль бактерияларда учрайди.
Mo	MoO ₄ ²⁻	Нитратредуктаза, нитрогеназа, формиатде-гидрогеназа, ксантиндигидрогеназа ва бошқа ферментларда сақланади.
Se	SeO ₃ ²⁻	Глицинредуктаза ва формиатдегидрогеназада иштирок этади.
Co	Co ²⁺	B ₁₂ витамини коферментларида, глутамат-мутаазалар, метилмалонил-СоА-мутаазалар ва бошқа ферментларда сақланади
Cu	Cu ²⁺	Цитохромоксидаза, оксигеназа ва бошқаларда иштирок этади.
W	WO ₄ ²⁻	Баъзи бир формиатдегидрогеназалар сақлайди.
Ni	Ni ²⁺	Уреазада учрайди; водородли бактериялар автотроф ўсишда эҳтиёж сезади.

5.1.5. Озиқани комплекс бойитувчилар

Культураларни ўстириш амалиётида ҳатто прототроф микроорганизмлар ҳам озиқа муҳитида витаминлар, аминокислоталар, цитокининлар ва бошқа биологик фаол моддалар иштирок этганда яхши ўсиши қайд этилган.

Антибиотиклар эраси бошлангандан сўнг шу билан боғлиқ ҳолда озиқа муҳити таркибини арзонлаштириш ва иқтисодий сарф харажатларни мўътадиллаштириш ҳақидаги саволларга жавоб топиш муаммоси пайдо бўлди. Бунга жавоб тариқасида озиқа муҳитига қўшимча сифатида маккажўхори экстрактидан муваффақиятли фойдаланиш мумкинлиги исботланди. Унинг таркибида енгил ассимиляция бўладиган витаминлар, аминокислоталар ва минерал элементлар мавжуддир.

Маккажўхори экстрактининг кимёвий таркиби 10-жадвалда акс эттирилган.

10-жадвал.

Маккажўхори экстрактининг кимёвий таркиби

Маҳсулот	Таркиби, %	Маҳсулот	Таркиби, %
Курук маҳсулот	45-55	Сут кислотаси	5,0-11,5
Сахароза	0,1-11	Учувчан кислотлар	0,1-0,5
Умумий азот	2,7-4,5	Кулли маҳсулот	1,5-4,5
Амминли азот	1,2-2,0		
курук модда сақлаши, мг/г			
Аланин	24-59	Метионин	2-6
Аргинин	10-24	Фенилаланин	8-13
Аспарагин кислота	10-27	Пролин	16-20
Цистин	2-4	Серин	12-20
Глутамин кислота	35-88	Треонин	4-11
Глицин	жуда кам	Тирозин	5-10
Гистидин	2-4	Триптофан	5-10
Изолейцин	35-42	Валин	8-18
Лейцин	27-42	Лизин	16-37
курук модда сақлаши, мкг/г			
Рибофлавин	7-12	Биотин	15-55
Тиамин	80-100	Никотин кислота	120-180
Пантотен кислота	80-140		
Кулли моддалар сақлаши, % ҳисобида			
Калий	25-35	Натрий	4-6
Кальций	12-18	Темир	1-2
Фосфор (P ₂ O ₅)	0,3-0,5	Марганец	0,2-0,6
Рух	0,2-0,5	Мис	0,05-0,1
Магний	10-15	Алюмин	0,4-0,5

Микробиологик синтезда маккажўхори экстрактидан ташқари ачитқилар автолизати, экстракти ва гидролизати, картошка туганаги хужайрасидан олинадиган шарбат, сут зардоби, буғдой кепаги экстракти каби маҳсулотлар ҳам кенг қўлланилади. Баъзан балиқ ва гўшт пептонлари

кўшилади. Ҳайвон ҳужайраларини ўстиришда ҳайвонлар қони плазмаси ва йўлдош экстрактлари қўлланилади.

Ўсимликлар ҳужайрасини ёки юксак мицеллиал замбуруғларни ўстиришда ошқовоқ экстракти, гўза баргидан ҳам фойдаланилади.

5.1.6. Кўпикланишни босувчи моддалар

Микроорганизмларни суяқликда аэроб ўстирилганда кўпик ҳосил бўлиши ва кўпикланиш жараёни асосий рол ўйнайди. Кўпикланиш жараёнининг ҳосил бўлиши фазалар орасидаги боғлиқликни ошириб, аэрацияланадиган ҳаво билан озика муҳити орасидаги масса алмашилишини бузади.

Озика муҳитининг кўпикланишга бўлган чидамлилиги ва реологик хусусияти (юзага ёпишқоқлиги) озика муҳити таркибига (шакар, липидлар, оксиллар сақлаши, структура ҳосил қилувчи тузлар), стерилизация режимига ва озика аэрациясига боғлиқ бўлади. Чидамли кўпикланиш режимини яратиш учун турли хил механик ва кимёвий кўпикланишни олдини олувчи воситалар ва уларнинг комбинацияларидан фойдаланилади.

Ҳозирги вақтда муваффақиятли фойдаланиб келинаётган синтетик кўпикланиш олдини олувчи воситаларга силиконлар, пропиноллар, контрамин ва полишакллинни мисол қилиб келтириш мумкин.

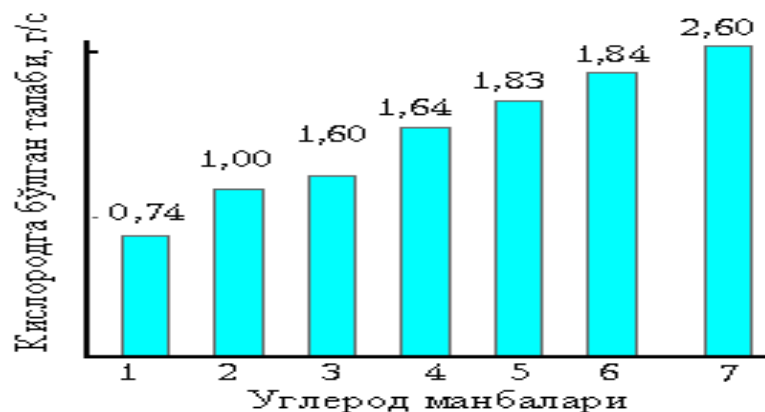
5.1.7. Кислород ва сув

Аэроб микроорганизмнинг молекуляр кислородга бўлган эҳтиёжи оксидланувчи углерод манбаси ва унинг физиологик хусусиятига ҳамда микроорганизмларнинг ўсиш фаоллигига боғлиқ бўлади (7-чизма, 11-жадвал).

1 кг ачитқи биомассаси биосинтези учун 0,74-2,6 кг эриган кислород талаб этилади. Интенсив ҳолда продуцент субстратдаги углерод манбаига боғлиқ бўлмаган ҳолда 1 литр озикада минутига 0,83-4,0 мг кислородни ассимиляция қилади.

Озикада эриган кислород миқдори жуда кам бўлиб, бу ҳарорат, босим, эмульгирланган ва деспирсланган эритма компонентлар миқдорига боғлиқ бўлади. 0,1 МПа (1 кг с/см²) босим ва 30⁰С ҳароратда 1 л дистилланган сувда эриган кислород миқдори максимал ҳолда 7,5 мг ни ташкил этади.

Одатда озика муҳитида максимал ҳолатда эриган кислород миқдори 2-5 мг/л бўлади. Озика муҳитидаги захира кислород миқдори аэроб продуцентларни 0,5-2 минут ҳаётчанлигини сақлаб туриши мумкин.



7-чизма. Микроорганизмларнинг 1 г биомасса ҳосил қилишида углерод манбаига боғлиқ ҳолда кислородга бўлган талаби
 1-глюкоза; 2-сут кислота; 3-қахрабо кислота; 4-сирка кислота; 5-этанол; 6-глицерин; 7-юқори молекулали парафинлар.

11-жадвал.

20°C ҳароратда деспиргирланган ва эмульгирланган компонентларнинг сувдаги (мг/л) эритмаларининг кислород адсорбциясига боғлиқлиги

Сахароза		Кунгабоқар ёғи		Биомасса	
Микдори, %	O ₂ адсорбцияси	Микдори, %	O ₂ адсорбцияси	Микдори, %	O ₂ адсорбцияси
0	8,2	0	8,9	0,	8,0
2,5	7,8	0,05	11,6	3,0	4,1
5,0	7,2	0,10	18,9	6,0	2,4
7,5	6,6	0,15	19,0	9,6	1,5
10,0	5,9	0,20	22,3	16,0	1,2
15,0	4,8	0,25	24,0	32,0	0,8

Суюқ озиқа муҳитида ўстириш жараёнида захира кислород микдори озиқадаги ҳаво аэрациясига боғлиқдир. Кислород адсорбцияси тезлиги эса озиқа муҳитининг аралаштирилиш интенсивлиги ўсишига қараб ошиб боради (12-жадвал).

12-жадвал.

Сувда кислороднинг адсорбция бўлишига аэрация ва озиқа муҳитининг аралаштирилишига боғлиқлиги

1 минутда бериладиган ҳаво микдори (м ³ /(м ³ × мин))	Аралаштиргичнинг аралаштириш частотаси, тез/мин				
	0	500	800	1000	1200
0,35	1,3	4,0	7,5	14,5	15,1
0,65	3,5	7,3	12,1	19,1	22,1
1,00	6,0	10,0	15,0	23,0	24,0
1,30	7,5	13,9	18,0	26,0	28,0
1,60	11,0	15,5	20,0	27,0	29,0
Изоҳ: Лаборатория ферментёрлари учун ишчи сифим 8 литрдир.					

Микроорганизмлар биомассанинг ўсиш даврида мақсаддаги метаболит синтез бўлиш давридагига нисбатан кўпроқ кислород талаб этиши исботланган.

Шакар сақловчи субстратларда ўсувчи кўпчилик аэроб микроорганизмларда кислородга бўлган талабнинг энг юқори миқдори 0,05-0,10 мг/л, яъни озиқага аралаштирилган барча кислороднинг 3-8% ини ташкил қилади.

Микроорганизмлар биомассасида сув 80-90% ни ташкил этади. Озиқа муҳитини тайёрлаётганда тоза, рангсиз, таъмсиз ва қолдиқсиз 2874-73 стандартига мувофиқ келувчи сувдан фойдаланиш талаб этилади. Озиқа тайёрланадиган сув таркибида 50 мг/л дан кам бўлмаган хлоридлар ва 60 мг/л дан кам бўлмаган сульфитлар бўлиши лозим. Метал ионлари миқдори эса қуйидагича бўлиши талаб этилади (мг/л): мишьяк-0,05, фтор-1,5, рух-5,0, мис-3,0, қўрғошин-0,2.

5.2. ОЗИҚА МУҲИТИ ТАРКИБИНИ ТУЗИШ

5.2.1. Микроорганизмларни ўстириш учун озиқа муҳитлари

Озиқа муҳити таркибини тузишда асосан микроорганизмлар физиологияси эътиборга олинади. Культуралар каталогини тузишда ушбу қобилиятдан ташқари унинг рН кўрсаткичи ва ҳарорати ҳам асосий роль ўйнайди.

Мутахассислар олдида турган вазифалар: аниқ штамм -продуцентнинг мақсаддаги маҳсулоти учун углерод, азот, фосфор ва бошқа манбаларнинг иқтисодий ва экологик жиҳатларини эътиборга олган ҳолда, компонентларни танлаб мўътадил озиқа муҳити таркибини тузишдан иборатдир.

Ушбу мақсадни амалга оширишда, математик режалаштиришни эксперимент усулларида фойдаланилган ҳолда лаборатория тажрибалари олиб борилади. Асосий маҳсулот миқдори унинг конверсия коэффицентини ($Y_{P/S}$ ва $Y_{X/S}$) ҳисоблаш билан аниқланади.

Мўътадил ўстириш жараёнида метанол ва глюкозани конверсия ва биомасса коэффицентини (Y_X) тахминан 0,5 га, этанол учун - 0,70-0,75; гексадекан учун - 1,0-1,1; суюқ парафинлар учун эса -1,2-1,3 ни ташкил этади.

Бу эса шуни кўрсатадики, даврий ўстириш жараёнида, 1 л озиқа муҳитида 30 г биомассани етиштириш учун 60 г метанол, 40 г этанол, 30 г гексадекан ёки 24 г суюқ парафин талаб қилинади.

Метанолнинг 1,0% ёки этанолнинг 1,5-2,0% миқдоргача кўтарилиши микроорганизмлар учун зарарли таъсир этади. Глюкоза, сахароза, фруктоза ва бошқа кичик молекулали шакарларни миқдори 7-8% дан кўпроқ бўлиши ҳам кўпчилик микроорганизмларнинг ўсишини тўхтатади.

Конструктив метаболизмда азот сақловчи маҳсулотлар миқдори, биомасса ва унинг маҳсулдорлиги ҳисобланиб чиқилганда 5%гача азот фойдаланилмай қолиши аниқланган. Минерал азотдан ташқари қатор микроорганизмлар озиқа муҳитига қўшилган оксил азоти, пептидлар ва аминокислоталарни ҳам ўзлаштириш қобилиятларига эгадирлар.

Микроорганизмларнинг озиқа таркибидаги минералларга бўлган аниқ эҳтиёжини аниқлаш учун тоза ҳолдаги компонентлар (кристалл ҳолдаги тузлар) ва дистилланган сувдан ташкил топган синтетик озиқа муҳититайёрлаш орқали топилади. 30 г/л биомассани ҳосил қилиш учун минерал элементларга бўлган талаб 13- жадвалда келтирилган.

13-жадвал.

1 литр озиқа муҳитида 30г биомасса ҳосил қилиш учун
зарур бўладиган минерал элементлар миқдори

Компонентлар	Миқдори, г/л
Азот манбаи - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	12
Фосфор манбаи - KH_2PO_4	1,3
Магний манбаи – MgSO_4	1,5
Макроэлементлар - Fe, Ca, Mg	10^{-3}
Микроэлементлар - Cu, Co, Zn, Mo, Mn	10^{-4}

Шундай қилиб, озиқа муҳити таркибини тузишда қуйидаги формуладан фойдаланиш мумкин:

$$\frac{C_i}{A_i} = \frac{C_1}{A_1} = \frac{C_2}{A_2} = S_0$$

Бунда: C_i - озиқа муҳитининг баланслаштирилган ($i = 1, 2, \dots, n$) компонент миқдори; A_i - танланган культура учун i компонент конверсия коэффциенти; S_0 - озиқадаги захира компонентини биомассадаги миқдор бирлиги.

Прототроф культуралар учун ўсишни жадаллаштирувчи моддаларни экспериментал тажрибалар асосида яратилган аниқ тизими келтирилган (14-жадвал).

**Озиқа муҳити таркибидаги ўстирувчи факторлар ва уларнинг
хужайра метаболизмидаги функцияси**

Ўстириш манбаси	Функцияси	Миқдори, мкг/л	
		минимал	максимал
К витамини	Дастлабки механионлардан электронлар ташиш (масалан, фумаратредуктазада)	0,001-0,01	0,01-0,5
Биотин	Карбоксилланиш реакциясини катализловчи простетик ферментлар таркибига киради	0,002-0,01	0,01-1,00
Фолин кислота	Худди коферментлар сингари бир углеродли гуруҳ ташувчиларда иштирок этади	0,02	0,03-05
п-аминобензол кислота	Худди коферментлар сингари бир углеродли гуруҳ ташувчиларда иштирок этади	0,01	0,2
Тиамин (В ₁ -витамини)	Тиаминтрифосфат декарбоксилаза, трансальдодаза ва транскетолаза простетик гуруҳларида қатнашади	0,01-0,03	1-100
Пиридоксин (В ₆ -витамини)	Пиридоксальфосфаттрансамилаза ва декарбоксилаза аминокислоталари коферментидир	0,1	10-1000
Цианкобаламин (В ₁₂ витамини)	Кофермент сингари гуруҳланиш реакцияларида қатнашади (масалан, глутаматмутаза)	0,1	5-1000
Пантотен кислота	А коферментни олд моддаси ва ацил ташувчи оксилларни простетик гуруҳи	4	20-1000
Рибофлавин (В ₂ -витамини)	Флавонуклеотидлар: флавінмононуклеотид ва флавинадениндинуклеотидларнинг олд моддаси	5	10-1000
Никотин кислота	Қатор дегидрогеназаларнинг коферментлари НАД ва НАДФ ни олд моддаси. Лецитин ва ацетилхолин таркибига киради ҳамда липидлар синтезида иштирок этади	5-10	100-1000
Холин	Липидлар синтезида иштирок этади, лецитин ва ацетилхолин таркибига киради	20	1000-2000
Инозит	Инозин кислоталар ҳолида пурин асослари синтезида иштирок этади	1000	2000-6000
Пурин ва пиримидин асослари	Рибонуклеотидлар таркибига киради	1000	5000-10000

5.2.2. Қўшимча ингредиентлар

Озиқа муҳити тайёрлаш учун одатда продуцентнинг биосинтетик фаоллиги ва ўсишига таъсир этувчи аралашмалардан ташкил топган техник ва стандарт бўлмаган маҳсулотлардан фойдаланилади. Аралашмалар ва қўшимча маҳсулотлар ферментация даврида ижобий (оксил, аминокислоталар, органик кислоталар, минерал маҳсулотлар ва бошқалар), ёки баъзан салбий таъсир кўрсатиши мумкин. Ачитқилар ўсиши учун зарарли аралашмаларнинг мўътадил миқдори 14а-жадвалда келтирилган.

14а-жадвал.

Saccharomyces cerevisiae ачитқисининг ўсишига салбий таъсир этувчи баъзи бир аралашмалар миқдори (% ҳисобида)

Аралашма	Ўсишни секинлаштириши	Ўсишни тезлаштириши
Органик кислоталар:		
Қахрабо	0,001	0,1
Чумоли	0,0085	0,2
Сирка	0,02	0,2
Мой	0,005	0,05
Сут	1,35	-
Олтингугурт оксидлари	0,0025	-
Нитритлар	0,0005	-
Шакллин	0,09	-
Натрий фторит	0,002	-
Оғир металлар: Мис	-	0,005
Кумуш	-	0,000001
Мишяк	-	0,0005

Озиқа муҳити таркиби ҳар бир штамм учун, муайян штаммни физиологик ва биокимёвий хоссалари ҳамда технология олдида қўйилган мақсаддан келиб чиққан ҳолда, тажрибалар асосида аниқланади.

Назорат саволлари:

1. Озуқа муҳити нима?
2. Табиий озуқа муҳити синтетик озиқа муҳитидан қандай фарқ қилади?
3. Ҳужайрага озиқа моддалари қандай қабул қилинади?
4. Углерод манбаларига мисоллар келтиринг.
5. Қандай хом ашёлар фосфор манбалари сифатида қўлланилмоқда?
6. Азот манбаларига мисоллар келтиринг.

Адабиётлар.

1. Биотехнология: принципы и применение. Под. ред. И.Хитинса и др. М.: Мир. 1988. 473с.
2. Campbell J.M. Biomass, catalysts and liquid fuel. Wheaton and Sons, 1983.
3. Давранов К.Д. Хужамшукуров Н.А. Умумий ва техник микробиология Ташкент 2004. 208с.

6. БИОТЕХНОЛОГИЯДА ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ

Ҳозирги вақтда қайси продуцент (микроорганизм) дан фойдаланган ҳолда фойдали маҳсулотлар синтез қилиш мумкинлигини аниқ кўрсатиб бериш мумкин. Агарда бундай продуцент бўлмаса, қай тариқа ва қандай шароитда юқори даражада, исталган турдаги маҳсулотни олиш хусусиятини намоён қилувчи продуцентни яратиш мумкинлигини олдиндан айтиб бериш имкониятлари мавжуддир.

Биотехнологик ишлаб чиқаришда бугунги кунда микроорганизмларни минглаб штаммларидан фойдаланилмоқда.

Биотехнологиясида ген муҳандислиги соҳасини ўрганишдан мақсад:

- ✓ *тирик организмлар ирсий белгилари ҳақидаги ахборот жойлашган ДНК молекуласининг тузилиши, роли ҳамда унинг молекуляр биологияси;*
- ✓ *генетик муҳандисликнинг моддий асослари: трансформация, трансдукция, кўчиб юрувчи генетик элементлар-транспозонлар, плазмидалар, вируслар, бактериофаглар, рестриктазалар, рекомбинант ДНК олиш, генларни клонлаш, ҳужайра муҳандислиги, ҳужайра ва тўқималарни сунъий шароитда ўстириш технологияси;*
- ✓ *генетик муҳандисликнинг озиқ-овқат саноатида, ҳайвонлар ва ўсимликлар селекциясида қўлланилиши;*
- ✓ *ген муҳандислигига асосланган биотехнологиянинг озиқ-овқат саноатидаги илмий-техник тараққиётни тезлаштиришдаги роли;*
- ✓ *гибридомалар олиш технологияси ва унинг юқорида келтириб ўтилган маҳсулотларни ишлаб чиқаришда қўллашни ҳамда генетик муҳандисликнинг истиқболлари ҳақида аниқ билимларни ўзлаштиришдан иборат.*

Ушбу фаннинг асосий вазифаси замонавий ген муҳандислиги ютуқларини халқ хўжалиги амалиётида кенг қўламда қўллашдан иборат.

Ген муҳандислиги анъанавий танлаш (селекция) усулларини инкор қилмасдан, аксинча унинг имкониятларини янада кенгайтиради. Ген муҳандислиги усуллари қуйидаги вазифаларни ҳал қила олади:

- ✓ *продуцентларнинг алоҳида олинган генларини ўзгартириш, уларни керакли функцияларини кучайтириш, яъни янги генетик ахборот киритмасдан, ўзида мавжуд структураларни модификация қилиш орқали штаммнинг самарадорлигини ошириш ёки яхшилаш;*
- ✓ *аниқ вазифага жавобгар бўлган, алоҳида генни ажратиб олиш ва уни ўзгартириш (мутация қилиш), ҳужайра ичида унинг нусхаларини кўпайтириш ва шу орқали маълум маҳсулот синтезини кучайтириш;*
- ✓ *промоторларни геннинг фаоллигини аниқловчи мутацияга учраган турини олиш, энхансерлар (промоторлар фаоллигини кучайтирувчилар) киритиш;*

- ✓ ишлатиладиган субстратлар спектрини кенгайтириш. Масалан, сут зардоби, целлюлоза сақловчи чиқиндиларда тез ривожланиб, оқсил синтез қилувчи микробларнинг штаммларини яратиш;
- ✓ ксенобионтлар (инсон яратган биологик фаол моддалар), нефт қолдиқлари, ҳар хил токсинлар ва атроф муҳитни ифлослантирувчи кимёвий моддаларни ва бошқа кераксиз бирикмаларни утилизация қилиш имкониятига эга бўлган микроорганизмлар штаммларини яратиш;
- ✓ қўшила олмайдиган микроорганизмларга қўшилишини таъминлаб берувчи плазмидалар киритиш ва шу туфайли штаммларнинг хоссаларини яхшилаш мақсадида рекомбинация усулларида фойдаланиш;
- ✓ бошқа гуруҳ организмлар генини киритиш ва шу орқали киритилган ген маҳсулотини олиш. Масалан, ўсимликлардан ширинлиги сахарозадан 3000 маротаба ортиқ бўлган полипептид генини *E.coli* га ёки *Sacch.cerevisiae* культураларига ўтказиш ва шу орқали ширин таъм берувчи маҳсулотлар тайёрлаш;
- ✓ Янги ген конструкция қилиб, хусусиятлари олдиндан белгиланган янги оқсил олиш, кейинчалик оқсил молекуласини “архитектураси” (бирламчи, иккиламчи, учламчи ва тўртламчи структуралари) ва уларнинг биокимёвий хоссалари аниқ бўлгандан кейин, сунъий генлар синтез қилиш ва уларни клонлаш орқали янги оқсиллар яратиш ва ҳ.к.

Ҳозирги даврда *E.coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* каби микроорганизмларнинг генетикаси жуда ҳам яхши ўрганилганлиги сабабли, улар ген муҳандислигида кенг ишлатилмоқда.

Микроорганизмлар ҳужайраларидан энг муҳим бирикмалар, масалан, гормонлар (инсулин, соматостатин ва соматотропин), иммунитетни кучайтирувчи моддалар (α -тирозин, интерферон, интерлейкин, вируслар қобикларининг оқсиллари, - улардан ўта хавфли касалликлар – қутириш, оқсим, гепатит В, шунингдек, ҳозирги вақтда паррандаларга қирғин солаётган парранда гриппини кўзғатувчиси H5N1-вируси ва бошқа юқумли касалликларга қарши эмлаш (вакцинация) воситалари олишда фойдаланилмоқда.

Ген муҳандислиги усуллари ёрдамида аминокислоталар (треонин, пролин ва ҳ.к.), ферментлар, антибиотиклар ва бошқа биологик фаол моддаларнинг супер-продуцентлари олинган.

Бу усул ген фаоллигини бошқариш, унинг функциясини, тузилишини ўрганиш, прокариот ва эукариот организмларда генетик материалларни ташкил қилиш масалаларида чегараланмаган имкониятларни очиб беради.

Тирик организмлар ирсий ахборотини сунъий йўл билан маълум мақсадга мувофиқ ўзгартириш жараёни генетик муҳандислик фанининг асосий устқурмаси ҳисобланади. Генетик муҳандислик ҳужайра, хромосома ва ген даражасида амалга оширилади:

1. *Хужайра даражасидаги генетик муҳандислик - икки хужайрани ўзаро қўйиши йўли билан амалга оширилади.*
2. *Хромосома даражасидаги генетик муҳандислик -хужайра ядросига қўшимча хромосомалар киритиши орқали амалга оширилади.*
3. *Ген даражасидаги генетик муҳандислик ёки ген муҳандислиги - энг мураккаб бўлиб, қуйидаги босқичлар асосида амалга оширилади:*
 - а. *аниқ мақсаддан келиб чиққан ҳолда, шу мақсадга жавоб бераоладиган ген, унинг функциясини ўрганиши орқали қидириб топилади, ажратиб олинади, клонланади ва тузилиши ўрганилади.*
 - б. *ажратиб олинган ген хромосома ДНК си билан рекомбинацияланувчи бирор фаг геноми, транспозон ёки плазмиди ДНК си билан бириктирилиб вектор конструкция яратилади.*
 - с. *вектор конструкция трансформация усули билан хужайрага киритилади ва трансген хужайра олинади.*

Трансген хужайрадан сунъий равишда етук организм ўстирилади. Ушбу усулдан фойдаланиб ўсимлик, ҳайвон ва микроорганизмлар хужайраларидан трансген шакллар олиш мумкин. Хужайра муҳандислиги усулларида фойдаланиб, тирик организмлардан гибрид хужайралар олиш биотехнологияси яратилди ва бу асосида моноклонал антителалар олиш йўлга қўйилди. Биотехнологиянинг бу соҳасига дастлабки қадамлар 1973 йил биринчи ген клонланган вақтдан бошлаб қўйилган эди (15-жадвал).

15-жадвал.

Замонавий биотехнологиянинг дастлабки асосий босқичлари

Кашф этилган вақти	Бажарилган ишлар
1973 йил	Биринчи ген клонланган
1974 йил	Биринчи бактерия генларини клонлаш экспрессияси амалга оширилган
1975 йил	Биринчи гибридима яратилган
1976 йил	Рекомбинант ДНК технологиясидан ишлаб чиқаришда фойдаланиш бошланган
1980 йил	Ген муҳандисли усуллари ёрдамида олинган микроорганизм штамmlарини патентлаш ҳақидаги қарор қабул қилинган
1981 йил	Моноклонал антителла тўпламларидан фойдаланиш мумкинлиги тўғрисидаги қарор қабул қилинган. Биринчи марта генларни автоматик синтезатори сотувга чиқарилди
1982 йил	Тиббиётда рекомбинант ДНК - инсулини ва ҳайвонлар учун биринчи рекомбинант ДНК дан фойдаланишга рухсат берилди
1983 йил	Биринчи маротоба ген экспрессиясидан бир ўсимликдан бошқа турида фойдаланиш мумкинлиги исботланди

Илмий ишлар давом эттирилмоқда. Ҳозирги вақтда кун тартибида ОИТС (СПИД) ва парранда гриппининг кўзгатувчиси H5N1 вирусига

қарши вакцина яратиш масаласи кўндаланг турибди ва бу соҳаларда анчагина ютуқларга ҳам эришилди.

Ген муҳандислиги биотехнологиясининг ютуқлари саноат кўламида ва қишлоқ хўжалигида кенг қўлланилмоқда. Хусусан, антибиотиклар, аминокислоталар, витаминлар ва гормонлар ишлаб чиқарилмоқда, наслдор қорамол клонлари яратилмоқда, тупроқ ва сувда заҳарли пестицид қолдиқларини парчалайдиган микроорганизмларни трансген штаммлари олинган, атмосфера азотини ўзлаштирувчи микроорганизмлар генлари асосида тупроқни азотли ўғитлар билан бойитиш муаммоси ечилмоқда, зарарли ҳашоратларга ва патоген микроорганизмларга чидамли, экологияни асровчи трансген ўсимлик навлари етиштирилмоқда, ирсий касалликларни тезкор ташхис қилиш учун, ташхис материаллари тайёрланмоқда, шунингдек, ген терапия усуллари такомиллаштирилмоқда.

Бугунги кунда тезкорлик билан ошиб бораётган инсон эҳтиёжларини қондириш учун, генетик муҳандисликка асосланган биотехнология классик технологиялардан ўта самарали эканлигини тўла намоён қилмоқда. Аммо бу технология асосида олинадиган маҳсулотни истеъмол масаласи тортишувларга сабаб бўлиб турганини эътиборга олиш шарт. Нима бўлганда ҳам озиқ-овқатда, гени ўзгартирилган маҳсулотдан фойдаланишдан воз кечилса, мақсадга мувофиқ бўлур эди.

6.1. ДНК, РНК ВА ОКСИЛ МОЛЕКУЛАЛАРИНИНГ БИОСИНТЕЗИ

6.1.1 ДНК репликацияси

Тирик организмда олдиндан мавжуд қолип асосида янги ДНК молекуласининг яратилиши нуклеин кислоталарининг синтезланиш йўлидир. Мавжуд ДНК молекуласидан нусха олиш **репликация** деб аталади.

Репликация жараёни ДНК-полимераза I, II, III, ДНК-лигаза ва ревертаза ферментлари ёрдамида амалга ошади. гер-оксил ёрдамида ДНК қўш занжири ажралади ва ДНКга боғланадиган оксил молекулалари ёрдамида ДНК нинг ажралган занжирлари турғун ҳолатда сақланиб турилади. ДНК-полимераза III ферменти ДНК нинг 3' учидан 5' учигача ДНК нинг битта занжирини тўла синтез қилиш қобилиятига эга. ДНК синтези фақат ДНК нинг 3' учидан 5' учига қараб бориши туфайли ДНК нинг иккинчи занжири праймаза, ДНК-полимераза I ва ДНК-лигаза ферментлари ёрдамида амалга ошади.

Праймаза (ревертаза) ферменти ёрдамида ДНК нинг иккинчи занжири синтези учун праймер синтез қилинади ва ДНК-полимераза III ферменти ёрдамида праймер нуклеотидлар кетма-кетлигидан ДНК синтези бошланади ва ДНК-полимераза I ферменти ёрдамида бу нуклеотидлар кетма-кетлиги бир оз узайтирилади. Кўплаб ҳосил бўлган ДНК

фрагментлари ДНК-лигаза ферменти ёрдамида уланади. Бу жараён ДНК нинг иккинчи занжири тўла синтез бўлгунча давом этади. Янги ДНК занжири тайёр ДНКнинг нухасига, матричасига қараб тузилади. Бу жараёнда матрица вазифасини ДНК қўш занжирининг бир ипи бажаради.

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

Оқсил синтези рибосомаларда ўтади. Рибосома ҳужайра метаболизми учун зарур бўлган оқсиллар синтезини ДНК дан олинган иншаклция асосида кодлаш механизмига мувофиқ амалга оширади (4-чизма).



8-чизма. Биологиянинг асосий қонуниятлари

ДНК занжиридан олинган иРНК нуклеотидлар тартиби шаклидаги ахборот рибосома ёрдамида оқсил молекуласидаги аминокислоталар тартибига қўчирилади.

Оқсил синтези жараёни **трансляция** деб аталади. Нуклеин кислоталарда ҳар бир аминокислоталарни танийдиган ва танлаб бириктириб олиб ташишда воситачилик қиладиган бирин-кетин учта нуклеотидлар комбинацияси мавжудки, бу ўз навбатида аминокислота коди, оқсил коди, кодон, кенг маънода **генетик код** деб юритилади.

Оқсил молекуласига қиладиган аминокислоталар 20 та бўлганлиги учун кодонлар сони ҳам 20 дан кам бўлиши мумкин эмас.

Бунда ҳосил бўладиган комбинациялар сони 64^{43} , кодланадиган аминокислоталар сонидан анча кўп. Нима учун деган савол туғилади? Маълум бўлишича, 20 та аминокислотадан 18 таси биттадан ортиқ, яъни 2 та, 3 та, 4 та ва 6 та кодон билан кодлана олар экан. Бундан ташқари, учта кодон УАА, УАГ, УГЦ аминокислоталарни кодлай олмайдиганлар ва уларни пайдо бўлиши полипептид занжирининг тугаганидан дарак беради. Шунинг учун ҳам улар **атамааторлар «тугатувчилар»** деб аталади.

Полирибосомаларда оқсил синтези иРНКнинг 5' охиридан бошланиб 3' охирида тугайди. Оқсил синтези тугагач иРНК рибосомадан ажралиб чиқади ва рибосома иккита субпарчаларга ажратилади.

6.1.2. Мутация жараёни ва ДНК репарацияси

ДНК молекуласи структурасини ташиқи номуқобил омиллар таъсирида ўзгариши мутация дейилади.

Мутацияга учраган ДНК молекуласида ирсий ахборот ўзгаради ва организмнинг мўътадил ҳолатда яшашига кескин таъсир кўрсатади. Тирик организмнинг мутант шакллари вужудга келади. Бошқа организмлардан фарқли ўлароқ, ўсимлик ва микроорганизмларнинг хўжалик аҳамияти юқори бўлган мутант шаклларида халқ хўжалигида кенг кўламда фойдаланилади (16-жадвал).

16-жадвал.

Ауксотроф мутантлар ёрдамида L-аминокислоталарининг бирламчи метаболитларини олиниши

Амино-кислота	Продуцент	Тансиқ модда	Субстрат	Культурал суяқликда аминокислота лар микдори, г/л
L-лизин	<i>Brevibacterium flavum</i>	Треонин, метионин ёки гомосерин	Глюкоза сахароза	60-100
L-трионин	<i>Escherichia coli</i>	Лизин, метионин, изолейцин	Глюкоза	20
L-орнитин	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Аргинин	Глюкоза	26
L-фенил-аланин	<i>Arthrobacter parafineus</i>	Тирозин	н-алканлар	15
L-тирозин	<i>Corynebacterium sp.</i>	Фенилаланин	н-алканлар	19
L-валин	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Изолейцин	Глюкоза	11

Инсон организмидаги мутацион ўзгаришлар оғир касалликларни келиб чиқишига сабаб бўлади (оқ қон касаллиги). Мутацияга учраган ДНК молекуласини асл ҳолатига қайтиш жараёни- **ДНК репарацияси** дейилади. Репарация жараёни ДНКаза, ДНК-полимераза II ва ДНК-лигаза ферментлари иштирокида амалга оширилади. Бу ферментлар тизими ёрдамида ДНК структураси дастлабки мўътадил ҳолатига қайтади.

6.2. ГЕН МУҲАНДИСЛИГИНИНГ МОҲИЯТИ ВА ВАЗИФАЛАРИ

Вируслар билан прокариот ҳужайралар орасидаги материалнинг кўчирилишини, табиий шароитда бактерияларда ўтадиган рекомбинация механизмларини ўрганиш, плазмидалар ва мўътадил фагларнинг ҳужайрадаги ҳаётини тушуниш, генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш имкониятини беради. Олимлар кўлида ДНКнинг керакли бир қисмини бактерия ҳужайрасига кўчириб ўтказадиган система-плазмидалар

ҳам бор. Бундай трансмиссив кўчириб ўтказувчи халқали молекулалар-плазмидалар ва мўътадил вируслар **вектор** деб аталади (17-жадвал).

Улар табиатнинг ўзи биологларга тақдим қилган совға бўлади. Шундай экан, энди бактерияларни културада (улар ўсадиган муҳитда) инсонлар учун керакли оқсилларни, ферментларни синтезлашга мажбур қилиб бўлмасмикан деган савол туғилади?

Бу ғояларнинг амалда юзага чиқиши ген муҳандислиги ёки генетик муҳандислик деб аталадиган ва катта истиқболга эга бўлган янги соҳани дунёга келтирди.

17-жадвал

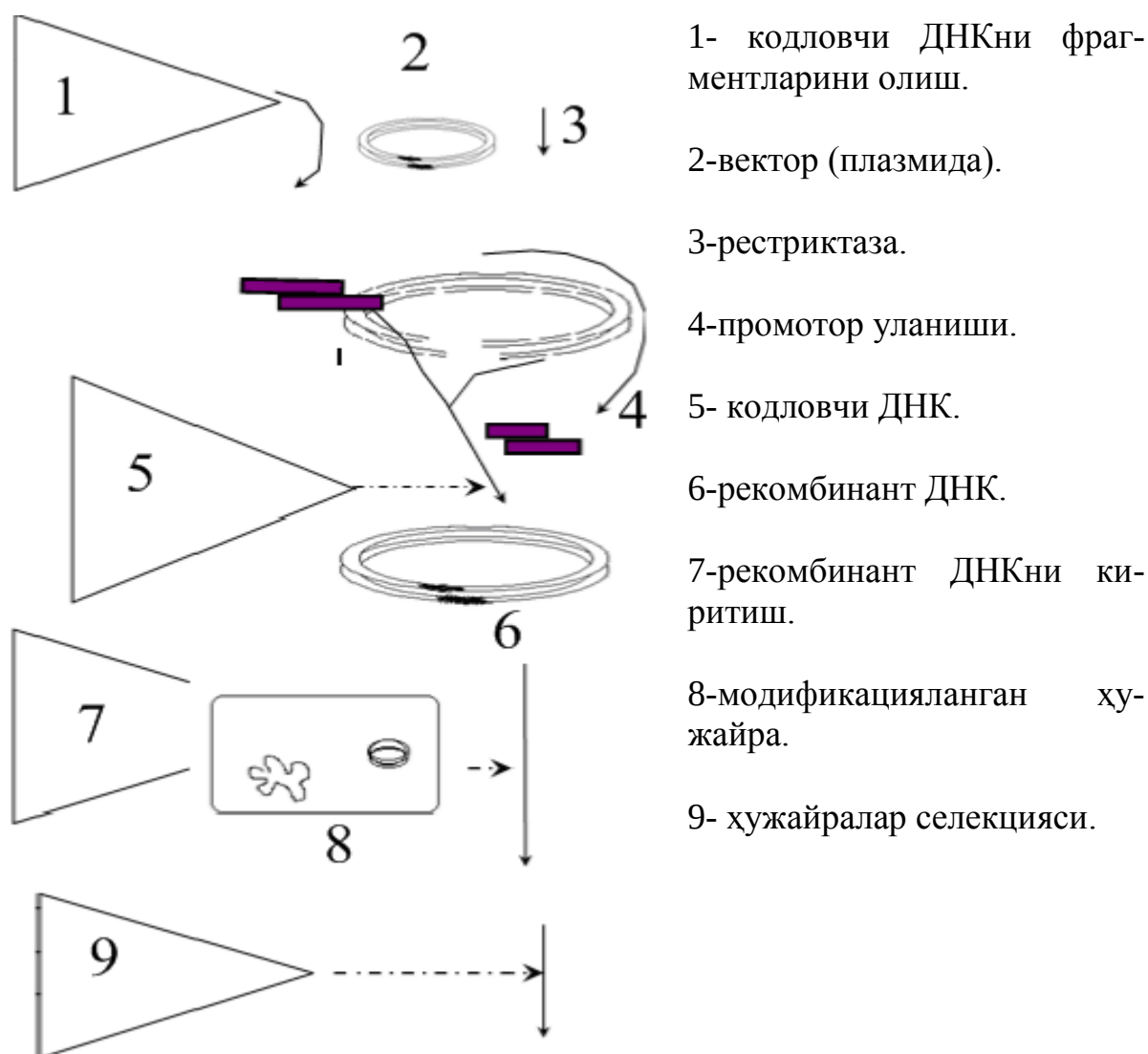
Биотехнологияда кенг қўлланиладиган баъзи бир векторлар тавсифи

Векторлар	Нусхалар миқдори	Ўлчами, минг нуклеотидлар
клонлаш учун плазмида векторлари: pBR 322 pACY 184	40-50 ~20	4,4 4,0
клонлашда махсус катталиқдаги векторлар: λ Chron 4A космида pHС 79	100-200 ~20	41,8 6,4
генлар экспрессияси учун плазмида векторлари: p trp ED5-1	40-50	6,7

Ген муҳандислиги қисқача айтганда, генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш, уларни тўла ўрганиш асосида функционал қисмларга бўлиш, керакли жойидан кесиш, керак бўлмаган қисмини олиб ташлаш, керак бўлган қисмларини бошқа генлардан ёки синтез йўли билан олиб улаш ва шу усулда тайёрланган дурагай ёки рекомбинант генни янги организмга киритиб (Масалан, одамнинг инсулин генини микроб ҳужайрага ёки сичқоннинг ўсиш гормони генини каламушга), зарур турларни ёки препаратларни синтез қилиш ва бошқа ғоялар ва технологияларнинг йиғиндисидир (9-чизма).

Айрим ДНК молекулалари-генларнинг бир турини кўп нусхасини ҳосил қилиш мақсадида илгаридан ҳужайраларнинг тоза линияларини олишда кўпдан бери ишлатилиб келинган, клонланиш техникасини молекулаларга мослаштирилган варианти қўлланилмоқда. Ҳужайра линияларининг бир хиллигини, клонлаш усули билан ҳам кучайтириш мумкин.

Клон-деб бирдан-бир олд ҳужайрадан келиб чиққан ҳужайралар популяциясига айтилади. Клонлаш асосан мутант ҳужайралар олиш учун ишлатилади. Молекуляр клонлаш ДНК нинг аниқ бир намунасини тоза ҳолда кўпайтиришдан иборат.



9-чизма. Ген муҳандислиги манипуляциялари механизми

6.3. ТРАНСПОЗОНЛАР

Транспозонларнинг кашф этилиши генетик муҳандисликнинг ривожланишида муҳим аҳамиятга эга бўлди.

Кўчиб юрувчи генетик элементлар-транспозонларни ўсимлик организмда АҚШ олимаси **Барбара Мак Клинтон**, микроорганизмларда АҚШ олими **Ахмад Бухорий** ва ҳашоратларда Россия олими **Георгий Георгиев** кашф этган.

Кўчиб юрувчи генетик элементлар аynи вақтда **транспозицион элементлар** ёки **транспозонлар** деб ҳам аталади. Транспозонлар хилма-хил структурага эга бўлсалар-да, барча транспозон молекулаларининг икки четида махсус нуклеотидлар изчиллиги, марказий қисмда эса ДНК молекуласининг белгиланган жойида "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилиб нотекис кесувчи транспозаза ферментини синтез қилувчи ген мавжуддир.

Транспозаза ферменти хужайрадаги ДНК молекуласини "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилиб кесади ва айна пайтда транспозон учларига қовуштиради. Ҳосил бўлган хромосома ДНК си ва транспозон ДНК сидан иборат қовушма хужайра ДНК бўлакларини боғловчи фермент лигаза таъсирида ўзаро боғланади.

Транспозонларнинг хужайра ДНК сига интеграцияси қуйидагича амалга ошади. Транспозонлар хромосомада ўз ўрнини ўзгартирганда ирсият ҳам ўзгаради. Одатда яшаш муҳити кескин ўзгарганда транспозонларнинг кўчиб юриши ортади. Шу сабабдан кўчиб юрувчи генетик элементлар иштирокида ген муҳандислигига асосланган кўпгина биотехнологик жараёнлар яратилган.

6.4. ПЛАЗМИДА, ФАГ ВЕКТОРЛАРИ ВА РЕСТРИКТАЗАЛАР

Бактерия ва тубан эукариот организмлар хужайраларида асосий хромосомадан ташқари, кичик ўлчамга эга бўлган халқасимон ёки чизиксимон структурага эга бўлган қўшимча хромосомалар мавжуддир – бу мини-хромосомалар - **плазмидалар** деб аталади.

Плазмида ДНК си кўпи билан 3-10 тагача генларни ўзида сақлайди. Бу генлар, асосан антибиотик ёки захарли токсинларни парчаловчи ферментларни синтезига жавобгардир. Шу туфайли плазмидалар бактерия, ачитқи ва замбуруғларнинг антибиотик ва захарли токсинларга чидамлилигини таъминлайди.

Плазмиданинг антибиотик парчаловчи генлари бир плазмидадан иккинчисига транспозонлар билан бириккан ҳолатда ҳам кўчиб ўта олади. Бу молекуляр жараён касал чақирувчи микробларнинг антибиотикларга чидамлилигини ниҳоятда оширади. Плазмидалар ўз хусусиятига кўра иккига бўлинади:

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

Иккинчи - тоифа плазмидалар автоном ҳолда репликацияланувчи плазмидалар деб аталади. Бундай плазмидалар асосий хромосомага бирика олмайди, асосий хромосомалардан мустақил равишда ўз-ўзини репликация йўли билан ўнлаб ва ҳатто юзлаб марта кўпайтира олади. Автоном плазмидалар бактерия ёки

замбуруғ бўлингanda қиз ҳужайралар орасида тасодифий равишда тақсимланади. Шу билан бирга автоном плазмида бир ҳужайрадан иккинчисига ҳужайра қобиғи ва мембранасининг тешикларида ўта олади.

Табиатда бирор микроорганизм ҳужайрасига ташқаридан ёт генетик материал кирса, у дарҳол ҳужайра нуклеаза ферментлари томонидан парчаланади. ДНК молекуласини майда бўлақларга бўлувчи ферментлар - **кесувчи эндонуклеазалар ёки рестриктазалар** деб аталади.

Ҳар бир рестриктаза тўрт ёки кўпроқ махсус нуклеотид жуфтларни таниб олиб боғланади ва ДНК молекуласини кесади. Айрим рестриктазалар ДНК қўш занжирини қайчи сингари шартта икки бўлаққа бўлади. Бундай рестриктазаларга Alu I, Dra I, Hae III, Hpa I, EcoR V, Hinc II, Pvu II, Rsa I, Sca I, Sma I ва бошқаларини мисол қилиб келтириш мумкин (18-жадвал).

18-жадвал.

Ген муҳандислигида қўлланиладиган баъзи бир рестриктазалар тавсифи

Рестриктазалар	Рестриктаза олинган микроорганизмлар	Рестриктазаларнинг “аниқлайдиган” ва кесадиган охириги учлари
Eco RI	<i>Escherichia coli</i> RI	-G-A-A-T-T-C- -C-T-T-A-A-G-
Hind III	<i>Haemophilus influenzae</i>	-A-A-G-C-T-T- -T-T-C-G-A-A-
Sal I	<i>Streptomyces albus</i>	-G-T-C-G-A-C- -C-A-G-C-T-G-
Bam I	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	-G-G-A-T-C-C- -C-C-T-A-G-G-
Hpa II	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-C-C-G-G- -G-G-C-C-
Alu I	<i>Arthrobacter luteus</i>	-A-G-C-T- -T-C-G-T-
Hae III	<i>Haemophilus aegyptius</i>	-G-G-C-C- -C-C-G-G-
Sma	<i>Serratia marcescens</i> SD	-C-C-C-G-G-G- -G-G-G-C-C-C-

Шу билан бирга қўш занжир ДНК молекуласини "ёпишқоқ" учлар ҳосил қилиб кесувчи рестриктазалар ҳам мавжуд (Aat II, Acc III, Apa I, Bam HI, EcoRI, Hind III ва бошқалар). Бу рестриктазалар функцияси жиҳатдан транспозазага ўхшашлиги кўриниб турибди. Шунинг учун ҳам бу рестриктазалар ҳосил қилган "ёпишқоқ" учлардан фойдаланиб, ҳар хил ДНК бўлақларини бир - бирига боғлаш осонлашади. Ана шу хусусияти туфайли бу хил рестриктазалар ген муҳандислигида кенг қўлланилади. Ҳозирги кунгача 500 дан ортиқ хилма хил рестриктазалар тоза ҳолда ажратиб олинган ва ўрганилган.

Одатда, микроорганизм ирсий моддасининг хромосомаси бир нечта миллион нуклеотид жуфтлари изчиллигидан иборат. Ўсимлик ёки ҳайвон геноми бир неча юз миллиондан то 1 миллиардгача нуклеотид жуфтлари изчиллигидан тузилган. Бундай йирик молекулани юқорида қайд қилинган хилма-хил рестрикцион эндонуклеазалардан фойдаланиб, кўплаб бўлақларга бўлиш мумкин.

Эндонуклеаза иштирокида парчаланган ДНК бўлақлари электрофорез ускунасида махсус молекуляр "элак" тешикларидан юқори кучланишли электр майдони таъсирида молекуланинг заряди ва ўлчамига биноан ажратилади. ДНК бўлағи махсус бўёқ билан бўяш натижасида ультрабинафша нурлари ёрдамида оддий кўз билан кўрилади.

ДНК нинг майда бўлақлари электр майдонида гел ғовакларидан йирик бўлақларга нисбатан тез ҳаракат қилгани учун уларнинг стартдан босиб ўтган масофасини ўлчаб ДНК бўлагининг катта-кичиклиги аниқланади. Электрофорез ускунасида бир-биридан фақат бир нуклеотид кам ёки кўплиги билан фарқланувчи ДНК бўлагини ажратиш мумкин. Рестрикцион эндонуклеаза ферментларининг очилиши ва электрофорез ускунасида ДНК бўлақларини ўта аниқлик билан бир-биридан ажратишнинг такомиллашуви, йирик ДНК молекуласидан исталган ДНК бўлагини ажратиш олиш имконини беради.

Хулоса қилиб айтганимизда, ген муҳандислиги биотехнологиясининг моддий асосларига, бактерияларни клонлаш, трансформация ва трансдукция жараёнлари, транспозонлар, плазмидалар ва рестрикцион эндонуклеаза ферментларини тўла фундаментал асосларини ўрганиш киради. Юқорида қайд қилинган биологик фаол моддалар ген муҳандислиги биотехнологиясининг амалий жараёнларида ўта қимматли омил ҳисобланади.

6.5. РЕКОМБИНАНТ ДНК ОЛИШ УСУЛЛАРИ

Сунъий шароитда рекомбинант ДНК олиш ва генларни клонлаш илк бор 1972 йилда АҚШ олимлари **Бойер** ва **Коэн** томонидан амалга оширилган. Бу олимлар *E.coli* бактериясининг хромосома ДНК сига ва шу бактерия плазмидасига алоҳида идишларда *EcoRI* рестриктаза ферменти билан ишлов берганлар. Плазида таркибида фақат 1 донга *EcoRI* рестриктаза ферменти таниб кесадиган махсус нуклеотидлар кетма-кетлиги бўлганлиги сабабли фермент плазмиданинг халқасимон ДНК қўш занжирини фақат бир жойдан кесиб, плазмидани «ёпишқоқ» учли очик ҳолатга ўтказди. Хромосома ДНК молекуласида *EcoRI* рестриктаза ферменти таний оладиган махсус нуклеотидлар кетма-кетлиги қанча бўлса, бу молекула шунча бўлакка бўлинади.

Турли хил ўлчамга эга бўлган ДНК молекуласи электрофорез услуби ёрдамида ажратиш олинади. Ажратиш олинган «ёпишқоқ» учли хромосома ДНК си бўлағи очик ҳолатдаги «ёпишқоқ» учли плазида ДНК си билан

аралаштирилиб лигаза ферменти ёрдамида тикилади (уланади). Натижада плазмида таркибига хромосома ДНК бўлаги киритилади.

Шу боисдан рекомбинант ДНК га қуйидагича тариф бериш мумкин: ҳар қандай тирик организм ирсий молекуласининг исталган бўлагини вектор молекулаларига бирикишдан ҳосил бўлган сунъий ДНК - рекомбинант ДНК дейилади.

Рекомбинант ДНК олишнинг учта усули мавжуд:

- коннектор усули;
- рестриктаза-лигаза;
- линкер молекулаларидан фойдаланиш усули.

Коннектор усулида - рекомбинацияда иштирок этувчи ДНК бўлагининг 3' учига дезоксинуклеотидил-трансфераза ферменти ёрдамида маълум узунликдаги олиго (dA) - сегменти уланади. Иккинчи учига эса олиго (dT) - сегменти уланади. Бу ДНК бўлаклари аралаштирилганда dA ва dT сегментларнинг водород боглари асосида комплементар бирикиши туфайли халқасимон ДНК структураси ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган ДНК даги бир занжирли бўи жойлар ДНК-полимераза I ферменти ёрдамида тўлдирилади.

Рестриктаза-лигаза усули - рекомбинант ДНК олишнинг энг содда ва осон усули ҳисобланади. Бу усулда ДНК молекуласи ва вектор плазмида «ёпишқоқ» учлар ҳосил қилувчи рестриктаза билан қирқилади ва аралаштирилган ҳолда маълум шароитда реассоциация қилинади. Комплементарлик хусусиятига кўра ДНК молекулалари ўзаро водород боглари ёрдамида бирикиб халқасимон структура ҳосил қилади ва ДНК занжирининг бирикмаган жойлари ДНК-лигаза ферменти ёрдамида уланади.

Линкер молекулаларидан фойдаланиш усулида - ДНК молекуласига ва вектор плазмидага T4 фаг ДНК-лигаза ферменти ёрдамида махсус нуклеотид кетма-кетлигига эга бўлган линкер молекула уланади. Олинган икки турдаги ДНК молекуласи рестриктаза ферменти ёрдамида қирқилиб, аралаштирилган ҳолда қайтадан ассоциация қилинади. ДНК ва вектор плазмида молекулаларининг бирикмаган жойлари ДНК-лигаза ферменти ёрдамида уланади. Шу йўсинда рекомбинант ДНК молекуласи ҳосил бўлади.

6.6. ВЕКТОР МОЛЕКУЛАЛАР, ГЕНЛАР БАНКИНИ ЯРАТИШ ВА АЛОҲИДА ГЕНЛАРНИ АЖРАТИШ ТЕХНОЛОГИЯСИ

Рекомбинант ДНКни автоном репликация бўлиши учун жавоб берадиган ДНК бўлаги - **вектор молекулалари** дейилади.

Вектор молекулалар ўз вазифасига кўра икки типга бўлинади:

Биринчиси -автоном репликация бўлувчи векторлар.

Иккинчиси - хромосомага интеграция бўлувчи векторлар.

Вектор молекулалар ген муҳандислиги биотехнологиясида генларни клонлашда ва трансформация қилишда асосий иш қуроли бўлиб хизмат қилади. Вектор молекулалари вазифасини фаг ДНК лари, плазмидалар ва ўсимликларни хлоропласт ҳамда митохондриял ДНК лари ўташи мумкин.

Хўжалик аҳамияти қимматли бўлган генларни ажратиш учун ген банки тузилади. Хромосомал ДНК асосида ген библиотекасини тузиш қуйидагича амалга оширилади:

ДНК ва вектор молекулалар рестриктаза ферменти ёрдамида қирқилади ва маълум шароитда қайтадан ассоциация қилинади;

Нуклеотидлар орасида уланмай қолган бўшлиқ ДНК-лигаза ферменти ёрдамида ўзаро бириктирилади;

Олинган рекомбинант ДНК бактерия ҳужайрасига трансформация қилинади.

Хромосомал ДНК да мавжуд генларни тўла клонлаш учун ДНК ўлчамига ва олинган клонларни сонига эътибор бериш керак. Бу кўрсаткич қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланади:

$$N = \frac{\frac{\ln(1-p)}{p}}{\ln(1-x/y)}$$

бунда, х-клонланаётган ДНК ўлчами, у-гаплоид геномнинг ўлчами ва $p=0,99$ га тенг бўлса, 99% хромосомал ДНК нинг мос қисми клонланади.

Генларни клонлашда кўпинча кДНК библиотекасини тузиш мақсадга мувофиқдир. Бу ҳолда махсус поли (Y) ва олиго (dT) колонкалари ёрдамида учларида поли (A) нуклеотидлар кетма-кетлигини сақловчи иРНК, тРНК ва рРНК дан ажратиб олинади. Олинган иРНК молекуласи олиго (dT) нуклеотидлари билан аралаштирилиб реассоциация қилинади.

Бунда иРНК молекуласининг поли (A) учиди dA-dT қўш занжирли сегмент ҳосил бўлади. Ушбу икки занжирли сегментнинг олиго (dT) учи кДНК синтезини амалга оширувчи ревертаза ферменти учун праймер (кДНК синтезининг бошланиш нуқтаси) вазифасини ўтайди.

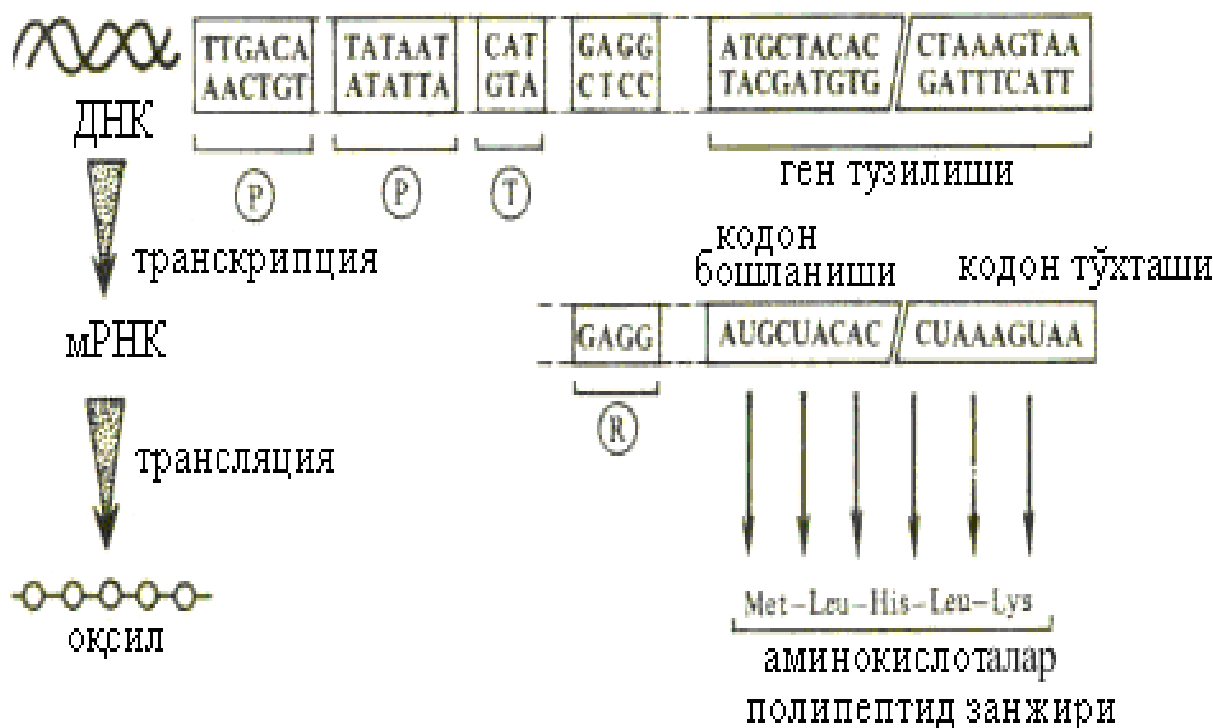
Синтез қилинган кДНК молекуласи қисқа учли икки занжирли структура билан тугалланади. кДНК синтезида матрица вазифасини ўтаган иРНК молекуласи NaOH билан парчаланади, натижада қисқа икки занжирли ва тўлиқ иРНК молекуласига комплементар бўлган бир занжирли кДНК молекуласи ҳосил бўлади.

Ҳосил бўлган қисқа икки занжирли структура кДНК нинг иккинчи занжирини синтез қилишда праймер вазифасини ўтайди. ДНК-полимераза I ферменти ёрдамида кДНК нинг иккинчи занжири синтез қилинади. Ҳосил бўлган кДНК нинг бир занжирли қисми SI-нуклеаза ферменти ёрдамида парчаланади ва икки занжирли кДНК молекуласи ҳосил бўлади. Шу йўсинда ҳосил бўлган кДНК молекуласи вектор молекулаларига уланган ҳолда клонланади.

Ҳар икки усул билан яратилган геном библиотекасида индивидуал генларни ажратиб олиш қуйидагича амалга оширилади - рекомбинант плазмида денатурация қилинади (100°C ҳароратда 5 мин., 0,2 Н NaOH эритмасида 15 мин.), бир занжирли ДНК молекуласи стабил қўзғалмайдиган ҳолатда туриши учун нитроцеллюлоза фильтрига бириктирилади. Олинган филтр [γ - ^{32}P] АТФ нуклеотиди билан нишонланган иРНК молекуласи билан гибридизация қилинади.

Молекуляр гибридизация жараёнида фильтрга бириккан рекомбинант ДНК молекуласига комплементарлик қонунияти асосида нишонланган иРНК молекулалари бирикади.

Ҳосил бўлган гибрид ДНК молекуласи денатурация қилиниб, нишонланган иРНК молекуласи ажратиб олинади (элюция ёрдамида). Олинган иРНК молекуласи хужайрасиз оқсил синтез қилиш тизимида текшириб кўрилади. Ҳосил бўлган оқсил молекуласини идентификация қилиш йўли билан индивидуал генларни ажратиб олиш амалга оширилади.

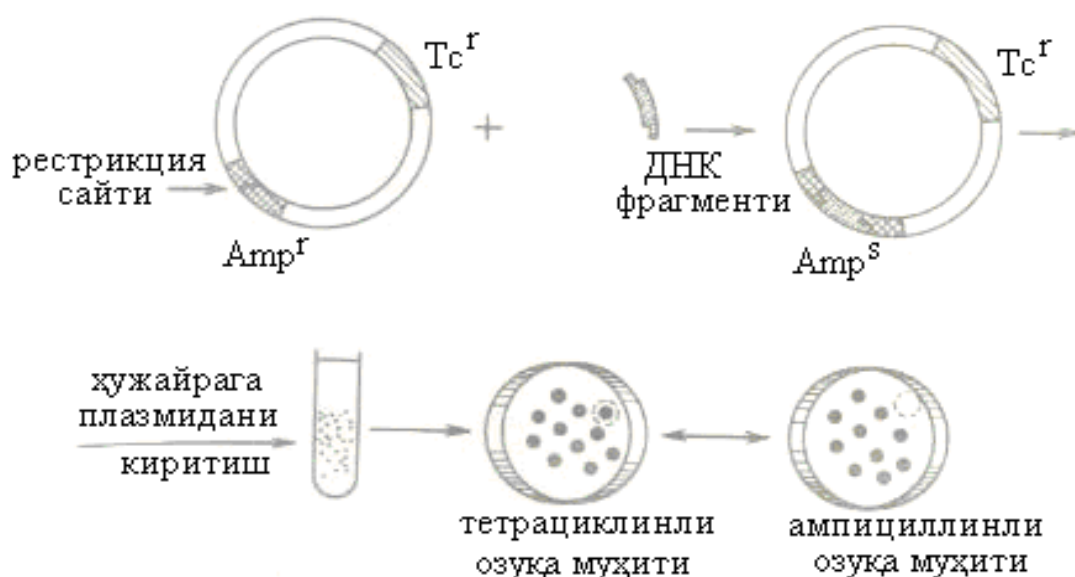


10-чизма. Прокариотларда ген экспрессияси

P – промоторлар – РНК-полимеразалар боғланувчи сайтлар;

T- транскрипцияни кучайтирувчи сайт;

R- рибосомалар боғланувчи сайт.

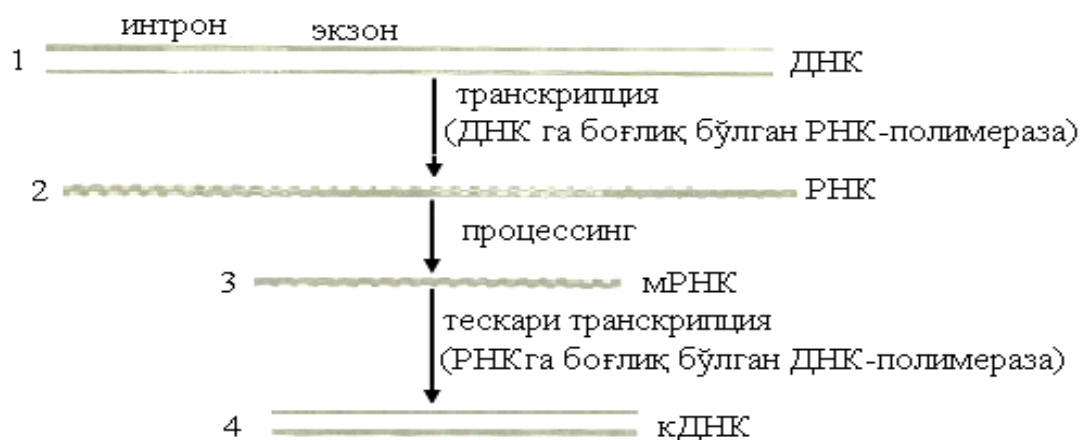


11-чизма. Вектор ёрдамида клонланувчи ДНК киритилган колонияларни аниқлаш



12-чизма. Эукариотнинг полипептиди ва β-галактозидазадан ташкил топган химерли оксилни конструкция қилинган ген ахбороти асосида синтез қилиниши

Ҳар иккала пептид метионин (Met) билан боғланган. Бромцианид таъсирида химер молекула метионин турган жойдан парчланади.



13-чизма. мРНК ахбороти асосида геннинг синтезланиши
1-эукариот ген; 2-ДНК матричасига РНК транскрипцияси; 3-процессинг – оқибатида интронлар сақламайдиган, етилган мРНК ҳосил бўлади; 4- мРНК матричасида кДНК синтези.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Озиқ-овқат маҳсулотлари саноати биотехнологиясида ген муҳандислиги соҳасини ўрганишдан мақсад нима?
2. Ген муҳандислиги усуллариининг имкониятларини айтиб беринг.
3. Ген муҳандислиги қандай даражаларда амалга оширилади?
4. Грансген – организм нима?
5. ДНК репликацияси ҳақида маълумот беринг.
6. Трансляция, трансформация ва транскрипция жараёнлари ҳақида маълумот беринг.
7. Генетик код нима?
8. Атамааторлар деганда нимани тушинасиз?
9. Мутация нима?
10. Клон нима?
11. Клонлаш жараёнига изоҳ беринг.
12. Транспозонлар нима?
13. Плазмидаларга таъриф беринг.
14. Рестриктазаларга изоҳ беринг.
15. Рекомбинант ДНК олиш усуллариини айтиб беринг?
16. Вектор молекулалари нима ва уларнинг типларига изоҳ беринг.
17. Лигаза ферментига изоҳ беринг.

АДАБИЁТЛАР

1. Биотехнология: принципы и применение / под ред. И.Хиггинса, Д.Беста и Дж.Джонса. 1988.М. «Мир». 296-324с.
2. Hardy K.G., 1981. Bacterial Plasmids, Van Nostrand Reinhold, London.
3. Альбер Сассон Биотехнология: свершения и надежды 1987 М. «Мир» 26-115с.

7. ХУЖАЙРА ВА ТЎҚИМАЛАР БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

(ўсимликшунослик асосида)

7.1. ХУЖАЙРА БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

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

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

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

Ажратиб олинган хужайралар ва тўқималарни биотехнологиядаги ролини уч йўналишда кўриш мумкин:

Биринчи йўналиш - *ажратиб олинган ўсимлик хужайрасини тиббиёт, ветеринария, косметика ва бошқа соҳалар учун зарур бўлган иккиламчи метаболитлар : алколоидлар, стероидлар, глюкозидлар, гормонлар, эфир мойлари ва бошқа биологик фаол моддалар синтез қилиш имконияти билан боғлиқ. Маълумки, иккиламчи метаболитлар қаттиқ (агарли) ёки суюқ озиқа муҳитида ўстирилган каллус тўқималардан олинади. Хужайра технологияси асосида диосгенин – диоскоре хужайрасидан; аймолин – илон рацвольфи хужайрасидан; умумий куч берувчи моддалар – женъшен хужайрасидан ажратиб олинади ва тиббиёт ҳамда парфюмерияда ишлатилади. Шунинг эътиборга олиш керакки, ўстириладиган хужайраларни ҳосилдорлиги, бутун ўсимликни*

ҳосилдорлигидан анча баланд. Бундай усул билан иккиламчи метаболитлар ажратиб олишни яна бир устунлик томони шундаки, муайян шароитда ўсимликни ўзини ўстириши имконияти бўлмаган шароитда (совуқ ёки иссиқ иқлимли минтақаларда), уларни ҳужайраларини бутун йил мабойида ўстириши мумкин.

Иккинчи йўналиш – ажратиб олинган ҳужайраларни, ўсимликлар селекциясида ишлатиши ва шу орқали тез ривожланувчи, ҳар хил таъқи муҳит таъсирига чидамли (иссиққа, совуққа, шўрланишга, оғир металлларга, қурғоқчиликка, касалликка ва ҳ.к.) ўсимликлар яратиши. Шунинг билан бирга бу йўналиш, ажратилган протопластларни қўйишиши орқали янги ўсимликлар яратиши ҳамда ножинсий (сомотик) гибридлар олишни ҳам ўз ичига олади. Ажратиб олинган протопластларга ген муҳандислиги усуллари ёрдамида бегона генларни киритиши, кейинчалик янги, мерос қоладиган хоссаларга эга бўлган ўсимлик яратишга ҳам олиб келади. Ажратиб олинган чангдон ва уруғ куртасни сунъий озиқа муҳитида ўстириши, гаплоидлар олиши имконини берса, муртакларни ўстириши – ўсаолмайдиган (эндоспермаси ёмон ривожланган) ўсимликлардан гибрид уруғлар етиштириши имконини беради.

Учинчи йўналиш – ажратиб олинган тўқималарни кўпайтириши ва экув материалларини вируслар ҳамда бошқа патогенлардан соғломлаштириши мақсадида ишлатиши. Бу усул, ўсимликларни клонал микрокўпайтириши дейилади ва битта меристемадан йилига юз минглаб ўсимлик олиши имконини беради.

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

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

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

тирик ўсимлик ҳужайрасини тотипотентлиги яъни ҳужайраларни маълум шароитда ўстирилганда ўзини ривожланиш потенциалини намоён қилиши ва бутун ўсимлик ҳосил бўлишига бошлаши ҳақида гипотеза эълон қилган эди.

- II-босқич (1902-1922 йиллар) – ҳайвон тўқималарини ўстириш учун биринчи озиқа муҳити яратилганлиги билан нишонланади. Бу озиқа муҳитлари табиий бўлиб, таркибида қон плазмаси (қонни суюқ қисми) ва куртак суюқлиги сақлаган. Ажратиб олинган ўсимлик тўқималарини ўсимлик экстрактлари сақлаган сунъий озиқа муҳитида ўстириб кўриш мувоффақиятсиз чиққан, чунки экспериментларда юксак ўсимликларни ўсиш фаоллигини намоён қилишга тўғри келмайдиган ҳужайра ва тўқималаридан фойдаланилган.
- III-босқич (1922 – 1932 йиллар). Бу даврда бир-бирлари билан боғлиқ бўлмаган ҳолда Америкалик олим **В.Робинс** ва немис олими **Комте** қаттиқ озиқа муҳитида помидор ва маккажўхори илдизи учидаги меристемааларни ўстириш мумкин эканлигини намоёни қилганлар. Аммо, маълум вақт ўтгач, ўсимлик тўқималари қўнғир ранга кириб, халок бўлганлар. Ўсимликларни тўқималарини ўстириш усулининг ривожланиши – 1932 йилдан бошланган.
- IV-босқич (1932–1940 йиллар), француз олими Р.Готре номи билан боғлиқ. У, **in vitro** шароитида ўсимлик тўқималарини вақти- вақти билан тоза озиқа муҳитига кўчириб туриш орқали узоқ вақт ўстириш мумкинлигини намоёни қилган. Бу янгилик, тўқималар технологиясини ривожланишига катта ҳисса қўшди ва ўстиришга қўйиладиган ўсимликлар сони жуда ҳам кўпайди.
- V-босқич (1940–1960 йиллар). 1955 йилда янги синфга мансуб фитогормон – цитокининларни ихтиро қилиниши, (хусусан кинетинни) ҳужайраларни бўлинишини кучайтириш имконини яратди. Ўсишни кучайтирувчи моддаларни миқдори ва уларни нисбатига қараб, эксплант ҳужайрасининг бўлинишини кучайтириш, каллус тўқималарни ўсишини муҳофаза қилиш, морфогенезни кучайтириш мумкин эканлиги намоёни этилди. Шу даврда какос ёнғогини, каштан, маккажўхори ва бошқа ўсимликлар эндоспермаларини ҳужайрани ўсиши, морфогенез жараёнлари (калус тўқима ва ҳужайра суспензиясида) га ижобий таъсир кўрсатиши аниқланган.
- VI-босқич (1960 – 1975 йиллар). Бу даврни энг муҳим воқеаси Ноттинген университети профессори **Э.К.Коккинг** томонидан ферментатив йўл билан помидорини илдизи ва мевасидан протопластлар олиниши ва уларни назорат қилиниб турилган шароитда ўстирилганлиги бўлган. Кейинроқ шу лабораторияда Пауэр ўзини шогирдлари билан протопластларни сунъий қўйилиш шароитларини яратишган. Бу эса, соматик гибридлар яратишда янги йўл бўлиб хизмат қилган. Ўша даврда яратилган яна бир усул – бу ўсимликларни **in vitro** шароитида меристема культуралар ишлатиб

микро кўпайтиришдир. Дастлаб бу усул француз олими **Ж.Морел** томонидан орхидей ўсимлигини соғлом кўчатини олиш мақсадида яратилган.

- VII-босқич – (1975 йилдан ҳозирги вақтгача). **In vitro** техникасини жадаллик билан ривожланиши, ўстириладиган манбаларни биологиясини ўрганиш давом этмоқда. Ажратилган протопластларни электро қовуштириш усуллари ишлаб чиқилмоқда, мутагенез ва ҳужайра селекцияси усуллари, гаплоидли ўсимликлар яратиш усуллари, ҳужайраларни ажратилган протопластлар ва *Agrobacterium tumefaciens* ва *Agrobacterium rhizogenes* асосида тайёрланган Ti ва Ri плазмид векторларни ишлатиб суюқликда ўстириш усуллари мукаммаллаштирилмоқда. Ген муҳандислиги усуллари ёрдамида икки паллали ўсимликларни генларини кўчириб ўтказишни самарали усуллари ишлаб чиқилди.

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

7.2. АЖРАТИБ ОЛИНГАН ҲУЖАЙРА ВА ТЎҚИМАЛАРНИ ЎСТИРИШ ТЕХНИКАСИ

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

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

Эксплантни стерилизацияси, шунингдек, уруғлар ҳам 5-20 минут давомида стерилизация қилувчи эритмада ушлаб туриш, кейин эса стерил сув билан ювиб ташлаш орқали амалга оширилади. Стерилизация даври эксплантни характериға ҳамда эритмани стерилизация қилиш хусусиятиға боғлиқ. Одатда уруғ 10-20 мин, вегетатив қисмлар эса 5-10 мин. давомида стерилизация қилинади. Стерилизация қилувчи эритмаларға мисоллар 16-жадвалда кўрсатилган.

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

Манба	Стерилизация вақти, мин			
	0,1% ли диацид	0,1% ли кумуш хлорид (AgCl ₂)	5-9% ли гипохлоритлар (Na, Ca)	10-12% ли водород пероксиди (H ₂ O ₂)
Уруғлар				
курук	15-2	10-15	15-20	12-15
намланган	6-10	6-8	10-15	6-8
Тўқималар				
сутли илдиз, илдизмева	20-3	15-25	15-20	-
дарахтланган поя	20-4	20-25	20-25	-
барглар	1-3	1-3	3-6	3-5
апекслар	1-10	1-7	3-15	2-7

Эксплант олинмоқчи бўлган ўсимлик органи, дастлаб совунли сув билан шеткалар ёрдамида яхшилаб ювилади ва дистилланган сув билан чайиб ташланади, кейин эса бир неча секунд давомида 70 % ли этанолга ботириб олинади. Уруғлар спиртта 1-2 мин. ушлаб турилади. Тўқималарга спирт билан ишлов бериш, уни стерилизация қилиш хоссасидан ташқари, асосий стерилизация қилувчи эритмани таъсирини кучайтириши билан ҳам боғлиқ. Стерилизациядан кейин ўсимлик объектлари стерилланган сув билан тозалаб ювиб ташланиши керак. Сиртқи стерилизация эксплантни фақат ташқи инфекциядан озод қилади. Агар эксплант тўқималари ички инфекцияга эга бўлсалар, уларга антибиотиклар билан ишлов беришга тўғри келади. Айниқса, ички инфекцияга йирик томирли тропик ва субтропик ўсимликлар бой бўлишади. Культураларни замбуруғлар ёки бактериялар билан ифлосланиши экилгандан 1-14 кун ўтганда кўзга ташланади. Ёруғлик хонасидаги ҳавони ифлосланишдан сақлаш учун ифлосланган культурани дарҳол йўқотиш керак.

Озиқа муҳитларини автоклавда 120⁰С да 0.75 – 1,0 атм. босимда 20 минут давомида стерилизация қилинади. Агар озиқа муҳити таркибига юқори ҳароратда парчаланадиган моддалар кирса, уларни алоҳида совуқ стерилизация қилинди. Уларни тешиклар диаметри 0,22–0,45 мкм бўлган бактериал филтрлардан ўтказилади ва автоклавдан чиққан озиқа муҳитини 40⁰С гача совутиб, кейин уларни аралаштирилади. Олдиндан фольгага (алюмин қоғоз) ёки ўрайдиган қоғозга ўралган идишларни куруқ иссиқ билан курутгич шкафларида 160⁰С да икки соат давомида стерилизация қилинади.

7.2.1. Озиқа муҳити

Ажратиб олинган хужайралар ва тўқималарни ўстириш учун мўлжалланган озиқа муҳитлари, ўсимликларни яхши ўсиши учун керак

бўлган барча макроэлементлар (азот, фосфор, калий, кальций, магний, олтингугурт ва бошқалар) ва микроэлементлар (бор, марганец, рух, мис, молибден ва бошқалар) ҳамда витаминлар, углеводлар, фитогормонлар ёки уларни синтетик аналогларини сақлаши керак. Баъзи озиқа муҳитлари аминокислоталар, казеин гидролизати, ЭДТА (этилендиаминтетрасирка кислота) ёки уни натрийли тузи (бу туз темирни хужайрага киришига ёрдам беради) ва бошқа керакли моддалар сақлайди.

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

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

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

Ауксин манбаи сифатида озиқа муҳитига 2,4-дихлорфенокси сирка кислота (2,4-Д), индолил-3-сирка кислота (ИУК), L-нафтил сирка кислота (НУК) қўшилади. Яхши ўсувчи каллус олиш учун кўпроқ 2,4-Д дан фойдаланилади, чунки ИУК, 2,4-Д га нисбатан 30 маротаба кучсиздир.

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

Ҳозирги пайтда жуда кўп сонли озиқа муҳитларнинг таркиби аниқ бўлсада, ажратиб олинган ўсимлик тўқималарини *in vitro* шароитида ўстириш учун Т.Мурасига ва Ф.Скуга муҳитлари ишлатилади. Бу муҳитни таркиби биринчи маротаба 1962 йилда эълон қилинган ва у жуда яхши балансланган озиқа моддалари таркибига эга ва бошқалардан аммонийли ва нитратли азотни нисбати билан фарқ қилади (17-жадвал).

Қаттиқ озиқа муҳит тайёрлаш учун агар-аграр ишлатилади. Агар-агар денгиз сув ўтларидан олинадиган полисахариддир. Вақтдан унумли фойдаланиш мақсадида, макро- ва микроэлементлар эритмалари ҳамда витаминлар ва фитогормонлар куюкроқ қилиб тайёрланади ва совуқ шароитда сақланади ҳамда керак бўлганда суюлтирилиб ишлатилади.

**Ўсимликларни ажратиб олинган тўқималарини ўстириш учун
ишлатиладиган озиқа муҳитларини таркиби**

Озиқа муҳити компонентлари	миқдори, мг/л			
	Мурасига- Скуга	Гамборг	Шенк- Хильдебрандт	Грессхофф-Доу
NH_4NO_3	1650	2500	2500	-
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	-	-	300	-
KNO_3	1900	-	-	1000
$\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150
$\text{Mg SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	400	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	130	-	-
KH_2PO_4	170	-	-	-
$\text{Na}_2\text{ЭДТА}$	37,3	37,3	20,0	37,3
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,95	27,85	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	-	150	-	90,0
H_3BO_3	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
Глицин	2,0	-	-	2,0
Мезоинозит	100	100	1000	10
Никотин кислотаси	0,5	1,0	5,0	1,0
Пиридоксин-HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Тиамин HCl	1,0	10,0	5,0	-
2,4-дихлорфенон-сирка кислотаси (2,4-Д)	-	0,1-1,0	-	-
Кинетин	-	0,1	0,1	-
Глутамин	-	-	-	2,0
Сахароза	30000	30000	30000	20000

7.2.2. Ўстириш шароити

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

Морфогенезга аниқланган тўқималар ёруғликга ўтказилиб, кейин 1000-4000 лк ёруғликда ўстирилади. Ажратиб олинган меристемалар ва

уларни микрокўпайтириш ҳам ёруғликда ўтади. Ёруғ уйчани ёруғлиги 1000–10000 лк бўлиши керак ва ёруғликни кучи ўсимликни хусусиятларига боғлиқ. Ўстириладиган объектни фото даврини ҳам ҳисобга олиш керак.

Ўстириладиган хонада намлик 60-70% бўлиши керак. Ундан курукрок ҳаво озиқа муҳитини қуритиб юборади, агар пробирка пахтали тикин билан беркитилган бўлса, озиқа моддаларини концентрацияси ўзгариб, ўстириш шароити бузилади.

Кўпчилик тўқималарни ўстириш учун мўътадил ҳарорат 25-26⁰С. Агар тропик ўсимликларни тўқималари бўлса 29-30⁰С да ўстирилади. Морфогенез индукция қилинганда ҳарорат 18-20⁰С гача туширилади. Одатда иқлим камераларидан фойдаланилади.

7.3. КАЛЛУС ТЎҚИМАЛАР КУЛЬТУРАСИ

7.3.1. Умумий ҳолати

Ажратилган тўқималар культураси одатда каллусли ёки шиш (жуда кам ҳолатда) тўқима бўлиши мумкин. Каллусли культура табақалашмаган (дедифференцированный) ҳужайралардан ташкил топган, тартибсиз тўқималардир. Кейинроқ улар каллуслига ихтисослашади, яъни ўзига хос равишда табақалашади. **Каллус** - дегани кадоқ (қотиб қолган) деган маънони англатиб, *in vitro* шароитида алоҳида олинган тўқималарни (эксплантлар) бир қисмида ва бутун ўсимликни бир қисмида (шикастланганда) пайдо бўлиши мумкин.

in vitro шароитида каллус тўқима, асосан оқ ёки сарикрок, жуда ҳам кам ҳолатларда оч-яшил рангда бўлади. Каллус ҳужайралар қариганда, тўқ қўнғир рангга кирадилар, бунга сабаб уларда фенол бирикмаларини тўпланиши билан боғлиқ. Вақт ўтиши билан феноллар оксидланиб, линонга айланадилар. Улардан қутулиш мақсадида озиқа муҳитига антиоксидантлар қўшилади.

Каллус тўқималар аморф бўлиб, маълум бир анатомик тузилишга эга эмаслар, аммо келиб – чиқиши ва ўстириш шароитига қараб ҳар хил консистенцияга (суёқ - қуюқ ва ҳ.к) эга бўлади:

- *Биринчи – уваланиб кетадиган, пўк ҳолатда кичик агрегатларга енгил майдаланиб кетадиган, кучли сувланган ҳужайралар;*
- *Иккинчи – ўрта зичли яхши намоён бўлиб турадиган меристемали ўчоқлар;*
- *Учинчи – зич ҳолатда, унда камбий (ўсимлик пўстлоғи тагидаги бўлинувчан ҳужайралар) элементлари ва ўтказувчи тизим табақалашган (дифференциация) ҳолатда учрайди.*

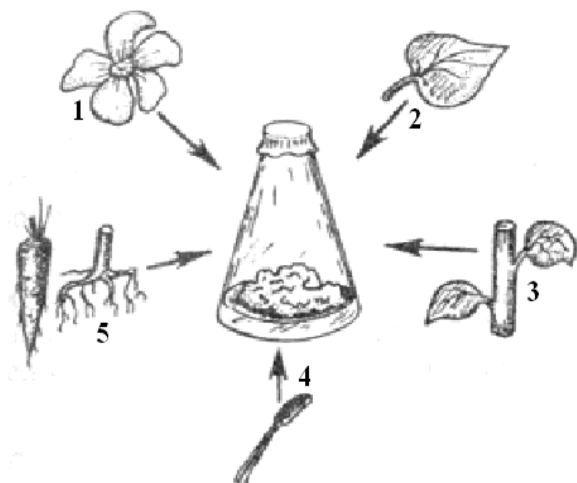
Ўсимлик ҳужайрасини табақасизланиши ва уни каллусга айланиши учун шарт бўлган шароит-бу озиқа муҳити таркибида икки

фитогормонларни яъни ауксинлар ва цитокининларни бўлишидир. Ауксинлар хужайраларни табақасизланишини (дедифференциация) чакириб, уларни бўлинишга тайёрлайди, цитокининлар табақасизланган хужайраларни бўлинишига (тролифорция) олиб келади. Агар таркибида гормон сақламаган озиқа муҳитига поя, барг ёки илдизни бир қисмини тикиб қўйилса, хужайраларни бўлиниши амалга ошмайди ва каллус тўқима ҳосил бўлмайди. Бу табақалашган хужайраларни бўлина олмаслиги билан боғлиқдир (14-чизма).

Охирги босқични характерли томони-хужайрани иккиламчи қобиғини қалинлашуви ва хужайрани бўлинишга бўлган қобилятини йўқотишидир. Дифференциацияга учраган хужайралар яна қайтадан бўлиниш қобилятига эга бўлиши учун, уларни дедифференциация бўлиши шарт, яъни хужайра худди меристема ҳолатига қайтиши керак. Табақаланган хужайраларни кўпайтириш тартибсиз, анархия шаклида ўсишга олиб келади ва оқибатда каллус тўқима ҳосил бўлади. Шундай қилиб, ихтисослашган хужайраларни каллус тўқималарга айланиши хужайра бўлинишини кучайтириш билан боғлиқ бўлиб, табақалаш жараёнида, хужайра бўлиниш қобилятини йўқотади.

Ҳар бир хужайранинг ўсиши уч босқичда ўтади:

- бўлиниш;
- чўзилиш;
- табақаланиш (дифференцировка).



**14-чизма. Турли хил
эксплантлардан каллус
тўқимаси культураларини
олиш:**

- 1-гулбарǵ;
- 2-барǵ;
- 3-поynинǵ бир қисми;
- 4-гул чанǵи;
- 5-илдиз.

Озиқа муҳити таркибида цитокининларни бўлмаслиги тамаки ўсимлигини ўзак қатлами паренхимасида хужайра ҳалқасини тўсиб қўяди. Шунинг учун ҳам агар озиқа муҳити таркибида фақатгина ауксин бўлса, хужайра бўлинмайди ва тўрт кунлик даврдан кейин чўзилиб, ўсишга ўтади.

Ауксинларсиз, фақат цитокининларни ўзлари ҳам гормон сақламаган озиқа муҳитига ўхшаб, ўсимликни қаришига олиб келади. Тамаки ўсимлиги мисолида келтирилган далиллар бирта гормон сақлаган озиқа муҳитида каллусли тўқима ҳосил бўлишини барчасини тушунтира олмайди.

Бунга зид бўлган мисоллар ҳам бор. Масалан, бугдойни етилмаган куртакларида цитокининсиз 2,4-Д сақлаган озикада каллус ҳосил бўлиши ёки кунгабоқарни уруғ палласида цитокинин сақлаган, ауксин сақламаган озикада каллус ҳосил бўлиши ва ҳ.к. Кузатиладиган натижалар кўпроқ эндоген гормонларга, аниқроғи у ёки бу эксплантни ҳужайрасида сақланадиган гормонлар билан яъни ҳужайрани гормонал статуси билан боғлиқ эканлиги исботланган.

Баъзи бир олимларни фикрларича, ҳужайрани бўлинишини ауксин ёки цитокинин эмас, балки полисахаридлар ва бошқа қандайдир индукторлар чақириши ва каллус ҳосил бўлишига олиб келиши мумкин.

Апексни асосий қисмида каллусли ўсишга ўтиш жараёни ҳужайра бўлинишини тўхташи билан бошланади. Лаг – фаза 24-28 соат давом этади. Бу давр мобайнида ҳужайра катталашиб, тўқималар шишади. Лаг фаза тугагандан кейин ҳужайра тез бўлиниб, каллус тўқима ҳосил қилади. Шундай қилиб, агар ихтисослашган ҳужайраларни дедифференциацияси, фитогормонлар таъсирида бўлинишни кучайиши (индукцияси) билан боғлиқ бўлса, бўлинадиган меристемали ҳужайраларни дедифференциацияси бўлиниши тўхташи билан ҳужайрани ихтисосланиши ва фақатгина ундан кейин каллус ҳосил бўлишига олиб келувчи бўлинишни кучайиши билан боғлиқ.

Бир фитогормоннинг таъсир самараси, нишон тўқимани физиологик тавсифига қараб ҳар хил бўлиши мумкин.

Ҳужайрани *in vitro* шароитида дифференциацияланган ҳолатдан дидефференциалланган ҳолатга ва ҳужайрани фаол бўлинишга ўтиши, генларни фаоллигини ўзгариши билан бошланади (эпигеномли ўзгарувчанлик). Бир геннинг фаоллашуви ва иккинчисининг репрессияга учраши ҳужайрадаги оксил таркибини ўзгаришига олиб келади. Каллусли ҳужайраларда ўзига хос бўлган оксиллар пайдо бўлади ва бир вақтнинг ўзида баргнинг фотосинтез килувчи ҳужайраларида оксиллар миқдори пасаяди. Икки паллали ўсимликларда дидефференциаллашган генларнинг репрессия ва депрессия жараёнлари нисбатан осон ўтади.

Дедифференциаллашган ҳужайраларни каллус тўқималар ҳосил бўлишига олиб келувчи тартибсиз кўпайишга ўтиши билан биокимёвий ва цитологик ўзгаришлар содир бўлади. Заҳирадаги моддаларни ишлатилиши ва ихтисослашган ҳужайра органеллаларини парчаланиши билан дедифференциалланиш бошланади. Дедифференциацияни индукциясидан 6-12 соат ўтгандан кейин ҳужайра қобиғи ғоваклашиб шишади, мустақил рибосомалар сони кўпайиб, Гольжи аппарати элементлари сони ҳам ошади. Бу ўзгаришлар бўлинишдан олдин бошланади.

Ўстиришга қўйишдан олдин, эксплантлар ҳужайрасининг метаболизмида ўзгаришлар содир бўлишини, у эса дедифференциация ёки травматик синтез билан боғлиқ бўлишини ҳисобга олиб қўйиш зарур. Бундай жараёнларни ажратиш мақсадида эксплантларни гормонлар

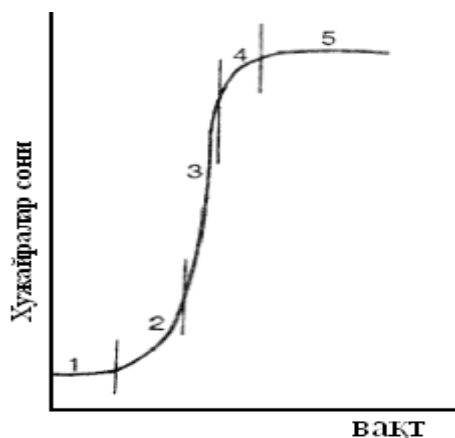
сақламайдиган муҳитда 3-6 сутка давомида преинкубация қилиш тавсия этилади.

Каллусли ҳужайра ўзини ривожланиш ҳалқасига эга бўлиб, ҳар қандай ҳужайрани ривожланишини қайтаради: бўлиниш, чўзилиш ва дифференциация ва ундан кейин қариш ва ҳужайрани ўлиш даври. Каллусли дифференциацияни иккиламчи деб атаса бўлади, аммо уни морфогенез асосида ётувчи ҳужайраларни иккиламчи дифференциацияси билан аралаштириб юбормаслик керак.

Каллус ҳужайралари нобуд бўлиб қолмаслиги учун уларнинг бўлинишга бўлган қобилятларини йўқотмасликлари учун, эксплантларда пайдо бўлган бирламчи каллус, 4-6 ҳафтадан кейин янги тайёрланган озиқа муҳитига ўтказиб турилади. Бу операцияни – **пассирлаш** деб аталади. Ўз вақтида бу жараён ўтказиб турилса, каллус ҳужайралари ўн йиллаб ўз бўлиниш хусусиятини йўқотмаслиги мумкин.

Каллус ҳужайраларни ўсиш чизиғи 15-чизмадан кўриниб турибдики, S- симон шаклга эга, ўсиши беш фаздан иборат:

- 1–латент ёки лаг-фаза - даврида ҳужайра сони ёки оғирлиги ўзгармайди. *Ҳужайралар бу даврда бўлинишга тайёргарлик кўрадилар.*
- 2- логарифмик ёки экспоненциал ўсиш фазаси- энг кўп митотик фаоллик билан ва каллус культуранинг массасини ошириши ҳамда тезлик билан ўсиш кузатилиши билан характерланади.
- 3- тўғри чизиқли фаза - бунда ҳужайраларни ўсиш тезлиги доимийдир.
- 4-ўсишни секинлашув фазаси бошланади - бу босқичда ҳужайрани митотик фаоллиги кескин пасаяди.
- 5- ўсиш чизиғи стационар фазада бир текис ҳолатга келади. Бу даврда ҳужайралар парчаланади, аммо парчаланиш, ҳужайра сонини ошириши билан баробарлашади; умуман олганда бу босқичда, ҳужайра массасини кўтарилиши нолга тенг бўлади. Стационар фазадан кейин ҳужайраларни деградацияси бошланади ва бу даврда тирик ҳужайраларни сони ва массаси тобора камайиб бораверади.



51-чизма. Каллус тўқималарининг даврий ўстирганда ўсиш босқичининг эгри чизиғи.

Ўсиш босқичлари:

1-латент; 2-логарифмик; 3-чизиқли; 4-секинлашиш; 5-стационар

7.3.2. Каллусли хужайраларни ўзига хослиги

in vitro шароитида каллусли хужайралар ўсимликлар организмидаги оддий хужайраларга хос бўлган, кўплаб физиологик ва бикимёвий хусусиятларни сақлаб қолади. Улар, иккиламчи метаболитлар синтез қилиш қобилятини йўқотмайдилар. Совуққа чидамлилиқ хусусияти каллусли хужайраларда, ўсимликлардагидек қайтарилади. Бундай хусусият, тропик ёки субтропик ўсимликлардан олинган каллус тўқималарда бўлмайди. Каллусли тўқималарга фотодавррийлик реакцияси ҳам хос, бу фитохрон фаоллигини сақлаб қолинганлиги билан боғлиқдир.

Ўсимликларни нормал ва каллусли тўқималари учун умумийлик яна қатор белгиларда намоён бўлади, хусусан, юқори ҳароратга чидамлилиқ, осматик фаол моддаларга, шўрланишга чидамлилиқ ва ҳ.к. Шунинг билан бирга, каллусли тўқималарни нормал тўқималардан фарқли томонлари ҳам бор. Уларда специфик оксиллар пайдо бўлади ва умумий оксил миқдори, хусусан баргда фотосинтез жараёнида қатнашадиган оксиллар камаёди ёки бутунлай йўқолади. Каллусли хужайралар улкан генетик гетерогенлиги ва физиологик синхронликни бузилганлиги билан фарқ қилади.

Организм назоратидан чиққанлиги сабабли, каллусли хужайраларни ўсиши тартибсиз, синхронсиз равишда ўтади ва чегараланмайди. Бундан 65 йил аввал **Р.Готре** томонидан олинган сабзининг каллусли хужайраси, янги озиқа муҳитига ўтказиб туриш ҳисобидан ҳозиргача яшаб келмоқда.

Очиқ тупрокда ўсувчи ўсимликга нисбатан, каллусли хужайраларни хужайра ҳалқаси узунроқдир.

Каллусли хужайранинг ўзига хос томонларидан яна бири-уларни ёшини ҳар хиллигидир (гетерогенлиги). Каллус тўқима бир вақтни ўзида ёш хужайралар (G- фазадаги), қари (G₂) ва S – фазалар иштирок этадилар.

Каллусли хужайраларни энергия алмашинувида ҳам анча фарқ кузатилади. Улар, нормал хужайраларга нисбатан кислородни кам истеъмол қиладилар. 1938 йилда **Ромсторн** бундай хусусият меристематик хужайраларда ҳам борлигини кузатган эди, демак бу хусусият фаол бўлинадиган хужайралар учун хосдир. Каллус хужайраларни нафас олиш коэффиценти бирдан катта. Масалан нўхат каллус хужайрасида бу сон 3,5 дан катта (А.В. Романова, 1988).

Бу нафас олиш билан бижғиш орасидаги нисбат, бижғишни кучайиш томонига сурилганлигини, яъни Пастер эффектини пасайишини кўрсатади.

Пастер эффекти - деганда, бижғишнинг кислород иштирокида нафас олиш билан босишни тушунилади.

Нафас олиш субстратлари ўзгармаган шароитда, нафас олиш коэффицентини кўпайиши, нафас олиш бижғишни тўхтата олмаётганлигини ва ҳатто кислородли шароитда ҳам каллусли хужайраларда нафас олиш билан бир қаторда, углеводларни кислородсиз парчаланиши бижғиш жараёни содир бўлаётганлигидан хабар беради. Тартибсиз ўсишда углеводларни кислородсиз парчаланишига мисол

қилиб, бўлинадиган ҳужайраларда этил спиртини тўпланишини кўрсатиш мумкин. Илмий адабиётларда бундай мисолларни кўплаб топса бўлади.

Каллус ҳужайраларни митохондриялари, меристема ҳужайраларга ўхшаб, жуда паст ривожланган, уларда кристаллар кам, бу эса аэроб нафас олишга таъсир кўрсатмасдан қолмайди. Пастер эффектини бузилиши кўпроқ ҳайвонларни шиш ҳужайраларида кузатилади. Бу ходиса **Варбург** томонидан аниқланган бўлсада ҳозиргача аниқ тушунтира олинганича йўқ. Пастер эффектини бузилиши оқибатида келиб чиқадиган анаэроб гликолиз (углеводларни кислородсиз парчаланиши), кислород иштирокида шишли ҳужайраларни углеводлар истеъмол қилишини кескин (19 мартабагача) ошириб юборади.

Каллусли ҳужайраларда нафас олиш характерини ўзгариши билан бир қаторда углеводларни кислородсиз шароитда парчаланиши кучаяди, яъни бўлинадиган ҳужайралар учун зарур бўлган, пентозафосфат йўли томон силжиш намоён бўлади.

7.3.3. Каллус ҳужайралари генетикаси

Узоқ вақт каллусли ҳужайралар генетик бир хил деб ҳисоблаб келинар эди. Ўтган асрнинг 60-йилларида каллусли ҳужайралар генетик гетероген (кўпсонли) эканлиги аниқланди. Уларни бир хил эмаслиги энг аввало ҳар хил сонли хромосомалар сақлаши билан намоён бўлади. *in vitro* шароитида меристематик тўқималар генетик мўътадил бўладилар

Каллусли ва суспензион культураларда дастлабки ўсимликка хос бўлган қатор диплоид хромосомалар сақловчи ҳужайралар 3, 4, 5 ва ундан ҳам кўпроқ хромосомалар тўплами сақловчи полиплоидли ҳужайралар учрайдилар. Шулар қатори каллусли тўқималарда тез-тез анеуплоидияни яъни хромосомалар тўпламини бир неча хромосомага камайиши ёки кўпайишини кузатиш мумкин. Каллусли тўқималарни қанчалик узоқ вақт ўстирилса, ўшанчалик улар плоидлиги билан фарқланадилар. Тамаки ўсимлигини каллусли тўқималарида тўрт йил ўстирилгандан кейин умуман, диплоидли ҳужайралар қолмайди. Барча ҳужайралар полиплоидли ёки анеуплоидли бўлиб қоладилар. Бу эса плоидликни ўзгариши ҳужайраларни ўстириш шароити таъсирида, энг аввало озиқа муҳити таркибидаги моддалар таъсирида амалга ошишини кўрсатади. Аммо бу ҳолатни бошқача тушунтириш ҳам мумкин.

Полиплоид ҳужайралар қисқа лаг фазага эга бўлганлиги сабабли, уларни диплоид ҳужайраларга нисбатан бўлиниши тезроқ ўтади. Бунинг оқибатида, улар кейинги кўчириб ўтказиш жараёнларда устунликка эга бўлиб қоладилар. Ҳар ҳолда икки сабабни ҳам ўринли деб ҳисоблаш мумкин.

Плоидликни ўзгаришидан ташқари ўсимлик ҳужайра ва тўқималарини *in vitro* ўстирилиши, ҳужайрада хромосомали абберациялар ҳосил бўлишини чақиради. Бу эса ўстирилаётган тўқималарни биологик

хусусиятларига таъсир кўрсатади, оқибатда тўқималарни ташқи кўриниши, модда алмашинуви, ўсиш тезлиги ўзгаради.

Ўстирилаётган ҳужайраларда, микроскоп остида кўринадиган хромосомали мутациялардан ташқари кўринмайдиган ўзгаришлар ҳам содир бўлиши мумкин. Бундай ўзгаришлар хромосомаларни бир қисмида ҳамда генларни тузилишида ҳам бўлиши мумкин. Генли мутациялар ҳужайраларни морфологияси ва физиологик-биокимёвий хоссаларини ўзгаришида намоён бўлади.

Ўстирилаётган ҳужайраларни генетик мўтадил эмаслиги сабаблари нималардан иборат? Бундай сабаблар бир нечта. Энг аввало – дастлабки материални генетик бир хил бўлмаганлиги (эксплантларни гетерогенлиги). Кўпчилик ўсимликларда табақалашган тўқималар, ҳар хил плоидли ҳужайраларга эга бўладилар ва фақатгина тўқимани онтогенези даврида фаол кўпаядилар, юқори меристемалар, камбийлар ва бошқалар эса доимо диплоид ҳолатда қолади. Бошқа бир сабаб – бу тўқима ва ҳужайраларни узоқ муддат экилиши, ўз навбатида бундай шароитда улардаги генетик ўзгаришлар, жумладан, плоидликни бир хил бўлмаган ўзгариши содир бўлади.

Ўсимлик тўқималарини бир қисмини ажратиб олиб, уларни озиқа муҳитига ўтказишда бир бирига мос алоқаларни бузилиши ҳам ҳужайраларни генетик мўтадилликдан чиқишига олиб келади. Шунга ўхшаш натижалар озиқа муҳити таркибидаги фитогормонларни ҳужайранинг генетик аппарати таъсири оқибатида намоён бўлиши мумкин. Каллус ҳосил бўлиши учун гормон сифатида албатта озиқа муҳити таркибида ауксинлар ва цитокининлар киритилади.

Бу моддаларни мутагенлик хусусияти эса кўпчилик олимлар томонидан исботланган. Энг кучли мутагенлик хусусияти эса кўпчилик озиқа муҳитлари таркибига кирувчи 2,4-Д препаратида кузатилган.

Цитокининлар хусусан, кинетик ҳужайраларда полиплоидия содир бўлишига ёрдам берадилар.

Каллус ҳужайраларни генетик хилма-хиллиги, уларни ташқи муҳит таъсирига фитопатогенларга чидамли ҳамда серҳосил мутантлар олиш учун амалга ошириладиган селекцион ишларда фойдаланиш имкониятини яратади.

7.4. ГОРМОНЛАРГА БОҒЛИҚ БЎЛМАГАН ЎСИМЛИК ТЎҚИМАЛАРИ

Каллусли ҳужайралар фақат озиқа муҳити таркибида гормонлар бўлгандагина бўлинадилар. Аммо узоқ муддатда ўстирилганда, баъзан улар гормонсиз муҳитда ҳам ўсиш хусусиятига эга бўладилар, яъни ауксин ва цитокининларга нисбатан автоном бўлиб қоладилар. *Баъзан «мослашган» ҳужайралар томонидан яратилган тўқималарни кимёвий шишлар ҳам деб юритилади.* «Мослашган» тўқималар, шиш тўқималарига ўхшаб, кўп ҳолатларда нормал регенерация бўла олмайдилар ва фақат

тератомлар ҳосил қиладилар. Илмий адабиётларда жуда кам бўлсада, улардан нормал регенерантлар ҳосил бўлганлиги ҳақида ахборотлар бор.

Шуни ҳам эслаб қолиш зарурки, барча каллусли тўқималарда, ўстириш жараёнида, баъзи бир культураларда 4-экишдан кейинроқ регенерация бўлган хусусият пасайиб боради, баъзи вақтларда эса умуман йўқолади. Қари кўчатларда регенерант –ўсимлик яратиш мумкин эмас.

Ҳозирча «мослашув» сабабларини аниқ жавоби йўқ. Балки, у ҳужайраларни табақасизланмайдиган ёки фаол **пролиферация** (ҳужайра ва тўқималарни кўпайиши йўли билан янгидан ҳосил бўлиши) ҳолатида ушлаб турувчи гормонларни ҳужайрага узоқ муддатда таъсир этиши билан боғлиқ бўлса керак, деган тахминлар бор.

«Мослашган» тўқималардан ташқари (кимёвий шишлар), бактериялар ва вируслар чакирадиган ўсимлик шишлари ҳамда ҳар хил ўсимликларда турлараро гибридларда пайдо бўладиган генетик шишлар ҳам маълум. Табиатда кенг тарқалган ва илмий изланувчиларда катта қизиқиш уйғотадиган шишлар – икки паллали ўсимликларда агробактериялар (*Agrobacterium tumefaciens*) томонидан чакириладиган шишлар ҳисобланади. Бундан ташқари ўсимликларда яна иккита ҳақиқий шишлар:- попук илдиз (*Agrobacterium rhizogenes* чакирадиган касаллик) ва пояли галл (*A.rubi* чакиради) учрайди.

Ўсимликларни «мослашган» ва шиш тўқималарини умумий хусусияти уларни гормонга эҳтиёжсизлигидир, бошқача айтганда ҳар иккала тўқима ҳам гормон сақламаган муҳитда ўса оладилар. Бу хусусият уларнинг каллусли тўқималардан фарқли томонидир. Маълумки, каллусли тўқималарни табақалашмаганлиги ва пролиферацияси учун озика муҳити таркибида гормон сақлаши шарт.

«Мослашган» тўқималарда худди шиш тўқималарга ўхшаб, ўз гормонлари синтез бўлади, шунинг учун ҳам улар гормонга муҳтожлик сезмайдилар. Гормонга тобе бўлмаган тўқималар ташқи кўринишидан каллусли тўқималардан фарқ қилмайдилар, уларни ягона фарқи гормон синтез қилиши билан намоён бўлади. Бу хусусияти “мослашган” шиш хусусияти учун умумий бўлсада, уларда бу вазифани ечиш йўли ҳар хилдир. «Мослашган» тўқималарда гормонга тобе бўлмаслик, гормонларни синтез қилишда иштирок этувчи ферментлар молекуласи синтезига жавобгар бўлган генларни фаоллигини ўзгариши натижасида содир бўлади. Шундай қилиб, ушбу ҳолатда ўзгариш эпигеномли характерга эга бўлсада, мутация имкониятларини ҳам эътибордан ташқарида қолдирмаслик керак.

«Мослашган» ҳужайраларда ўзгариш эпигеномли ёки генотипик асосга эга эканлигини аниқлаш учун ҳужайра-ўсимлик-ҳужайра қаторида гормонга муҳтож бўлмаслик хусусияти сақланиб қолиши ёки қолмаслигини назорат қилиш керак. Бунинг учун «мослашган» тўқимада регенерант олиниб, кейин регенерация қилинган ўсимликдан олинган эксплант бутунлай гормонсиз ёки гормонларни бирортаси бўлмаган

муҳитда ҳужайра бўлинса, яъни гормондан автоном бўлса, гормонга муҳтожсизлик хусусияти авлоддан-авлодга ўтади, демак у генетик асосга эга деб айтиш мумкин.

Агар гормонсиз муҳитда ҳужайра бўлинмаса ва каллусли тўқима пайдо бўлмаса, яъни гормонга муҳтожсизлик наслдан-наслга ўтмаса, ўзгаришни эпигеномли характерга эгаллиги ҳақида хулоса чиқариш мумкин. Аммо, бу йўл билан факатгина регенерация хусусиятини йўқотган «мослашган» ҳужайраларни текшириш мумкин, холос. Маълумки, кўпчилик «мослашган» ҳужайралар регенерацияга бўлган имкониятларини йўқотадилар, бу эса юқоридаги усулни гормонга муҳтожсизлик табиатини аниқлашни қийинлаштиради.

Шиш тўқималарда гормонларни синтези – ўсимлик ўтказилиши билан боғлиқ. Ўтган асрни 40-йилларида **Ф.Уайтнинг** ўқувчиси, **Браун** корончатогалли шиш тўқима култураси агробактерия йўқлигида (уларни юқори ҳароратда ўлдирилгандан кейин ҳам) ҳам шишлик хусусиятини сақлаб қолишини кузатган эди.

Гормон сақламаган сунъий озиқа муҳитида, бактерия сақламаган корончатли галл тўқимаси фаол пролиферацияни давом эттираолган. Бу тўқималар, оддий тўқимага қараганда юқори микдорда ауксинлар ва бир неча цитокининлар сақлайдилар. Ўзи ўтказган тажрибалар асосида **Браун**, ўсимлик ҳужайралари *Agrobacterium tumefaciens* таъсиридан кейин қандайдир йўл билан шиш ҳужайраларга айланадилар - деган фикрга келган эди.

Агробактериялар ўсимлик ҳужайрасига **Tip** (*Tumor inducing principle*) киритади, у эса 36 соатда оддий ҳужайрани шиш ҳужайрага айлантиради деб тахмин қилинган эди. Кейинчалик **Tip** ДНК эканлиги ва агробактерияларни катта плазмидасида сақланиши аниқланди ва **Ti - плазмида** деб аталди. Онкоген фаоллик бактерия ҳужайрасидан **Ti**-плазмидани бутунлай ёки уни маълум бир қисмини ажратиб олинганда йўқолиши исботланган.

1977 йилда **Чилтон** ўзини шогирдлари билан корончатли галлни шишлари агробактерияларни **Ti**- плазмидасини маълум қисмини ўсимликни ядро ДНК сига киритиш натижасида пайдо бўлишини исботладилар.

Шундай қилиб, **Ti**-плазмидани сигменти (**t-ДНК**) хромосомага интеграция қилинади ва ўсимликни трансформацияланган (шиш) ҳужайрасини ирсий апаратини бир қисми бўлиб хизмат қилади. Агробактерияларни **Ti**-плазмидани **t-ДНК**сини ўсимликлар хромосомасига интеграцияси шиш пайдо бўлишига ва шиш ҳужайрасини сунъий озиқа муҳитида гормонга муҳтожиз равишда ўсишга олиб келади. Бу ҳар икки ҳодиса бир бири билан ўзаро узвий боғлиқ, чунки ауксин ва цитокининларни синтезини назорат қилиб турувчи генларни экспрессияси оқибатида гормонга муҳтожсизлик келиб чиқади ва у ҳужайраларни табақасизланишига ва пролиферациясига олиб келади.

Ti- плазмида ўсимликлардаги янги генларни табиий вектори (ташувчиси) бўлиб хизмат қилади. Агробактериялар томонидан индукция қилинган шиш хужайралар томонидан ауксин ва цитокининларни синтез бўлиш йўли, нормал ва «мослашган» хужайраларникига қараганда бошқачароқ. У оддийроқ ва қисқа. Мутагенлар ёрдамида т-ДНК молекуласида гормонал фаолликни ўзгаришини назорат қилиб турувчи қисмни (участкани) аниқлаш мумкин бўлди. Шишни ўсиши учун битта локус эмас, балки бир қатор генлар жавобгар эканлиги аниқланди.

т-ДНК ауксин ва цитокининлардан ташқари табиатда учрамайдиган янги синф аминокислоталар галли (опинлар) синтезини бошқариши ҳам аниқланди. Бу моддалар шиш пайдо бўлишига сабаб бўлаолмайдилар, аммо, улар ҳосил бўлган шиш тўқималарида синтез бўладилар. Шиш тўқималар бир неча кунлик бўлганларидан кейингина опинлар синтезини бошлайдилар, масалан, коланхоэда опинлар синтези, шиш индукцияси бошланган кундан кейин 7-кунда бошланади.

Опинлар - аминокислоталар, ҳар хил кетокислоталар ва шакарларни ҳосилаларидир. Улар янги типдаги биологик фаол моддалар ҳисобланади ва фақатгина ўсимликларни корончатли галли тўқималарида учрайдилар, шунинг учун ҳам уларни корончатли галларни биокимёвий маркёри сифатида қараш мумкин. Опинлар агробактериялар учун озика модда ҳисобланадилар, аммо шиш тўқималар опинларни стерил шароитда, агробактериялар бўлмаган шароитда ҳам синтез қилаверадилар.

Опинларни уч типи маълум: **нопалин**, **актопин** ва **агропин**. Агробактерияларни бир штамми октопин синтез қилувчи шишларни индукция қилса, бошқа штамми нопалин синтез қилувчисини индукция қилади.

Шундай қилиб, агробактериялар ёрдамида индукция бўлувчи «мослашган» ва шиш тўқималарни *биринчи умумий хусусияти*, гормон синтез қилиш билан боғлиқ бўлган гормонга муҳтожсизликдир. Галли шишларда бундай қобилят ўсимликларга бактерияларни бегона генларини киритилиши оқибатида келиб чиқади. Кимёвий (мослашган) шишлар хужайраларида бу хусусият гормонлар синтези учун жавобгар генларни депрессияси билан боғлиқ бўлса керак деб тахмин қилинади, аммо у мутация билан алоқадор бўлиши ҳам мумкин.

Иккинчи умумий хусусият, биринчисидан келиб чиқиб, агробактериялар билан индукция қилинган «мослашган» ва шиш хужайраларни фертил ўсимликни регенерация қилиш қобилятини йўқотишидир. Галли шишлар кўпчилик ҳолатларда соғлом ўсимлик ҳосил қилаолмайдилар. Баъзида улар тератомлар (хунук, органларга ўхшаган тузилмалар) ҳосил қиладилар ва нормал ривожлана олмайдилар.

«Мослашган» тўқималар ҳам одатда нормал ўсимликга айланаолмайдилар, уларни хужайралари иккиламчи дифференциацияга ва морфогенезга бўлган қобилятларини йўқотадилар. Аммо, баъзида, озика муҳити таркибини ўзгартириш орқали, «мослашув» чегарасини орқага

суриш мумкин. Демак, узоқроқ пассаж қилинган культуралар тўқималаридан регенерация қилаоладиган ўсимлик олиш имкониятлари ҳам йўқ эмас.

7.5. ХУЖАЙРА СУСПЕНЗИЯЛАРИ КУЛЬТУРАСИ

Каллусни суяқ озиқа муҳитига ўтказиб, автоматик равишда аралаштириш орқали хужайра суспензияси олиш мумкин. Ферментлар ёрдамида, масалан, пектиназа ферменти ёрдамида тўғридан-тўғри эксплант тўқималардан (барг, поя, илдиз ва ҳ.к) ҳам хужайра суспензияси тайёрлаш мумкин. Дастлаб, эксплант юзасида каллусли тўқима пайдо бўлади, кейин ундан хужайра ва хужайра агрегатлари ажралади, оқибатда хужайра суспензияси олинади. 100 мл хужайра суспензияси олиш учун 2-3 г каллусли тўқима керак бўлади.

Хужайра суспензиясини тайёрлаш учун энг зарур шароит – бу доимий равишда аралаштириб ёки чайқатиб туришдир. Агар хужайра суспензияси қимирламай турса, уннинг бўлиниши натижасида каллусли тўқималар ҳосил бўлади.

Суспензион хужайраларни бўлиниши ауксинлар ва цитокининлар, яъни каллус хужайраларни ўсиши ва индукцияси учун зарур бўлган гормонлар ёрдамида ҳимоя қилиб турилади. Шундай қилиб, суспензияли хужайралар каллус хужайраларни ўзгинаси бўлиб, уларда бундай хужайраларга хос бўлган барча хусусиятлар намоён бўлади.

Суспензия 2,4-Д сақлаган муҳитда ҳосил бўладиган пўкак хужайрадан яхшироқ ҳосил бўлади. Муҳит таркибидан кальций олиб ташланса, суспензия ҳосил бўлиши енгиллашади. Озиқага пектиназа ферменти аралаштирилса (бу фермент озиқа таркибидаги алоҳида хужайраларни бири-бирига боғлаб турувчи пекрат кальцийни парчалайди) суспензия янада енгилроқ ҳосил бўлади.

Биотехнологияда хужайра суспензиясидан иккиламчи метаболитлар олиш мақсадида фойдаланилади. Иккиламчи метаболитларни кўпчилиги доривор моддалар ҳисобланадилар ва хужайра биомассасини саноат миқёсида кўпайтириш ва хужайра селекциясида кенг ишлатилади. Бундан ташқари хужайра суспензиясидан алоҳида протопластлар олиш учун ҳам фойдаланилади.

Суспензион культуралардан иккиламчи метаболитлар продуценти сифатида фойдаланилганда, даврий ёки оқава усулида очиқ ёки ёпиқ тизимда хужайраларни кўпайтириш усуллари ишлатилади. Ёпиқ тизимда хужайра суспензиясига тоза озиқа муҳити киритилмайди, тизимда доимий режимда ўстирилганда эса озиқа муҳити тозасига алмаштириб турилади.

Даврий режимда ҳам, оқава режимда ҳам хужайралар очиқ тизимда, ўстирилганда ҳам, озиқа муҳитида қолади. Аммо, очиқ тизимда ўстирилганда, озиқа муҳити алмаштирилганда (домий ёки даврий режимда) суспензион хужайрани бир қисми муҳит билан бирга ўтади.

Суспензион ҳужайралар билан ишлаганда уларни характеристикасини билиш шарт: тириклиги, ҳужайраларни суспензион културада кўп ёки камлиги, агрегация даражаси, ўсиш тезлиги ва ҳ.к.

Ҳужайраларни тирик ёки тирик эмаслиги уларни бўяш (метилен ёки Эванс кўки) орқали аниқланади. Тирик ҳужайраларни ҳужайра мембранаси бўёқни ўтказмаслиги сабабли бўялмайди. Ўлик ҳужайра қобидан бўёқ тез ўтади ва шунинг учун ҳам кўк рангга бўялади. Ҳужайра суспензиясини асосий кўрсаткичларидан бири, ҳужайра популяциясини қалинлигидир. Ҳужайра сони Фукс–Розентал ҳисоб камерасида микроскоп остида мацерациядан кейин (ҳужайраларни ажратилгандан кейин) аниқланади. Мацерация қилувчи модда сифатида хром кислотасини 10-20% ли эритмасидан фойдаланилади. Бу кислота, ҳужайраларни бириктириб турувчи ўртадаги пластинкани эритиб (гидролиз қилиб) юборади.

Яхши ривожланувчи суспензия, каллусли културага ўхшаб, S- симон ўсиш чизиғига эга. Одатда, пассажни давомийлиги 14-16 кундан иборат. Бунда, суспензия таркибидаги ҳужайралар сони 1 мл да 5×10^4 дан 5×10^6 ҳужайрагача ошади. Ҳужайра сонини кўпайиши, уларни қуруқ ва ҳўл массаси- суспензион културани асосий ўсиш критериясини ташкил этади.

Суспензияни сифати, ҳужайраларни агрегация даражасига боғлиқ. Агрегатлар 10-12 ҳужайрадан кўп бўлмаслиги керак. Шунинг учун ҳам йирикроқ агрегатлардан қутулиш мақсадида суспензияни дока, найлон ёки метал филтрдан ўтказилади. Бу операция бир вақтни ўзида эксплантлар қолдиғидан ёки каллус тўқималарни бўлакчаларидан қутулиш имконини беради.

Иккиламчи синтез маҳсулотларини саноат шароитида олиш учун катта ҳажмдаги (20м^3 ва ундан ҳам каттароқ) ферментёрлардан фойдаланилади ва ҳужайралар доимий режимда ўстирилади. Суюқликда ўстиришни энг кўп тарқалган режими ҳужайра суспензиясини ёпиқ даврий тизимда ўстиришдир. Суспензияни аэрацияси ва аралаштирилиши учун тебраткичлардан фойдаланилади. Шунингдек, бу мақсадда механик ёки магнит аралаштиргич ўрнатилган ферментёрлардан, ёки барбатация (ҳаво ёрдамида аралаштириб туриш) дан ҳам фойдаланса бўлади.

Ҳужайра суспензиясида қимматбаҳо иккиламчи метаболитлардан ташқари янги ажойиб бирикмалар: компотетин, хиррингтонин каби антиканцерогенлар, ҳар хил пептидлар (протеаза ферменти ингибитори, фитовируслар ингибиторлари) ва бошқа бирикмалар синтез бўлиши ҳам кузатилган.

Шуни алоҳида таъкидлаш лозимки, ҳужайраларни бўлиниши оқибатида ҳужайра биомассасини кўпайиши ва иккиламчи метаболитларни синтез бўлиши ҳар хил вақтга тўғри келади. Иккиламчи метаболитлар синтез бўлишини максимуми, ўсишни стационар фазасига тўғри келади.

7.6. ЯГОНА ХУЖАЙРАЛАР КУЛЬТУРАСИ

Генетик ва физиологик изланишлар ҳамда хужайра селекцияси амалиётида ишлатиш учун алоҳида хужайралар жуда катта аҳамият касб этади. Клоннинг олиниши ҳамда ягона хужайра авлодини олиниши каллусли хужайраларни генетик бир хил эмаслигини сабабларини аниқлашга ёрдам беради, чунки бу ҳолатда кузатишлар гетероген эксплант олинган тўқималарда эмас, балки алоҳида олинган хужайраларда олиб борилади.

Протопластлардан ажратилган ягона гибрид хужайра, кейинги бўлинишларида гибрид хужайрадан ташкил топган клон яратиш имконини беради. Бу эса изланувчиларни ишларини енгиллаштиради, чунки ажратилган протопласт культураларда гибрид бўлмаган хужайралардан пайдо бўладиган янги хужайраларни алоҳида ажратиш каби машаққатли ишдан озод қилади. Бундан ташқари алоҳида ажратиб олинган хужайраларни протопластларини ўрганилганда, соматик гибридизация жараёнининг ўзини кузатиш ҳам яхшироқ бўлади. Алоҳида хужайралар хужайра суспензияларидан, ўсимлик тўқималаридан, масалан барг мезофиллидан уни ферментлар ёрдамида мацерация қилингандан кейин, алоҳида ажратиб олинган протопластлардан уларда хужайра қобиғи пайдо бўлганидан кейин ажратиб олинади.

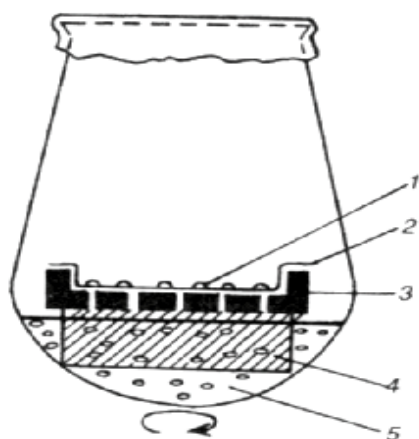
Бир хужайрали фракция олиш учун баъзида суспензион культурани колбада 15-30 мин. тиндириб қўйиш кифоя бўлади. Бунда йирик агрегатлар чўкмага тушадилар, устки суюқликда эса фақат бир хужайрали культура ёки кичик агрегатлар бўладилар. Агар бу йўл билан бир хужайрали фракция олиш имконияти бўлмаса, ферментлар ёрдамида мацерация қилиш, сахароза градиентида центрифуга қилиш ёки ҳар хил элактрдан ўтказиш усулларида фойдаланилади.

Ягона хужайраларни ўстиришда бироз қийинчиликлар сезилади, чунки алоҳида хужайра каллусли тўқима ўсган шароитда яхши бўлинмайди. Ягона хужайраларни бўлинишига мажбур қиладиган махсус усуллар яратилган. 1960 йилда Джонсон «энага» усулини тадбиқ қилган эди. Бу усулда «энага» функциясини бир қисм каллусли тўқима бажаради ва у алоҳида хужайрани бўлинишига мажбур қилади ва уни алоҳида хужайрадан филтър қоғози ёрдамида ажратиб олинади. Бундай шароитда («энага» ҳузурида) алоҳида хужайра бўлиниб, хужайрани индивидуал колонияси – **клон** ҳосил қилади.

Бошқа бир усул жуда кам миқдорда бой озиқа муҳитида алоҳида хужайраларни Купрак ликобчасида (уни ҳажми 20 мкл) микротомчида ўстиришга асосланган. Бу метод академик Ю.Ю.Глейба томонидан таклиф қилинган. Микротомчида соматик гибридизация жараёнида ягона хужайрани олиниши ва уни бўлинишини кузатиш жуда ҳам қулай.

Ягона хужайраларни бўлинишини кучайтириш учун «озикланадиган қават»дан фойдаланиш мумкин. («Озикланадиган қават»- ягона хужайра

олинган ўсимлик турини фаол бўлинувчи хужайра суспензияси) (15-чизма).



15-чизма. Маккажўхорининг ягона хужайралари ва ажратилган протопластларини ўстиришда «энага» сифатида суспензион хужайралар культурасини ишлатилиши:

- 1—хужайра колониялари;
- 2—фильтр қоғоз;
- 3—алюмин элак;
- 4—пенополиуретан;
- 5—хужайра суспензияси

(Бу Дык Куанг, З.Б. Шамина, 1985).

Хужайрани бўлинишини муҳитни кондичия (меъёрига етказиш) ҳам тезлатади, бунинг учун муҳитга тез бўлинадиган хужайра культураси учун танланган озика қўшилади. Муҳитни меъёрига етказувчи фактор хужайра суспензиясининг ўсиш даврининг экспоненциал фазасида бактериал филтрдан ўтказиш орқали олинади. Моҳияти бўйича юқорида зикр этилган барча усуллар ҳам бўлинадиган хужайралардан ажраладиган меъёрига етказувчи фактордан фойдаланишга асосланган.

Ҳозирча бу факторни таъсир механизми ва уни кимёвий табиати аниқ эмас. Аммо, бу фактор иссиққа чидамли, сувда эрувчан, паст молекулали модда, ҳамда уни фитогормонлар билан алмаштириб бўлмаслигини айтиш мумкин. Шунингдек, бу модда тахминан 700 Дальтон молекуляр оғирлигига эга бўлган, pH 4-11 да мўътадил модда эканлиги ҳам аниқланган (Bellincampi, Morpurgo, 1987). Шундай қилиб, бу модда тоза кимёвий модда бўлмасдан, хужайрадан ажраладиган факторлар йиғиндиси бўлса ҳам ажаб эмас.

7.7. КАЛЛУСЛИ ТЎҚИМАЛАРДА МОРФОГЕНЕЗ

Хужайранинг ривожланишини табақасизлангандан кейин ўтадиган бир неча йўли маълум.

Биринчи йўл – бу бутун ўсимликни қайта регенерацияси, балким, хужайра, тўқима, органлар даражасида табақаланиши.

Иккинчи йўл - хужайрани қайта табақаланиши хусусиятини йўқолиши ва ўсимликни регенерацияси, мустаҳкам табақасизланиши, гормонсиз муҳитда ўсиш хусусияти, яъни ишига айланиши. Бундай хоссалар эски (қари) кўчат культураларга хос.

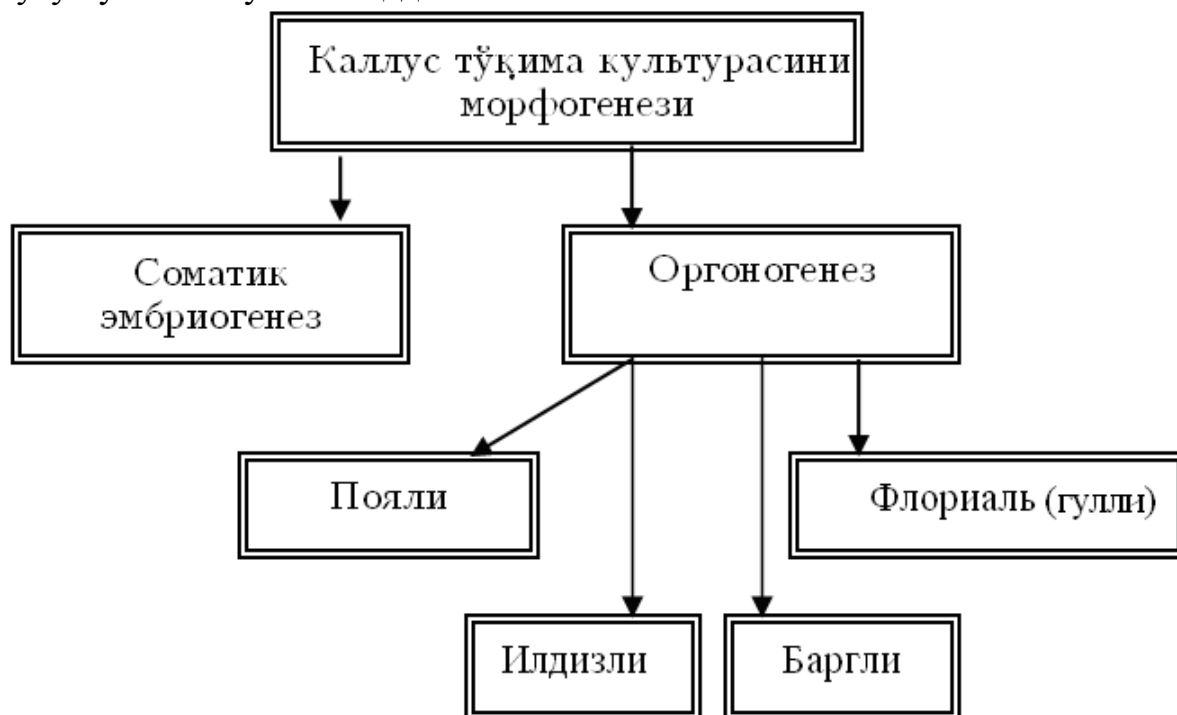
Учинчи йўл – каллусли хужайрани ривожланишини қариб, нобуд бўлиши билан тугайдиган нормал ҳалқаси. Бу ҳолатда хужайра иккиламчи табақаланишга учрайди ва бўлинишдан тўхтади (ўсишни стационар фазаси). Аммо бундай табақаланиши морфогенезга олиб

келмайди ва унда қариган каллус ҳужайралари хоссаларини мустаҳкамлайди.

Қишлоқ ҳўжалиги биотехнологияси учун энг қизиқарлиси бутун ўсимликни алоҳида ҳужайрасидан олинган тўқима культурасини регенерацияси ҳисобланади. Баъзида бу йўл алоҳида органлар ҳосил бўлиш орқали ўтади.

Каллусли тўқималар культурасида, **морфогенез** деб, ҳужайраларни ташкил бўлмаган массасидан тўлақонли структуралар ҳосил бўлишига айтилади. Морфогенезни икки асосий йўли маълум (16-чизма).

Тўқималар культурасини у органогенез сифатида (монополяр тузилишини, яъни алоҳида органларни ҳосил бўлиши) кўриш мумкин: илдиз, поя, камроқ флорал (гулли) ёки баргли ҳамда соматик эмбриогенез, кўринишида (соматик ҳужайралардан бифтоляр куртаксимон тузилмалар ҳолатида) кўриниши мумкин. Органогенезда дастлаб алоҳида органлар регенерация бўлади, кейин эса улардан бутун ўсимлик пайдо бўлади. Илдиз органогенези бундан мустасно. Соматик эмбриогенез натижасида органогенездан фарқли ўлароқ, илдиз меристемааси ҳамда тепа қават меристемааларига эга бўлган куртак ҳосил бўлади ва ундан кейинроқ бутун ўсимлик ўсиб чиқади.



16 –чизма. Каллус тўқима культурасини морфогенез типлари

Алоҳида олинган соматик ҳужайраларни ўз ривожланиш дастурини тўлиқ бажара олиши ва бутун ўсимлик организми ўсиб чиқиши учун асос яратиб бериш хусусияти, ўсимлик ҳужайрасини **тотипотентлиги** деб аталади. Ўсимликни ҳар қандай ҳужайраси барча керакли генлар тўпламига эга бўлганлиги сабабли, бир хил потенциал имкониятларга эга, демак, ҳужайра зиготага хос бўлган ривожланиш дастурига эга. Шунинг

учун ҳам агар гул барги ҳужайрасидан ёки пояни ўзаксимон паренхима ёки ҳар қандай ҳужайра тўқималардан каллус олинганда, умуман ҳужайрани ҳар қандай тўқимасидан бутун ўсимлик олиш мумкин. Аммо, тотипотентлик хоссалари ҳамма вақт ҳам намоён бўлавермайди, чунки ҳар хил типдаги ҳужайларни потенциал имкониятлари бир хил намоён бўлавермайди. Улардан баъзи бирларида генлар кучли репрессия ҳолатида бўладилар ва шу сабабли ҳам тотипотентликни намоён бўлиши чегараланган бўлади.

Ўсимлик ҳужайраларида тотипотентлик ғояси биринчилардан бўлиб, 1902 йилда Г.Хаберлант томонидан илгари сурилган бўлсада, тажрибалар билан исботланган эмас эди. *«Ўсимликни ҳар қандай ҳужайраси янги организм пайдо бўлишига асос бўла олади, фақатгина ўсимлик организми ҳужайрани ривожланиши потенциясини босиб қўйган ҳолатдагина бундай бўлмаслиги мумкин»* -деган эди Хаберлант. Ўсимликдан ҳужайрани алоҳида ажратиб олиш мана шу потенцияларни намоён бўлишига ёрдам беради.

Морфогенезни ҳужайра асосини цитодифференцировка ташкил қилади. Ўсимликни регенерацияси ҳужайрани иккиламчи табақаланишидан бошланади. Бунда, табақасизланган ҳужайра бошқатдан ихтисослашган ҳужайрани структураси ва функциясини эгаллайди.

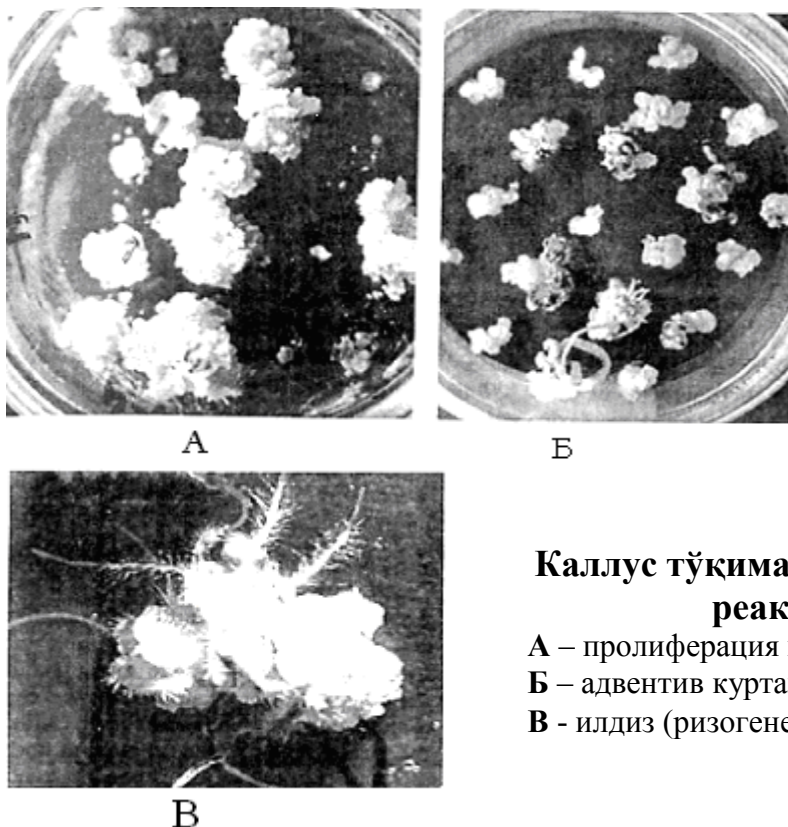
Каллусли ҳужайраларни иккиламчи дифференцировкаси ҳар доим ҳам ўсимликни регенерацияси ва морфогенез билан тугалланавермайди. Баъзида у фақат тўқима ҳосил бўлишига олиб келади, холос (гистодифференция). Шу йўл билан каллусли ҳужайра флоэмлик элементларга айланиши мумкин. Иккиламчи табақаланишга бошқа бир мисол бўлиб, табақасизланган фаол проферация қиладиган ҳужайрани – эски (қари) бўлинмайдиган каллусли ҳужайрага айланиб қолиши хизмат қилиш мумкин (ривожланишни стационар фазаси). Барча кўринишдаги иккиламчи табақаланишдан энг катта қизиқиш уйғотадигани, бу морфогенездир, чунки у каллусли ҳужайрадан бутун ўсимлик яратиш имконини беради.

Табақаланиш ва морфогенезни асосида ҳар хил генларни бирин-кетин қўшилиши ётади, яъни ҳужайрани табақаланиши генларни табақалашган фаоллиги билан аниқланади. Структура генларини фаоллигини ўзгариши уларни дерепрессияси (уйғониши), репрессияси ёки амплификацияси (кўпайиши) билан боғлиқ. Бу жараёнда фитогормонлар катта роль ўйнайдилар. Каллусли тўқималарни морфогенезини бошқариш мумкин. Ўсимликларни алоҳида ажратиб олинган ҳужайраларини морфогенезга бўлган қобиляятларига ҳам ички, ҳам ташқи факторлар таъсир кўрсатадилар.

Ички факторларга дастлабки ўсимликни қайси турга мансублиги, эксплант олинган орган, эксплантнинг ёши киради.

Ташқи факторларга эса, энг аввало озиқа муҳити таркиби, ҳарорат, ёруғлик (уни интенсивлиги ва фотодаврнинг узунлиги) киради.

Морфогенезни энг кучли индуктори – озиқа муҳити таркибига кирувчи цитокинин ва ауксинларнинг ўзгариши ҳисобланади. Буни стимул ёки морфогенезнинг сигнали деб ҳам юритилади. Ауксинга нисбатан цитокининлар миқдори кўпроқ бўлганда, поя органогенези бошланади, тескари бўлганда эса (ауксин цитокининга нисбатан кўпроқ бўлганда) илдиз яхшироқ ривожланади (17-чизма).



17-чизма.

**Каллус тўқимаси морфогенетик
реакцияси:**

- А – пролиферация қилувчи каллус;
Б – адвентив куртаклар;
В - илдиз (ризогенез) ҳосил бўлиши.

Шуни ҳам алоҳида таъкидлаш лозимки, каллусли тўқималар культурасидан ҳосил бўлган илдиздан ҳеч қачон бутун ўсимлик ҳосил бўлмайди, пояли органогенезда эса дастлаб новда ҳосил бўлади ва уни кўпроқ ауксин сақлаган озиқа муҳитларига кўчириб ўтказилгандан кейин, ўзидан илдиз чиқаради ва бутун ўсимлик ҳосил қилади.

Ф.Скуг ва Е.Миллер, 1957 йилда ауксин ва цитокинин типдаги фитогормонларни балансидаги фарқ, бир томондан хужайрани табақасизланган ва ташкил бўлмаган пролиферацияга, иккинчи томондан эса, у ёки бу типдаги морфогенезни иккиламчи табақаланишини кучайишига олиб келишини таъкидлаб ўтган эдилар. Демак, ауксинлар ва цитокининлар, уларни бир-бирларига нисбатига қараб, ёки табақасизланиши ва каллусли ривожланишга ўтиш ёки табақаланиш ва каллусли тўқималар морфогенезини чақириши нафақат ўсишни бошқариш балки дифференцировкани бошқаришга олиб келади. Шундай қилиб, озиқа муҳити таркибида:

Ауксин > цитокинин = илдиз → каллусли тўқима
Цитокинин > ауксин = поя → новда → илдиз → ўсимлик

Агар органогенезни ауксин ёки цитокининлар ёрдамида кучайтириш мумкин бўлса, соматик эмбриогенез- экзоген фитогормонларга умуман боғлиқ эмас. Одатда эмбриоген зоналар каллусли тўқималарда, каллус ҳосил қилиш учун ишлатилган озиқа муҳитида пайдо бўлади. Каллусли тўқималарда соматик куртакларни ривожланиши, озиқа муҳитидан табақасизлантирувчи фактор (2,4-Д ёки бошқа ауксинлар) олиб ташлангандагина бошланади. Ўсаётган куртак экзоген гормонларга муҳтожлик сезмайди, чунки уни ўзи гормон синтез қилиш имкониятига эга ва ўзини-ўзи гормон билан таъминлай олади.

Соматик эмбриогенезни гормонга муҳтожсизлиги, Хаберландт фикрига ва кейинроқ Стэварт томонидан илгари сурилган «хужайрани ажратиш жараёнини ўзи, улардаги тотипотентликни намоён бўлишини кучайтиради, яъни морфогенезга ўтказди» деган фикрига аргумент бўлиб хизмат қилади.

Шундай қилиб, морфогенез учун асосий стимул бўлиб, озиқа муҳит таркибидаги гормонларни бир-бирига нисбати ва ўсимлик хужайрасини организмдан ажратиб олиш хизмат қилади. Каллусли тўқималар культураси морфогенезида қўшимча стимул бўлиб, озиқа муҳити таркибига қўшилган кумуш нитрат, аммоний нитрат, баъзи-бир аминокислоталар (пронин, тирозин, баъзида серин), полиаминлар (путресцин ва спермидин) хизмат қиладилар.

Баъзи бир ҳолатларда морфогенез жараёнини манний ва сорбий ҳам кучайтиради. NO_3^- ионлари каллус тўқималарда ҳосил бўлган тартибли структураларни ривожланишига таъсир кўрсатади, уларни индукциясини эса NH_4^+ иони кучайтиради. Гибберил кислотаси пояни ўсишини кучайтирса, абсциз кислотаси соматик куртакларни дифференциясини кучайтиради.

Шуниси қизиқарлики, юқорида келтирилган моддалардан баъзилари, масалан кумуш нитрати, эски кўчатларни регенерация хусусиятини узайтиради.

Морфогенезни кучайтирувчи у ёки бу таъсир оқибатида каллусли хужайра деатамаланган ҳолатига ўтиши керак бўлсада, уларни 400-1000 дан биттаси регенерация йўлига ўтадилар холос. Демак, морфогенезга ўтиш учун индукторни бўлиши етарли эмас, балки хужайра унга жавоб беришга тайёр бўлиши керак. Морфогенезни стимулини қабул қилиш қобилияти **хужайрани компетентлиги** деб аталади. Олимларни фикрича хужайрани компетентлиги тасаддуф воқеялик, шунинг учун ҳам жуда кам учрайди. Шу муносабати билан ўзини компетентсизлиги туфайли морфогенез стимулини қабул қолаолмайдиган каллусли хужайралар ҳаёти тўғрисида савол туғилиши муқаррар.

Кўчатларда бу хужайралар бўлинишда давом этади ва кўпроқ гормонга муҳтожсизлик йўлига ўтиб олади. Аммо, каллус тўқималарни ҳаммаси ҳам ўзини ривожланишини гормонга муҳтожсизлик билан тугатмайди.

Морфогенезни янги маркерларини излаб топиш ишлари давом этмоқда. Меристемаатик ўчоқ хужайралари ва эмбрионидли структуралар ҳосил бўлишига бош бўладиган хужайралар каллусли хужайралардан РНК ва ДНК синтезини кучлилиги билан фарқ қилади. Бу эса оксил алмашинувини ўзига хослиги билан боғлиқ. Оксил алмашинувини ўзгариши, табақасизланган хужайраларда ўтадиган жараёнларга ўхшаш бўлсада, уларни ниҳояси ҳар хил. Р.Г.Бутенконинг фикрича, реакцияни спецификлиги (ўзига хослиги), макромолекулаларни синтезини умуман кучайиши билан эмас (бу пролиферацияни кучайтириш учун зарур), балки мана шу умумий фонда содир бўлаётган ноёб синтезлар ва бошқарувчи типга эга бўлган оксилларни пайдо бўлишини шарт қилиб қўйиши билан боғлиқ.

Каллусли культуралар тўқималарини морфогенезга ўтиши, нафас олиш метаболизмини ўзгариши билан олиб борилади. Умуман нафас олиш (CO_2 бўйича) кучаяди, аммо уни характери пентозофосфат йўлини кучайиши томон ўзгаради. Нафас олиш ферментларини фаоллиги ошади.

Биокимёвий ўзгаришдан кейин, хужайрани структурасида реорганизация (қайта тузилиш) бошланади. Хужайрани биокимёвий ўзгариши уни тузилишини ўзгаришидан олдин туради. Морфогенез йўлига кирган хужайраларда рибосомалар, митохондриялар сони кўпаяди, уларни ички тузилиши ўзгаради. Каллусли хужайраларда морфогенез жараёни синхронсиз ўтади ва узок давом этади. Бир вақтда каллусли тўқималарда тўлиқ тузилган структуралар ҳамда эндигина бу йўлга кирмоқчи бўлган хужайраларни ҳам кузатиш мумкин.

Меристематик учоқни хужайраларини ва глобуляр проэмбрионни синтетик фаоллигини ошиши, уларни озика муҳитидаги моддалар интиладиган аттрагир (озика муҳитини фитогормонлар миқдори кўпроқ бўлган органга йўллантирувчи) марказга айлантириб қўяди. Бундай ҳолатда атрофдаги каллусли хужайралар емирилиб, ҳосил бўлган эмбрионидлар каллусли хужайралар массасидан осон тушиб кетади.

Каллусли хужайралар бир-бири билан плазмодесмалар орқали боғланмайди. Муртаксимон тузилмалар ёки меристемаатик ўчоқ пайдо бўлганда, хужайралар оралиғида қайтадан плазмодесмалар ёрдамида боғлар пайдо бўлади.

Морфогенезда ўтадиган ва каллусли хужайралардан ўсимлик пайдо бўлиши билан тугайдиган барча ўзгаришлар махсус генлар орқали назорат қилиб турилади. Ҳозирги вақтда бир гуруҳ олимлар—морфогенезни белгиси полигенли бўлиб, бир неча хромосомалар билан назорат қилиб турилади, деб ҳисобласалар, бошқалари—бу белги иккита ядро гени билан аниқланади, деган фикрга келишган. Каллусли хужайраларни морфогенетик фаоллиги генетик табиатга эга эканлигини ўзи, нима учун баъзи-бир ҳолларда каллусли тўқималардан у ёки бу генотипларни регенерациясини олиш мумкин эмаслигини тушунтириб беради. *in vitro*

шароитида морфогенетик фаол генотипларни чатиштириш – регенерацион имкониятларни ошишига олиб келиши мумкин.

7.8. ЎСИМЛИКЛАРНИ КЛОНАЛ МИКРОКЎПАЙТИРИШ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- *генетик бир хил экув материалнинг олинishi;*
- *меристема тўқималари культуралари ишлатилиши ҳисобига ўсимликларни вирусли ва бошқа юқумли касалликлардан ҳоли бўлиши;*
- *кўпайиш коэффициентининг юқорилиги (ўтчил ва гулли ўсимликлар учун 10^4 - 10^5 ; нинабаргли ўсимликлар учун -10^4);*
- *селекция даврининг қисқариши;*

- ўсимлик ривожланишишни ювенил даврдан репродуктив фазага ўтишишни тезлаштириш;
- анъанавий йўллар билан қийин кўпаядиган ўсимликларни кўпайтириш;
- ишни йил давомида ташиқил этиш имкониятларининг мавжудлиги ва кўчат материаллари ўстириш учун керак бўлган майдонни тежаши;
- ўстириш жараёнини автоматлаштириш имкониятлари ва ҳ.к.

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

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

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

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

Мамлакатимизда бу усул илмий лабораторияларда синаб кўрилмоқда. Хусусан, Ўзбекистон Миллий университети кимё факультети биотехнология илмий лабораториясида картошкани клонал микрокўпайтириш усуллари орқали касалликларга, иссиққа, шўрланишга чидамли навларини яратиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Шуни ҳам эслатиб ўтиш ўринлики, микрокўпайтиришдан фойдаланиш доираси жуда кенг бўлиб, кундан кунга янада ошиб бормоқда. Энг аввало *in vitro* шароитида ўсимликларни ёғочли турларини, нина баргли ва айниқса, йўқолиб кетаётган ўсимликлар ҳамда доривор

Ўсимликларни кўпайтириш мақсадида бу усулдан фойдаланиш катта самара бериши исботланган.

Ёғочли (дарахтларни) ўсимликларни тўқима культураси бўйича биринчи илмий ишлар 1920 йилларда чоп этилган бўлиб, француз олими Готре номи билан боғлиқ. Бу мақолаларда тилоғоч дарахти камбиал тўқималарини *in vitro* шароитида каллусогенезга имкониятлари (қобилиятлари) борлиги хабар қилинган. 1960 йилларда Матес деган олим биринчи марта осин дарахти регенерантини олишга эришган ва уни тупроққа экишгача етказган. Нина баргли ўсимликларни *in vitro* шароитида ўстириш узоқ вақт давомида тажриба сифатида ишлатилиб келинган. Бу нина баргли (ювенил) ҳамда қари ўсимликлар тўқималаридан ўсимлик етиштириш мақсадида фойдаланиш анча қийинчиликларга олиб келиши билан боғлиқ.

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

7.8.1. Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари

Клонал микрокўпайтириш жараёнини тўрт босқичга бўлиш мумкин:

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

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

учинчи – *кўпайтирилган навдани илдиз олиши ва уларни тупроқ шароитига мослаштириш, керак бўлганда регенерант – ўсимликларни совуқ ҳароратда (+2⁰, +10⁰) сақлаш;*

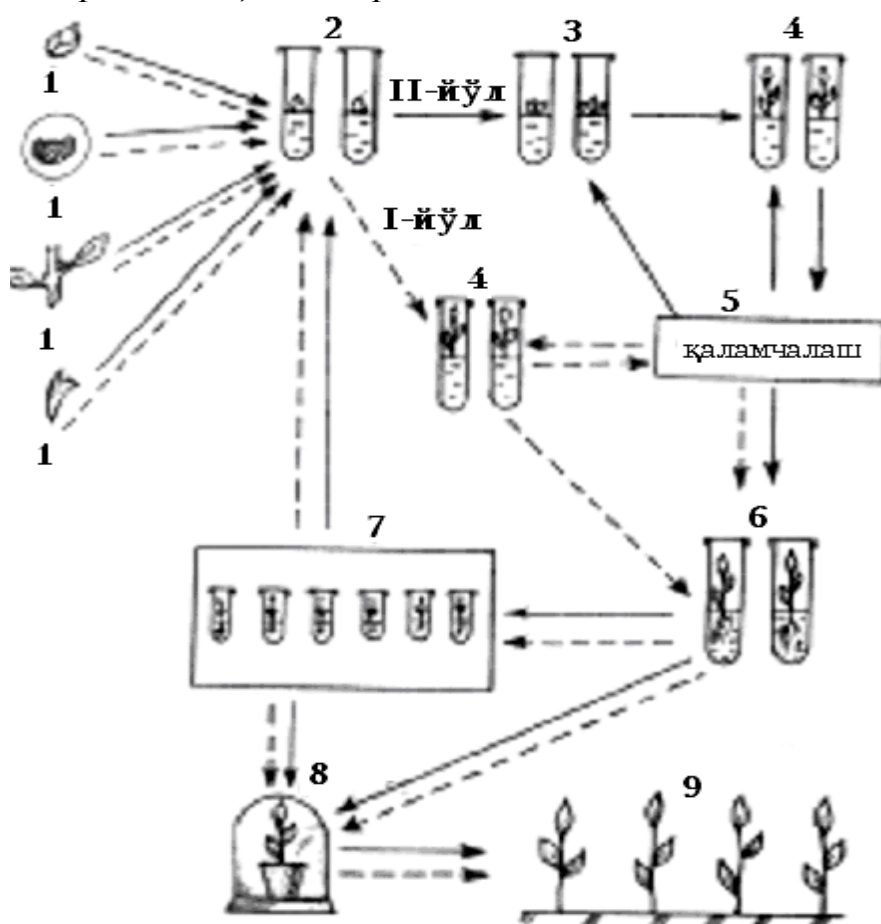
тўртинчи – *ўсимликни иссиқхона шароитида ўстириш ва уларни майдонга чиқариб экиш ёки сотишга тайёрлаш (18-чизма).*

Клонал микрокўпайтиришни кўп усуллари маълум. Кўплаб муаллифлар эксплантларни ўстиришга шароитни морфогенез жараёнига таъсирини ўргана бориб, ўстириш шароитини ўзгаришига ҳар хил

морфогенетик реакция бўлишини кузатганлар, бу эса клонал микрокўпайтириш методларини янги классификациясини яратилишига олиб келди.

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

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



18-чизма. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш

I-йўл – бор меристемааларни ривожланишини фаоллаштириш усули;

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

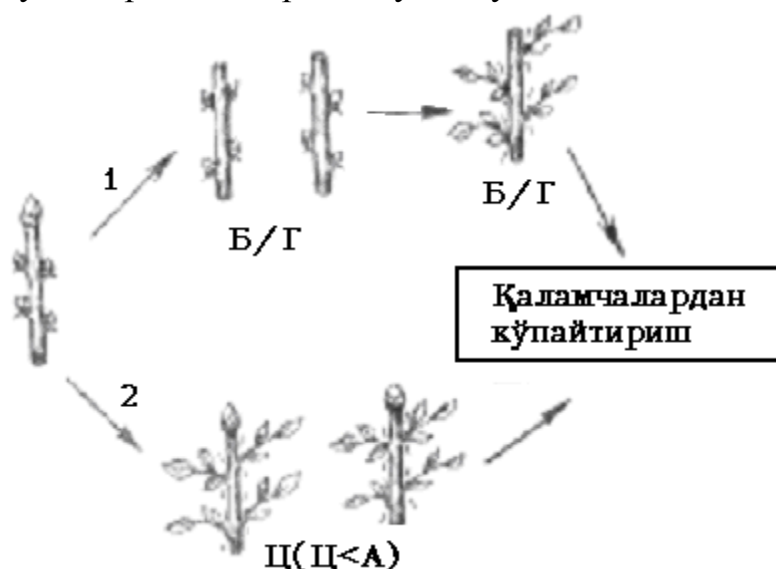
1-дастлабки эксплант танлаш; 2-стерил культура олиш; 3-бирламчи эксплантда, тўғридан – тўғри адвентив куртаклар ҳосил бўлиши; 4- куртакларни ўсиши ва микро навдаларни ҳосил бўлиши; 5-микронавдаларни кўпайтириши (қаламча); 6-микро новдаларни илдиз олиши; 7-регенерант ўсимликни паст ҳароратда сақлаш; 8-ўсимликларни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

Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришда ишлатиладиган асосий усул – бу ўсимликларда бор бўлган меристемааларни ривожланишини фаоллаштириш бўлиб, у апикал устиворликни олиб ташлашга асосланган (19-чизма). Бунга икки йўл билан эришиш мумкин:

- *пояни тепа меристемасини олиб ташлаш ва кейин наведани in vitro шароитида гормон сақламаган муҳитда микроқаламчалаш;*
- *озиқа муҳитига цитокинин таъсирига эга бўлган моддалар қўйиши (наведани ўсишини кучайтириши).*

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

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



19-чизма. Ўсимликларни бор меристемааларини фаоллаштириш усули билан кўпайтириш чизмаси:

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

Баъзи бир қишлоқ хўжалик ўсимликлари учун (масалан, картошка ўсимлиги) клонал микрокўпайтириш технологияси саноат даражасига кўтарилган. Ўсимликларда бор бўлган меристемааларни фаоллаштириш усулини ишлатилиши бир йилда бир дона картошка меристемаасидан 10^5 дона ўсимлик етиштириш имконини беради, бундай технология пробиркада микро тугунаклар - қимматбаҳо вируссиз уруғлик яратишни ўз олдига қўйган (20-чизма).

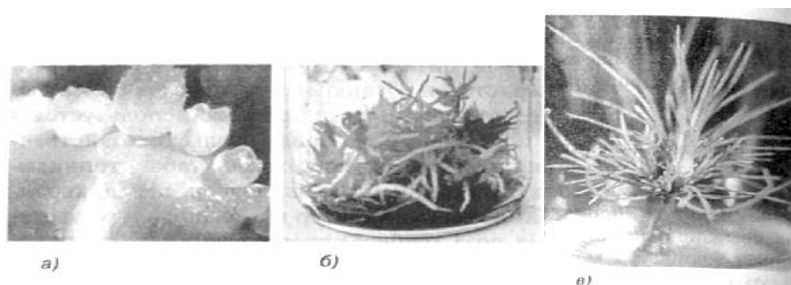
Иккинчи усул – Бу эксплант тўқималарида тўғридан-тўғри адвентив куртаклар пайдо бўлишини кучайтириш (индукция қилиш). Бу усул ўсимликни ажратиб олинган қисмини қулай озиқа муҳитида етишмаган қисмини (органларини) ҳосил қилишига асосланган, шундай қилиб, бутун ўсимликни регенерация (ҳосил) қилиш.

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

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

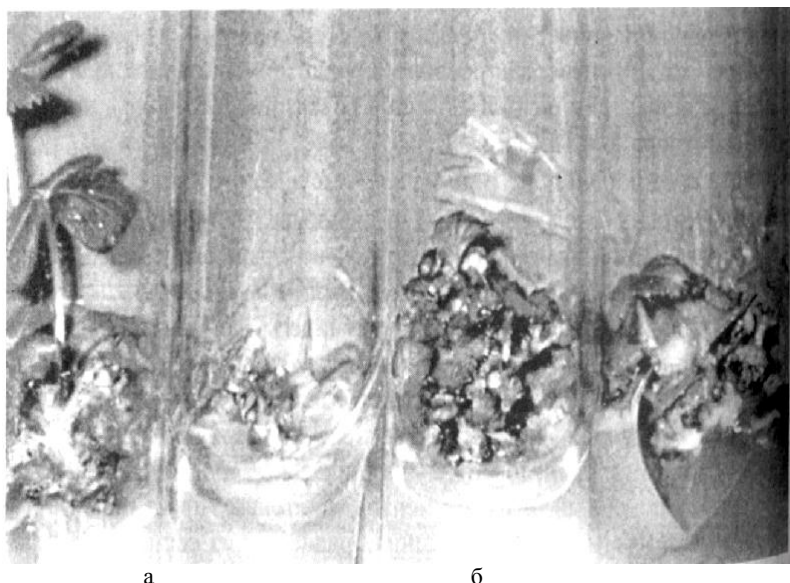
Бу микроўпайтиришни энг кенг тарқалган усули бўлиб, шу усул билан илдиз мевали гуллар (нарцисса, лилия, гиацинт, гладиолус, лолақизғалдоқ); *Brassica* авлодига мансуб ўсимликлар (рангли карам) шунингдек пиёз, саримсоқпиёз, помидор ва бошқа бир қатор ўсимликлар кўпайтирилган (20-чизма).

20-чизма. Ўсимликларни *in vitro* шароитида бор бўлган меристемаларни ўсишини фаоллаштириш усули:
а – стахис; б – анор; в – картошка.



21-чизма. Ўсимликларни адвентив куртакни индукция қилиш орқали кўпайтириш:
а- буғдой; б- орхидея; в- сосна.

Ер тути (земляника) ўсимлигини апикалли меристемааларини ўстиришга асосланган клонал микрокўпайтириш технологияси ҳам яхши йўлга қўйилган (22-чизма.).



22-чизма. Ер тутини
клонал кўпайиши

а - микрокўпайишни ўзи;
б - адаптация бўлган
ўсимлик.

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

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

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

Шунингдек, адвентив куртаклар меристемаатик ҳужайраларни юқори қатламидан пайдо бўлиши ҳам кўрсатиб ўтилган. Сосна дарахти мисолида

адвентив куртакни уруғпалласини ва субэпидермал қаватларида пайдо бўлиши кузатилган ва бу жараён сосна учун ишлатиладиган цитокининларга боғлиқ эмаслиги кўрсатиб ўтилган (23-чизма).

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



23-чизма.

Эксплантни эпидермал ва субэпидермал ҳужайра қаватида адвентив куртакларни ҳосил бўлиши

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

Тўқима культурасида эмбрионидларни пайдо бўлиши икки босқичда амалга ошади:

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

Соматик эмбриогенезни тўғридан – тўғри бирламчи эксплантлар тўқималарида, ҳамда каллусли культураларда кузатиш мумкин. Шунинг ҳам таъкидлаб ўтиш лозимки, каллусли культуралардан клонал микрокўпайтиришда фойдаланиш камроқ самара беради, чунки шу йўл билан тайёрланган экув материаллари (кўчатлар) донор – ўсимликга нисбатан генетик турғун (мустаҳкам) бўлмайди. Кўпинча, каллусли ҳужайраларни суяқ озиқа муҳитида ўстирилганда, соматик эмбриогенез

келиб чиқади ва энг қийин операциялардан ҳисобланади. Бунга сабаб, ҳар доим ҳам ҳужайраларга хос бўлган тотипотентлик амалга ошавермайди.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Ҳужайра биотехнологияси нима?
2. Ажратиб олинган ҳужайралар ва тўқималарни биотехнологиядаги ролини тушинтириб беринг?
3. Ажратиб олинган ҳужайра ва тўқималарни ўстириш техникасини изоҳлаб беринг?
4. Каллус тўқима нима? Унинг ривожланиш халқасини (ҳалқасини) тушинтириб беринг?
5. Каллусли ҳужайраларни ўзига хослиги нималарда иборат?
6. Каллус ҳужайраларининг генетикасини тушинтириб беринг?
7. Гормонларга боғлиқ бўлмаган ўсимлик тўқималарини ўзига хослиги, уни вазифа ва моҳиятини тушинтириб беринг?
8. Ҳужайра суспензиялари культураси нима ва у қандай олинади?
9. Ягона ҳужайралар культураси, уларнинг мақсад ва вазифалари нималардан иборат?
10. Каллусли тўқималар морфогенезини тушинтириб беринг?
11. Микроклонал кўпайтириш усуллари ва босқичларини айтиб беринг?

АДАБИЁТЛАР

1. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология: учебник М.: Агропромиздат 1987. 368с.
2. Биотехнология: принципы и применение. М.: “Мир” 1988. 350-390 с.
3. Давранов К.Д., Хўжамшукуров Н. Умумий ва техник микробиология. Ташкент. Изд-во. ТашГАУ. 2004. 274 с.

8. ТУПРОҚ МИКРОББИОТЕХНОЛОГИЯСИ

8.1. ТУПРОҚ МИКРОББИОТЕХНОЛОГИЯСИ ВА УНИНГ ВАЗИФАЛАРИ

Тупроқ ҳосилдорлигини ташкил этиш ва бошқаришда биологик омилларни ролини биринчилардан бўлиб, тупроқшунослик фанининг асосчилари В.В.Докучаев, П.А.Костычев ва В.Р.Вильямсонлар баҳолаб берганлар.

Улар тупроқ ҳаётида биологик бирикмаларни роли жуда ҳам катта эканлигини исботлаб бердилар. Бу гоё кейинроқ С.Н.Виноградский, Е.Н.Мишустин, М.М.Кононова, Д.Г.Звягинцев, В.Т.Емцев, Д.И.Никитин ва бошқа олимларни изланишларида ўз ривожини топди ва анча-мунча аниқлик ҳам киритди. Айниқса Е.Н.Мишустин, Д.Г.Звягинцев, В.Т.Емцев ва бошқалар тупроқ ҳосилдорлигида микроорганизмларни роли бекиёс эканлигини исботлаб бердилар ва шу туфайли микроббиокимё асослари тиклана бошланди.

Ҳозирги вақтда микроорганизмлар ўзларининг фаолияти ва массаси билан тупроқ ҳосилдорлигини белгилашда асосий рол ўйнаши аниқ бўлиб қолди. Шундай экан, ҳар хил қишлоқ хўжалиги тизимида тупроқ ҳосилдорлигини ошириш ва уни сақлаб туриш, бу жараёни бошқариш кўп маънода, тупроқда микробиологик жараёнларни бошқариш билан узвий боғлиқ.

Қишлоқ хўжалик экинларидан унумли ҳосил кўтариш жараёнини ва тупроқда микроббиокимёвий жараёнларни бошқариш қишлоқ хўжалик фанида янги йўналиш - тупроқ микроббиотехнологиясини пайдо бўлишига олиб келди. Бу йўналиш тупроқ шароитида микроорганизмлар таркибини ўрганиш ва бошқариш муаммоларига асосланган бўлиб, микроорганизмлар фаолиятини бошқариш ва улар томонидан олиб борилаётган метаболитик реакцияларни, қишлоқ хўжалик экинлари ҳосилдорлигини оширишга йуналтиришни тақозо этади.

Тупроқ микроббиотехнологияси фанининг асосий муаммоси тупроқда, айниқса ўсимликлар ризосфераси ва ризопланида ўтадиган микробиологик жараёнларни бошқаришдир. Бу муаммо, фақатгина маълум бир белгиланган шароитда, маълум таркибга эга бўлган микроблар ассоциациясини ташкил қилиш билан белгиланади.

Бу муаммоларни ечишни аниқ йўллари белгилаб олинган. У ҳам бўлса қуйидагилар билан белгиланади:

◆ агрономик аҳамиятли микроб ценозига ёки микроорганизмлар гуруҳига ташқаридан туриб таъсир қилишни бошқариш, яъни уларни кўпайиши, ўсиши, ривожланиши ва ўсимлик учун зарур бўлган ФФМ (антибиотиклар, фитогармонлар ва ўсимликни ўсишини бошқарувчи бошқа моддалар ва х.к.) ишлаб чиқаришини ташкил қила билиш;

- ◆ тупроқда микробларни ўсиши ва ривожланишини таъминловчи ўсимликлар иштирокида алмашлаб экишни ташкил қилиш ва шу туфайли микроббиокимёвий жараёнларни бошқариш;
- ◆ тупроқда микроббиокимёвий жараёнларни бошқаришда органик ва минерал ўғитлардан оқилона фойдаланиш;
- ◆ тупроқ микроорганизмларини азот ютиш ва фосфорли бирикмаларни эритиш қобилиятидан оқилона фойдаланиш;
- ◆ микробиологик жараёнларни тўлақонли ўтиши учун ҳар хил турдаги тупроқ мелиорациясидан фойдаланиш.

8.2. ТУПРОҚ МИКРОБ ЦЕНОЗИ - БИОЛОГИК ТИЗИМ СИФАТИДА

Табиатда содир бўладиган бир қатор муҳим воқеалар - биогеоценоз, тупроқдаги органик моддаларни минераллаштириш, уларни ҳаётий зарур биологик (модда алмашинуви) жараёнларда иштирокини белгилаш, микроб ценози (маълум шароитдаги микроорганизмларни таркиби ва фаоллиги) билан белгиланади.

Тупроқ микрофлорасини аниқлашда, уларни таркиби ва ўзига хослигини белгилашда, антропоген таъсирлар шароитида ўзгариши ва бошқа бир қатор шароитларда микробни тузилиши ва фаоллиги (функцияси) асосий белгилувчи омил бўлиб хизмат қилади.

Микроорганизмларни сони ва сифатини микроскоп остида, динамикада таҳлил қилинганда уларни доимий эмаслиги ва вақти-вақти билан ўзгариб туриши исботланган. Микроб массасини тез ўзгарувчанлик даври, мўтадиллашиб (стабилизация) бориши билан алмашиб туради. Бошқача қилиб айтганда бир вақтда микроб массаси тез ўзгаради, баъзи-бир вақтда эса ўзгармасдан туради ва х.к.

Тупроқнинг микроб ценози (таркиби) - бу биосферанинг ўзига хос реактив компонентиدير. Унинг юқори реактивлиги физиологик хилма-хиллиги, ўсиш тезлиги, полифункционаллиги, оқибат натижада эса модда алмашинуви, минерализацияланиши жараёнидаги беқиёс иштироки билан белгиланади.

Микроб ценози - микроблар классификациясининг катта бир бўлаги сифатида бир хил шароитда яшаб турган микроорганизмлар тўдасидир. Микроорганизмлар учун ўта зарур шароитлар: микроклимит, сув режими, тупроқнинг геологик тузилиши ва озиқа моддалари ҳисобланади. Шу ва бошқа омиллар ҳисобидан микроб ценози маълум биоценоздаги органик ва минерал моддалар трансформациясида ҳамда биологик ва нобиологик моддаларни биосферада ўзаро таъсирида иштирок этади.

Қисқа қилиб айтганда - микроорганизмлар доимий равишда ташқи муҳитга таъсир қиладиган ва унинг таъсири остида бўладиган тирик организмлардир.

Тупроқда микроб ценози хилма-хилдир. Е.Н.Мишустин уларни зимоген, автохтон, олиготроф, автотроф гуруҳларга бўлиб ўрганишни

тавсия қилади. Бу гуруҳлар ўртасидаги алоқадорлик доимий ўзгариб туради ва кўп маънода тупроққа бўлган таъсир билан белгиланади. Д.Н.Никитин экотизимда олиготроф микроорганизмларни роли катта эканлигини, улар табиатда тарқалган энергияни тўплаш қобилиятига эга эканлигини эътироф этади.

Охирги йилларда тупроқдаги микроб биомассаси ҳақида кўпроқ фикрлар ёритиладиган бўлиб қолди. Бунга бир неча сабаблар бор, албатта. Д.Г.Звягинцев микроб массаси ва уни "айланиш" тезлиги, тупроқ хусусиятига боғлиқ (яъни - рН, намлик, ҳарорат, аэрацияга) деб ҳисоблайди. Т.В.Тарвис тупроқда микроб массаси тўпланганда микроб билан ўсимлик орасида озика муҳити учун рақобат кетади деган фикрни илгари суради. Микроб биомассасини тез тўпланиши, уларни энергетик материаллар билан таъминланганлигига боғлиқ бўлиб, тупроқ унумдорлигидан хабар беради.

Азот ўзлаштирувчи микроорганизмларни таркиби, уларни энергетик ресурслари, физиологик фаоллиги, микроб массасининг миқдори, минерализация жараёни ва тупроқ унумдорлиги кўрсаткичи ҳақида маълумот беради.

Микроб массасини тўпланиши ва парчаланиши, тупроқдаги азот миқдорини ўзгаришига ва ўсимликни озикланиш шароитига тўғридан-тўғри таъсир этиб, тупроқ унумдорлигини ошишига хизмат қилади. Тупроқни ферментатив фаоллиги, яъни тупроқда яшовчи тирик организмларни ферментларини ўзига сорбция қилиш хусусияти ҳам диққатга сазовордир. Тупроқда боғланган (иммобилизация қилинган) ферментлар фаоллиги улар учун диагностик кўрсаткич бўлиб хизмат қилади. Тупроқда ферментларни учраши ва фаоллик кўрсатиши, тупроқни биологик фаоллиги ва унумдорлигидан хабар беради.

Микроб ценози- ўз-ўзини бошқарувчи биологик тизимдир. Бу тизимни мўтадил фаоллик кўрсатиши ҳар хил гуруҳга мансуб микроорганизмларни ривожланишига боғлиқ бўлади. Шу уринда, тупроқ доимий равишда ташқи муҳит таъсирига табиий ва антропоген таъсирга учраб туриши, бу эса унинг таркибий қисми бўлмиш микроорганизмларга ҳам таъсир кўрсатишини эсда тутмоқ лозим. Янги экологик тизимда микроорганизмлар фаоллиги ўзгариб, унинг имкониятлари тизимнинг динамик ривож учун етарли бўлмай қолиши мумкин, Бундай шароитда, тупроқдаги микробобиокимёвий жараёнларни мўтадиллаштириш учун уларни йўналиш ларини ўзгартириш лозим бўлади.

Бундай имкониятлар, микроблар тизимининг ички имкониятларини чуқур таҳлил қилиш, уларни функционал хилма-хиллигини ўрганиш, гетеротроф микроорганизмларни фаоллигини чуқур ўрганиш орқали минералланиш ва гумус моддалари ҳосил қилиш жараёнларини таҳлил этиш каби бир қатор биокимёвий жараёнларни ўрганиш орқалигина амалга оширилади. Фақатгина, тупроқдаги микроорганизмлар гуруҳларини, уларни фаоллигини ўзгартириш орқалигина тупроқ унумдорлигини ва

Ўсимлик ҳосилдорлигини ошириш мумкин. Микроб гуруҳлари фаолиятини бошқариш тупроқ микроббиотехнологиясининг асосини, унинг мазмун ва моҳиятини ташкил қилади.

8.3. ТУПРОҚДА МИКРОБ ЦЕНОЗЛАРИ ФАОЛИЯТИНИ БОШҚАРИШДА, ОРГАНИК ВА МИНЕРАЛ ЎҒИТЛАР, АЛМАШЛАБ ЭКИШНИ РОЛИ

Тупроқдаги микроббиокимёвий жараёнларни фаоллигини ва тупроқ унумдорлигини оширишнинг асосий йўлларида бири органик ва минерал ўғитлардан фойдаланиш, нордон тупроқларни оҳаклантириш ва алмашлаб экишни тўғри йўлга қўйишдир.

Ўғитлар таъсирида тупроқ микрофлорасини ҳаётӣ режимӣ ўзгариб боради. Дастлаб ўғитланган тупроқда микробиологик жараёнлар тезлашиб боради. Асосий физиологик гуруҳ микроблар билан бирга нитрофикация ва целлюлоза парчаловчи микроорганизмлар фаоллиги ошиб боради. Бу эса тупроқда аминокислоталар, ферментлар фаоллигини ошишига олиб келади. Узоқ вақт, сурункасига минерал ўғитлардан фойдаланган тупроқларда микробиологик жараёнлар сусайиб бораверади. Кўп йиллик кузатувлар натижасида гунг ва минерал ўғитлардан баробар фойдаланганда тупроқдаги микробиологик жараёнлар узоқ вақт ошиб боргани кузатилган.

Минерал ўғитларни юқори меъёри тупроқдаги баъзи-бир физиологик гуруҳ микроорганизмларни, хусусан аэроб азот ўзлаштирувчи ва анаэроб сульфатредукция қилувчи гуруҳларни фаолияти сусайиб кетишига олиб келади.

Органик ўғитлардан алоҳида ва минерал ўғитлар билан бирга узоқ муддатда ишлатиш натижасида Л.А.Карягина шундай хулосага келади: "минерал ўғитларни тупроқ микрофлорасига таъсири бир қатор омилларга, хусусан ўсимлик вегетация даврининг оби-ҳавосига ҳам боғлиқ бўлади".

Шундай бўлишига қарамасдан, минерал ўғитларга нисбатан органик ўғитлар тупроқ микрофлораси ва унинг фаолиятига кўпроқ таъсир қилади. Аммонификация ва нитрофикация қилувчи бактериялар сонини ошиши, торф-гунг ва NPK (азот, фосфор, калий) биргаликда ишлатилганда кузатилган. Ўзбекистон шароитида ҳам, тупроқ турларига қараб, маҳаллий ўғит ва NPK биргаликда ишлатилса, ҳамда нордон тупроқлар ўз вақтида оҳаклантирилса мақсадга мувофиқ бўлар эди. Бундай шароитда тупроқда актиномицетлар сони ошиб боради. Ўғитлар таъсирида целлюлоза парчаловчи микроорганизмлар, шу жумладан микромицетлар сони ўзгариб бориши кузатилган. Ўсимликларни озикланиш режимини меъёрига келтириш (органик ва минерал ўғитлар комплексида меъёрида фойдаланиш) тупроқдаги микроорганизмлар фаоллиги, уларни азотни органик бирикмаларини минераллаштириш фаолияти билан муҳофаза қилиб турилади.

Микробиологик жараёнларни бошқариш имконияти фақатгина органоминарал ўғитлар тизимидан тўғри фойдаланиш орқалигина амалга оширилади.

Тупроққа бундай таъсир, микроблар фаоллигини ошишига, хусусан ўсимлик илдиз тизимида микроблар фаолиятини ошишига олиб келади. Бу ҳолда, микроб массаси ошади, олиготроф микроорганизмлар фаоллиги, умуман тупроқ фаоллиги ошади. Тупроқ биодинамикасида кузатиладиган ўзгаришлар, биокимёвий жараёнларни кучайтишига, органик моддаларни парчаланишига, умуман эса тупроқ унумдорлигини ошишига олиб келади.

Сурункасига бир ўсимликни экиш (монокультура ҳокимлиги) тупроқ микрофлорасини ўзгаришига олиб келади. Бундай шароитда микромицетлар, актиномицетлар, спора ҳосил қилувчи бактериялар сони кўпайиб, фаол микроорганизмлар, хусусан азотфиксаторлар камайиб кетади. Монокультура ҳокимлигидаги тупроқларда протеаза, амилаза, пектиназа, целлюлаза, оксидланиш-қайтарилиш реакциясини олиб борадиган ферментлар фаоллиги пасайиб кетади. Хусусан, гумус ҳосил бўлиш ҳамда тупроқдаги полифенолларни парчаланишида иштирок этувчи полифенолоксидаза ферменти фаоллиги бутунлай йўқолиб кетади.

Ўсимликларни алмашлаб экиш тўғри ташкил қилинган тупроқларда ўсимликлар илдиз тизими билан узвий алоқада бўлган микроббиокимёвий компонентлар пайдо бўлади, бу эса биокимёвий жараёнларни ишлаб кетганидан хабардор қилади.

Тупроқни мелиоратив ҳолатини яхшилаш уни агрокимёвий хусусиятини тузатиш, хусусан, органик углерод ва гумин кислотасини умумий микдорини оширишга олиб келади. Шунда азот ва углерод моддаларини трансформациясида қатнашадиган микроорганизмларни сони ва сифати яхшиланади.

8.4. НИТРИФИКАЦИЯ ЖАРАЁНИНИ ПАСАЙТИРУВЧИ ОМИЛЛАР

Маълум бир шароитда тупроқда фаол ривожланиб келаётган нитрификация жараёнини пасайтириш, фойдасиз минераллаш жараёнини тўхтатишда катта аҳамият касб этади. Тупроққа солинган нитрофикацияни пасайтирувчилар, шу жараёни олиб борувчи нитрификация қилувчи микроорганизмларни фаолиятини буғиш орқали, азотни аммиак формада тўпланишига олиб келади.

Бундай шароитда нитритларни нитратларга оксидлаш жараёни пасаяди, нитритларни ювилиши ва уларни газсимон моддаларга айлантирувчи денитрификация жараёни пасаяди, тупроқни нитрификациялаш қобилияти тўхтади ёки жуда ҳам пасаяди. Нитрификация жараёнини пасайтирувчи бир неча препаратлар маълум бўлиб, шулардан бири, нитропирин-2-хлор-6-трихлорметил пиридин, бу препарат "N-Serve-24" номи билан маълум.

Препаратни 240 г/л ёғдаги эритмасини аммиакли ўғитлар билан (6 кг/га) тупроққа солинганда, нитрификация жараёнида қатнашувчи бактерияларни сони жуда ҳам камайиб кетгани тасдиқланган. Шунингдек, препаратни иккиламчи хусусияти аммонификаторларни ўсишини пасайтириши ҳам кузатилган (тупроқни 2-6 см қатламида). Шундай бир ҳолатда бу препарат бошқа тур ва туркумларга мансуб бактерияларга таъсир этмаган.

8.5. ГЕРБИЦИДЛАРНИ ТУПРОҚ МИКРОБ ЦЕНОЗИГА ТАЪСИРИ

Тупроққа солинган гербицидлар ўзларини асосий вазифаси бўлган бегона ўтларни йўқотиш билан бирга, тупроқда амалга ошиши лозим бўлган биокимёвий жараёнларга ҳам салбий таъсир кўрсатади. Тупроқда яшовчи микроорганизмларни фаолиятини бузилиши (тупроқда органик ва ноорганик моддаларни, жумладан гербицид, пестицид ва бошқа ядохимикатларни тўпланиб қолиши) тупроқ унумдорлигини пасайишига олиб келади. Бундай ҳолларда, зудлик билан тупроқни ҳар хил цидлардан тозалаш, ундаги (тупроқдаги) микробиологик жараёнларни тиклаш лозим бўлади.

Тупроқда гербицидлар микроорганизмлар массаси билан ўзаро алоқага киради. Демак, гербицидларни йўқотиш шу тупроқдаги микроорганизмларни фаоллигига тўғридан-тўғри боғлиқдир.

Кўпчилик ҳолларда гербицид сепилган тупроқларда микроорганизмлар дастлаб камайиб кетади, 10-12 кун ўтгач, микроорганизмларни шу шароитга мослашуви (адаптация) бошланади. 1,5-2,0 ой орасида гербицид таъсири пасайиб, микробиологик жараёнлар тиклана бошлайди.

Микроорганизмларни тикланиш даври бир томондан шу шароитда яшаб турган микроорганизмларни мослашувига, иккинчи томондан эса гербицидларни хусусиятига боғлиқ. Айниқса гербицидлардан фойдаланганда уни ишлатиш мўтадиллигига риоя қилмаслик, тупроқни узоқ вақт давомида бутунлай ишдан чиқаришгача олиб келади.

Гербицидлар (ТХА-На, дикотекс, прометрин, симазин ва х.к.) билан тупроқни ва уни атрофидаги сув хавзаларини ифлослантирмаслик учун қуйидаги тадбирлардан фойдаланишни тавсия қиламиз:

- ◆ Гербицидлардан фойдаланган тупроқни намлигини 60% атрофида (сув режимини бошқариш йўли билан) ушлаб туриш лозим, чунки шу шароитда микроорганизмлар томонидан гербицидларни парчаланиши тезлашади;

- ◆ *прометрин ишлатилганда, уни парчаланиши суст кетишини эътиборга олмоқ лозим.*

- ◆ *прометрин ва симазинни юқори миқдори ишлатилганда, гербицидларни тупроқда қолган ва атрофидаги сувга ўтган миқдорини*

аниқлаб бориш лозим, чунки гербицидлар дренаж сувларига ўтиб ундаги илга ўтиб қолишлари мумкин.

◆ симазин ишлаб чиқариш ёки ундан кўпроқ меъёردа нитрификация жараёнини 20-45 кунга пасайтириши, ТХА-На эса нитрификация қилувчи бактерияларни фаоллигини ошириши ва нитратларни тўпланишига олиб келади.

Тупроқ микроббиотехнологияси-тупроқ шароитида микроорганизмлар массасини, уларни фаолиятини ўрганиш қишлоқ хўжалигини замонавий усуллар билан ривожлантиришда асос бўлиб хизмат қилиб келмоқда. Тупроқ микроббиотехнологияси ютуқлари асосида микроорганизмлар фаолиятдан тўғри ва оқилона фойдаланиш орқали тупроқ унумдорлигини ошириш, юқори сифатли, экологик тоза ва мўл маҳсулот етказишимиз мумкин.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ.

1. Тупроқ биотехнологиясини асосчилари кимлар?
2. Тупроқда биологик омил деганда нимани тушунасиш?
3. Тупроқ микроббиотехнологияси фанининг асосий вазифаси нима?
4. Микроб ценози нима?
5. Тупроқдаги микроб биомассаси деганда нимани тушунасиш?
6. Алмашлаб экишни микроб ценозига таъсирини тушунтириб беринг.
7. Нитрификация жараёнини пасайтирувчи омилларга мисоллар келтиринг.

АДАБИЁТЛАР.

1. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология: учебник М.: Агропромиздат 1987. 368с.
2. Биотехнология: принципы и применение. М.: “Мир” 1988. 350-390 с.
3. Давранов К.Д., Хўжамшукуров Н. Умумий ва техник микробиология. Ташкент. Изд-во. ТашГАУ. 2004. 274 с.

9. СИМБИОТИК АЗОТФИКСАЦИЯДА БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ ГЕНЕТИК АСОСЛАРИ

Ўсимлик ривожини чеклаб қўядиган омиллардан бири азот етишмаслигидир. Озиқа сифатида азот етишмай турган бир пайтда ўсимлик азот билан ўралган ҳолатда бўлади. Маълумки, биз нафас олиб турган ҳавонинг қарийиб 80% ини молекуляр азот (N_2) ташкил этади. Аммо бу азотни ўсимлик тўғридан -тўғри ишлата олмайди. Чунки, молекуляр азотни организмга сўрилиши учун нитрогеназа деб номланувчи фермент фаолияти керак бўлади. Бу фермент барча эукариотлар сингари ўсимликларда ҳам учрамайди. Азот ютиш қобилияти фақатгина баъзи-бир прокариот организмларда учрайди, холос. Бундай организмлар ўсимликлар билан симбиоз ҳолатда яшаб, фаолият кўрсатадилар. Азот ютиш тизимини сунъий (ташқаридан туриб) ташкил қилиш учун энг аввало симбиотик азотфиксация жараёнининг генетикасини яхшилаб ўрганиб чиқиш лозим бўлади.

9.1. АЗОТФИКСАЦИЯ ТИЗИМИНИНГ ХИЛМА-ХИЛЛИГИ ВА УЛАРНИНГ АСОСИЙ ХУСУСИЯТЛАРИ

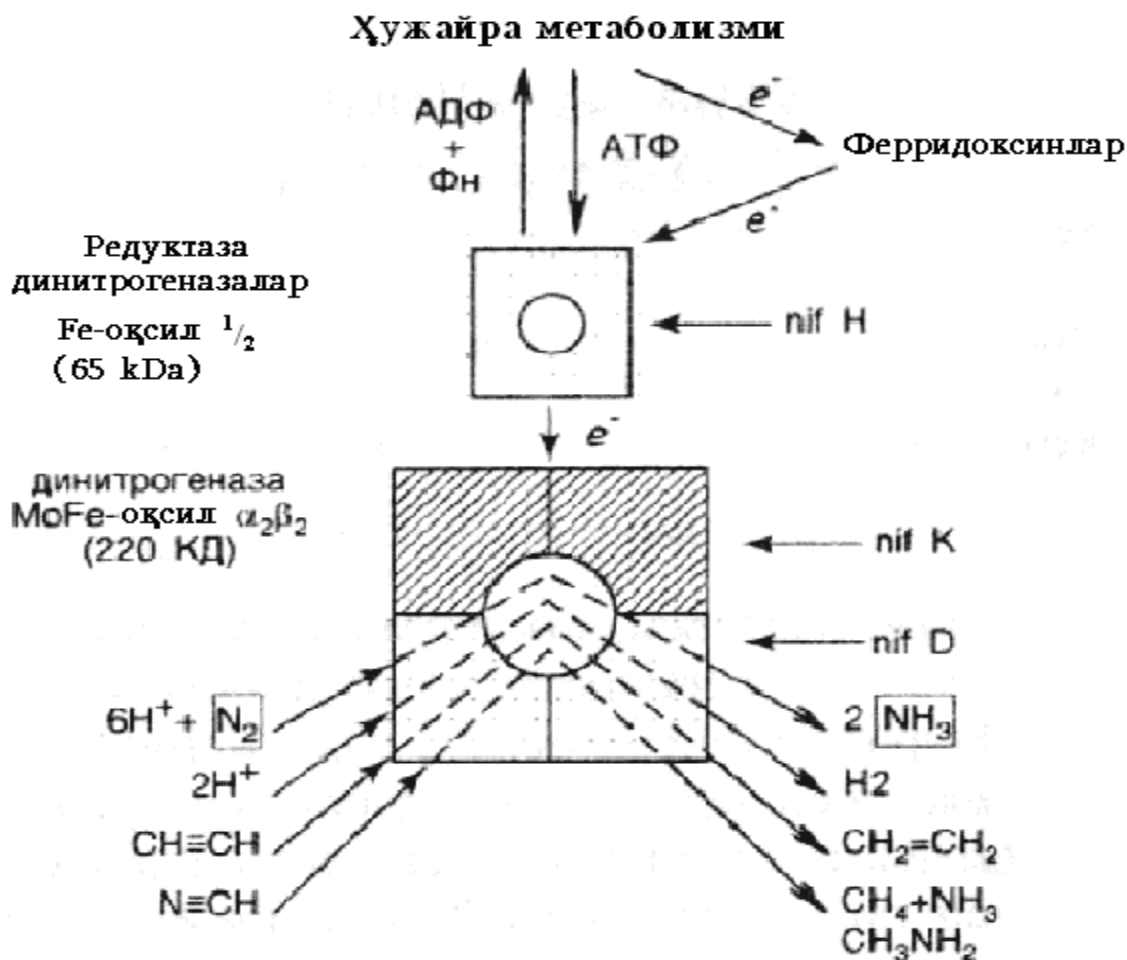
Азотфиксация хусусияти маълум бир таксонга мансуб микроорганизмларгагина хос эмас. Бундай хусусиятга деярли барча асосий гуруҳларга мансуб бўлган прокариотлар: грамманфий ва граммусбат эубактериялар, цианобактериялар, актиномицетлар ва архебактериялар эгалар. Кўпчилик азотфиксация қилувчи микроблар диазотрофлар ҳисобланадилар, чунки улар молекуляр азотни (N_2) ягона азот манбаи сифатида ишлата оладилар. Аммо баъзи-бир бактериялар молекуляр азотдан фақатгина ўсимликлар иштирокидагина фойдалана оладилар холос (*Rhizobium*, *Frankia*). Нихоят, бир қатор микроблар (*Azorhizobium*, *Anabaena*, *Nostoc*) ўзларида ҳам диазотрофия ҳамда ўсимликлар билан симбиозда яшаш хусусиятларини намоён этадилар.

Нитрогеназа реакцияси. Юқорида айтиб ўтилганидек, молекуляр азотни қайтарилиш реакцияси нитрогеназа ферменти иштирокида амалга оширилади (24-чизма). Бу фермент уч хил типдаги оксилдан (α , β , γ) ва иккита: молибден-темир (MoFe) сақловчи ва темир (Fe) сақловчи кофакторлардан ташкил топган. Нитрогеназа икки суббирликдан иборат. Улардан бири катта-динитрогеназалар бўлиб таркибида MoFe-кофакторлари сақлайди (баъзан уларни II-компонент ҳам деб аташади). Иккинчиси эса кичик-динитрогеназалар редуктазаларидан иборат бўлиб, Fe-кофактори (I-компонент) сақлайди. Молекуляр азотни қайтарилиши уни (N_2) MoFe-кофактори билан ўзаро таъсири оқибатида (яъни динитрогеназада) амалга ошади. Редуктазаларни асосий вазифаси электронларни динитрогеназага узатиб туришдан иборатдир. Темир

ионлари ҳар икки компонент таркибида, гемин (динитрогеназалар редуктазалари) ёки ногемин (динитрогеназаларда) шаклда учрайди.

Қанчалик мураккаблигига қарамасдан нитрогеназа жуда ҳам паст бўлган субстрат спецификлигига эга. Бу фермент қатор уч боғли қўшбоғ сақлаган бирикмаларни қайтариш хусусиятига эга. Жумладан, 24-чизмада акс эттирилганидек, бу ферментда ацетиленни этиленгача қайтариш хусусияти ҳам намоён бўлади.

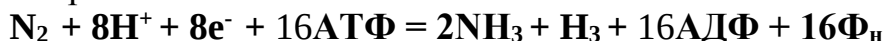
Нитрогеназа ферментининг тузилиши: уч хил типдаги оксил (α , β , γ) катта динитрогеназа икки кофактор: MoFe, Fe кичик динитрогеназа редуктазалардан иборат. (24-чизма)



24-чизма. Нитрогеназалар функцияси ва тузилиши

Баъзи бир чегараланишларга қарамасдан (ацетилен иштирокида нитрогеназани баъзи-бир хусусиятларини ўзгариши; ўсимлик билан микроб симбиозидида ацетиленни ўсимлик ҳужайраларининг физиологик хусусиятларига таъсири ва ҳ.к.) мана шу реакцияга асосланган ацетилен усули нитрогеназа ферментини аниқлаш билан боғлиқ бўлган генетик ва селекцион ишларда кенг қўлланилиб келинмоқда.

Қуйида нитрогеназа ферменти катализ қиладиган реакциянинг умумий кўриниши келтирилган:



Кўриниб турибдики, нитрогеназа реакцияси жуда кўп энергияга талабчан реакциядир. Нитрогеназа ва унга хизмат қиладиган ферментлар синтези ҳам (нитрогеназа оксилларини ҳосил бўлишини назорат қилувчи коферментлар синтези, электронлар узатиш ва азотфиксация маҳсулотлари ассимиляцияси ва х.к.) жуда катта энергия талаб қилади. Олимларнинг ҳисоб китобларига қараганда, 1 г азотни фиксация қилиш учун 100-200 г глюкоза сарфланиши керак экан. Шунинг учун ҳам микроблар фақат азот танқис бўлган ва энергия етарли бўлган шароитдагина нитрогеназа ферментини синтез қилишлари мумкин.

Микроорганизмлар учун энг қулай ва фойдали энергия манбаи бўлиб, фотосинтез ва оксидланган фосфорланиш жараёнлари ҳисобланади. Аммо нитрогеназа ферменти эркин кислородга жуда ҳам сезгир бўлгани сабабли бу жараён қийинчилик билан ўтади. Маълумки, нитрогеназа ферменти жуда кам микдорда O_2 бўлган муҳитда ҳам ўз фаоллигини йўқотади. Шунинг учун ҳам азот тўпловчи микробларда нитрогеназани эркин кислороддан ҳимоя қиладиган ва шу орқали керакли энергияни қабул қила оладиган хилма-хил механизмлар мавжуд. Масалан, симбиоз бўлмаган эркин яшовчи диазотроф микробларда, ёки нитрогеназани синтез қилувчи генлар анаэроб ёки микроаэрофил шароитларда фаоллашади (архейлар ва эркин яшовчи эубактериялар) ёки азотфиксация қилувчи бактериялар (ҳужайралар) қалин қобиқ ҳосил қилади, бу эса кислородни жуда ҳам секин ва кам ўтказди (цианобактериялар). Ўсимликлар ва микробларни симбиози жараёнида нитрогеназани кислороддан ҳимоя қилиш вазифасини ўсимлик бажаради.

Нитрогеназанинг синтези ва етилиши мураккаб *nif* - генлар тизими орқали бошқарилади. Уларнинг кўпчилиги барча азотфиксаторлар учун умумийдир. Масалан, яхши ўрганилган энтеробактериялар *Klebsiella pneumoniae* да бу тизим *Z* транскрипцион бирликка бирлаштирилган, ягона кластерга йиғилган 25 гендан иборатдир. *nifH*, *nifD*, *nifK* геналари нитрогеназани γ , α , β оксилларининг синтези учун жавобгардирлар. *nifM*, *nifS*, *nifU*, *nifY* (*nifB*, *nifE*, *nifN*, *nifV*) Мо-Fe кофактори синтезини назорат қилади. Булардан ташқари *Klebsiella* 2 та бошқарувчи генни, яъни *nifA*, *nifH*, *D*, *K*, ва бошқа генларни транскрипция қилувчи оксил синтезини, шунингдек *nifL* генининг маҳсулоти кислород ёки боғланган азот иштирокида *nif*-генлар транскрипциясини пасайтиради.

Аммо баъзи-бир азотфиксаторларда *nifL* гени учрамайди ва унинг вазифасини бошқа генлар бажаради.

9.2. ЎСИМЛИКЛАРНИНГ АЗОТФИКСАТОРЛАР БИЛАН СИМБИОЗИ

Микроблар орасида азотфиксация қилиш хусусиятларини белгилаб бераётган омиллардан бири, уларни бундай хусусиятлардан истисно бўлган ва шу боис азотга эҳтиёж сезган организмлар билан симбиозда ҳаёт кечиришга мосланишларидир. Симбиозга мухтожлик энг аввало бошқа

организмлардан (хайвонлар эса бу жараёнларни ўзлари бажарадилар) ёки органик чиқиндилардан (замбуруғлар сингари) азотли маҳсулотларни ўзларига сингдириб ололмайдиган ўсимликларда сезилади ва улар ёрдамида амалга оширилади.

Ўсимликлар билан ўзаро алоқада, тўғрироғи ўзаро таъсирда бўлиш хусусияти архебактериялардан бошқа барча гуруҳ азотфиксаторлар учун хосдир. Ўсимликлар билан симбиозда яшаб азотни ўзлаштирувчи микроорганизмларни уч гуруҳга бўлиш мумкин: биринчи, ҳужайра ичидаги симбионтлар (*Rhizobium*, *Frankia*, *Nostoc*, *Gunnerra* билан симбиозда) иккинчи ўсимлик ичидаги лекин, ҳужайрага кирмайдиган микроорганизмлар (*Anabaena* ёки *Nostoc*, *Azolla* билан симбиозда); эндофит бактериялар *Accetobacter* ва *Azoarcus* ва ниҳоят учинчи, илдизда яшовчи ассоциатив диазотрофлар (*Azospirillum*, *Flavobacterium*). Азотфиксация жараёнида иштирок этувчиларни ўзаро таъсири қуйидаги умумий стратегияни белгилайди:

биринчидан, микроб ўсимлик учун зарур бўлган азотли моддаларни синтез қилади ва уларни ўз ҳўжайини ҳўжайрасига етказиб беради, оқибатда ўсимликни азотли моддаларга эҳтиёжи камайганлиги ҳисобидан уларнинг имкониятлари ошади, ўсимлик соғлом ўсиб, ҳосилдорлиги ошади;

иккинчидан, ўсимлик микросимбионтга ўз бағридан “бошпана” (экологик имконият) ажратиб беради, оқибатда азотфиксация қилувчи микробларни бошқа гуруҳ микроорганизмлар (ўзлари яшовчи) билан рақобат қилишдан сақлайди, ҳамда азотфиксация қилиш учун сарфланадиган энергетик харажатларни қоплайди.

Азотфиксация қилувчи микроорганизмлар билан фототроф организмлар симбиозда икки фундаментал биокимёвий жараёнларни, яъни азотфиксация ва фотосинтез жараёнларини симбиогенлик (бир-бирига фойда келтириб яшаш) кучайиши кузатилади.

Аммо, симбиотик ўзаро таъсирни азот метаболитларининг фотосинтез маҳсулотларига алмашиш деб қараш унчалик аниқ бўлмас эди. Кўпгина ўсимликларни азотфиксация қилувчи бактериялар билан ўзаро таъсири жараёнида, ҳамкорларни (ўсимлик ва микроб) бир-бирларига жуда яқин (структуравий-функционал) тузилиши ва фаолият кўрсатиши кузатилади. Бу жараён ўсимлик ва бактерия генларини ўзаро бошқариш ва мувофиқлашган экспрессиясига асослангандир. Бу эса ҳамкор ҳужайралар фаолиятларини табақаланишига ҳамда улар орасида кучли бошқарув муносабатларини кузатилишига олиб келиши мумкин.

9.3. ДУККАКЛИ ЎСИМЛИКЛАР ВА РИЗОБИАЛ БАКТЕРИЯЛАР СИМБИОЗИ

Дуккакли ўсимликлар (*Fabaceae* оиласи) ва тугунак бактериялар (ризобийлар) ўртасидаги симбиотик муносабатлар организмлараро энг

яхши ўрганилган тизимлардан бири ҳисобланади. Бу бир қанча сабаблар билан изоҳланади. Ризобиал бактериялар (*Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mezorhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*) факультатив симбионтлар ҳисобланиб, улар *ex planta* (ўсимликдан ажралган) ҳолатда ҳам ўса оладиган ва барча замонавий молекуляр-генетик усуллар билан тадқиқ этиш учун қулай манба бўлиб ҳисобланадилар.

Дуккакли ўсимликларни тугунаклари ўсимликларнинг бир қатор асосий вазифалари: сигнал жараёнлари ва генлар экспрессияси, хужайрани табақаланиши ва органогенез, азот ва углевод алмашинувини таҳлил қилиш ва бошқа жараёнларни ўрганишда жуда ҳам қулай модел бўлиб хизмат қила олади. Ниҳоят, энг муҳими дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактериялар симбиозини ўрганиш уларнинг катта амалий аҳамияти билан ҳам боғлиқдир: кўпчилик дуккакли ўсимликлар асосий қишлоқ хўжалик экинлари қаторига киради, уларнинг ҳосилдорлигини ошириш эса бугунги куннинг энг долзарб масалаларидан бири бўлиб ҳисобланади.

Ризобийлар билан ўсимликларнинг ўзаро муносабати, уларни юқори даражадаги спецификлиги (ўзига хослиги) билан тавсифланади (18-жадвал).

Энг аввало, симбиоз муносабатларини фақатгина дуккакдошлар оиласига хослиги (биргина истисно сифатида дуккаклиларга мансуб бўлмаган *Parasponia* ўсимлигини (*Ulmaceae* оиласи) ризобийлар билан тугунак ҳосил қилиши), иккинчидан, кўпгина ризобиал бактериялар дуккакдошларнинг чегараланган ягона авлодига мансублиги (*R.galegae*, *R.leguminosarum* *bv.trifolii*), ёки таксономик жиҳатдан бирмунча яқин авлодлар (*R.meliloti*, *R.leguminosarum* *bv viceae*) доирасидагина содир бўлиши билан тавсифланади.

Дуккакли ўсимликлар билан ризобиал бактериялар ўртасидаги симбиознинг ривожланиши – мураккаб, кўп босқичли бўлиб, у тўрт гуруҳ жараёнлардан иборат:

Биринчи, *дастлабки (юқишдан олдинги) муносабат*;

Иккинчи, *тугунаклар морфогенези*;

Учинчи, *эндосимбионтлар тараққиётининг бошқарилиши*;

Тўртинчи, *тугунакларнинг азотфиксация аъзоси сифатида фаолият кўрсатишини ўз ичига олади*.

Юқорида кўрсатиб ўтилган жараёнларнинг барчаси бактериялар томонидан ҳам, хўжайин-ўсимлик томонидан ҳам қатъий назорат остида туради.

9.3.1.Дастлабки (юқишдан олдинги сигнал) ўзаро муносабатлар

Ҳар қандай симбиотик муносабатларда ҳамкорлар ўртасида молекуляр сигналлар алмашинуви содир бўлади. Симбиознинг бошланғич босқичларидаги сигнал организмларнинг эркин ҳолатидан симбиотик муносабатга ўтишларини таъминлайди, биров кейинги босқичларда эса -

метаболитик ва морфогенетик жараёнлар симбиознинг фаолият кўрсатишини таъминлайди.

Сигналлар кўпинча нишон-генлар транскрипцияси ва трансляцияси даражасида фаолият кўрсатади, бу эса симбиозни юксак организм генлари дифференциал экспрессиясини ўрганиш учун жуда қулай моделга айлантиради.

21-жадвал.

**Тугунак бактериялар ва дуккакли ўсимликлар
муносабатларининг спецификлиги**

Бактериялар	Ўсимликлар
<i>R.meliloti</i> ,	<i>Medicago</i> (беда), <i>Melilotus</i> (қашқарбеда), <i>Trigonella</i> (йўнғичқа)
<i>R.leguminosarum</i> <i>bv.trifolii</i>	<i>Trifolium</i> (себарга)
<i>R.leguminosarum</i> <i>bv.viciae</i>	<i>Pisum</i> (рус нўхат, оқбурчоқ), <i>Vicia</i> (вика), <i>Lathyrus</i> (нўхатак), <i>Lens</i> (ясмик)
<i>R.leguminosarum</i> <i>bv phaseoli</i> (<i>R.etli</i>), <i>R. tropici</i>	<i>Phaseolus</i> (ловия)
<i>R.galegae</i>	<i>Galega</i> (козлятник)
<i>Sinorhizobium fredii</i>	<i>Glycine</i> (соя)
<i>Mezorhizobium loti</i>	<i>Lotus</i> (лядвинец), <i>Lupinus</i> (люпин, бўри дуккаги)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	<i>Glycine</i> (соя)

9.3.2. Сигналлар синтези ва ажралиши

Тугунак бактериялар ва ўсимликлар ўртасидаги симбиоз ризобийларнинг ўсимликларнинг флаваноидларига таъсирдан бошланади, бу эса бактерияларни вирулентлигини (*nod*, *nodulation* - инглиз тилидан- тугунак ҳосил бўлиши) генларини фаоллашишига олиб келади. Мазкур генлар назорати остида ризобийлар тугунаклар тараққиётининг бошланғич босқичларини жадаллаштирувчи липо-хито-олигосахаридлар *Nod*-факторларини синтезлайди. Ҳозирги вақтга қадар ризобийларда 50 дан ортиқ вирулентлик генлари аниқланган. Улардан баъзилари барча ризобийлар учун “умумий” (тузилиши ва фаолияти бўйича бир хил) бўлса, бошқа бирлари ҳар бир тур ёки ҳар бир штамм учун ўзига хосдир. “Умумий” *nod* генлар (*nodA*, *nodB*, *nodC*) даги мутациялар симбиознинг дастлабки ривожланиш босқичи -илдиз тукчаларининг буралиши босқичининг бузилишига (ўзгаришларига) олиб келади. Хўжайинга хос генлар (*nodH*, *nodP*, *nodQ*, *nodZ*) мутациялари натижасида одатда симбиотик муносабатларнинг сўнгги, инфекцион иплар ва тугунак меристемалари ҳосил бўлиши билан боғлиқ бўлган босқичлари бузилади.

Мазкур вирулентлик генлари гуруҳлари орасидаги асосий фарқлар уларнинг ҳар хил турга мансуб ризобийлар ўртасидаги кўчишида ҳам яққол намоён бўлади. Хўжайинга хос генларнинг кўчиши донор-штаммнинг хўжайин-ўсимлигида реципиент -штаммнинг тугунак ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлишига олиб келади. “Умумий” *nod* генларнинг

кўчишида бундай ҳолат кузатилмайди, агар реципиент ўзининг “умумий” *nod*-генлари ўзгарган (бузилган) авирулент мутант бўлса, унда дастлабки она ўсимлик-хўжайинда тугунак ҳосил қилиш хусусияти тикланиши кузатилади.

Иккала гуруҳ генлари ҳам индуцибел ҳисобланадилар: уларнинг фаоллигини дастлаб ризобийларнинг ўсимлик ризосферасига тушган вақтидагина қайд этишга муваффақ бўлинган. Бунда дуккакли ўсимликлар илдизлари ёки уруғларидан ажралиб чиқадиган флавоноидлар бактерия оқсили *NodD* билан боғланади, у эса қолган *nod*-генлар (*nodD*-ризобийларнинг алоҳида мустақил ишлайдиган вирулентлик гени) транскрипциясини фаоллаштириш хусусиятига эга бўлади. *nodD*-гени транскрипцияни бошқарувчи генлар оиласининг вакили бўлиб, бу оилага жуда яхши ўрганилган *lysR* ва *araC* генлари ҳам киритилади. *NodD* оқсилида иккита домен: ДНК билан боғланадиган кучли консерватив N-қисм ва тахминларга кўра, флавоноидлар билан боғланадиган C-қисм мавжудлиги аниқланган. *NodD* оқсили ризобиал хўжайрининг флавоноидлар ўтадиган ички мембранаси билан боғланган бўлади. Улар билан муносабатга киришган *NodD* оқсили ўзининг конформациясини ўзгартиради, натижада унда вирулентликнинг индуцибел генлари промотор қисмида жойлашган консерватив кетма-кетлик “*nod-box*” билан боғланиш имконияти туғилади. Оқибатда мазкур промоторларнинг РНК-полимеразага ўхшаш қисмлари кўпаяди ва уларнинг транскрипцияси кучаяди.

Вирулентлик генлари фаолиятининг охириги маҳсулоти *Nod*-омиллар бўлиб, уларни синтез қилиш қобилияти ризобийларнинг ноёб хусусиятидир. Бу омиллар N-ацетилглюкозаминнинг 3-6 қолдиғи ва 16-20 та углерод атомидан иборат бўлган тўйинмаган ёғ кислотаси радикалини сақловчи модификацияланган липо-хито-олигосахаридлардан иборат (25-чизма). Мазкур омиллар биосинтези қуйидаги жараёнларни ўз ичига олади (26-чизма):

1. 1-4-β-глицозидли боғлар ҳосил бўлиши билан кечадиган N-ацетилглюкозамин (*NodM*-оқсили назорати остида фруктозадан синтезланувчи) нинг полимеризацияси. *NodC* оқсили катализлайдиган мазкур реакция хитин олигомерлари ҳосил бўлишига олиб келади;
- 2) глюкозаминнинг «редукцияланмайдиган» қолдиқ қисмини R1 ҳолатда (*NodB* блоки томонидан катализланади) деацетилланиши ва ёғ кислотаси қолдиғини азот атомига бирикиши (*NodA* оқсили катализлайди);
- 3) ҳосил бўлган липо-хито-олигосахарид модификацияси (*Nod* – омилнинг пўстлоқ қисми); водород атомлари «редукцияланадиган» ва «редукцияланмайдиган» учларда турли хил радикал (фукозил, сульфат, метил, ацетил ва ҳ.к.) ларга жойлашади.

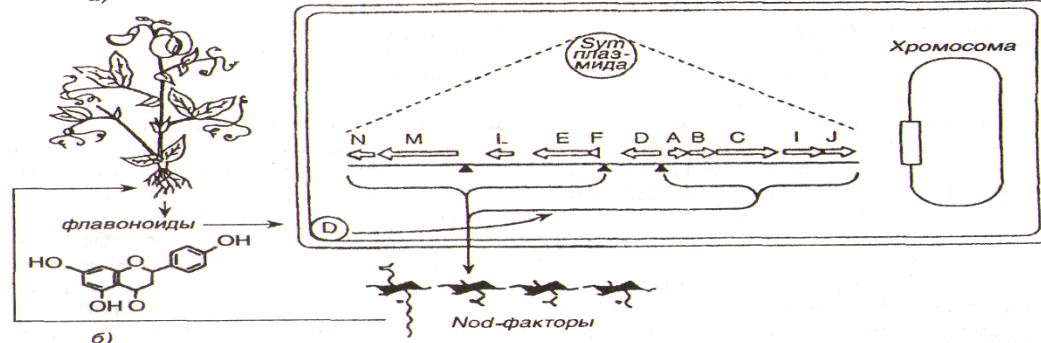
The diagram illustrates the chemical structure of the lipopolysaccharide (LPS) of *Rhizobium leguminosarum*. It features a repeating unit of a disaccharide chain, with a central core of α -D-glucopyranoside units linked by β -1,3-glycosidic bonds. The repeating unit is enclosed in brackets with a subscript n . The side chains are labeled as follows:

- R1:** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.
- R2:** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.
- R3:** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.
- R4:** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.
- R5:** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.
- C18:1 (rizobии вики, гороха):** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.
- C18:1 (rizobии сои):** A side chain attached to the α -D-glucopyranoside unit, consisting of a β -D-glucopyranoside unit linked to a β -D-glucopyranoside unit, which is further linked to a β -D-glucopyranoside unit.

The diagram also includes a legend for the R5 side chain:

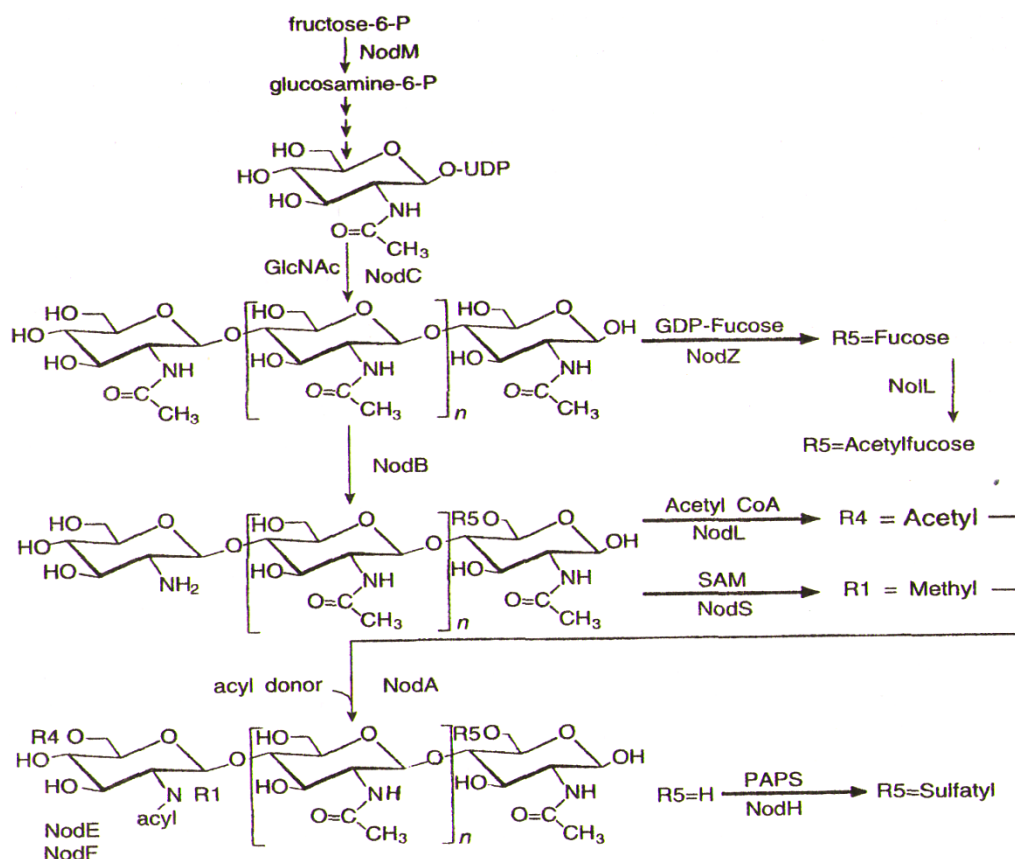
- R5 = сульфат (ризобии люцерны)**
- метилфукоза (ризобии сои)**
- H (ризобии вики, гороха)**

Rhizobium leguminosarum



Тугунак бактериялар ва дуккакли ўсимликлар орасидаги ўзаро сигналли тизим.

Шуни қайд этиш керакки, Nod-омиллар – бу барча симбиотик ўзаро таъсирларнинг аълоқаларининг ўзига хослигини маълум даражада аниқлайдиган сигналлардир. Бунда хўжайинга хос генлар назорати остида амалга ошириладиган Nod-омилларнинг модификациялари муҳим рол ўйнайди. «Редукцияланадиган қисм» да R6 ҳолатининг сульфатланиши қашқарбеда ўсимлиги ризобийлари (*R. meliloti*) учун хос бўлиб, у «гомологик» хўжайинда кечадиган бошланғич симбиотик реакциялар индукцияси учун зарур бўлади, сульфат гуруҳларнинг бўлмаслиги эса худди шу реакцияларнинг индукциясига сабаб бўлади. Сульфатланиш жараёнини амалга оширувчи Nod H оксиленинг фаоллигини мутациялар оқибатида пасайиши *R.meliloti* бактериясини қашқар бедага нисбатан вирулентлигини йўқолишига ва вика ўсимлиги (*R. leguminosarum* bv. *viciae*) га нисбатан симбионтлик хусусиятига эга бўлган *NodH* генидан ажралган вирулентликни ҳосил бўлишига олиб келиши кузатилган.



26-чизма. Nod-омиллар биосинтези:

GlcNAc–N-ацетилглюкозаамин; GDP–Fucose–гуанозиндифосфо-фукоза; Acetyl CoA–ацетилкофермент А; PAPS–3¹-фосфо-аденозин-5¹-фосфосульфат; SAM– S-аденозил-метионин.

Nod-омилларни модификацияларининг хўжайинга хослик белгисини назорат қилишдаги иштирокининг энг яхши ўрганилган томони бу – *NodX* гени катализлайдиган R6 ҳолатининг «редукцияланувчи қисм»ида ацелирланишидир. Бундай модификация нўхат ўсимлигининг тугунак бактериялари (*R.leguminosarum* bv *viciae*) га «афғон» нўхатларини зарарлаш (инфекциялаш) хусусиятини беради.

Маълумки, «Афғон» нўхатлари *Sym2* аллеллари бўйича гомозигот бўлганликлари сабабли мазкур бактериялар билан инокуляцияланишига мойиллиги бўлмайди. *NodX* генини сақламаган штаммларга бу генни кўчириб ўтказилганда, бу штаммлар ацетилланган *Nod*-омилни синтезлаш қобилиятига эга бўладилар ва «афғон» нўхати ўсимлигида тугунак ҳосил қила оладилар. Ўсимликларнинг *Sym2* генлари назорат қилувчи чидамлилигини енгил хусусияти ризобийларга *R6* ҳолатини фукозилланишини белгилайдиган *NodZ* генини кўчириб ўтказилганда ҳам ҳосил бўлиши кутилмаган ҳодиса бўлди. Бу ген соя тугунак бактерияларидан ажратиб олинган бўлиб, у «афғон» нўхатларида ҳаттоки энг дастлабки симбиотик реакцияларни ҳам чақира олиш хусусиятига эга эмас.

9.3.3. Сигналлар рецепцияси ва процессинги

Nod омилларнинг синтези ва фенотипик самараси яхши ўрганилган, бунга сабаб, уларни бактериялар томонидан озика муҳитига ажралиб чиқиши ва шу туфайли, уларнинг фаолиятини *in vitro* тизимида осон моделлаштириш мумкинлигидир.

Бактериал сигналлар рецепцияси ва унинг ўсимликка узатилиши кетма-кетлигини ўрганиш бирмунча қийин ҳисобланади. *Nod*-омилларнинг рецептори сифатида ўсимликларнинг лектинлари қаралади.

Уларнинг симбиоздаги ролини ўрганишга бўлган қизиқиш 1970-йилларнинг охирларида янада ортди, бу даврга келиб илдиз тукчалари юзасига ризобиал хужайраларнинг адсорбцияланиши натижасида тугунакларнинг ривожланиши, ризобий хужайралари ташқи сатҳидаги полисахаридларни дуккаклилар лектинлари билан ўзаро таъсири билан боғлиқ эканлиги аниқланди.

Симбиознинг ўзига хослигини, ўсимлик хужайралари ва бактерияларнинг ташқи структураларининг ўзаро комплементар таъсири асосида изоҳлайдиган «лектинли» назария 1980 йиллар бошида тақдим этилди. Турли хил дуккакли ўсимликларни, илдиз лектинларининг баъзи фракциялари синтезини назорат қилувчи генларни кўчириб ўтказилиши симбиотик хусусиятларнинг кенгайишига олиб келди.

Дукакли ўсимликларни *in vitro* шароитларида *Nod*-омиллар билан ўзига хос боғланиш ҳосил қиладиган илдиз лектинлари фракциялари аниқланди ва уларни симбиоз муносабат ҳосил бўлишида ўта муҳим эканлиги кузатилди. Масалан, мазкур лектинларга қарши антитаналар билан ишлов берилган илдизларда тугунак ҳосил бўлмаслиги исботланди. Шунинг учун ҳам ўсимлик лектинлари *Nod*-омиллар рецепцияси тизимининг камида битта компонентларидан бири бўлиб хизмат қиладилар деган хулосага келинган.

Nod-омилларнинг тузилиши ва тугунак ҳосил бўлишининг ўзига хослиги ўртасидаги боғлиқликни изоҳлайдиган назариялардан бири

Ўсимлик хитиназалари таъсирига чидамлилики мазкур омиллар модификациялари белгилайди деган ғояни илгари суради.

Дуккакликлар илдизи бир қатор хитиназаларни (шунингдек хитиолигосахаридларни парчалайдиган бошқа хил литик ферментларни ҳам) синтезлаши аниқланди. Бунда:

- а) баъзи хитиназаларнинг синтези *Nod*-омиллар томонидан фаоллашиши,
- б) хитиназаларга чидамlilik *Nod*-омиллар тузилмасига боғлиқлиги кабилар келиб чиқди.

Юқорида мисол келтирилган *R. leguminosarum* bv *viciae* нинг «афғон» нўхати билан ўзаро таъсири шуни кўрсатадики, *Nod*-омилнинг ўсимлик хитиназаларига чидамлилиги R6 ҳолатнинг модификацияси натижасида қолдиқ қисмининг қайси бирига (ацил ёки фукозил гуруҳ) мансублигидан қатъий назар ортиши аниқланди.

Айнан шу мўътадилланиш R6-модификация қилинган сигналларни ҳосил қиладиган бактерияларнинг *Sym-2* аллеллар кодлайдиган бардошлиликини енгишини белгилайди. Шунингдек, ўсимлик рецепторлари билан *Nod*-омилнинг ўзи эмас, балки литик ферментлар таъсири натижасида нишон-хужайраларда ҳосил бўладиган унинг процессинги маҳсулотлари ўзаро муносабатга киришиши эҳтимоли жуда юқоридир.

9.3.4. Симбиознинг тузилмавий асоси тараққиёти

Дуккакли ўсимликларнинг тугунаклари бир-бирлари билан ўзаро боғлиқ бўлган қатор комплекс вазибаларни бажариб, эндосимбионтлар учун экологик макон, шериклар ўртасида метаболитлар алмашинуви учун тузилмавий асос бўлиб, бактерияларнинг физиологик фаоллиги ва уларнинг сонини назорат қилишга хизмат қиладди. Тугунаклар ўсимликнинг тараққиёт генетикасини ўрганиш учун ажойиб модель бўлиб ҳисобланади.

Тугунаклар тараққиёти, бошқа аъзолар сингари генларнинг дифференциал (ихтисослашган) экспрессиясини чақирувчи сигнал жараёнларига асосланади. Бироқ симбиоз муносабатларда бу жараёнлар ўсимликка шерик орқали тушадиган экзоген сигналлар билан боғлиқ, бу сигналлар таъсирини қатор ҳолатларда лаборатория шароитларида, шу билан бир қаторда *in vitro* тизимидан фойдаланиш орқали ҳам нисбатан осон ўрганиш мумкин.

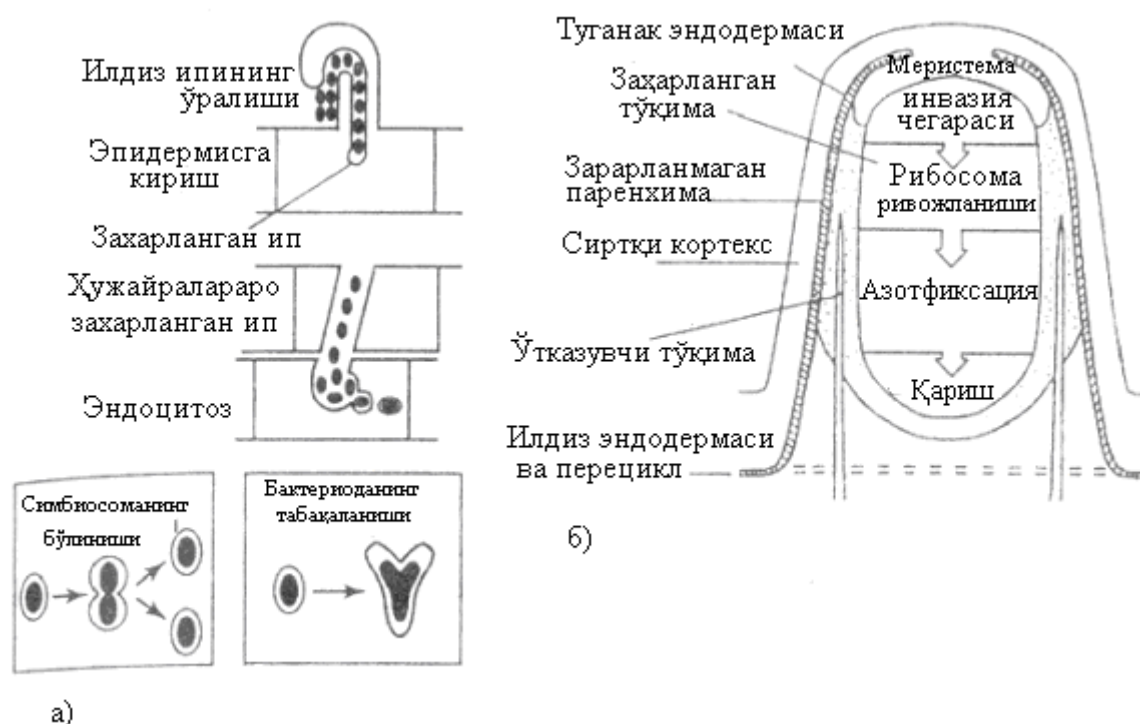
Бундан ташқари тугунакларнинг ҳосил бўлиши ўсимликлар учун нормал ўсиш ва кўпайишда шартли бўлмаган, яъни факультатив ҳолат ҳисобланадики, бу ривожланиш жараёнининг генетик ўзгарувчанлиги тўғрисида кенг, батафсил маълумот олиш имконини беради. Тугунаклар морфогенези учун зарур асосий генетик маълумот симбиоз ўсимлик шериги геномида жойлашган.

Шунга қарамасдан, морфогенларнинг бир қисми ризобийлар геномида сақланади. Бу эса тугунаклар тараққиётини ўсимлик геноми тузилмасига

аралаштирмаган ҳолда, ўсимлик аъзоси тараққиёти ирсий дастурини ўрганиш ва модификация қилиш имконияти мавжудлиги туфайли янада кенгроқ генетик таҳлил қилиш имконини оширади.

9.4. ТУГУНАКЛАР МОРФОГЕНЕЗИ

Бу қисмда нўхат, себарга ва беда каби дуккаклиларга хос «нодеатамаацияланган поя» типига мансуб анча муфассал ўрганилган тугунаклар мисолида симбиознинг структуравий асоси тараққиётини кўриб чиқамиз (27-чизма).



27-чизма.

Нўхатнинг азот ўзлаштирувчи тугунагининг тузилиши ва ривожланиши

- а) эндосимбиотик компартментлар тизимининг асосий ривожланиш босқичлари;
б) тугунакнинг гистологик тузилиши

Мазкур дуккаклиларнинг зарарланиши илдиз тукчалари орқали бориб, илдиз тукчалари буралиб «соябон ушлагичи» шаклини олади (*has* босқичи, инглиз тилида *hair curling*). Тукчаларнинг кескин буралиши билан бирга илдиз тукчаси хужайра қобиғининг гидролизи ва плазмолемманинг чуқур инвагинацияси содир бўлади, бу жараёнда ўсимлик хужайрасининг мембрана структуралари (Гольжи аппарати, эндоплазматик тўр) иштирок этади.

Шундай қилиб бактерияларнинг илдиз тукчаларни нофаол равишда эгаллаши ва тез орада микросимбионтни тўлиқ қамраб олиши кузатилади. Натижада бактерия хужайралари атрофида ўзига хос туннел – инфекция ипи (ИИ) ҳосил бўлиб, унинг деворлари ўсимлик хужайралари девори билан ўхшаш, ички бўшлиғи эса матрикс билан тўлган бўлиб, унинг ҳосил бўлишида иккала шерик ҳам иштирок этади (Inf босқичи, инглиз тилидан Infection thread formation).

ИИ тараққиёти билан бир вақтда тугунак меристемаси ҳосил бўлишига замин тайёрлана боради, у митоз жараёнлари реактивацияси, Nod-омил орқали индуцирланувчи кортекс хужайраларининг дедифференциацияси ва пролиферацияси (Ced босқичи, инглиз тилидан Cortical cell division) билан боғлиқ бўлади. Ҳосил бўлган тугунак примордийларида гистогенез жараёнлари бошланади (Ntd, инглиз тилидан Nodule tissue differentiation), унинг натижасида тугунакларнинг қопловчи, ўтказувчи ва азот тўпловчи тўқималари шаклланади. ИИ инокуляциядан 2-3 сутка ўтгач, илдиз тукчалари асосигача етиб боради ва кортексга ўтиб, ўсиб келаётган тугунак ичига кириб олади ва шу ерда ривожланиб, шохланади.

Эндосимбиоз тараққиётидаги асосий босқич бактерияларнинг ИИ дан ўсимлик хужайрасига ўтиши ҳисобланади, у эндоцитоз йўли билан амалга ошади (Bar босқичи, инглиз тилидан Bacterial release). ИИ нинг ўсимлик хужайрасига ботиб кириш жойида вақтинчалик тузилмалар – инфекция томчилар шаклланиб, улардан бактерия сақловчи мембрана пуфакчалари ажралиб чиқади. Шундай қилиб бактериялар ҳеч қачон ўсимлик цитоплазмасида эркин жойлашмасдан, Гольжи аппарати ва эндоплазматик тўр иштирокида ҳосил бўлган «перибактероид» мембраналар ичида жойлашади, лекин улар алоҳида бактериал оксилларни ҳам сақлайдилар. ПБМ билан қопланган бактерия хужайраси (хужайралар тўплами) симбиознинг субхужайравий бирлиги – симбиосома ҳисобланади.

ИИ дан ажралиб чиққач, ризобийлар ўзларининг ўлчамларини ва таёқчасимон шаклини маълум вақтга қадар сақлаб қоладилар, шундан сўнг алоҳида шакл – бактероид шаклида (Bad босқичи, инглиз тилидан Bacteroid differentiation) ихтисослашадилар. Бактероидлар эркин яшовчи бактерияларга нисбатан анча йирик (3-5 баробар) бўлиб, уларнинг шакли себаргада шарсимон ва ноксимондан тортиб, нўхатда Y ва X симонгача бўлади.

Шуни ҳам қайд этиш лозимки, бактерияларнинг ихтисослашуви уларнинг автоном ўсиши учун зарур бўлган кўплаб генларнинг репрессияси билан боғлиқ. Кўплаб муаллифларнинг фикрича, бу репрессия шунчалик чуқур давом этадики, бактероидлар шаклланган эркин яшайдиган тугунакларга айлана олмай қоладилар, тугунаклар нобуд бўлгач, улар ҳам нобуд бўладилар. Бактероидларда N_2 ни NH^+ га қайтарилишини катализловчи нитрогеназа, шунингдек нитрогеназа реакцияси учун хизмат қиладиган бошқа ферментлар синтези фаоллашади

ва шундан сўнг атмосфера азоти ўзлаштирилиши жараёнлари (Nif, инглиз тилидан Nitrogen fixation) бошланади. Шундай қилиб, бактероидларни ҳужайин ўсимликни боғланган азот билан таъминлаб берадиган ўсимликларнинг вақтинчалик органеллалари сифатида қараш мумкин.

Симбиосомаларнинг шаклланиши билан параллел бир вақтда ўсимлик ҳужайралари ихтисослашуви ҳам рўй беради. У ички ПБМ шаклланиши ва биосинтетик жараёнларда иштирок этадиган ички мембрана тузилмалари сони ортиши билан ифодаланади. Инфицирланган (зарарланган) ҳужайралар учун хроматиннинг транскрипцион фаоллашуви билан боғлиқ полиплоидизацияси ва деконденсацияси хосдир. Биокимёвий жиҳатдан уларнинг ихтисослашуви de novo бир қатор оксилларнинг синтези сифатида акс этади.

Кўрсатиб ўтилган жараён «нодеатамаацияланган» типга мансуб мураккаб тузилган тугунакнинг шаклланиши билан тугалланади.

Унинг асосий тузилмалари:

а) молекуляр азотни ўзлаштирилиши кечадиган бактериялар билан зарарланган тўқима;

б) ўсимлик фотосинтатлари келиб тушадиган ва азотфиксация маҳсулотлари чиқиб кетадиган ўтказувчи толалар;

в) тугунакнинг ўсиши амалга ошадиган апикал меристема кабилар ҳисобланади.

Апикал меристема азотфиксация қилувчи тўқималарнинг доимий янгиланиб туришини таъминлайдики, унинг натижасида симбиознинг турли босқичларига мувофиқ зоналарга тугунакларнинг марказий қисмларини ихтисослашуви кузатилади.

Тугунаклар морфогенезининг асосий натижаси симбиотик шериклар (компаратментлар) нинг уйғунлашган тизимининг шаклланиши ҳисобланади, бу эса бактерияларнинг ҳужайралараро (инфекция иплари) шаклдан ҳужайра ичи (симбиосомалар) шаклига ўтишини таъминлайди.

9.5. ГЕНЕТИК ТАҲЛИЛ

Ҳозирги вақтда дуккаклиларнинг «симбиотик» генларини икки гуруҳи чуқур ўрганилмоқда. Биринчи гуруҳ генларини формал генетика усуллари кўллаш – симбиоз тараққиёти учун дефектли мутантларни таҳлил қилиш орқали аниқланади. Иккинчи гуруҳ генларни «тескари генетика» - симбиозда синтез бўладиган ген маҳсулотлари (оксиллар, мРНК) ни таҳлил қилиш усуллари орқали ўрганилади.

Тугунак ҳосил қила олмайдиган (Nod) ёки азотфиксация фаоллигини индуцирлаш хусусиятига эга бўлмаган ўсимлик мутантларини азотсиз муҳитда ўса олмаслик хусусиятига қараб танлаб олинади. Кўплаб дуккаклилар (нўхат, соя, беда, йўнғичка, ловия, нут, хашаки дуккаклилар, донник, себарга) да мутантларни кўллаш орқали симбиознинг ҳосил

бўлиши ва фаолиятида бевосита иштирок этадиган 100 дан ортиқ генлар аниқланган (22-жадвал).

Симбиоз муносабат генетикасини ўрганишнинг қулай объекти ҳисоблаган – экиладиган нўхат (*Pisium sativum* L) да 40 дан ортиқ генлар аниқланган. Ўсимликларни тугунак ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлмаслигини назорат қилувчи мутант аллеллар, камдан-кам ҳолларда, баъзи истисноларни инобатга олмаганда рецессив бўладилар.

Азотфиксация қилиш хусусиятига эга бўлмасликни назорат қиладиган аллеллар рецессив ҳам (нўхат, себарга, бедада) доминант ҳам (сояда) бўлиши мумкин. Симбиоз тараққиётига зарар келтирадиган мутантлар ўсимликларнинг морфологияси, ривожланиш тезлиги ва етилиши (фертиллик) га таъсир кўрсатадилар.

Симбиознинг генетик таҳлиллари кўрсатишича, «ёввойи тип» даги тугунакларни ўрганиш натижасида аниқланган йирик босқичларни бирмунча майда («элементар») босқичларга бўлиш мумкин, уларнинг ҳар қайси кам микдордаги (хатто биргина) генлар билан назорат қилинади.

Масалан, Itf босқичи 3 га бўлинади: Iti (инфекция ипи шаклланиши инициацияси), Ith (ипни илдиз тукчасидаги ўсиши), ва Itr (Иининг илдиз кортексидида ўсиши; Var эса икки босқичга: Itn (ИИининг тугунак ҳужайралари ва тўқималаридаги тараққиёти ва Idd («Инфекция томчиси»)нинг - ихтисослашуви).

Дуккаклиларнинг симбиотик генларини, уларнинг маҳсулотлари идентификацияси (кўпинча ўша маҳсулотларнинг ўзини) аниқлаш орқали уларни нодулинлар (агар улар тугунакларда de novo да фаоллашса) ёки Nst-генлар (илдизга нисбатан тугунакларда фаоллик сезиларли орта борса) деб аталади.

Мазкур генларни аниқлаш учун тугунак ёки стерил илдизларда синтезланадиган, ёхуд азотни ўзлаштирадиган ёки ўзлаштирайдиган тугунакларда оксил (РНК) спекторларини таққослаб ўрганилади.(22-жадвал)

**Симбиознинг асосий босқичларини назорат қиладиган дуккакли
ўсимликларнинг генлари**

Тараққиёт босқичлари	Кодлар	Маълум босқични назорат қилувчи генлар (дуккаклилар турлари)*
Преинфекция (инфекция олди)		
Ризобийларнинг вирулентлик генларининг индукцияси	<i>Ngi</i>	топилмаган
Илдиз тукчалари деформацияси	<i>Hac</i>	sym 8, sym 9, sym19, sym 30 Ps; rj=nodI (Gm); rnI (Ca) nn1, nn2 (Ms); syv 3 (Ma)
Тугунаклар морфогенези		
Инфекция типларининг шаклланиши	<i>Itf, Iti, Ith</i>	Sym 7, sym 14, sym 35 (Ps), sym I, sym 5 (Ma), r, t(Tp) Sym 2, sym 36 (Ps)
Кортикал хужайралар бўлиниши индукцияси	<i>Itr, ccd</i>	sym 5, sym 34 (Ps) sym 5(Ps)
Тугунак тўқималари ихтисослашуви	<i>Ntd</i>	sym 33 (Ps)
Ўсимлик цитоплазмасига бактерияларнинг эндоцитози	<i>Bar, Itn, Idd</i>	sym 33 (Ps), d, It, ic (Tp) sym 40 (Ps)
Бактероидлар ихтисослашуви	<i>Bad</i>	sym 31, sym 32 (Ps), in ₁ , in ₂ , in ₄ , in ₅ (Ms)
Эндосимбионлар тараққиётининг бошқарилуви		
Тугунак ҳосил бўлиши авторегуляцияси	<i>Aut</i>	Nod 3, sym 28, sym 29(Ps), sym 5(Vf), Nod(Pv), ntsI-nod 2(Cm)
Тугунаклар фаолияти		
Азот ўзлаштирилиши	<i>Nif</i>	Ўсимлик мазкур босқичда издан чиккан мутантлар Bar ⁻ , Bad ⁻ , ёки Nop ⁻ фенотипларига эга бўлади
Тугунаклар барқарорлиги	<i>Nop</i>	Sym 13, sym 25, sym 26, sym 27 (Ps)

*Ca – Cicer areatinum L., Gm – Glycine max (L.) Merr., Ma – Melilotus albus Medik, Ms – Medicago sativa L., Pv – Phaseolus Vulgarus L., Ps – Pisum sativum L., Tp – Trifolium pratense L., Vf – Vicia faba L.

Нодулинлар Nst генларни мос равишда «эртанги» (азотфиксация бошлангунга қадар фаоллашадиган) ва кечки (азотфиксация бошланиши билан ёки азотфиксация даврида фаоллашадиган) турларга бўлинади.

Кўпгина тугунакка хос оксиллар учун субхужайравий (жойлашув) (ўсимлик хужайраси цитоплазмаси, бактероид олди мембранаси, инфекция ипи девори) ёки ферментатив фаоллик (кўплаб «кечки» нодулинлар) азотли ёки углеродли фермент алмашинувининг изоформаси ҳисобланади.

Уларнинг қаторига тугунак паренхималарида фаол синтезланадиган ENOD2 нодулини ва ИИ деворларида тўпланадиган ENOD12 ва ENOD5 ни киритилади (23-жадвал).

Эндоцитоз даврида синтез бўладиган нодулин N-26, ПБМ таркибига киради, у шериклар ўртасидаги регулятор ёки трофик омилларнинг транспорти учун зарур бўлса керак деган фикрлар мавжуд.(23-жадвал)

Дуккаклилиларнинг эртаги нодулинлари

Генлар	Ўсимликлар	Нодулинларнинг тавсифи	Тугунаклар ичида жойлашуви	Тахмин қилинадиган фаолияти
ENOD2	Нўхат, соя, вика, беда, себарга	Хужайра деворининг экстенсинларига ўхшаган оксил-гидроксиролин	Паренхима	Кислородли тўсиқнинг шаклланиши
ENOD5	Нўхат	Сигнал кетма-кетликларга эга ва пролинга бой бўлган тузилма	Инфекция иплари охирини сақловчи хужайранинг зарарланиш зонаси	Инфекцияда (зарарланиш) иштирок этиш
ENOD12	Нўхат, ловия, беда, мош, нут, дук-лар	Пролинга бой бўлган қисмларга эга	Инфекция зонаси	Инфекция иплари ва хужайра деворини қуриш
ENOD40	Соя, нўхат	Структураси жиҳатидан РНК-бошқарувчини эслатади	Ўтказувчи боғламларнинг пероцикли	Гормонал мувозанатни аниқлаш

Тугунаклар тараққиётида фитогормонларнинг ролини ўрганиш жуда катта қизиқиш уйғотади. Аниқланишича, илдизларга ауксинлар транспортини ингибиторлари билан ишлов бериш тугунаксимон тузилмаларнинг ҳосил бўлишига олиб келар экан. Тугунак ўсишининг гормонал статусида иштирок этадиган ENOD40 нодулини ҳам аниқланган. Унинг вазифаси эндосимбионт таъсирида ўзгарадиган ауксин ва цитокининлар мувозанатини назорат қилиш билан боғлиқ бўлиб, у тугунаклар гистогенези ҳамда тугунакли примордийлар шаклланишида асосий ўрин тутади.

9.6. ЭНДОСИМБИОНТЛАР РИВОЖЛАНИШИНИ БОШҚАРИШ

Симбиознинг структуравий (тузилмавий) асоси шерикларнинг бошқарувчилик ўзаро алоқалари билан боғлиқ бўлиб, уларнинг натижаси симбиотик тузилмаларнинг тараққиёти мувозанати, шунга мос равишда ризобийлар сони ва кўпайиш тезлигининг ортиши билан изоҳланади. Бундай регуляция жуда муҳим бўлиб, бактерияларнинг потенциал бўлиниш тезлиги ўсимликларга нисбатан анча юқоридир. Эндосимбионт микроорганизмларнинг назорат қилинмайдиган кўпайиши хўжайин орган учун кўп ҳолларда зарарлидир, унинг симбионтлар кўпайишини қатъий назорат қилиш хусусияти мутуалитик симбиознинг паразитизмдан фарқ қилишда муҳим асос бўлиб ҳисобланади.

9.6.1. Симбионтларни хўжайин организмнинг ҳимоя тизимлари билан ўзаро муносабати

Симбиознинг шаклланишида дуккакли ўсимликларга патоген микроорганизмлар кириши натижасида содир бўладиган сингари бир қатор ҳимоявий жараёнларни кучайиши кузатилади. Бу флавоноидлар, феноллар,

хитиназалар, каллозалар, пероксидазалар ва бошқа биологик фаол моддалар синтезининг тезлашишидир. Бироқ тугунакларда бу реакциялар патогенлар билан зарарланиш сингари кучли эмас, шунинг учун ҳам бу реакцияларнинг натижаси микроорганизмларнинг фаоллигини бутунлай тўхтатишда эмас, балки уларни метаболитик фаолликларини ҳамда кўпайиш жараёнларининг бошқарилувида кузатилади. Бу симбиотик тизимни ривожланиш жараёнида бактериялар билан ўсимликларнинг ҳимоя тизимлари орасида нозик ўзаро мувофиқлашган таъсири борлиги билан боғлиқдир. Ўзаро муносабатларнинг мувозанатлашуви ризобийлардаги бир қатор генларнинг хўжайин ўсимлик ҳимоя тизими билан муносабатлари орқали ифодаланади. Мазкур генлардаги мутациялар симбиоз тараққиётини тўсиб қўяди, натижада одатдаги тугунаклар ўрнига «псевдо - ёлғон тугунаклар» ҳосил бўлади, улар бактерия хужайралари ва инфекция ипларини сақламасдан, шаклланмаган тўқималар билан тўлган бўлади (бундай мутантларнинг фенотиби *Nod⁺Inf⁻* белгилар билан белгиланади). Хўжайин организм билан «муносабатни аниқлаш» га жавобгар бактерия генлари орасида энг яхши ўрганилганлари хужайра сатҳидаги турли компонентлар – экзополисахаридлар ва ҳалқасик глюканлар синтезини кодлайдиган генлар ҳисобланади. Мазкур генлар бўйича мутантлар дастлаб колонияларни морфологиясиси ўзгаришлари, ҳамда, флуоресцияловчи бўёқ-калькофлуорни адсорбция қилиш хусусиятига эга бўлмаслиги бўйича танлаб олинган эди. Ризобийларнинг анча чуқур ўрганилган, ўсимлик ҳимоя тизимлари билан ўзаро муносабатига жавобгар молекуляр бу - хужайра сиртки компонентларидан бири-кислотали экзополисахарид ёки аукциноглюкан (ЭПС-1) ҳисобланади. Беда ўсимлиги ризобийлари (*Rhizobium meliloti*) да унинг синтези 20 дан ортиқ *exo*-генлар билан назорат қилиб турилади. Бу *exo*-генларнинг катта қисми мазкур бактерияларда мавжуд бўлган 2 та мегаплазмидаларнинг бирида кластер бўлиб жойлашади. Бир қатор *exo*-генларни бирламчи структураси ва уларни экспрессия механизми аниқланган бўлиб, бу ЭПС-1 синтезининг бир қадар тўлиқ чизмасини яратиш имконини беради. У ўз ичига:

- *олд авлоднинг шаклланиши,*
- *улардан мономерлар (саккиз моносахарид қолдиқларидан ташкил топган) синтези,*
- *уларнинг модификацияси (сукцинил, пирувил ва ацетил гуруҳларнинг бирикиши),*
- *полимеризация ва периплазмага кўчиб ўтиш каби жараёнларни ўз ичига олади.*

9.7. ТУГУНАКЛАР ҲОСИЛ БЎЛИШИНИНГ АВТОРЕГУЛЯЦИЯСИ

Дуккакли ўсимликлар ҳимоя тизимлари орқали амалга ошириладиган симбиоз тараққиётининг бошқарилуви эндосимбионт микроорганизмлар

ривожланишини назорат қилишда ўсимликларга ёрдам берадиган механизм турли туманлигини истисно этмайди. Шунингдек дуккакли ўсимликларгагина хос тугунак ҳосил бўлиши авторегуляцияси механизмлари катта қизиқиш уйғотадики, улар ўсимликларда ортикча тугунаклар ҳосил қилишни олдини олади, бу эса ўз навбатида симбиоз жараёнида ҳамisha танқис бўлган энергияни тежаш имконини беради. Дуккакли ўсимликлар тугунак ҳосил бўлишининг бирмунча қатъий авторегуляция қилиш хусусиятига эгаки, у системавий характерга эга бўлиб, ер устки қисм воситасида амалга оширилади.

Кўплаб дуккаклиларда тугунак ҳосил бўлиши авторегуляцияси бузилиши бўйича мутантлар олинган. Уларни танлаб олишда ўта кўп тугунаклар ҳосил қилиш (Nod^{++}) фенотипик белгиси, яъни тугунакларни «ёввойи типга» нисбатан 2-10 баробар кўп ҳосил қилиш хусусиятига кўра танлаб олинади. Одатда бундай мутантлар дастлабки ўсимликларда симбиоз тараққиётини тўхтатадиган нитратларнинг юқори дозалари иштирокида кўплаб тугунаклар ҳосил қилади (Nts -фенотиби – Nitrate tolerant symbiosis). Nod^{++} мутантларда умумий нитрогеназа фаоллиги (битта ўсимликка нисбатан ҳисобланганда) ошган бўлса, ўзига хос бўлган нитрогеназа ферментини фаоллиги (тугунаклар массасига нисбатан) камайган бўлади.

Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, кўплаб Nod^{++} мутантларда ўсимликларнинг ер устки массасининг пасайиши кузатилади. Бу энергиянинг катта қисмини жуда кўплаб азотфиксация қилувчи тугунакларга сарфланиши билан изоҳланади. Шундай қилиб, мазкур мутантлар мисолида эндосимбионтларнинг миқдорини назорат қилиш ўзаро муносабатнинг мутуалитик характерини сақлаб туришда муҳим шарт-шароит эканлиги ойдинлашади. Агар бундай назорат камайтирилса, гарчи асосий биокимёвий жараён, яъни симбиознинг асоси (N_2 нинг ўзлаштирилиши) бузилмасада, шерикларнинг ўзаро муносабати паразитизмга ўтиши мумкин.

9.8. АЗОТНИНГ ЎЗЛАШТИРИЛИШИ

Симбиознинг яқунловчи босқичи, яъни ризобийларнинг фаол азот ўзлаштирилиши ва жараён маҳсулотини ўсимликка экспорти кўплаб дуккакли ўсимликларда бактерияларнинг эндоцитози ва бактериоидларнинг шаклланишидан сўнг бошланади. Бактероидларда нитрогеназа ферменти синтези фаоллашиб, у умумий оқсилнинг 30% ни ташкил қилиши мумкин. Бироқ нитрогеназанинг ҳосил бўлиши тугунакларнинг симбиотик азотфиксация жараёнини ифодалайдиган асосий, лекин ягона жараён эмас. Жараённинг бошқа хил аҳамиятлилари сифатида: нитрогеназанинг молекуляр кислороддан ҳимоя тизимини шаклланиши, нитрогеназа комплексини энергетик эҳтиёжларини қондириш ва азотфиксация маҳсулотлари ассимиляциясини кўрсатиш мумкин (24-жадвал).

Симбиотик азотфиксацияни таъминлайдиган асосий биокимёвий жараёнлар

Жараёнлар	Шерикларнинг хиссаси	
	Микросимбионт	хўжайин
Нитрогеназа жараёни биогенези	Нитрогеназанинг кофакторлари ва оксиллари синтези (nif-генлар), регулятор каскади (FixL J + FixK) шаклланиши	Нитрогеназа генларининг бошқа-рилиши эҳтимоли (турли ўсимликларда nif-генлар индукциясининг ўзига хослиги тўғрисидаги дастлабки маълумотлар мавжуд)
Нитрогеназанинг кислороддан химояланиши	Икки компонентли регулятор тизими FixL J ва транскрипцион активатор nif A	Леггемоглобин оксили ва кислородли тўсиқ
Тугунак энергетик эҳтиёжларининг қондирилиши	Дикарбон кислоталар (dct-генларнинг) бактериоидларга транспорти, тугунакка хос цитохромоксидаза cbb ₃ (fix NOPA, fix GHIS-генлари) нинг синтези	Кўп микдордаги фотосинтат (сахароза) ларнинг тугунакларга томон транспорти, С-метаболизмнинг тугунакка хос изоферментлари синтези
Азотфиксация маҳсулотлари ассимиляцияси	Аммонийнинг ўсимлик ҳужайрасига экспорти (қисман аланин шаклида)	N-метаболизмнинг тугунакка хос изоферментлари синтези

Бу жараёнларнинг барчаси ўсимлик ва бактериялар билан бирга амалга ошириладики, бунда симбиознинг шериклари ўртасида структуравий ва функционал уйғунлашувни таъминланади.

9.8.1. Нитрогеназа комплексининг биогенези

Бошқа азот ўзлаштирувчи микроорганизмлар сингари ризобийларда, нитрогеназа оксили таркибини кодлайдиган nif НДК генлари, шунингдек унинг кофакторлари шаклланиши, синтезнинг бошқарилиши ва етилишини белгилайдиган бошқа хил nif-генлар мавжуд.

Ризобийларда ва симбиотик бўлмаган азотфиксаторларда нитрогеназа таркиби генлари транскрипцияси nif A генлари орқали фаоллашади.

Шу билан бирга ризобийларда симбиотик азотфиксация учун хос бўлган, яъни fixL, fixJ ва fixK генлардан ташкил топган бошқарув тизими аниқланган. FixLJ генлари икки компонентли регулятор тизими (fixL мембрананинг оксил-сенсори, киназа ва фосфатаза фаолликларига эга, fixJ –транскрипциянинг цитоплазматик фосфорилланган регулятори) ни кодлайдилар.

Бундай бошқарув тизимининг фаоллиги фақат микроаэрофил шароитларда амалга ошади, чунки FixL O₂ сенсори вазифасини бажарадики, бу эса фақат ген иштирокидагина амалга ошади. FixK оксили Csr-Fnr оиласига мансуб бўлган транскрипцион регулятордир.

Ризобийларда азотфиксацияни бошқарув тизими, нитрогеназининг таркибий генларидан ташқари, *dctABD* (улар азотфиксация жараёнининг асосий энергия манбаи бўлган дикарбон кислоталарнинг бактериоидларга транспортини кодлайдиган), *fix NOPQ* ва *fix GHIS* (бактероидларнинг нафас занжирида электронлар транспортини таъминлайдиган *cdd₃* типдаги бактериоид цитохромоксидазаси синтезини кодлайдиган) генларнинг экспрессиясини ва геннинг биосинтезини назорат қиладилар.

Симбиотик бўлмаган азотфиксаторлар ризобиал тизими *nif* генларнинг боғланган азот билан репрессияси учун жавобгар, яъни *Klebsiedla*нинг *nifl* генига хос бўлган элементларни сақлайди. Бу тугунаклардаги азотни ўзлаштириш жараёни боғланган азот миқдори ошиқча бўлган шароитлардагина амалга ошиши билан боғлиқ, тугунакларнинг ҳосил бўлишини ва боғланган азот миқдори меъёридан ортиқ бўлганда азотфиксация жараёнини бошқаришни эса хўжайин-ўсимлик бошқаради.

9.8.2. Нитрогеназининг кислороддан ҳимоя қилиниши

Тугунак фаолияти учун зарурий шароит унда анаэроб муҳитнинг сақлаб турилишидир, чунки бактериялар томонидан синтезланадиган нитрогеназа кислород таъсирида тез ва қайтмас даражада инактивацияланади.

Бироқ оксидланган фосфорилланишнинг юқори интенсивлигидагина анчагина кўп миқдорда энергия талаб қиладиган азотфиксация жараёни содир бўлади, унинг учун бактериал цитохромоксидазаларга O_2 нинг катта миқдори келиб тушиши зарур. Иккала шериклар генетик тизимларининг мувофиқлашган фаолияти натижасида ҳосил бўлган «кислородли парадокс» масаласи ечилади.

Бактерияларда нитрогеназа синтезининг кислородга сезгирлиги *FixLy* ва *Nif A* генлари даражасида амалга оширилади. Ўсимликлар шунингдек «кислороддан ҳимояланиш»нинг азотфиксациядаги икки хил механизмига эга:

а) тугунакларнинг қопловчи тўқималарида, яъни бу ерда кислороддан ҳимояловчи восита пўстлоқ ҳисобланади, кўп компонентли диффузион барьер:

б) кислородни боғлаб ва симбиосамоларга ташилишини таъминлайдиган гемоглобинсимон оқсил – леоглобин (у тугунакларнинг умумий оқсилларини 30%гача миқдорини ташкил этади).

Узоқ вақт леоглобин синтезига симбиознинг молекуляр даражадаги яққол кўриниши сифатида қаралган. Дастлаб, леоглобинни полипептидли (глобин) қисми ўсимлик генлари, ген қисми – микросимбионт генлари билан кодланади деб, ҳисоблаб келинган.

Бу фикр ризобийларнинг азотфиксация қилиш хусусиятига эга бўлмаган мутантлари, яъни ген ёки унинг оралиқ шакли, аминокислотаси синтези дефекти тўғрисидаги маълумотларга асосланган эди.

Бироқ, кейинги тадқиқотларни кўрсатишича, леоглобиннинг иккала қисми ҳам ўсимлик хужайралари томонидан синтезланар экан. Тугунакларда жойлашган бактериоидлар ҳам гемни синтезлайди, лекин унинг азотфиксациядаги иштироки цитохромлар биогенези, яъни нитрогеназага электронлар транспортини таъминлашдангина иборат бўлади.

Дуккакли ўсимликларда леоглобин синтези бириккан бир нечта Lb-генлари оиласи иштирокида кодланади. Ҳозирги вақтда мазкур генларнинг структуравий – функционал ташкиллашуви ўрганилган: интрон – экзон структураси аниқланган, промоторлар кодлайдиган ва кодламайдиган участкаларнинг жойлашуви ўрганилган. Lb-генларнинг тугунакларга экспрессияси, кўп ҳолларда, иккала шерикларнинг регулятор сигналларига асосланади.

Бу ҳақда баъзи бактериал промоторларга гомологик ва сигнал молекулаларга нишон бўлиб хизмат қиладиган, ўсимликлар хужайраларига бактериялардан келиб тушадиган мазкур генлар кетма-кетликларининг промоторларда бўлиши далолат беради.

Шунингдек, леоглобин генлари промоторлари билан муносабатга киришадиган, бактериал ДНКни боғловчи оксилларни ҳам аниқлашга эришилган. Эндосимбиотик бактерияларда тугунаклардаги микроаэрофил шароитларга боғлиқ равишда интенсив нафас олиш (бусиз симбиотик азотфиксациянинг юқори фаоллигига эришиб бўлмайди) ва нитрогеназанинг фаол ишлаши каби жараёнларни мутаносиблаштириш муаммоси туради.

Бу ризобийларда тармоқланиб кетган электрон транспорт занжири борлиги туфайли таъминланадики, унда баъзи компонентлар аэроб шароит (explanta) да ишласа, баъзилари анаэроб (микроаэрофил) шароитларда, шунингдек тугунакларда фаолият юритади.

Симбиоз учун бу занжирларда fixNODA ва fix GHIS генлари кодлайдиган цитохромоксидаза (ҚМ)_{v3} муҳим рол ўйнайди. Бу генлардаги мутациялар симбиотик азотфиксацияни издан чиқаради, лекин эркин яшовчи бактерияларнинг нафас олиш фаоллигига таъсир кўрсатмайди.

Аммо, ризобийларни цитохромоксидазалар шаклланишини издан чиқарадиган мутациялари симбиотик азотфиксацияга таъсир ўтказмайди.

9.8.3. Азотфиксациянинг энергетик таъминоти

Симбиотик азотфиксациянинг асосий энергия манбаи ўсимликнинг ер усти қисмларида амалга ошириладиган фотосинтез жараёнидир.

Фотосинтатлар тугунакларда сахароза шаклида транспорт қилинади. Шундан сўнг ўсимлик сахароза катаболизмини анаэроб босқичи (гликолиз) ни амалга оширади, бу жараён натижасида нисбатан кўп бўлмаган микдорда энергия ажралиб чиқади. Микросимбионтнинг улушига

катоболизмнинг анчагина энергетик самарадор қисми – уч карбон кислоталар ҳалқаси (УКХ) ни амалга ошириш тўғри келади.

Бактероидларга хўжайин – ўсимликдан тушадиган асосий углеводлар C_4 дикарбон кислоталари (асосан сукцинат ва малат) ҳисобланадики, улар УКХ да бевосита иштирок этадилар. Шунинг учун бактериоидларнинг нитрогеназа тизими интенсив фаолияти бактериоидларга дикарбон кислоталарни ташилишини таъминлайдиган генлар билан маълум даражада боғлиқдир.

Бу жараёнда учта ген *dct A* (мембранавий сукцинат пермеазани кодлайдиган), *dct B* ва *dct D* (*dctA* транскрипциясини белгилайдиган, икки компонентли регулятор тизимни кодлайдиган) генлари асосий ўрин эгаллайди. *Dct B* оқили сенсор ҳисобланиб, у бактериоидлар мембранасига жойлашиб олиб дикарбон кислоталар мавжудлигига сезгирдир. *Dct D* гени эса *Dct A* гени промотори билан муносабатга киришиб, унга РНК-полимеразанинг ўрнашишини осонлаштиради. Шунини таъкидлаш лозимки, дикарбон кислоталар транспорти тизими симбиотик азотфиксациянинг интенсивлиги миқдорини белгилайдиган «нозик нукта»лардан биридир.

Бу ҳақда азотфиксациянинг фаоллиги ва симбиознинг самарадорлигини ризобийларга *dct*-генларини қўшимча нусхаларини киритиш орқали сезиларли даражада ошириш мумкинлиги далолат беради.

Тугунакларнинг энергетикаси хўжайин-ўсимлик томонидан С-метаболизмнинг тугунакка хос фермент изоформалари синтези туфайли таъминланади (28-чизма).

Улар орасида сахарозани уридиндифосфат иштирокида гидролизлайдиган сахаросинтетаза (SS) марказий ўринлардан бирини эгаллайди. Соя тугунакларида SS сахаросинтетаза оқиллари умумий миқдорнинг 3-4%ини ташкил этади. Гидролиз натижасида ҳосил бўлган гексоза (глюкоза ва фруктоза) катаболизм одатдаги йўли – гликолизга учрайди. Бунга альтернатив бўлган пентозофосфатли ҳалқа тугунакларда иккиламчи даражада аҳамиятли бўлса ажаб эмас.

Тугунакларда азотфиксация миқдорини белгилайдиган асосий омиллардан бири тугунаклардаги углерод миқдори бўлганлиги учун фосфенолпируваткарбоксилазани (PEPC) катализлайдиган CO_2 нинг нофотосинтетик (қоронғидаги) ўзлаштирилиши муҳим аҳамият касб этади:



Бу реакция бактериоидларга малат ва бошқа энергетик субстратлар таркибидан тушадиган углерод атомининг 25% ига яқин миқдори манбаси ҳисобланади.

Шундай қилиб, PEPC фаолияти туфайли тугунакларда фаол кечадиган, нафас олиш жараёнида ажралиб чиқадиган карбон кислоталарнинг асосий қисми рециклига учрайди.

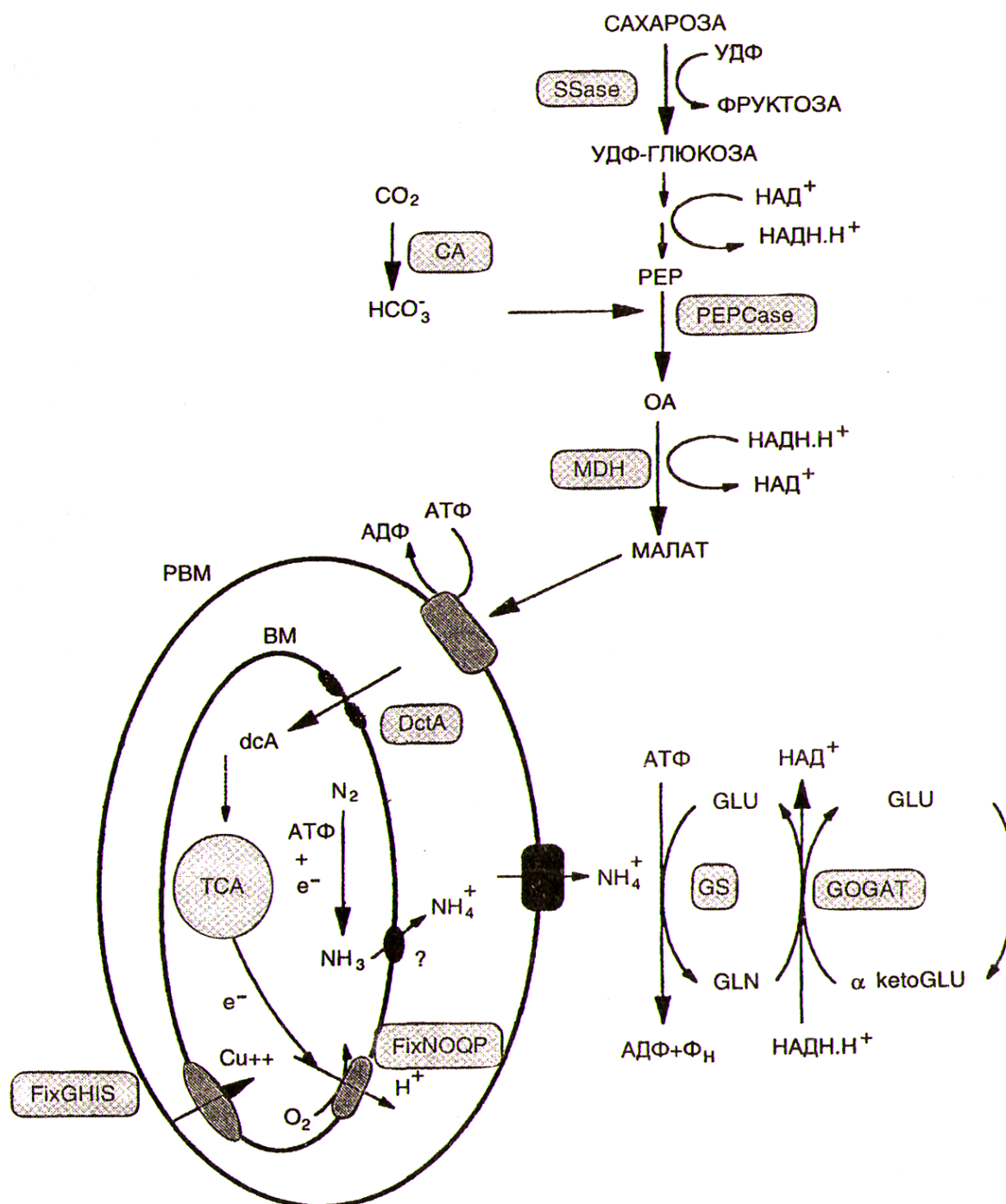
9.8.4. Ўзлаштирилган азотнинг ассимиляцияси

Тугунакларга тушадиган С-бирикмалари азотфиксация учун фақат энергия манбаи бўлибгина қолмай, балки фиксация қилинган азотнинг ассимиляцияси учун углеродли «скелет» вазифасини ҳам ўтайди. Азотфиксация жараёнида ҳосил бўлган аммоний бактериодлардан тугунакларга ўсимлик ҳужайралари цитоплазмасига эркин шаклда ёки аланин таркибида (бактериал аланин – дегидрогеназа фаоллиги натижасида ҳосил бўлади) келиб тушади.

Ўзлаштирилган азот ўсимлик ҳужайралари метаболизмига ўтади. Бунда азотнинг дастлабки ассимиляцияси (аммонийнинг ҳужайра мембранасига кириши), ўзлаштирилган (тугунаклардан илдизнинг ўтказувчи қисмига ўтадиган) азотнинг транспорт шакллариининг ҳосил бўлиши ва ўзлаштирилган азотнинг транслокацияси (унинг ўсимлик турли аъзолари ўртасида қайта тақсимланиши) фарқланади.

Азотни ўзлаштиришга олиб келувчи, симбиотик муносабатлар – аммиак ҳосил бўлишини энг самарали биологик йўли ҳисобланади. Мана шу жараёни бошқариш, унга таъсир кўрсата билиш, озик-овқат маҳсулотлари етиштириш муаммоларини ечишда катта роль ўйнайди.

Юқорида келтириб ўтилгандек, азотфиксация жараёнини самарадорлигини ошириш, ундан фойдаланиш доирасини янада кенгайтириш учун шу жараёни олиб борувчи бактерияларни генетикасини янада чуқурроқ билишни талаб қилади. Бу эса ўз навбатида симбиозни табиий тизимига боғлиқ бўлиб қолмасдан, керакли ўсимликлар иштирокида мана шу жараёни (азотфиксация жараёнини) ташкил қилиш имконини яратади.



28-чизма. Азот ўзлаштирувчи симбиозлар ҳосил бўлишида ҳамкорлар метаболитик интеграцияси

SSase-сахарозосинтаза, PEP-фосфоенолпируват, PEPCase-фосфоенолпируваткарбоксилаза, OA-оксалоацетат, MDH-малатдегидрогеназа, DctA-сукцинатпермеаза, GS-глутаминсинтаза, GOGAT-глутаматсинтаза, dcA-дикарбоновые кислоты (сукцинат, малат), TCA-цикл трикарбоновых кислот, GLU-глутамин, GLN-глутамат, α ketoGLU- α -кетоглутарат, FixGHIS и FixNOQP-специфические для бактериоидов цитохромы с высоким сродством к кислороду, PBM-перибактероидная мембрана, BM-мембрана бактериоида.

Дастлабки ассимиляция ва фиксация қилинган азотнинг транспорт шакллари ҳосил бўлишида ўсимлик синтезлайдиган азотли алмашинувнинг тугунакка хос фермент формалари муҳим рол ўйнайди (25-жадвал).

25-жадвал.

Азотфиксация қилувчи тугунакларга хос ўсимлик ферментлари

Ферментлар	Ўсимликлар	Тугунакларда фаолликни оширадиган механизмлар
Углеродли алмашинув		
Сахаросинтетаза	Соя	Янги изо шакл (нодулин N-100) синтези
Малатдегидрогеназа	Бўри дуккаги, нўхат	Янги изо шакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Алкогольдегидрогеназа	Беда	Тўрт хил янги изо шакл (нодулинлар) синтези
Лактатдегидрогеназа	Беда	Тўрт хил янги изо шакл (нодулинлар) синтези
Фосфоенолпируват-карбоксилаза	Нўхат, дуккаклар, ловия, беда, бўри дуккаги	Янги изо шакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
фосфофруктокиназа	Бўри дуккаги	Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Азотли алмашинув		
Глутаминсинтетаза	Ловия, беда, нўхат, соя	Янги изо шакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
NADH га боғлиқ глутаматсинтаза	Ловия, бўри дуккаги	Янги изо шакл (нодулинлар) синтези ёки Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Asp-аминотрансфераза	Беда, нўхат, бўри дуккаги	Nst-шакллар синтезининг кучайиши
Gln га боғлиқ аспарагинсинтетаза	Бўри дуккаги, соя, беда, дуккаклар, нўхат	Nst шак AS1 ва AS2 синтези кучайиши
Уриказа	Соя, ловия	Янги изо шакл (нодулин) синтези

Ўсимлик хужайраларида аммонийнинг бирламчи ассимиляцияси «глутаматсинтаза ҳалқаси» глутаминсинтетаза (GS) ва NADH га боғлиқ глутаматсинтаза (NADH-GOGAT) ферментлари назорати остида кечади. GS ловия ўсимлиги тугунак бактерияларидан ажратиб олинган бўлиб, молекуляр оғирлиги бир хил – 40 кД бўлган суббирликлардан ташкил

топган октамер ферментдир. Бу ферментни учта изоферменти (GSN_1 , GSN_2 , GSL_2) аниқланган бўлиб, уларнинг икkitаси цитоплазмада, учинчиси зарарланган ўсимлик ҳужайралари пластидаларида жойлашган. Бунда фақат GSN_1 гина тугунакка хос изошакл (нодулин) ҳисобланади, аниқроғи унинг суббирликларидан фақат биттасидир. Тугунакка GS дан фарқли ўлароқ, глутаматсинтетаза ҳалқасининг иккинчи ферменти ўсимлик ҳужайралари пластидаларида жойлашган NADH-GOGAT ҳисобланади.

Шундай қилиб, тугунак бактериялар ҳўжайраларида глутаматсинтаза ҳалқаси ферментларининг тарқалиши, алоҳидаланиши (gs-цитоплазмада, NADH-GOGAT пластидаларда) аниқланган. Кўплаб маълумотларнинг кўрсатишича, фиксация қилинган азот ассимиляцияси миқдорини белгиловчи босқич айнан NADH-GOGAT томонидан катализланадиган реакция ҳисобланади. Энг самарали тугунакларда ҳам NADH-GOGAT ферментини фаоллиги юқори эмас. Кўпинча самарасиз тугунакларда мазкур ферментнинг фаоллигини (шунингдек, унинг М-РНКсини ҳам) кўпинча аниқлашга муваффақ бўлинмаган. Тугунак ҳосил бўлишида индуцирланадиган беда ва нўхат тугунагининг индуцирланадиган NADH-GOGAT ферментининг молекуляр оғирлиги 200 kD дан ортиқ биргина молекула сифатида қайд этилган. Ловия тугунакларида NADH-GOGATнинг иккита изоферменти синтезланиб, уларнинг биттаси тугунак-стимуловчи ҳисобланади.

Кўплаб дуккакли ўсимликлар (масалан, беда ва нўхат)да глутаминдан ташқари, мўътадил иқлим минтақаларида тарқалган да азотнинг ташиладиган шакли амидлар, асосан – аспарагин ҳисобланади. Бу дуккаклиларни «амидли» типга киритилади. Бошқа дуккаклилар (ловия, соя, вигна) да азотнинг ташилиши уреидлар аллатоин ва аллатоин кислота шаклида амалга оширилади.

Ўзлаштирилган азотнинг ассимиляция реакцияларини асосийлари симбиосомалар сақлайдиган ҳужайраларда кечади. Бунда аспартатнинг оралиқ маҳсулоти аспарагинни ҳосил бўлиш реакциясини катализлайдиган аспартатаминотрансфераза (ААТ) алоҳида рол ўйнайди. «Уреидли» тугунаклар метаболизмида уриказа ферменти муҳим аҳамият касб этади. У уреидлар биосинтезининг охирги этапларидан бири–пуринлар оксидланганда ҳосил бўладиган сийдик кислотасининг оксидланиши натижасида аллатоин ҳосил бўлишидир.

9.9. ЎСИМЛИКЛАРНИНГ ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАР БИЛАН СИМБИОТИК МУНОСАБАТЛАРИ

Азотни ўзлаштирувчи цианобактериялар бир қатор ўсимликлар, жумладан, ёпиқ уруғлилар, очик уруғлилар, қирққулоқлар, йўсинлар ва ҳатто бир ҳужайрали денгиз диатом сув ўтлари билан симбиоз муносабатга киришади.

Энг кўп ўрганилган эндосимбиозлар цетероцистали цианобактерия *Anabaena* (*Nostoc*) ва сув қирққулоғи *Azolla*, шунингдек, *Nostoc* нинг гулли *Gunnera* ва *Anthoceros* ўсимлиги билан муносабатидир. *Nostoc-Gunnera* симбиози хужайра ичи симбиозга мисол бўлса, қолганлари – хужайра ташқариси симбиозидир (*Azolla* да цианобактерия барг юзасида жойлашса, *Anthoceros* да талломнинг ички юзасидаги бўшлиқларда бўлади).

Микроорганизмлар боғланган азотсиз муҳитда ёруғликда ҳам (яъни минимал озиқа муҳитида автотроф С-ли озиқланиш), қоронғуда ҳам (углерод манбалари мавжуд муҳит, яъни гетеротроф С-озиқланиш) диазотроф ҳолда ўса олади. Бу симбиотик цианобактерияларда азотфикация билан боғлиқ жараёнларни генетик таҳлил қилишда кенг имкониятлар очади.

Ўсимликлар учун цианобактериялар билан муносабатда симбиозга боғлиқлик турли даражада ифодаланади: *Azolla* учун у облигат бўлса, *Gunnera* ва *Anthoceros* учун – факультативдир.

Азотни ўзлаштирувчи цианобактериялар билан симбиозларнинг баъзилари экологик ва қишлоқ хўжалик аҳамиятига эгадир. Шоли етиштиришда «*Azolla-Anabaena*» тизими азот манбаи сифатида юқори самарадорликка эгадир. «*Nostoc-Gunnera*» симбиозини эса дуккакли бўлмаган ўсимликларнинг катта ҳажми учун азотни ўзлаштиришда симбиотик муносабат ҳосил қилиш хусусияти бериш учун модель сифатида қараш мумкин.

9.9.1. Хужайранинг ихтисослашуви

*Anabaena*ни азотсиз муҳитга кўчириб ўтказилганда ипи бўйлаб тартибсиз жойлашган хужайраларининг 10% гетероцистларгача дифференцировкага учрайди. Бу хужайралар ҳажми жиҳатдан йириклашиб, цитоплазмага эркин кислород ўтишини тўсиб қўядиган қалин қобик билан ўралади. Гетероцисталарда фотосинтез жараёни бормайди, натижада азотни ўзлаштириш учун микроаэрофил шароит вужудга келади. Бу цианобактерияларга аэроб шароитларда ҳам азотни ўзлаштиришга имконият яратади.

*Anabaena*да гетероцисталарнинг шаклланишини назорат қиладиган генларнинг мураккаб тизими аниқланган. Улар орасида *hetR* гени кўпроқ ўрганилган бўлиб, унинг генактивацияси гетероциста ҳосил қилиш хусусиятининг йўқолишига олиб келади. *hetR* гени бўйича мутантлар азотсиз муҳит микроаэрофил шароитларда ўстирилганда азотни ўзлаштира олса, аэроб шароитларда ўзлаштира олмайдилар. Агар *hetR* генини кўп нусхали плазмидалар таркибида амплификация қилинса ёки «кучли» промотор таъсири остида унинг экспрессияси оширилса, аммоний тузлари мавжуд озиқа муҳитларида ҳам гетероциста ҳосил қилиши кучаяди.

Anabaena штаммига кўп нусхали *hetR* генини киритиш орқали кўшимча гетероцисталар ҳосил бўлмайдиган транспозон мутантларини олиш мумкин. Мазкур мутантларда транспозон инсерциялари *pat A* ва *patB* генларида жойлашган. *pat A* генидаги мутациялар хужайра ихтисослашуви жараёнларининг ноанъанавий бузилишларига олиб келади: гетероцисталар хужайра занжири охирларидагина ҳосил бўлади.

Ген мутациялари гетероцисталар ҳосил бўлишини тўхтатиб қўйишга олиб келади: агар *Anabaena* 7120 «ёввойи» штаммида бу ходиса азотсиз муҳитга олиб ўтилгандан сўнг 24 соат ўтгач бошланса, *patB* мутантларида 48 соат ўтиб бошланади. Бироқ мутант штаммларни азотсиз муҳитга бир неча марта экилгандан сўнг, ёввойи штаммига нисбатан гетероцисталарнинг умумий миқдори ортади. *patB* мутациясини *pat A* мутациялар (ёки *hetR* гени бўйича кўп нусхалиликни) бирга қўшилганда цианобактерия нобуд бўлади.

*Anabaen*нинг баъзи мутациялари нитрогеназани кислороддан ҳимоя қила олмайдиган морфологик жиҳатдан нормал гетероцисталарни ҳосил қилади. Шунинг учун мазкур мутантларда микроаэрофил шароитларда азотфиксация қилиш хусусияти бузилмаган бўлса, аэроб шароитларда уни амалга ошириш мумкин эмас. Бу мутациялар ёрдамида гетероцисталар хужайра деворида гликолипидлар тўпланишини назорат қиладиган *hglB*, -C, -D, -K генлари оиласи аниқланган. Тахмин қилинишича, бу генлар O_2 нинг гетероцисталарга диффузияланишига тўсқинлик қилувчи, хужайра девори гликолипидлари таркибига кирадиган мой кислоталари синтезини кодлайдилар.

9.9.2. Молекуляр ихтисослашув

*Anabaen*нинг азотфиксация қилишга ўтиши, CO_2 ни фиксациясини назорат қилувчи генлар репрессияси билан кузатилади, бунинг натижасида гетероцисталарда молекуляр O_2 ажралиб чиқиши камая боради. Бундан ташқари аммоний ассимиляцияланиши учун зарур азотли метаболизмнинг баъзи генлари (масалан, *glnA*) фаоллашади. Мазкур жараён натижасида ҳосил бўлган глютамин цианобактерияларининг вегетатив хужайраларига транспорт қилинади ёки хўжайин организмга ўтказилади.

Гетероцистали цианобактерияларнинг азотфиксация қилувчи тизимининг нодир хусусияти нитрогеназа синтезидан олдин *nif* генларнинг қайта курилишидир. *Anabaen*нинг вегетатив хужайраларида нитрогеназа синтези амалга ошириш мумкин эмас, чунки *nif* Д гени таркибида ДНК ўлчами 11 м.ж.н бўлган бўлаги жойлашган. Бу бўлак эндонуклеазани кодлайдиган *xisA* гени сақлайди. Гетероцисталар дифференцирланишида эндонуклеаза бўлак (фрагменти)ни аниқ қирқиб ташлайди, шунинг учун *nifD* генининг яхлитлиги тикланиб, *xisA* гени экстрахромосома ҳолатига ўтади. Шунингдек, *xisA* гени *nif C* ва *fdxN* генлари оралиғида жойлашган ўлчами 55 м.ж.н бўлган яна бир ДНК бўлаги эксцизиясини белгилайди.

Бунинг натижасида азотни ўзлаштирувчи гетероцисталарда учта алоҳида генлар гуруҳидан еттита гендан ташкил топган ва нитрогеназа комплексини кодлайдиган ягона оперон ҳосил бўлади.

Шуни ҳам қайд этиш лозимки, *Anabaena* гетероцисталарида *nif* генларнинг қайта қурилиши гетероцисталар морфогенезини назорат қилувчи генлардан маълум даражада мустақил равишда амалга ошади. *het R* гени бўйича мутантларда бу қайта қурилиш анаэроб шароитларда нормал кечадики, бу нитрогеназа фаоллиги индукцияси жараёнида ўз ифодасини топади. Ўз навбатида нитрогеназанинг структуравий генлари (*nif*ДНК) ни инактивацияловчи ёки ДНК (*xisA*) процессини издан чиқарадиган мутациялар, азотни ўзлаштириш хусусиятини йўқолишига сабаб бўлади, лекин азотсиз муҳитда гетероцисталарнинг шаклланиш хусусияти сақланиб қолади.

9.9.3. Симбиознинг тараққиёти

Азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг ўсимликлар билан симбиози «*Nostoc-Gunnera*» тизими мисолида яхши ўрганилган бўлиб, мазкур системанинг ташкил топиши ҳар иккала шерик учун факультатив ҳисобланади. Бу организмларнинг ўзаро муносабати ўта ўзига хос эмас: *Gunnera*дан ажратиб олинган *Nostoc* штаммлари нафақат шу ўсимлик, балки очик уруғли *Macrozamia*, печеночник – *Anthoceros* ва ҳатто *Peltigera* лишайниги билан ҳам симбиоз ҳосил қила олади. Шунингдек, *Nostoc*нинг барча изолятлари ҳам симбиотик тизимни ҳосил қила олмайдилар.

Цианобактериялар барг бандлари орасида жойлашган махсус безчаларда яшайди. Бу безлар папиллаларга эга бўлиб, уларнинг орасида ўсимлик тўқималари тубига олиб борадиган каналчалар мавжуд бўлади. Безчага цианобактерия штамми келиб тушиб қўшилиши билан иккала шерикларда бир қатор морфогенетик жараёнлар индуцирланади, улардан биринчиси безчалар тубига фаол кириб борадиган цианобактерияларнинг ҳаракатчан шакллари – гормогонийлар (гетероцисталар сақламайдиган кичик ҳаво вакуолаларидан ташкил топган (қисқа) калта ипчалар ҳосил бўлишидир.

Симбиотик безчалар ичига кириб борган цианобактериялар фаол кўпая бошлайди ва ўсимлик хужайраларини зарарлайди. Шерикларнинг ўзаро алоқаси кучли жойларда ўсимлик хужайра девори эриб кетиши (лизиси) кузатилади. Шундан сўнг эндосимбионтлар ўсимлик хужайраларига кириб олади, хужайра деворлари эса ўзининг яхлитлигини тиклайди.

Ўсимлик хужайралари ичида цианобактериялар гетероцисталарга қадар ихтисослашиб, уларда нитрогеназа фаоллиги индуцирланади. Эндосимбиотик цианобактерияларда гетероцисталар 60-80% гача хужайра ҳосил қилса, эркин яшовчиларда бу кўрсаткич 5-10% ни ташкил этади.

Эркин яшовчи цианобактерияларга хос ҳаракатсиз спора (акинетлар) ҳосил бўлиши Gunnerанинг симбиотик безчалари ичида кузатилмайди.

Gunnera билан симбиозда цианобактериялар нитрогеназа реакциялари натижасида ҳосил бўлган аммонийни ассимиляция қилмайди, балки уларни ўсимлик ҳужайраларига етказиб беради. Бу симбиотик тизимда (худди дуккаклилар ва ризобийлар ўртасидаги симбиоз каби) аммонийнинг бирламчи ассимиляциясини ҳўжайин амалга оширади.

9.10. АЗОТ ЎЗЛАШТИРУВЧИ СИМБИОТИК БИОТИЗИМЛАР ЭВОЛЮЦИЯСИ ВА ГЕНЕТИК АСОСЛАРИ КОНЦЕПЦИЯСИ

Ўсимликларнинг азотфиксаторлар билан симбиози ўсимлик микроорганизм муносабатининг энг кенг тарқалган ва чуқур ўрганилган шаклларида бири ҳисобланади. Ҳосил бўлган симбиозлар ўзининг асосига кўра икки томон учун ҳам фойдали (мутуалистик) бўлиб, бироқ баъзи шароитларда (муҳитда боғланган азот миқдорининг кўплиги, етарли бўлмаган озикланиш, генетик ўзгаришлар) бу муносабатдан паразитизмга ўтиши ҳам мумкин. Бундан ташқари дуккаклиларнинг ризобийлар билан муносабати механизмлари ўсимликлар билан фитопатогенлар муносабатига ўхшаш умумий босқичларга эга. Шундай қилиб азотфиксацияловчи симбиозларни ўрганиш Антон Де Бари таклиф этган симбиоз концепциясининг тўғри эканлигини тасдиқлайди. Бу олим «симбиознинг асосий белгиловчи хусусияти унинг «фойдали» ёки «зарарли» лигида эмас, балки шериклар орасидаги алоқанинг узоқ давом этишидир» деб ҳисоблашни таклиф этган. Бундай ёндашув симбиотик тизимларни организмдан ташқари мўътадил комплекс сифатида, яъни бу тизимга кирган организмлар эркин яшаган ҳолатида эга бўлмаган янги экологик ва метаболитик имкониятларга эришадилар, деган қарашни юзага келтиради.

Икки хил типдаги азотни ўзлаштирувчи тизимлар—дуккакли-ризобиал симбиоз ва цианобактерияларнинг ўсимликлар билан симбиози генетик назорати тўғрисидаги маълумотларни таққослаб кўриб, бу муносабатларни тавсифловчи қатор умумий белгиларни кўриш мумкин (26-жадвал):

Биринчидан, *симбиознинг иккала гуруҳи ҳам шерикларнинг сигнал муносабатига асосланади, сигналлар эса бевосита генлар экспрессиясига таъсир кўрсатади. Бунинг натижасида симбиотик тузилмаларнинг морфогенези ва ўсимликлар билан бактерияларнинг метаболитик юқори интеграциясига олиб келадиган шериклар генларининг мувофиқлашган бошқарилуви ва дифференциал экспрессияси кузатилади.*

Иккинчидан, *ҳар иккала тизимда ҳам муносабатларнинг тизими — азотфиксация ва симбиоз тузилмалари тараққиёти турли ген*

тизимлари билан назорат қилинади ва уларни генетик усуллар орқали алоҳида-алоҳида таҳлил қилиш мумкин.

Шу билан бирга кўриб чиқилган тизимлар орасида қатор фарқлар мавжудлиги ҳам равшандир. Биринчи фарқ шундан иборатки, цианобактериялар азотни тоза културада фототрофлик билан мувофиқлаштирган ҳолда ўзлаштира олмайди, фототроф ҳам эмас.

Шунинг учун ҳам цианобактерияларда азотфиксация қилувчи ҳужайра шакли – гетероцист ҳосил қилиш махсус механизми мавжуд, унда фотосинтез амалга ошмайди, нитрогеназанинг ҳимояси эса қалин ҳужайра девори орқали таъминланади.

Цианобактерияларда гетероцисталарнинг ихтисослашувини таъминлайдиган мураккаб генлар тизими мавжуд, у диазотроф яшашга мосланиш орқали шаклланган бўлиб, бироқ симбиотик тизимда фойдаланилади.

Ризобийларда цитодифференциалланиш одатда фақат *in planta* ҳолатида амалга ошириб, нитрогеназанинг кислороддан ҳимояси билан боғлиқ эмас.

Азотфиксация қилувчи симбиозларнинг келиб чиқиши ва эволюцияси ҳақидаги масала қизикдир. Сўнгги йилларда дуккакликларнинг симбиотик генлари молекуляр структураси ҳақидаги маълумотлар бу масалага ойдинлик киритиш имкониятини берди. Масалан, **лядвинец** (*Lotus japonicus*) да *nif* гени аниқланган бўлиб, ундаги мутациялар тугунакларнинг ҳосил бўлмаслиги (инфекция иплари ривожини тўсиб қўйиши) га олиб келади, бироқ ўсимликларнинг бошқа аъзолари тараққиётига таъсир кўрсатмайди. Бу геннинг оқсил маҳсулоти азот етишмаслиги (азотли очлик) шароитида гаметогенезни назорат қиладиган *Mid chalmomy domonas* омилига гомологик бўлиб чиқди.

26-жадвал.

Азотни ўзлаштирувчи ўсимлик-микроб симбиоз муносабати икки хил типини таққосланиши

Белгилар	Дуккаклик ризобиял симбиоз	«Цианобактерия-ўсимлик» симбиозлар
Микроорганизмларга дастлабки ўсимлик сигналлари таъсири	Nod-генларнинг (ўсимлик флавоноидлари таъсири остида) фаоллашуви	Ҳаракатчан гормонийларнинг шаклланиши
Микросимбионтларнинг цитодифференциаллашуви	Фақат ўсимликларда (бактероидлар)	Ўсимликларда ва тоза културада (гетероцисталар)
Нитрогеназанинг кислороддан ҳимояланиши	Бактериялар билан (Nif A ва Fix J оқсиллари) ўсимликлар билан (легоглобин, тугунак тўқималарида диффузион тўсик)	Фақат бактериялар билан (гетероцисталар)

Nif генлар ташқиллашувининг микробларни азотфиксацияга ўтиши билан ўзгариши	Аниқланмаган	Аниқланган
Ўсимликлардаги морфогенетик жараёнларни микросимбионт томонидан индукцияланиши	Пўстлоқ хужайралари митотик реактивацияси ёки дуккакли ўсимлик илдиз бошланғичининг тугунакка қадар ривожланиши индукцияси	Симбиотик безнинг ўсиши
Микросимбионтнинг диазотрофлик ва фототрофлик хусусияти	Одатда мавжуд эмас	Мавжуд
Симбиознинг иккала шериклар учун ҳам зарурийлиги	Иккала шериклар учун факультатив	Микроблар учун факультатив, хўжайин организмлар учун облигатив (Azolla) ёки факультатив (Gunnera)
Ўзаро муносабатнинг ўзига хослиги	Дуккаклилар оиласида чегараланган	Nostoc учун ер усти ўсимликлари турли типларини ўз ичига олади

Шундай қилиб, мазкур ген симбиотик тизимда эволюцион қадимги, яъни метаболитик стресс (азот етишмаслиги) таъсирида амалга оширадиган тараққиёт жараёнларини бошқариш вазифасини сақлаб қолганлиги аниқланди. Шунга ўхшаш турли нодулинлар ва Nst-оксиллари синтези тизимлари ҳам эволюцияга учраган бўлиши мумкин.

Тугунаклар ҳосил қилмайдиган кўплаб ўсимликларда леггемоглобинни гомологлари аниқланган бўлиб, бу ген маҳсулотлари леггемоглобин сингари кислородни боғлаб олиб, унинг сенсори вазифасини бажаради.

Деярли барча нодулинларнинг гомологлари, шунингдек С- ва N- ли метаболизмнинг тугунакка хос ферментлари, тугунаклар ҳосил қилмайдиган ўсимликларда аниқланган ёки дуккакли ўсимликларнинг ер устки қисмларида фаолият юритади.

Бундан келиб чиқадики, молекуляр генетик жиҳатдан симбиоз эволюциясини симбиоз билан боғлиқ бўлмаган функцияларни бажарадиган анцестрал генларни ўсимлик-микроб муносабатлари бошқарув тизимига жалб этувчи сифатида қараш мумкин.

Сўнгги йиллардаги муҳим ютуқлардан бири азотфиксацияловчи симбиознинг арбускуляр микориза билан (АрбМ) узвий алоқасини аниқланиши ҳисобланади. Дуккаклиризобиал симбиознинг тараққиёти ва АрбМ бир қатор «умумий» генлар орқали назорат қилинишини формал ва қатор молекуляр генетик усуллар ёрдамида кузатилган.

Бу симбиозлар гомологик ўсимлик маҳсулотлари, шу қаторда перибактероид ва периарбускуляр мембрана оксиллари, шунингдек баъзи нодулинлар синтези билан давом этади. АрбМ ва тугунакларнинг ҳосил бўлиши билан ўсимликларни патогенлардан ҳимояланишига хос реакциялар содир бўлиши алоҳида аҳамият касб этади. Аммо, бошқарув характериға кўра бу реакциялар бир-биридан фарқ қилади.

Бу эса микроорганизмларнинг антогонизмда фаоллигини пасайиши ва улар фаоллигини (микдорининг мутуализмдаги регуляцияси) регуляцияси билан боғлиқ бўлиши мумкин. АрбМ нинг бошқа типдаги ўсимлик-микроорганизм муносабатларига нисбатан қадимийлигини инобатға олиб, ўсимликларнинг дастлабки ҳимоя воситаларидан бири *in planta* шароитида эндомикоризали замбуруғлар ривожланишини бошқариш бўлган деб тахмин қилиш мумкин.

Ўсимликларнинг кейинги эволюцион ўзгаришлари натижасида бу тизимлар патогенлардан ҳимоя вазифаси, ҳатто азотфиксацияловчи симбионтларни қўллаб-қувватлашни назорат қилиш вазифасига эга бўлган бўлиши мумкин.

Тугунаклар ҳосил бўлиши ва АрбМ шаклланиши учун Умумий ҳолат, шунингдек, рецепция генлари ва замбуруғларни хужайра деворининг асосий компоненти хитин олигомерларига яқин бўлган ризобиял *Nod*-омилларининг процессинги бўлишлари ҳам мумкин. Тугунак ҳосил бўлишини фаоллаштирадиган *Nod*-омиллар, микоризацияни ҳам мўътадиллаштирадиганлар, дуккаклиларда *Nod*-омилларни парчалайдиган хитиназаларни синтези ризобийлар билан ҳам, АрбМ замбуруғлар билан ҳам индуцирланади.

Бу маълумотлар шуни кўрсатадики, ризобийлар ўсимликлар билан коэволюция жараёниларида микоризали замбуруғлар сингари сигнал омилларни синтез қилишни «ўрганиб» олганлар.

Шундай қилиб, тугунаклар ҳосил бўлишини назорат қилувчи генетик тизимнинг сезиларли қисми ўсимликларнинг АрбМ замбуруғлар билан коэволюцияси даврида пайдо бўлган. Шунинг учун АрбМ ҳосил қилиш қобилятини ўсимликларнинг азотфиксация қилувчи симбиозга мослашувдан олдинги асосий ҳолатлардан деб қараш лозим. Бироқ дуккаклилар ва ризобийлар коэволюцияси жараёнида ўзаро муносабатларнинг янги босқичлари пайдо бўлдики, (улардан энг аҳамиятлиси эндоцитоз ва автоном симбиосомаларнинг шаклланишидир), улар шерикларнинг чуқур функционал интеграцияси ва морфологик тизимларининг мураккаблашувини таъминлайдилар.

Симбиотик азотфиксациянинг барча тизимлари учун хос белги, мазкур жараённинг интенсивлиги иккала шериклар генлари орқали мувофиқлаштирилишидир. Шунинг учун азотфиксацияловчи симбиозларни яхшилаш, бошқа хил ўсимлик-микроб муносабат тизимлари сингари микроорганизм ва ўсимликлар ўртасида мувофиқлаштирилган ген муҳандислиги ва селекцион тадқиқотлар олиб боришни тақозо этади.

Ўсимликлар ва бактерияларнинг кучли интеграциялашган симбиотик генлари функциялари ташкиллашувини аниқламасдан туриб, симбиотик тизимни яхшилаш, ҳатто янги симбиозлар ҳосил қилиш тўғрисида сўз очиш мумкин эмас. Бу маълумотни инобатга олиб ўсимлик-микроорганизм азотфиксацияловчи тизимда максимал синергетик самарага эришиб бўлмайди. Ҳозирга келиб амалда самарадор микроорганизм ва дуккакли ўсимлик навларида оптимал бирга қўшилган вариантлари олинган.

Юқори специфик таниб олиш хусусиятини ҳосил қилиш ўсимликларни метаболитик ва ҳимоя тизимлари билан микросимбионтларнинг ўзаро мос келишини яхшилаш йўлида жиддий ишланмаларни ишлаб чиқиш талаб қилинади. Кўплаб симбиозларнинг катта энергия талаб қилишини инобатга олиб, ўсимликларни энергия билан таъминлаш тизимлари, биринчи навбатда фотосинтез аппарати билан эндосимбионтларнинг муносабатини тартибга келтириш, оптималлаштириш масаласи долзарб масала ҳисобланади.

Бу борадаги фундаментал ва амалий муаммоларнинг ечими турли соҳа мутахассислари иштирок этадиган соҳалараро тадқиқотлар олиб боришни тақозо этади. Табиатдаги симбиотик тизимларни ўсимлик ва микроблар борасида юксак билим ва амалий кўникмаларга эга олимлар жамоаси – «илмий симбиози» фаолияти натижасида ўрганиш мумкин.

Бундай жамоаларнинг ташкил этилиши жуда муҳим вазифа бўлиб, унда замонавий фаннинг барча молиявий ва ташкилий имкониятлари ишга солиниши лозим бўлади.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ:

1. Ўсимликлар билан симбиоз муносабатга кириш хусусиятига эга бўлган микроорганизмларнинг асосий вазифаларини тавсифлаб беринг.
2. Нитрогеназа комплексининг асосий хусусиятларини таърифлаб, унинг микроб-ўсимлик муносабати тизимидаги ўзига хосликларини кўрсатиб беринг.
3. Дуккакли-ризобиал симбиозда шерикларни таниб олишга хизмат қиладиган сигнал молекулаларнинг табиати қанақа?
4. Қайси генетик тизимлар тугунак бактериялар ва ўсимликлар томонидан сигнал муносабатларни назорат қилади?
5. Дуккакли ўсимликларда тугунаклар ҳосил бўлишини назорат қиладиган генларнинг асосий гуруҳларини тавсифлаб беринг.
6. Нодулинларнинг тузилиши ва вазифаларини ўрганиш услубиятининг мазмуни нимадан иборат?
7. Дуккакли ўсимликлар ва тугунак бактерияларнинг С-ли ва N-ли метаболизм тизимлари интеграцияси механизмлари қандай?
8. Ўсимликда тугунак ҳосил бўлишини бошқариш механизмлари ва даражаларини таърифланг.

9. Ўсимликларнинг ризобийлар ва цианобактериялар билан симбиозлари ўртасидаги ўхшашлик ва фарқлар нималардан иборат?
10. Симбиотик азотфиксациянинг эволюцияси ва келиб чиқиши қандай йўллар билан амалга ошган бўлиши мумкин?
11. Азотни ўзлаштирувчи микроорганизмлар ва ўсимликларнинг симбиотик жуфтлари селекциясини симбиотик муносабатлар самарасига таъсири хусусиятлари.

АДАБИЁТЛАР:

1. Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. – М.: Наука, 1994.
2. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н. и др. Генетика развития растений / Под ред. С.Г.Инге-Вечтомова. – СПб.: Наука, 2000.
3. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973.
4. 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. Общ. Биол. 2001, Т., 62 №6, с. 472-495.
7. Spaink H., Kondorosi A., Hooikaas P.J.J. The Rhizobiaceae. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Acad. Publ. 1998. 566 p.
8. Stacey G., Burris R.H., Evans H.J. Biological Nitrogen Fixation. New York, London Chapman and Hall. 1992. p. 755.

10. БАКТЕРИАЛ ЎЎИТЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ ТЕХНОЛОГИЯСИ

Қишлоқ хўжалик экинларини интенсив ҳолда кўпайтириш, тупроқда азот миқдорини камайтиради. Лекин (беда, соя, мош, нўхат, ерёнғоқ ва бошқалар) азот тўплаш қобилиятига эга бўлган дукакли ўсимликларни экиш, аксинча тупроқни азот бирикмалари билан бойитади ва ҳосилдорлигини оширади.

Улар тупроқни фақат азот билан бойитибгина қолмасдан, оксилга бой илдиш ҳам ҳосил қилади. Дукакли ўсимликлар илдиш тугунакларида бактерия мавжудлигини биринчи марта Лахман (1858 йил) ва Варонин (1866 йил)лар аниқлашган. Тугунак ҳосил бўлиши ҳаво таркибидаги эркин азотни ўзлаштирувчи бактериялар таъсиридалигини М.Бейеринк (1888 йил) исботлади. У бу микроорганизмларни тоза культурасини ажратиш олди ва *Bacillus radicola* деб номлади. Тез вақтларда бошқа эркин азотни ўзлаштирувчилар ажратила бошланди. Ҳозирги вақтда жуда кўп прокарот микроорганизмларнинг азот ўзлаштирувчилар эканлиги маълум бўлди. Улар ичида симбиоз ва эркин яшовчи турлари мавжуд.

Тугунак бактериялар хоссалари. Ҳозирги вақтда азот ўзлаштирувчи дукакли ўсимликлар илдишида ҳамкор (симбиоз) ҳолда яшаб, тугунак ҳосил қилувчи бактерияларни *Rhizobium* ва *Bradyrhizobium* туркумига киритилган (“rhizo” грекча бўлиб илдиш маъносини беради ва bio -ҳаёт деганидир). Буларнинг турларини номланиши, қайси ўсимлик илдишида тугунак ҳосил қилса, шу ўсимлик номи билан аталади. Масалан: *Rhizobium lupini* -люпин илдишида тугунак ҳосил қилувчи бактерия, *R. trifolii* -клевер илдишида ва шунга ўхшашлар. Лекин бундай номлаш қандайдир даражада шартлидир. *Rhizobium* туркумининг айрим турлари кўп миқдордаги илдиш турларида ҳатто турли хил туркумдаги дукакли ўсимликларда тугунак ҳосил қилиши мумкин.

Дукакли ўсимликлардан (уларни 1300 га яқин тури, 550 туркуми маълум) тахминан 1300 турида тугунак ҳосил қилиши аниқланган. Тугунак бактериялар тупроқда ҳам учрайди, лекин у ёки бу дукакли ўсимликлар илдишида фаол тугунак ҳосил қилиши учун ўзига хос бўлган шароитни талаб қилади. Тугунак бактерияларнинг ҳужайраси ёш культурада одатда таёқчасимон (0,5-0,9×1,2-3,0 мкм) шаклда бўлади.

Лекин айрим шароитларда овал (чўзинчоқ) шаклига, кокксимон, шунга ўхшаш ноксимон ва шохланган бўлиши ҳам мумкин. Шундай катта, кўпинча нотўғри шаклдаги ҳужайралар (бактероидлар) одатда тугунакда кузатилади, кўпгина тугунак бактерияларнинг ёш ҳужайраси ҳаракатчан перитрихли ҳолда жойлашган хивчинларининг мавжудлиги туфайли грамманфийдир.

Улар заҳира маҳсулотлар сифатида поли-β-гидрооксибутират ҳосил қиладилар. Бўлиниш йўли билан кўпаяди. Тугунак бактериялар тез (нўхат, клевер, беда, ловия, донли ва бошқалар ўсимликлар) ва секин ўсувчи

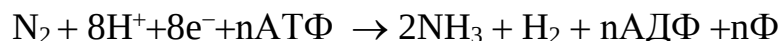
(люпин, соя, ерёнғоқ ва бошқалар) бактерияларга бўлинади. Тоза культура ҳолатида углеводли ёки айрим бошқа органик моддалар бор муҳитда ўсади. Айрим штаммлари автотроф шароитда энергия манбаи сифатида молекула ҳолидаги водород мавжуд бўлган муҳитда ўсиш қобилиятига эгадир.

Яқин вақтларгача ҳамма тугунак бактериялар молекуляр кислородли шароитда ўсади деб ҳисобланар эди. Лекин яқинда кузатилдики, тугунак бактерияларнинг айрим штаммлари анаэроб шароитда электрон акцептори сифатида нитрат мавжуд бўлган муҳитда ҳам ўсиш қобилиятига эга экан.

Турли хил турларининг ўсиши учун меъёрдаги ҳарорат 25–30°C дир, меъёрдаги pH кўрсаткичи кўпинча 6,8–7,0 бўлиши керак. Тугунак бактериялар препаратини амалиётда қўлланилганда битта ўсимликка ишлов бериш учун зарур бўлган бактерия ҳужайралари миқдори анча катта (1 та уруғга 500 дан 1 млн. гача) бўлиши лозим, лекин илдиз тўқимасига санокли ҳужайраларгина ёпишади.

Бактерия ўзининг ўсимлигини (ҳамкорини) илдиз ўсимталарида жойлашган махсус гликопептид - лектин моддаси ёрдамида билиб олади. Илдизда тугунаклар пайдо бўлиши ўсимликда биринчи чин барг таракқий қилиши даврида кетади, ва бир йиллик ўсимликларда улар узоқ вақт фаолият кўрсата олмайди, тугунакларнинг некрози ўсимлик гуллаши даврида бошланади. Бактериоид ҳужайраларининг бир қисми лизис бўлади, қолганлари майда кокклар кўринишида тупроққа тушади.

Тугунак бактериялар томонидан ўзлаштирилган азот, бошқа прокариотлардаги каби аммиак ҳосил бўлишига олиб келади, ундан кейин аминокислоталар синтезланади. Бундан ташқари, азот ўзлаштириш жараёни кўпинча молекула ҳолдаги водородни ажралиши билан бирга кетади:



Молекула ҳолидаги азотдан аммиак ҳосил бўлишидаги ва молекула ҳолдаги водород ажраб чиқишидаги жараёнда икки компонентдан иборат нитрогеназа ферменти иштирок қилади. I–компонент- таркибида темир ва молибден бўлган оксил, II–компонент-эса таркибида фақат темир ушловчи оксилдир. Нитрогеназа ҳосил бўлиш ва унинг фаоллиги фақат анаэроб шароитдагина кечади.

Шу сабабли аэроб азот ўзлаштирувчилар, у ёки бу йўл билан уларни фаолият кўрсатишлари учун шароит яратиш керак. Тугунак бактерияларда бу вазифани бажаришда тугунакдаги леггемоглобин қатнашади, у қондаги гемоглобинга ўхшаб молекула ҳолдаги кислородни ўзига боғлаб олади ва қайтариб чиқаради.

Леггемоглобинни ҳосил бўлиши фақат тугунакда кузатилади. Тугунак бактрияларни амалиётда қўллашдан маълумки, тугунак қанча қизғишроқ бўлса (леггемоглобинни мавжудлиги натижасида) шунча интенсив азот ўзлаштириш кетаяпти деймиз.

Тугунак бактерияларнинг тупроқда азот мувозанатидаги роли. Азот ўзлаштирувчилар (азотфиксаторлар) тупроқда табиий ҳосилдорлик яратади ва инсоният кимёвий боғланган азот пайдо бўлгунга қадар ғаллачиликда, яйловлардан фойдаланишда бу муҳим элементни ўрнини тўлдиришда фақат микроорганизмлар фаолияти натижасига суяниши мумкин эди. Ҳозирги вақтда тупроқни азот бирикмалари билан бойитишда азотфиксаторларни аҳамияти анча сезиларлидир.

Е.Н.Мишустин (1985) ҳайдаладиган ерларга тушадиган қуйидаги азот манбаларини келтириб ўтади (млн.т\йил):

Минерал ўғитлар	6,5
Органик ўғитлар	4,4
Дукакликларнинг қолдиқлари	1,4
Эркин яшовчи азотфиксаторлар	3,5
Атмосферадан ёғингарчилик орқали	1,3
Уруғлар орқали	0,9
Жами:	18,0

Бу миқдордан 9,0-12,0 млн.т атрофидаги азот ўсимликлар томонидан ўзлаштирилади. Дукакликлар, тупроққа 1,4 млн. т. атрофида азот туширувчилар, ҳақиқатда эса бу элементни бирмунча кўп миқдорда боғлайдилар, лекин у ҳосил билан бирга йиғилиб кетади. Тугунак ҳосил қилувчи ўсимликларни атмосфера азотини фиксация даражаси маълумотини келтириб ўтамыз, бир йилда (кг/га):

<i>Беда</i>	200-220
<i>Клевер</i>	150-200
<i>Люпин</i>	150-170
<i>Соя</i>	50-60
<i>Нўхат</i>	80
<i>Ловия</i>	40
<i>Яйлов + дукакликлар</i>	120

Дукакли ўсимликлар етиштиришда минерал азотли ўғитлар ишлатиш мақсадга мувофиқ эмас, ўсимликларни ўсишини бошланғич фазасида оз миқдорда (25-30 кг/га) бериш мумкин. “Биологик азот” (микроорганизмлар ёрдамида боғланадиган азот) ўсимлик томонидан тўлиғича ассимиляция қилинади. Минерал азотни бир қисмигина (50%дан ошмайди) ўзлаштирилади, қолган қисмлари эса ювилиб кетади ва денитрификация жараёнида (N_2 , N_2O , NO ҳолатда) ҳавога учиб кетади.

Бундан ташқари биологик азот атроф-муҳитни зарарли моддалар билан ифлослантирмайди.

10.1. Тугунак бактериялар асосида препаратлар тайёрлаш технологияси

1886 йилда Германияда Ноббе ва Гильтнер дукакли ўсимликларни 12 тури учун тугунак бактериялар аралашмасидан тижорат препаратини тайёрлашди. “Нитрогин” номини олган бу препаратни қўллаш

дукакликларни ҳосилдорлигини бирмунча оширди, шунинг учун бу бутун дунё тадқиқотчилари эътиборини тортди ва ҳозирги вақтгача сақланиб келмоқда.

Тугунак бактериялар препаратини АҚШ да (1886), Венгрияда (1898) ва Англияда (1906) тайёрлай бошлашди. Россияда тугунак бактериялар препарати билан тажриба олиб бориш Л.М.Будинов (1907) ва кейин И.А.Макринов (1915) томонидан бошланди.

Тугунак бактерияларни препаратларини тайёрлаш учун уларни дукакли ўсимликлар (нўхат дони, ловия ва бошқалар) қайнатмаси муҳитида ўстирилади. Қўшимча углеводлар -глюкоза, сахароза ёки бошқа углевод бирикмаларини, масалан: маннит қўшилса культура ўсиши тезлашади. Шунга ўхшаш агар-агар солиниб, агарли муҳит ҳозирги вақтгача тугунак бактерияларни препаратини олиш учун (Болгария, Руминияда) қўлланиб келинмоқда. Бу шаклда саноат асосида нитрагин ишлаб чиқариш, агар-агарнинг ноёблиги ва баҳосининг юқори эканлиги туфайли иқтисодий самара бермади. Бу масалада тупрокни (одатда боғлар тупроғини) субстрат сифатида фойдаланиш, нисбатан яхши натижа берди.

Стерилизация қилинган - тупроқ, сут шишаларига, флаконларга ва шу каби бошқа идишларга жойланади, тугунак бактерияларнинг суюқ культураси юборилади. Лекин тупроқ нитрогинида бактерияларни юқори титрига эришиб бўлмайди. Шунинг учун кўп тажрибалардан кейин субстрат-ташувчи (бактерияни ўзига шимдирувчи) сифатида торфдан фойдалана бошланди. Торф заҳирасига эга бўлмаган мамлакатлар субстрат сифатида бошқа маҳсулотлардан фойдаланила бошлади.

Республикамиз Фанлар Академияси Микробиология институтида тугунак бактериялар асосида “Бактериал ўғит” номи билан дукакли ўсимликларни ҳосилдорлигини оширадиган атроф муҳитни ифлослантирмайдиган, юқори самарали препаратлар ишлаб чиқарилган ва амалиётда кенг қўлланилиб келинмоқда.

Бунда бактериянинг ёпиштирувчиси сифатида қуритилган балчик, сувўтлари аралашмасидан ва гўнган фойдаланилади. Бу препарат соя ўстиришда бир неча йил мобайнида тажрибаларда синаб кўрилган ва юқори самара бериши аниқланган. Бундан ташқари республикада заҳиралари етарли бўлган кўпгина азотли субстратлардан фойдаланиш бўйича илмий тадқиқот ишлари олиб борилмоқда ва амалиётда синаб кўрилмоқда.

Бактерияли ўғит тайёрлаш технологияси бир қанча босқичдан иборат:

- *Тугунак бактериялар культурасини ўстириш ва сақлаш;*
- *Суюқ культура (инокулят) олиш;*
- *Субстрат-ташувчи тайёрлаш;*
- *Стерилизация қилиш;*
- *Инокуляция қилиш ва тайёр препаратни сақлаш;*
- *Ишлаб чиқаришни назорат қилиш;*
- *Амалиётдаги самарасини статистик таҳлил қилиб бориш.*

10.1.1.Нитрагин

Нитрагин–препарати *Rhizobium* туркуми бактерияларининг тоза культурасини сақловчи препаратдир. Тугунак бактериялари – аэроб, кичик, спорасиз таёқчадир. Маълум бактерия штаммлари бир биридан ўсимлик билан симбиоз ҳолда атмосфера азотини ўзлаштириш фаоллиги билан фарқ қилади (фаол, кам фаол, фаол эмас). Буларнинг аниқ турлари атмосфера азотини фиксация қилиш қобилиятини фақатгина аниқ хўжайин–ўсимликдагина намаён қилади.

Россияда нитрагиннинг икки тури: тупроқли ва қуруқ препаратлари ишлаб чиқарилади.

Тупроқли нитрагинда тугунак бактерияси культуралари стерил тупроқда ривожланади. Нитрагин ишлаб чиқариш технологияси етарли даражада самарали эмас, чунки бунда юқори сифатли препарат олиш имконияти йўқ.

Қуруқ нитрагин ўзида тугунак бактериялар билан қўшимчаларнинг (торф, бентонит) биргаликдаги кукунини мужассамлаштиради. Тупроқли нитрагинга нисбатан қуруқ нитрагин препарати юқорироқ самарадорликка эгадир. Қуруқ нитрагин ишлаб чиқариш технологияси микробиологик ишлаб чиқариш технологиясидаги асосий характерли босқичлардан иборат (29-чизма).

Ҳар бир дуккакли ўсимлик тури учун мувофиқ тугунак бактерия туридан ўстирилиб қуруқ нитрагин препарати тайёрланади. Агарли озиқада ўстирилган дастлабки тугунак бактерия культурасидан экиш материални олиш учун уни суюқ озиқа муҳитида 28–30⁰С ҳароратда 24–48 соат давомида ўстирилади. Суюқ озиқа муҳити таркиби бактерияни барча босқичларда ўстириш учун бир хилдаги таркибга эга бўлади: меласса, маккажўхори экстракти ва минерал тузлар (NaHCO₃, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄, K₂HPO₄, темир тузи, молибден ва ҳ.к.).

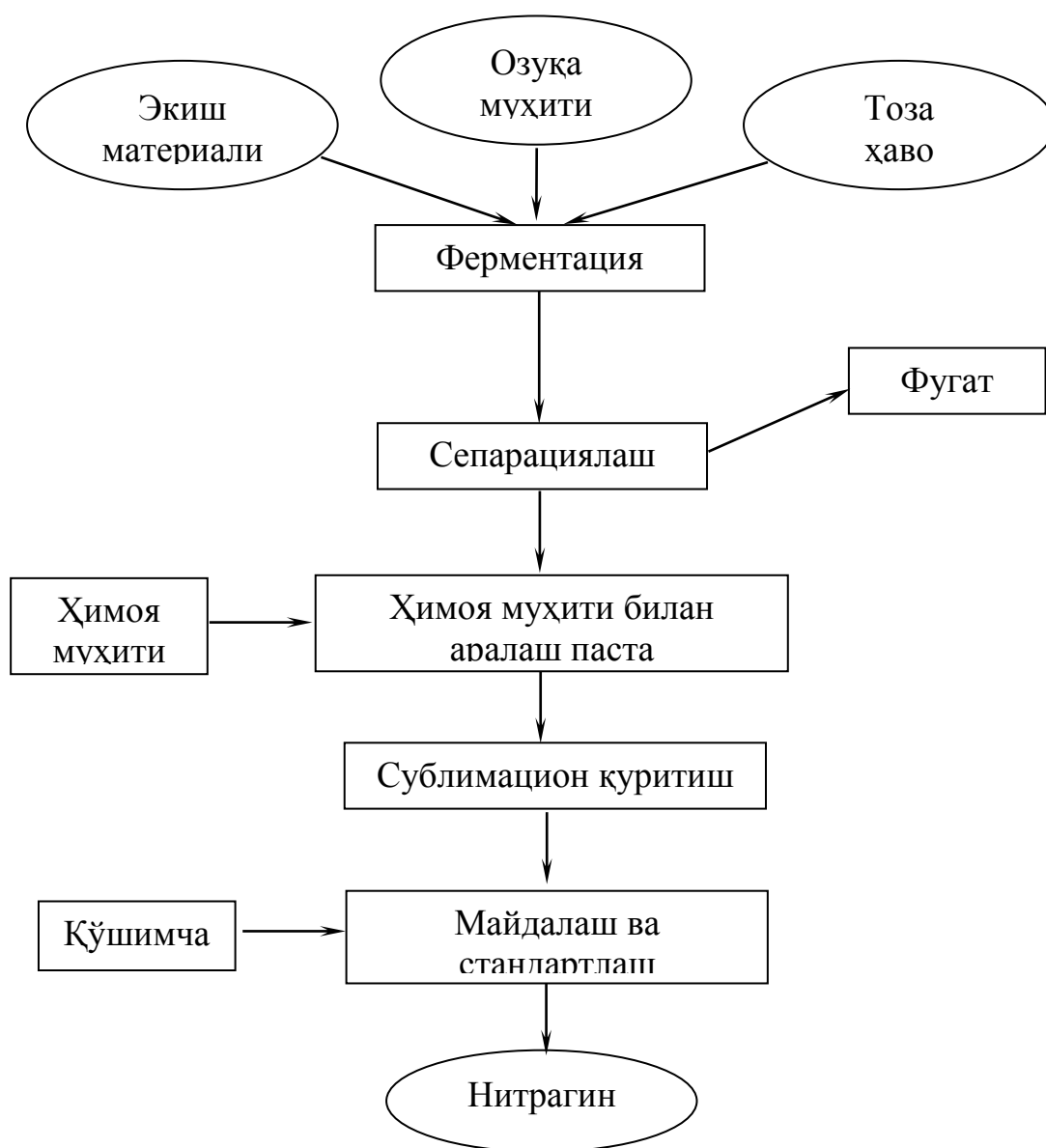
Ўстирилган культуралар 1 мл да 8–10 млрд. хужайра сақлаганда уларни сифими 100–150 л бўлган ўстириш инокуляторларига экиш мумкин. Ўстириш 30⁰С ҳароратда доимий аралаштириш ва аэрацияда 18–24 соат давомида олиб борилади. Тайёр экиш материали 1 мл да 2 млрд. хужайра сақлайди ва шундан кейингина уни саноат ферментёрига экиш учун йўналтириш мумкин.

Ферментёрда ферментация жараёни 28–30⁰С ҳароратда интенсив аралаштириш ва аэрацияда 48–72 соат давомида олиб борилади. Ферментация жараёнидан кейин культурал суюқлик 1 мл ида 10 млрд. хужайра титри сақлайди. Ферментация жараёни тугаллангандан сўнг культурал суюқлик сепараторга узатилади.

Биомасса 70–80% намликдаги паста кўринишида олинади. Қуриштишдан олдин паста, 20% меласса ва 1% тиомочевина сақловчи ҳимоя муҳити билан аралаштирилади.

Биомассани сублимацион қуритиш $-30-35^{\circ}\text{C}$ ҳароратда, секинлик билан бериладиган $10-13$ кПа босим вакуум остида амалга оширилади.

Қуритилган биомасса қўшимчалар (бентонит, каолин ва торф каби) билан шундай аралаштириладики, натижада 1 г. препарат $9-10$ млрд. тугунак бактериялар сақлаши лозим. Қуруқ нитрагин препарати полиэтилен қопчаларга жойланиб, герметик беркитилади ва ҳарорати 15°C дан юқори бўлмаган жойларда сақланади.



29-чизма. Нитрагин ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси

Дуккакли ўсимликлар уруғи ерга экилмасдан нитрагин препарати билан бевосита ишлов берилади. Бундай ишлов бериш натижасида илдиздаги тугунаклар ва шу билан бир вақтнинг ўзида ўсимликда азот миқдори ошиб ҳосилдорликнинг юқори бўлишини таъминлайди.

10.1.2. Азотобактерин

Азотобактерин – препарати ўзида атмосферадан азот ўзлаштириш қобилятига эга бўлган тупроқ микроорганизмларидан бири *Azotobacter chroococcum* культурасини сақлайди. *Azotobacter* бактерияси аэроб ва спорасиз бўлиб тупроқда эркин яшайди. Ўғит сифатида ушбу бактерия тупроқда тўпланганда тупроққа биологик фаол моддалар (никотин ва пантотен кислоталар, пиридоксин, биотин, гетероауксин, гибберлин ва бошқалар), ўсимлик ўсиши ва ривожланишини бошқарувчи моддалар, шунингдек, анисомицин гуруҳига фунгицид моддалар ҳосил қилади, улар эса баъзи бир ўсимлик ризосферасидаги зарарли микроскопик замбуруғларнинг ривожланишини чегаралаб туради.

Азотобактернинг барча турлари қатъий аэробдирлар. Бу микроорганизмлар озиқа муҳитидаги органик ва ноорганик бирикмалар кўринишидаги фосфорга ўта сезгир бўлиб, унинг юқори миқдори озиқада мавжуд бўлса жуда яхши ривожланади.

Фосфор етишмаганда уларнинг азот ўзлаштириш қобиляти ва ривожланиши кескин сусаяди. Азотобактерларнинг кўпчилик турлари эса муҳитда азот мавжуд бўлгандагина азот ўзлаштириш хусусиятларини намаён қиладилар. Культураларнинг азот ўзлаштириш қобилятини аммиак пасайтиради, аммо молибден бирикмалари ва баъзан ванадий эса ошишига таъсир кўрсатади.

Микробиологик саноат асосида азотобактернинг бир неча турлари ишлаб чиқарилади: куруқ, тупроқли ва торфли.

10.1.3. Куруқ азотобактерин ишлаб чиқариш технологияси

Куруқ азотобактерин ишлаб чиқариш технологияси нитрагин ишлаб чиқариш босқичларига жуда ўхшаш бўлганлиги учун баъзи бир фарқ қилувчи хусусиятларигагина тўхталиб ўтамиз.

Куруқ азотобактерин ўзида қуритилган азотобактер ҳужайрасининг фаол культураси ва қўшимчани мужассамлаштиради. 1 г куруқ препаратда 0,5 млрд. ҳаётчан ҳужайралар мавжуд бўлиши лозим. Ушбу культуралар *Rhizobium* ҳужайралари ўстириладиган суюқ озиқа муҳитида ўстирилади. Бунга қўшимча сифатида темир сульфат, марганец, шунингдек, молибден кислотаси мураккаб тузлари қўшилади. Ўстиришда рН муҳити 5,7-6,5, аэрация эса 1 ҳажм ҳаво 1 ҳажм озиқага 1 минутда берилади.

Ферментация жараёни культура ўсишининг стационар фазасигача олиб борилади, чунки шу фазада ҳужайрадан биологик фаол моддалар ажралади ва культурал суюқликда қолади. Бунда туғиладиган хавф шундан иборатки, уларнинг ҳужайрадан кўплаб чиқиши оқибатида тупроққа тушгандан сўнг, ҳужайранинг атмосфера азотини ўзлаштириш хусусияти йўқолиши мумкин. Биологик фаол моддалар тўлиқ ёки қисман ҳужайрани қуритиш жараёнида йўқотилади, бироқ анабиоздан чиққан

азотобактернинг ҳаётчан ҳужайраларида яна биологик фаол моддалар ҳосил қилиш хусусияти тикланади.

Қуритилган культура зарур қўшимчалар билан стандартланади ва полиэтилен қопчаларга 0,4-2 кг дан қадоқланади. Қопчалар герметик ҳолатда 15⁰С ҳароратдан ортиқ бўлмаган ҳароратли хоналарда 3 ойгача сақланади.

10.1.4. Торфли ва тупроқли азотобактерин олиш технологияси

Бу турдаги азотобактерин препарати ўзида, қаттиқ озиқа муҳитида ривожланган фаол азотобактер культурасини намоён қилади ва 1 г. препаратда 50 млн. дан кам бўлмаган ҳаётчан ҳужайраларни сақлайди.

Уларни тайёрлаш учун серҳосил тупроқ ёки яхши уваланадиган торфдан нейтрал муҳит реакцияси билан фойдаланилади. Экиш учун олинган қаттиқ субстратга 2% гача оҳак ва 0,1% суперфосфат қўшилади. Олинган аралашма 500 г. дан 0,5 л. ҳажмли шиша идишларга жойланади ва 40-60% ҳажмда сув билан намланиб, оғзи пахта тикин билан ёпилади ва стерилланади.

Экиш материали 2% гача сахарозалар ва минерал тузлар сақловчи агарли озиқа муҳитида тайёрланади. Культуралар 27⁰С ҳароратда 3-5 кун атрофида ўстирилади. Жараённинг тугалланганлиги агар сиртини жигарранг, шилимшиқ масса қоплаганлигига қараб баҳоланади. Олинган экиш материали агар сиртидан стерил ҳолатда сув билан ювиб олинади ва тайёрланган субстратга ўтказилади. Шиша идишларга солингандан сўнг яхшилаб аралаштирилади ва 25-27⁰С ҳароратда термостатда сақланади. Ўстириш жараёни 1 г. тупроқ ёки торфда бактериялар миқдори 50 млн. бўлгунча давом эттирилади. Бу усулда олинган препарат ўз фаоллигини 2-3 ойгача сақлайди.

Азотобактерин препаратларидан фосфор ва микроэлементлар сақловчи (молибден, ванадий, бор ва х.к) серҳосил тупроқда фойдаланиш тавсия этилади. Азотобактерин уруғ, кўчатлар ва компостлар бактеризацияси учун қўлланилади. Бунда ўсимлик илдизи озиқланиши ошиб, бошоқли, техник ва сабзаёт культураларида ҳосилдорлиги ошади.

Қуруқ азотобактердан фойдаланиш усули экиш материали хусусиятига боғлиқ бўлади. Бошоқлилар уруғига қуруқ препаратни суркаш механик усулда 1 гектарга етадиган уруғга 100 млрд. ҳужайра ҳисобида амалга оширилади.

Картошка, сабзаёт кўчатларининг илдиз тизимида эса препаратнинг суви суспензияси сепилади. Бунда 1 гектарга етарли суспензия меъёрини тайёрлаш учун препарат (300 млрд.ҳужайра) 15 л. сувда суюлтирилади.

10.2. ФОСФОБАКТЕРИН

Фосфобактерин- *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* микроорганизми спораларини сақловчи бактериал ўғитдир.

Бу бактериялар мураккаб фосфорорганик бирикмалар (нуклеин кислоталар, нуклеопротеидлар ва х.к.) ва қийин ўзлаштириладиган минерал фосфатлар (пирофосфатлар, полифосфатлар)ни ўсимлик ўзлаштиришига қулай ҳолатга айлантириб бериш хусусиятига эгадир. Бундан ташқари, биологик фаол моддалар ишлаб чиқарадилар (тиамин, пиридоксин, биотин, пантотен ва никотин кислоталар, В₁₂-витамины ва х.к.), булар эса ўсимликлар ўсишини бошқаришда, айниқса дастлабки ўсиш босқичларида катта аҳамият касб этади.

Фосфобактерин фосфор ўғитлари ўрнини эгалламайди ва уларсиз таъсир ҳам этмайди. Препаратнинг асосий самарадорлиги ўстириш хусусияти билан белгиланади. *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* морфологик хусусиятига кўра кичик, граммусбат, аэроб спора ҳосил қилувчи таёкчалари ўлчами (1,8-2,0)×(5-6) мкм бўлади. Хужайра катта миқдорда фосфор бирикмаларини сақлайди. Бу хужайралар дастлаб ҳаракатчан битта таёкча бўлиб ривожланиши охирида 0,7×1,2 мкм ўлчамдаги эндоспоралар ҳосил қилади.

Бу микроорганизм асосида олинадиган препарат асосан спорадан ташкил топади, шунинг учун ҳам ўстириш технологияси ҳам спора ҳосил қилишга қаратилгандир. Бироқ фосфобактерин ишлаб чиқариш технологияси нитрагин, азотобактерин каби препаратлар ишлаб чиқариш технологиясидан кам фарқ қилади.

10.2.1. Фосфобактерин олиш технологияси

Bacillus megaterium var. *phosphaticum* культураси барча босқичларини саноат асосида ўстириш, суяқ озиқа ичига экиш орқали амалга оширилади.

Дастлабки лиофиллаб қуритилган культура қуйидаги таркибли озиқа муҳитида ўстирилади (% ҳисобида):

1-озиқа муҳити таркиби	2-озиқа муҳити таркиби
Маккажўхори экстракти - 1,8; Меласса - 1,5; Аммоний сульфат - 0,1; Оҳак - 1; Сув - қолгани сувдан иборат.	Маккажўхори уни - 2; Меласса - 1,5; В-комплекси (D-витамины ишлаб чиқаришнинг қолдиғи) - 2; Калий фосфат (икки алмашили) - 0,01; Кальций карбонд - 0,3; Қолгани сувдан иборат.

Ўстириш ферментёрда қатъий асептик шароитда, доимий аралаштириш ва спора ҳосил қилиш жараёнигача аэрацияда олиб

борилади. Жараённинг асосий кўрсаткичлари: ҳарорат 28-30°C, муҳит рН 6,5-7,5, ўстириш давомийлиги 1,5-2 кун.

Биринчи озиқа муҳотида ўстирилганда тайёр культурал суюқликда хужайра титри 1 мл. да 2,7-3 млрд. спора, 2-озиқа муҳотида эса 1 мл. да 4,3 млрд. спорани ташкил этади.

Ўстириб олинган хужайра биомассаси центрифугалаш орқали алоҳидаланиб, пуркаб қуритгич мосламада 65-70°C ҳароратда 2-3% намлик қолгунча қуритилади. Қуритилган споралар қўшимча (каолин) билан аралаштирилади. Бу усулда тайёрланган препарат 1 граммида 8 млрд. дан кам бўлмаган хужайраларни сақлайди. Улар 50-500 г. дан намликни сақлаб турадиган, герметик қопчаларга жойланади. Фосфобактерин, азотобактерин ва нитрагиндан сақлашга бўлган чидамлилиги билан фарқланади. Булар 1 йил сақлангандан сўнг хужайранинг ҳаётчанлигини йўқотиши 20% дан ошмайди.

Саноат асосида фосфобактерин ишлаб чиқаришда шундай омил борки, бу бактериал ўғит олишда культуранинг фаголизиси ва ўсмайдиган споралар ҳосил бўлишига сабаб бўлади.

Культуралар фаголизиси шу билан изоҳланадики, бир томондан *Bacillus megaterium* штаммлари бактериофаглар таъсирига жуда сезгир ва фаголизис натижасида зарарланган культура нобуд бўлади, иккинчи томондан эса дастлабки культура ўзига ўзи мутаген ҳисобланади яъни ўзида маълум шароитда фаоллашадиган профаг сақлайди.

Комплекс корхоналарда фаголизисга қарши курашиш учун ишлаб чиқаришнинг барча босқичларида ўстиришнинг асептик шароитини ушлаб туриш, фагга чидамли штаммларни саралаш ва селекция қилиш ҳамда культуранинг ўсишига таъсир қилмайдиган миқдорда органик кислоталар тузини озиқага қўшиш (одатда 0,075-0,1% атрофида) каби чора тадбирлар қўлланилади.

Ўсимлик уруғини препарат билан ишлов беришда механик усулдан фойдаланилади, бунда фосфобактерин ва қўшимча нисбати 1:40 ни ташкил этади. Картошка туганагига муътадил ишлов берилиши учун эса 15 г. препарат 15 л. сувда суюлтирилади. Бу миқдор 1 гектар ерга етадиган экиш материалига сарфланади.

Фосфобактерин қўлланилиши ҳосилдорликни 10% ва ундан ҳам кўпроқ оширади.

Кейинги йилларда ўсимлик ризосферада ва ризопланида яшайдиган микроорганизмлар асосида кўплаб биоўғитлар ва ўсимликларни ҳимоя қилувчи воситалар ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. Айниқса ризосфера микроорганизмлари асосида ўсимликларни ҳимоя қилувчи воситаларга талаб ва қизиқиш катта. Бионазорат принципида фаолият кўрсатадиган микробиопрепаратлар экологик тоза маҳсулот етиштириш учун ўта фойдалиқдир. Шулардан бири Россия олимлари томонидан чиқилган экстрасол препаратидир. Бу препаратни асосини *Basillis subtilis* бактерияси бўли, у *Fuzarium*, *Vertillium*, *Rhizoctonium* антогонизм асосида таъсир

кўрсатади ва ўсимликларни касалланишдан сақлайди. Ўзбекистонда “Ер малҳами” номли биоўғит ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. Бу препаратни асосини *Azotobacter chroococum* А-2 штамми ташкил этиб, бу штамм азотофиксация билан бир қаторда, қори концентрацияда фитогормонлар ҳам синтез қилинади. Препарат айниқса шўрланган тупроқларда катта самара билан ишлатиб келинмоқда.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ:

Бактериал ўғитлардан фойдаланиш тарихи ҳақида маълумот беринг.
Тугунак бактериялар хоссалари нималардан иборат?
Тугунак бактерияларнинг тупроқдаги азот мувозанатидаги роли нималардан иборат?
Тугунак бактериялар асосида препаратлар тайёрлаш технологияси қандай босқичлардан иборат?
Нитрагин препарати ишлаб чиқаришнинг технологик чизмасини изохлаб беринг.
Азотобактерин ишлаб чиқаришда қандай продуцентлардан фойдаланилади?
Нитрагин нима мақсадда қўлланилади?
Фосфобактерин ва азотобактерин нима мақсадларда қўлланилади?
Фосфобактерин ишлаб чиқаришда қандай микроорганизмлардан фойдаланилади?

АДАБИЁТЛАР

1. Артамонов В.И. Биотехнология агропромышленному комплексу. М., наука, 1989. 165с.
2. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. М., «Агропромиздат» 1991. 240с.
3. Давранов К.Д. Микроблар дунёси. Тошкент. ТошДАУ нашриёти. 2002й. 298б.
- 4.Заварзин Г.А. Микробиология-двадцатому веку. М: наука. 1981. 190с.

11. ЭНТОМОПАТОГЕН ПРЕПАРАТЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

11.1. БАКТЕРИАЛ ЭНТОМОПАТОГЕН ПРЕПАРАТЛАР

Ҳозирги вақтда ўсимлик зараркунанда ҳашоратларига қарши кўплаб микроорганизмлар мажмуаси ажратиб ўрганилган ва булар асосида микроб биопрепаратлари тайёрлашнинг илмий асоси яратилган. Саноат асосида кўплаб препаратлар ишлаб чиқарилмоқда ва амалиётда кенг қўлланилмоқда.

Шундай препаратларни тайёрлаш учун бактериялар, замбуруғлар ва вируслардан фойдаланилади. Препаратларни ишлаб чиқариш технологияси ҳам хилма хилдир. Уларни ишлаб чиқаришда микроорганизмларнинг физиологияси ва биокимёвий хусусиятлари ҳамда препарат нима мақсадда қўлланилиши эътиборга олинади.

Микроб препаратларини ишлаб-чиқаришда қуйидаги бир неча талаблар қўйилади:

- уларнинг спецификлиги, фақат маълум турдаги зараркунандаларга таъсир қилиб фойдали ҳашоратларга безиёнлиги;
- юқори самарали таъсир кучига эга бўлиши;
- ишлаб чиқариш ва қўллашнинг қулайлиги;
- одам ва ҳайвонларга нисбатан хавфсиз бўлиши;
- препаратнинг фойдали хусусиятларининг узоқ сақланиши;
- унинг яхши намланиши ва эритмасининг барқарорлиги;
- ўсимлик баргига ва бошқа органларига ёпишқоқлиги ва у ерда узоқ вақт сақланиши ва х.

Дунёда 50 га яқин ўсимликларни зараркунанда ҳашоратлардан химоя қилиш учун микробиологик препаратлар яратилган. Шулардан кўпчилик препаратлар спорали энтомопатоген *Bacillus thuringiensis* бактерияси асосида ишлаб чиқарилади.

Бактериялар - энг катта ва кенг тарқалган микроорганизмлар гуруҳи ҳисобланади. Буларнинг ичида *Bac.thuringiensis* энтомопатоген бактерияси катта аҳамиятга эгадир. Бу бактерия биринчи марта XIX асрнинг 60-йилларида ипак қуртининг касалланганида Пастер томонидан кўзатиш берилган. У уни одатдагидан бошқа ядро ҳосил қилувчи, қуртларда касаллик қўзғатувчи бактерия сифатида ёзади ва унга *Bacillus bombicis* деб ном беради.

Кейинги вақтларда аниқланишича у ядро эмас, балки оксил кристалли-эндотоксин эканлиги аниқланган. 1911 йил Берлинер бу бактерия ҳақида тўлиқ маълумот берди ва уни *Bacillus thuringiensis Berliner* деб Тюринг (Германияда) вилоятининг номи билан атади, чунки у тегирмон капалагидан (*Ephistia kuchniella*) ажратиб олинган эди. Кейинчалик бу бактериянинг намунавий штаммларидан айрим хусусиятлари билан фарқ

қиладиган кўплаб штаммлар ажратилди.

Бу бацилла бошқа бир қанча энтомопатоген бактериялар қатори *Bacillaceae* оиласига киради. *Bacillus* туркуми таёқчасимон, спора ҳосил қилувчи, граммусбат турларни бирлаштиради, кўпчилиги ҳаракатчан (хивчинлари мавжуд) факультатив ва облигат (ҳақиқий) аэроблардир. Кўпчилиги тупроқда тарқалган. *Bacillus thuringiensis* ўзининг кўпчилик хоссаси жиҳатидан *Bac.cereus* га яқиндир. Шунинг учун улар бир гуруҳга бирлаштирилади. Сунъий яратилган муҳитда ва ҳашорат ичида яхши ривожланади.

Bacillus thuringiensis га қизиқиш йилдан йилга ортмоқда, чунки бактерия жуда кўп муҳим хусусиятларга эга: тез кўпаяди; жуда кўплаб озиқа муҳитларида спора ҳосил қилади; вегетатив ўсиши тугагандан сўнг, фақат спора ҳосил қилибгина қолмасдан, зараркунанда ҳашоратларни нобуд қиладиган асосий қурол–кристалл ҳолдаги эндотоксин ҳам синтез қилади.

Бу бактериянинг айрим штаммлари кристалл ҳолдаги эндотоксиндан ташқари ўзининг ўсадиган муҳитига юқори ҳароратга чидамли β–экзотоксин ва ферментлар чиқаради. Булар ҳашоратлар учун ўта зарарлидир.

Бу бактерия турли хил технологик манипуляцияларга чидамли, сепарацияга, вакуум-буғлатишга, қуритишнинг турли хил усулларига, субстрат-ташувчилар (бактерияни ўзига бириктириб турувчи восита) билан аралаштиришга ва бошқаларга қулайдир. Қуритилган ҳолатда тайёр препарат ўзининг дастлабки хусусиятини йўқотмасдан бир неча йилларгача (1–10 йилларгача) яхши сақланади.

Bacillus thuringiensis нинг ҳамма кўрсатилган сифатлари уни ўсимликларни зарарли ҳашоратлардан сақлаш воситаси сифатида биринчи ўринга чиқарди.

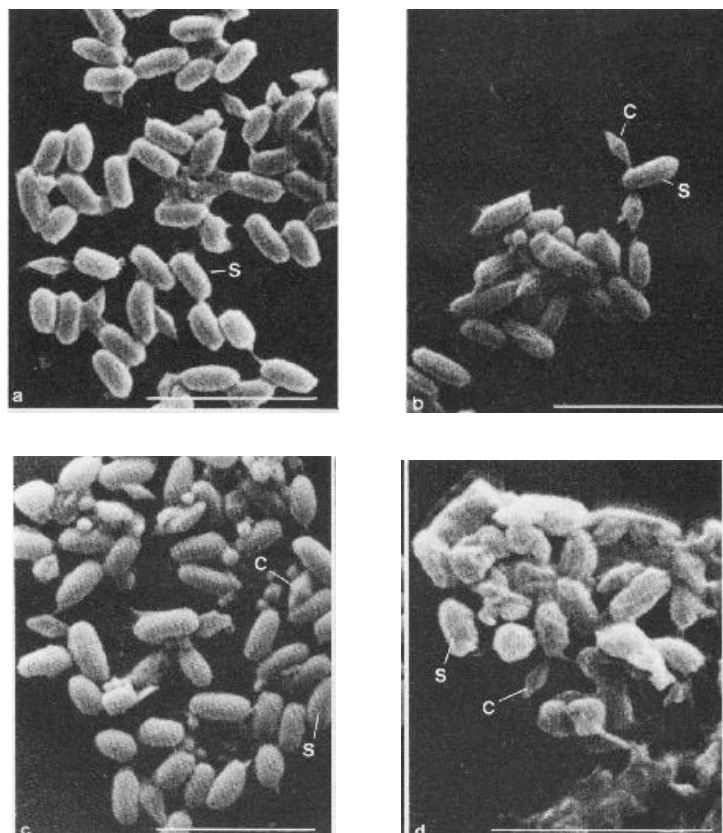
Энтомопатоген бактерияларда вирулентлик ва фермент фаоллигининг боғлиқлиги ва штаммнинг юқори вирулентликка эга бўлишида С-фосфалипаза ферменти алоҳида ўрин тутиши аниқланган.

Bac.thuringiensis бактериясининг махсус С фосфалипаза билан патогенлик хусусияти орасидаги боғлиқлиги ўрганилган ва С-фосфолипаза *Bac.thuringiensis* бактерияларининг энтомоцид таъсирида асосий фактор ҳисобланади деган хулосага келинган. Бу ҳақда Болгариялик олимлар А.Иванов ва бошқалар (1990) ўз тадқиқотларида *Bac. thuringiensis* бактерияларининг С-фосфолипаза ажратиши, унинг специфик хусусияти ва п-нитрофенил-фосфорилхолинни гидролизлаши ва энтомопатоген хусусияти тўғрисида маълумот беришган.

Υ–экзотоксин- бу токсиннинг табиати ҳозиргача тўлиқ аниқланмаган. Бу токсин *entomocidus* культурасида учрайди (*Bac.thuringiensis* VI серотип).

Кристалл оксилли δ–эндотоксин – ёки жуфт спорали кристалли эндотоксин бактериянинг спора ҳосил қилиш жараёнида хужайранинг бир

қисмида спора шакллангандан сўнг ҳосил бўлади, ҳосил бўлган кристалл тўғри саккиз қиррали кўринишга эга бўлади. Кристалларни синтез қилиш культуранинг стационар фазасида тахминан уч соат давомида кечади.



30-чизма. *Bacillus thuringiensis* энтомопатоген бактерияси ҳосил қиладиган спора (s) - кристаллари (c) шакллари.

Ҳужайрада турли кўринишдаги бир нечта кристаллар ҳосил бўлиши мумкин (тўғри бипирамидал, ромбсимон, кубсимондан овалсимонгача).

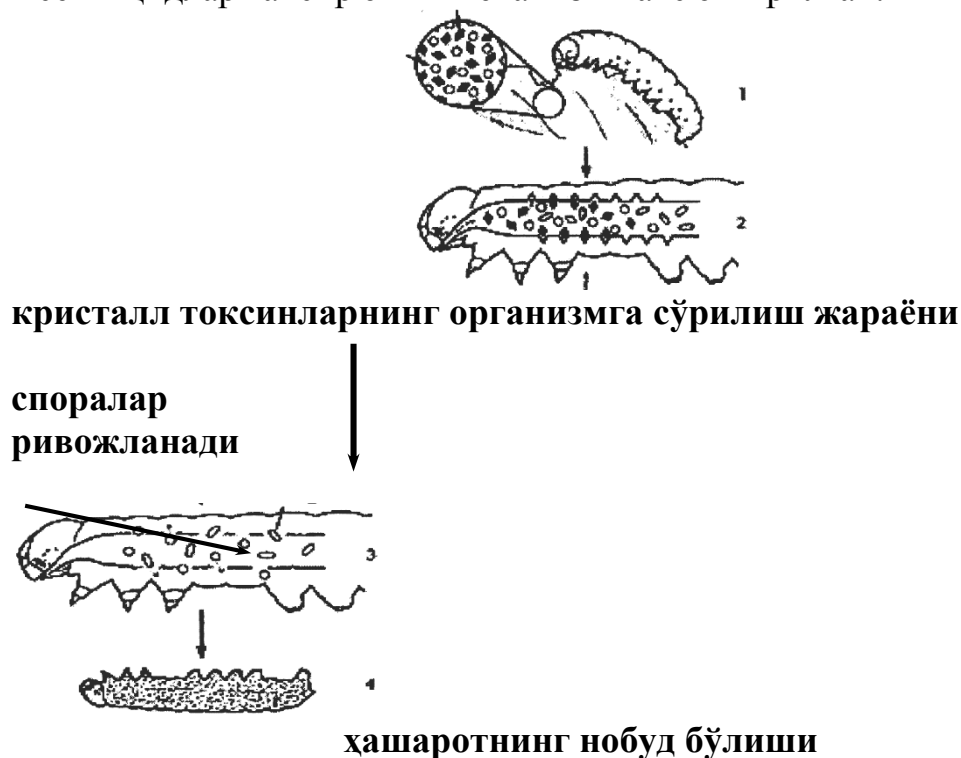
Уларнинг ўлчамлари 0,5×1,3 дан 1×3,5 мкм гача ва ҳаттоки субмикроскопик кўринишигача кичрайиши мумкин. Улар органик эритмаларда эримайди, бироқ спорадан ажралиши мумкин, рН кўрсаткичи юқори ишқорий (рН–11,5 дан юқори) шароитда яхши эрийди ва қайтарувчи ишқорий буфер иштирокида (рН 7,9–9,5) уларнинг эриш даражаси ортади. Кристаллар 100⁰С ҳароратда 30–40 минут қиздирилганда ўзининг заҳарлилик хусусиятини йўқотади.

Илмий адабиётларда қайд қилинишича кристаллар оксиллардан тузилган бўлиб уларнинг аминокислоталар таркиби турли штаммларда бир-бирига жуда яқиндир. Кристалл оксиллар кимёвий табиатиға кўра споралар қобикларининг оксили билан яқиндир. Адабиётларда споралар ҳужайра қобиғида ортиқча ишлаб чиқарилган оксилдан ҳосил бўлади деган назариялар ҳам мавжуд.

Дунёда ушбу препаратларни ишлаб чиқаришнинг 20 га яқин саноат шакллари яратилган, буларни ҳаммасининг асосида *Bac.thuringiensis* нинг у ёки бу турлари ётади. Асосан саноат асосида қуйидаги турлардан

фойдаланилади: *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*, *kurstaki*, *galleriae*, *dendrolimus*, *israelensis*.

Қуйида (31-чизма) *B.thunrindiensis* бактерияси асосида тайёрланган биоинсектицидлар таъсир этиш механизми акс эттирилган.



31-чизма. Спора-кристаллларнинг таъсир механизми

Мамлакатимизда, Республика Фанлар Академияси Микробиология институтида, профессорлар Қ.Д.Давранов ва Т.Ю.Юсуповлар раҳбарлигида *Bac.thuringiensis* ни маҳаллий штамлари асосида биопрепарат ишлаб чиқариш технологиясининг илмий асоси яратилди. Н.А.Хўжамшукуров томонидан биринчи мартаба колорадо кўнғизи личинкаларига қарши *Bac.thuringiensis* энтомопатоген бактериясининг мутант штамлари асосида “Биокристалл” инсектицид биопрепарати яратилди ва препаратнинг дастлабки партиялари лаборатория ва дала шароитларида синовдан ўтказилиб муваффақиятли деб топилди.

Россияда эса, бу препаратнинг 10 дан ортиқ хиллари ишлаб чиқарилмоқда ва амалиётда кенг қўлланилмоқда. Мисол тариқасида “энтобактерин” номи билан *Bac.thuringiensis* var.*galleriae* бактерияси асосида саноатда биринчи марта кукун кўринишида препарат тайёрланган. Препарат таркибида 30 млрд/г спора, шунча микдорда кристалл ҳолидаги эндотоксин ва ёпиштирувчи қўшилмалар (каолин) мавжуд. Тангача қанотли хашоратларнинг кўпгина турларига қарши курашда самарали фойда беради: карам ва шолғом оқ капалаги, карам куяси, ботқоқ капалаги, мева куяси ва бошқалар.

Ичакда таъсир қилувчи препарат озиқа билан хашоратнинг организмга кириб, уни заҳарлайди, хашаротда экзотоксин таъсирида

вужудга келадиган фалажлик уйғотади, ичак тизимининг бир бутунлиги бузилади, кейин споралар гемолимфаларга киради у ерда ўсади, ҳужайра кўпая бошлайди ва сепсис бошланади, натижада хашорат нобуд бўлади. Энтобактерин одам ва иссиққонли ҳайвонларга, балиқ, асалариларга ва энтомофагларга таъсир қилмайди, лекин ипак қуртига хавфлидир.

Препарат эритмаси ўсимликга сепиш йўли билан қўлланилади, 2–5 кг/га микдорда 300–1500 л/га махсус пуркагич мосламалар ёрдамида, катта майдонларга самолёт ёрдамида ҳам сепилиши мумкин. Энтобактеринни қўллашнинг мўътадил ҳарорати 18–32°C дир.

Шунга ўхшаш турли хил номлар билан бир қанча препаратлар бутун дунёда ишлаб чиқарилмоқда ва ўсимликларни зараркунанда хашоратларига қарши курашишда амалиётда кенг қўлланилиб келинмоқда. Масалан: дендробациллин, битоксибациллин (БТБ), БИП-биологик инсектицид препарат, гомелин, лепидоцид, бактокулицид, дипел, бактоспеин ва бошқалар.

Bac.thuringiensis бактерияси асосида тайёрланган биопрепаратлар юқори самарадорликка эга. Бу препаратлар барчаси *Bac.thuringiensis* бактерияси штаммлари асосида тайёрланган бўлиб, хашоратлар турига таъсири, препаратни тайёрлаш технологияси, самарадорлиги ва бошқа бир қанча хусусиятлари билан бир-бирларидан фарқ қилади.

11.1.1. Энтобактерин ишлаб чиқариш технологияси

Микроб патогенларини суяқ озиқада ўстириш энтомопатоген бактериялардан максимал ҳужайралар олиш ёки токсинлар тўплашга асослангандир.

Бактериал энтомопатоген препаратлар ишлаб чиқаришни энтобактерин мисолида кўриб чиқамиз.

Энтобактеринни ишлаб чиқариш технологияси хоҳлаган микробиологик ишлаб чиқаришдаги суяқ озиқа ичида ўстириш жараёнида кечадиган барча босқичларни ўзида мужассамлаштиради (32–чизма):

- Экиш материали олиш;
- Озиқа муҳити тайёрлаш ва стериллаш;
- Ҳавони стериллаш;
- Ферментация;
- Культурал суяқликни қуюқлаштириш;
- Препаратни қуриштириш ва қадоқлаш.

Экиш материалини олиш. Энтобактерин ишлаб чиқариш учун дастлабки культура *Bacillus thuringiensis* ҳисобланади. Ишлаб чиқаришга тадбиқ этилган штамм завод лабораториясида унинг софлиги, маҳсулдорлиги, культурал суяқликда вирулентлиги ва фаг сақлаш каби хусусиятлари назорат қилинади. Экиш материали олиш учун туби айлана бўлган 3л сиғимли колбаларда культура ўстирилади. Ўстириб бўлингандан сўнг экиш материали 1 мл да 1,7 млрд. спора сақлаши лозим.

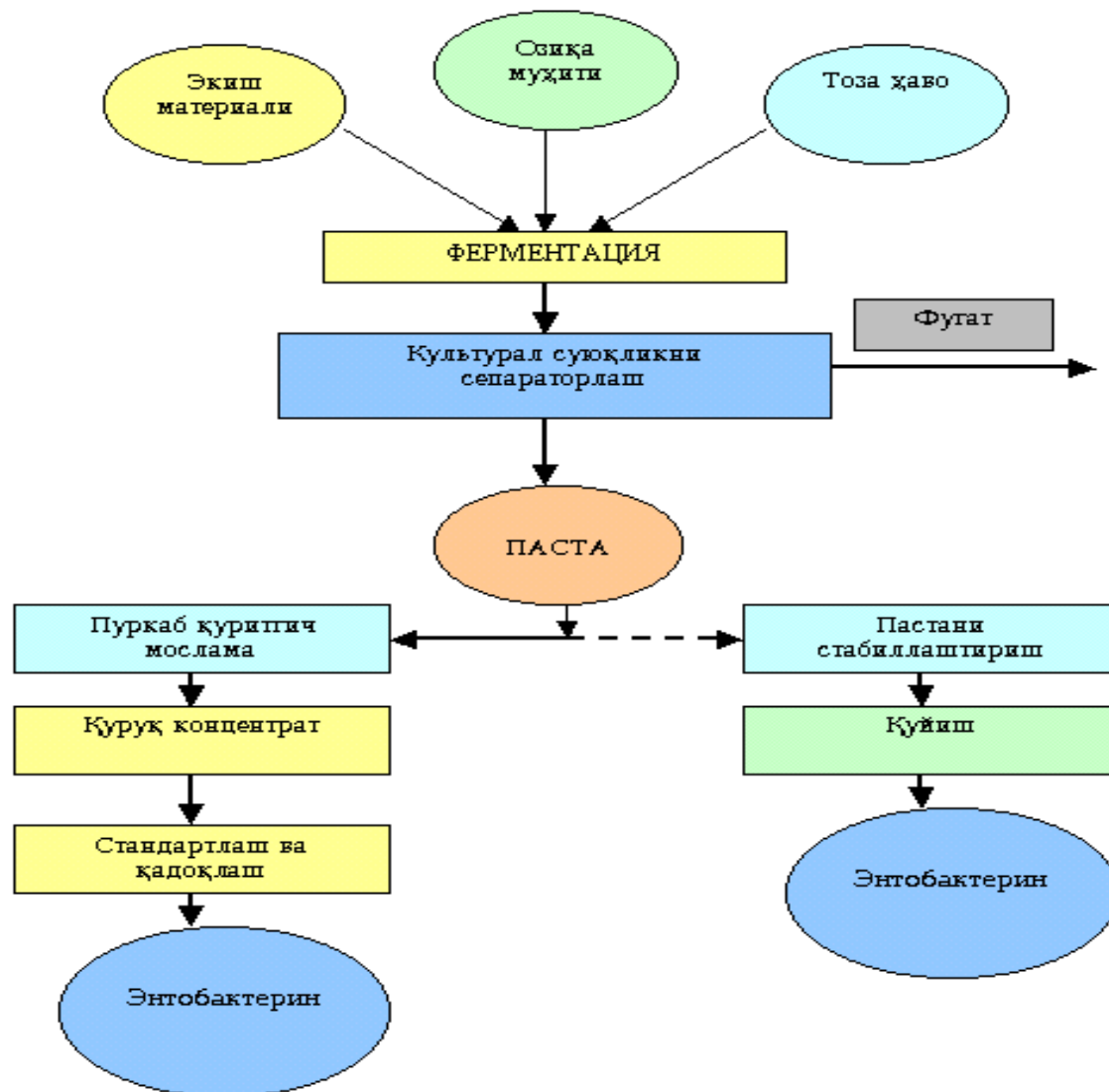
Барча босқичларда ачитқи полисахаридли озиқа муҳити қуйидаги таркибда қўлланилади (%):

- *Озиқа ачитқиси* – 2–3;
- *Маккажўхори уни* – 1–1,5;
- *Кашалот ёғи* – 1.

Озиқа муҳитини тайёрлаш ва стерилизация қилишда одатдаги усуллардан фойдаланиш мумкин. Колбаларда олинган экиш материали экиш ускунасидаги озиқа муҳити ҳажмига нисбатан 0,05% миқдорида экилади. Ушбу ускунада культураларни ўстириш 28–30°C ҳароратда узлуксиз аралаштириш ва аэрацияда олиб борилиши ҳамда ускуна босими 0,14 – 0,15 Мпа бўлиши лозим.

Ўстириш давомийлиги 35–40 соатни ташкил этади. Экиш материали ишлаб чиқариш ферментёрига берилиш олдида унда ёт микрофлора ёки фаглар мавжудлиги қатъий равишда текширишдан ўтказилади.

Ферментация. Ферментаторга солинган экиш материали экиш ускунасидаги технологик жараёнлар асосида ўстирилади.



32-чизма. Энтобактерин ишлаб чиқариш технологиясининг чизмаси

Ўстириш жараёни 35–40 соат давом эттирилади. Ўстириш жараёни культурал суюқликда эркин спора кристаллар миқдори 5–10% ни ташкил этганда яқунланади. Культурал суюқлик 1 мл да 1 млрд. спора сақлаши лозим.

Культурал суюқликни қуюқлаштириш. Махсус йиғгичларда тўпланган культурал суюқлик сепараторга йўлланади. Сепараторда йиғилган паста 30 минут давомида махсус тўплаш жойида аралаштирилади ва унинг спора сақлаши, вирулентлиги, фаг мавжудлиги ва намлиги текширилади. Одатда 1 м³ культурал суюқлик сепаратордан ўтказилганда 100 кг паста чиқиши лозим. Пастанинг намлиги 85% бўлиб, тахминан 1 граммида 20 млрд. споралар титрини сақлаши керак.

Қуритиш ва энтобактеринни тайёр маҳсулот шаклида олиш. Паста мувофиқ назоратлардан ўтказилгандан сўнг пуркаб қуритиш мосламасига йўналтирилади. Қуритишдан сўнг препаратнинг намлиги 10% дан ошмаслиги лозим. 1 м³ культурал суюқликдан 12–13 кг қуруқ препарат чиқади. Препарат 1 граммида 100–150 млрд. споралар титрини сақлайди. Уни стандартлаш учун қўшимча сифатида каолин қўшилади ва полиэтиленли алмаштириладиган тегишли кўрсатмалар кўрсатилган этикеткалар ёпиштирилган тўрт қатламли крафт–қопчаларига 20 кг дан жойланади. Эндобактерин ишлаб-чиқариш технологияси 29-чизмада кўрсатилган.

Тайёр энтобактерин препарати 1 граммида 30 млрд. дан кам бўлмаган споралар титри ва шунча миқдорда кристаллар сақлайди. Ушбу препарат боғ, томорқа ва иссиқхонада учрайдиган 60 дан ортиқ зараркунанда хашаротлар турларига қарши самарали ҳисобланади. Зараркунанда билан зарарланган ўсимликка энтобактерин препарати сувли суспензия кўринишида 0,5–1% миқдорида зараркунанданинг фаол озикланиши олдида пуркаб сепилади. Хашаротларнинг асосий қисми 2–10 кунлари нобуд бўлади. Энтобактерин препарати ҳозирда паста кўринишида ҳам ишлаб чиқарилмоқда. Бу ҳолда ишлаб чиқариш қуруқ препаратга нисбатан бир қадар арзон ва қулайдир. Культурал суюқликдан олинган паста, унга аниқланган миқдорда стабилизатор–карбоксиметилцеллюлоза (КЦМ) қўшиладиган махсус идишга йўналтирилади.

КМЦ молекулалари спора ва оксилли кристалларни сорбция қилади ва бунинг натижасида уларнинг бир-бири билан маълум нисбатда жойлашиши ва тарқалишини таъминлайди. Стабилизатор қўшиладиган вақтда пастага узоқ вақт сақланишини таъминлаб берадиган турли хил консервантлар ҳам қўшилади.

Фаголизисга қарши курашиш. Энтобактерин ишлаб чиқариш технологиясида асосий қийинчилик, бошқа энтомопатоген препаратлар ишлаб чиқаришдаги каби фаголизисга қарши курашишда пайдо бўлади. Фаг– бу бактерияни нобуд қилувчи вирусдир. Унинг таъсир этиш механизми хўжайин–бактерияда ДНК синтезини тўхтатади ва натижада

бактерия нобуд бўлади. Фаг ривожланишини чегаралаб ташлаш хусусиятига эга бўлган турли хил бирикмалар – антифаг факторларини қўшиш фаголизисга қарши курашишнинг бир усули ҳисобланади. Бундай бирикмаларни олиш жуда қиммат бўлганлиги учун кенг миқёсда қўлланилмайди. Яна бир усул бу фагга бардошли штаммлардан фойдаланиш ҳисобланади, аммо бунда ҳам кўп меҳнат талаб қиладиган генетик ва селекция ишларини бажариш лозим бўлади.

11.2.ЗАМБУРУҒЛАР АСОСИДА ОЛИНАДИГАН ЭНТОМОПАТОГЕН ПРЕПАРАТЛАР

Замбуруғли энтомопатоген препаратлар зарарли хашаротларда микоз касаллигини туғдириш орқали уларнинг нобуд бўлишига олиб келади.

Энтомопатоген бактериялар ва вирусларга нисбатан замбуруғлар қуйидаги ўзига хос хусусиятларга эга :

- *нобуд бўлиш овқат ҳазм қилиш йўллари орқали эмас, балки бевосита кутикула орқали руй беради;*
- *хашаротлар ўзининг гумбой ва имаго ривожланиши фазасида нобуд бўладиги, бу бошқа микроорганизмлар билан бўладиган ўзаро муносабатларда кузатилмайди;*
- *замбуруғлар нисбатан тез ўсиши ва жуда катта репродуктив қобилиятига эгаллиги билан характерланади, энтомопатоген фаоллигини пасайтирмасдан спора ҳолатида узоқ вақтгача табиатда сақланиши мумкин;*
- *айрим хашаротлар турларини нобуд қилишда юқори даражада специфик бўлиб, бинобарин уларнинг вирулентлиги сезиларли даражада ишлатиладиган замбуруғларни штаммига боглиқ бўлади.*

Замбуруғли препаратнинг ҳашаротга таъсири спораларнинг тана бўшлиғига тери орқали киришидан бошланади. Ҳашарот танасига тушган замбуруғ спораси ўсиб гифага айланади, кейин мицелийга, қайсики улардан гифали таначалар энтомопатоген замбуруғларнинг инфекцияли бирлигини ташкил қилувчи конидиялар ажралиб чиқади.

Конидиялар ўсиб чиққандан кейин то хашаротлар нобуд бўлишигача бўладиган оралиқ вақт хашаротлар катта-кичиклигига қараб 2–8 суткагача давом этиши мумкин.

Beauveria авлодига мансуб замбуруғлардан препаратлар олиш уларнинг *B.bassiana vuill* (60 дан ортиқ турдаги хашаротларни нобуд қилади) ва *B.tenella Del.* (10 дан ортиқ турдаги хашаротларни нобуд қилади) турлари асосида саноат миқёсида препаратларни ишлаб чиқаришга асосланган.

Ҳозирги пайтда *B.bassiana(Bals).Vuill.* ни гафолицети конидиоспорасини ташкил қилувчи замбуруғли энтомопатоген препарат-боверин ишлаб чиқариш кенг йўлга қўйилган.

Тайёр ҳолдаги бу препарат оқ ёки кремсимон кўринишидаги кукун

бўлиб, 1 гр. препаратда 1,5 дан 6 млрд. гача конидиоспоралар мавжуд. Споралар билан бир қаторда боверин фаоллиги замбуруғда синтез қилинадиган токсин- боверицин билан ҳам белгиланади. Бу препаратни қўллаш дехқончиликда қўлланиладиган кимёвий препаратларни 90% гача қискартиришга имкон беради. Шу билан бирга препарат инсонлар, иссиқ қонли ҳайвонлар учун зарарсиздир.

Боверинни саноат асосида олиш учун ишлаб чиқариш штаммини ҳам суяқ озиқада, ҳам қаттиқ озиқа муҳитида ўстириш мумкин.

Конидиоспоралар ишлаб чиқаришда технологик-иқтисодий кўрсаткичлар суяқ озиқада ўстириш билан қаттиқ озиқа юзасида ўстириш усулларида деярли ўхшаш бўлади.

Бирок, конидиоспораларни суяқ озиқа фазасида ўстириш орқали олиш оддий иш эмас, бунинг ўзига хос техник ноқулайликлари мавжуд.

B.bassiana Vuill замбуруғини суяқлик усули орқали ўстирилганда улар вегетатив кўпайиб, ҳаво конидиоспоралардан фарқ қилувчи гонидия (бластоспора, цилиндраспора) деб номланувчи гифали тана ҳосил қилади.

Ҳашоратларга таъсири юзасидан гонидиялар, конидиялардан қолишмайди, аммо ишлаб чиқариш шароитида гонидиялар асосида юқори фаолликка эга препаратлар олиш имкони йўқ, чунки улар конидийларга нисбатан қуритиш босқичидаги юқори ҳароратга ўта даражада сезгир ва чидамсиздир. Анъанавий юқори ҳароратда пуркаб қуритгич мосламаларда боверин ишлаб чиқаришда препаратлар қуритилганда 90% гонидиоспора ва 20–50% конидиоспора нобуд бўлади. Шунинг учун қуритилгандан сўнг споралар яшовчанлиги ва уларнинг вирулентлигига кўра боверин ишлаб чиқаришда эътибор конидиоспора миқдорини максимал даражада олишга йўналтирилган.

B.bassiana Vuill замбуруғини суяқ озиқада ўстириш орқали конидиоспора олиш муаммоси озиқа муҳити ва ферментация шароитини танлаш муаммоси ҳал қилинганда ечилди.

11.2.1. Суяқ озиқада ўстириш усули орқали боверин ишлаб-чиқариш технологияси

Бу усулда боверин олиш қатъий асептик шароитда олиб борилади. Бунда энг асосий ва зарур босқичлардан бири бу экиш материалини олиш технологиясини танлаш ҳисобланади.

Агарли косякларда Сабур ёки пиво суслоси озиқа муҳитларида сақланаётган табиий штамм дастлаб колбаларда 25–28⁰С ҳароратда 3–4 кун мобайнида суяқ озиқа муҳитида аралаштиргичда ўстириб олинади. Олинган конидиоспоралар лиофилизация усулида қуритилади. Бундай экиш материалини 1 йилгача ўзининг яшовчанлиги ва вирулентлигини йўқотмасдан сақлаш мумкин.

Ферментёрга озиқа муҳитига экиш материалини экиш икки босқичда: дастлаб культураларни колбаларда ўстириб олиш, кейин инокуляторда ёки

тўғридан тўғри инокуляторда ўстириш. Орқали олиб борилади Асосий ускунада экилганда экиш материали озиқа муҳитининг 2–10% нисбатда ҳажмни ташкил этиши талаб этилади. Саноат асосида ўстиришнинг барча босқичларида бир хил озиқа муҳити, таркиби ва ҳарорат турли хил штаммларга мувофиқ равишда қўлланилади.

Озиқа муҳити таркибида одатда: (%) лизирланмаган озиқа ачитқиси—2; крахмалл—1; натрий хлор—0,2; марганец хлор—0,001; кальций хлор —0,005 миқдорда бўлади.

Озиқа муҳитига барча компонентлар солингандан сўнг, озиқа муҳити рН кўрсаткичи 4,5–5,6 гача бўлиши кузатилади. Спорали экиш материални ўстириш 25–28⁰С ҳароратда 25–28 соат мобайнида олиб борилади. Ўстиришнинг давоми шу ҳароратда асосий ферментёрда 3–4 кун олиб борилади. Замбуруғларни экиш мосламасида ва ишлаб чиқариш ферментёрларида ўстириш доимий аралаштириш ва доимий бир хил аэрация шароитида олиб борилади. Бунга сабаб фойдаланилаётган штаммга боғлиқ ҳолда ҳаво ўзлаштирилиши кескин ўзгариб туради: бир минутда озиқа муҳити 1 ҳажмдан 2,5 ҳажмгача ўзгариши мумкин.

Асосий мосламада ишлаб чиқаришда озиқа муҳити аминли азот сақлаши катта таъсир кўрсатади, унинг етишмаслиги культуранинг ўсиш тезлигини кескин секинлаштиради ва конидиоспоралар ҳосил бўлиш фоизини пасайтириб, гонидий ҳосил бўлишини кескин ошириш қобилиятига эга. Озиқа муҳитида аминли азотнинг мўътадил миқдори 10–15 мг фоиз ҳисобланади.

Суюқликда замбуруғни ўстиришнинг биринчи 1–1,5 суткаси давомида озиқа ачитқиси тўлиқ лизис бўлади, замбуруғ эса бу вақтда ўзининг барча ўсиш фазаларини босиб ўтган бўлади (мицелиалли, гонидиалли, конидиалли). Озиқада оксил маҳсулотлари сақланиши конидий ҳосил бўлишининг бир қадар яхшиланишини таъминлайди. Замбуруғни тўлиқ вояга етиши якунланганда мицелий лизиси ва конидий тўпланиши таъминлашга олиб келадиган максимал даражада ферментлар ажратади.

Културал суюқликда конидиоспоралар ҳосил бўлиши продуцент-штамм табиати ва уни ўстириш шароитига боғлиқ ҳолда 1 мл да 0,3 дан 1,3 млрд. гача ўзгариб туриши мумкин.

Бунда бу культура 90–92% конидиоспора, 3–5% миқдорда гонидий ҳосил қилади, мицеллий тўлиқ бўлмайди. Тайёр културал суюқлик сепарация ёки фильтрация усулида чўктирилади.

Филтрлангандан кейин 70–80% намликдаги, 6–8 млрд. спора титри бўлган паста олинади ва у юқори ҳароратда пуркаб, қуритиш мосламасига ўтказилади. Қуритилган споралар кичик заррачасимон кукун кўринишда 10% намликда бўлиб 1 грамда 8×10^9 гача хужайра титри сақлайди.

Олинган кукуннинг ЛК₅₀ кўрсаткичи аниқлангандан сўнг (летал миқдори, тест-ҳашоратни 50% нобуд қилиши зарур) мувофиқ равишда

каолинда стандартланади. Тайёр препаратга баъзан қўшимчалар ёпишувчи хусусият беради.

11.2.2. Юза қисмда ўстириш усули орқали боверин ишлаб-чиқариш технологияси

Боверин ишлаб-чиқаришнинг яна бир усули замбуруғнинг спорали қатламини юза қисмга экиш орқали олинадиган технологияга асосланади. Бу бир қадар узоқ вақт ва кўп меҳнат талаб қилади, шунинг учун ундан фойдаланиш чегаралангандир.

Қуйида биз бу усулнинг ишлаб чиқариш ва кичик ишлаб чиқаришдаги баъзи бир асосий кўрсаткичлари билан танишиб чиқамиз.

Замбуруғни юза қисмга экиш ҳам суюқ ва ярим суюқ озиқага экишдагидек амалга оширилади, бу озиқа муҳитида замбуруғ жуда яхши ўсиш тезлигини намоён этади. Уни микробиологик ишлаб чиқариш спорали қатлам олинган босқичида якунланиб, кейин ажратилади, қуритилади, майдаланади ва мувофиқ микдордаги қўшимчалар билан стандартланади.

Боверинни ишлаб чиқаришда юза қисмига экиш усуллари бир-биридан фарқ қилади:

- *Замбуруғни стерилизация қилинмаган суюқ озиқа муҳитга экилади, аралаштирилади ва аэрация ҳосил қилинади;*
- *Стерилизацияланган қаттиқ ва суюқ озиқа муҳитига экилади, аралаштирилмайди ва мажбурий аэрацияланади;*
- *Аралаш усулларда замбуруғ қатлами ўстирилади.*

Биринчи икки усул асосида ўстирилганда замбуруғ қишлоқ хўжалик қолдиқ маҳсулотлари турли хил ўсимлик субстратларида жуда яхши ўсади.

Замбуруғ ривожланиши учун мўътадил ҳарорат 18–28°C атрофида бўлиб, жанубий туманларда замбуруғни мавсумий ўстиришда об-ҳаво ҳароратига мос равишда амалга оширилади.

Замбуруғни стерилизация қилинмаган суюқ озиқа муҳитида, аралаштирмасдан ва мажбурий аэрация ҳолатда ўстиришда озиқа муҳити стерилизацияланмасдан, оддийгина қайнаш даражасигача қиздирилади ва ёғоч каркасларга (идиш) қуйилиб устига юпқа полиэтилен плёнка ёпилади. Озиқа 35–40°C гача совутилади ва қуруқ споралар экилади. Каркасларнинг усти полиэтилен клёнка билан ёпилади ва замбуруғ экилган спорали қатлам ҳосил бўлгандан сўнг у ажратиб олинади.

Озиқа муҳити сифатида барча қайнатмалардан, масалан қанд лавлаги, картошка, ошқовоқ ва ғалла ундан фойдаланиш мумкин.

Замбуруғни стерилланган қаттиқ ва суюқ озиқа муҳитида аралаштирмасдан ва мажбурий аэрацияда, стерилизацияда, озиқа муҳити алоҳида стерилизация қилинади, қаттиқ- сусло - агар, картошка, сабзи, маккажўхори, тарвуз пўстлоғи, баъзан буғдой дони ва маккажўхори 40

минут давомида 112⁰С да, шакар сақловчи 7 % гача, қанд сақловчи суюқ сусло 20 минут давомида 110⁰С да ҳароратда стерилизация қилинади.

Стерил субстратга куруқ споралар ёки уларни суспензияси экиладиган материал бир хил ҳолатда тарқатилади ва 18–23⁰С ҳароратда сақланади.

Қаттиқ субстратда конидиоспоралар ҳосил бўлиши 12–15 кун охирларида тугалланади.

Замбуруғ культуралари субстрат қолдиғи билан бирга стеллажларда 25–28⁰С ҳароратда қуригилади. Олинган тайёр препарат кукун ҳолига келгунча майдаланади. Суюқ субстратларда 7–10 суткадан кейин спора ҳосил кўзатилади, 18–25 суткада эса ҳосил бўлган спорали юпқа қатлам ажратилади. Уни шишада қуригилади, ажратилади, майдаланади ва торф ёки тальк билан аралаштирилади.

Бу ҳар иккала усулни ҳам маҳаллийлаштириш мумкин. Бундай ишлаб чиқариш цехларида 1 ойда 1 граммида $1,5 \times 10^9$ спора бўлган 750–800 кг препарат тайёрлаш мумкин.

Ишлаб чиқаришга қулай бўлган усул замбуруғ қатламини комбинирланган усулда ўстириш ҳисобланади. У қуйидагиларни ўзига бирлаштиради:

- *галлада оналик культурасини олиш;*
- *колбаларда 12–17 соат давомида суюқ озиқа муҳитида инокулятни ўстириш;*
- *Ферментёрларда аралаштириб, мажбурий аэрацияда 22–28 соат давомида ўстириш ва вегетатив культураларни тўплаш;*
- *кюветаларга культурал суюқликларни қўйиш ва спорали қатламда ҳосил қилиб ўстириш;*
- *спорали қатламини қуриштириш ва миқдорлаш;*
- *препаратни каолин билан стандартлаш.*

Замбуруғни ўстириш учун таркибида: (%) меласса–6; маккажўхори экстракти–1%; $MgSO_4$ –0,05%; K_3PO_4 –0,2 сақловчи озиқа муҳитидан фойдаланилади.

Ўстириш 24–26⁰С да олиб борилади. Гонидий титри инокулят босқичида 1 мл экиш мтериалида 0,5–2 млн.ни ташкил этади.

Инокулянт миқдори ферментёрларга экилаётганда озиқа муҳити ҳажмининг 2-4 % ини ташкил этиши зарур.

Тайёр культурал суюқликнинг 1 млда 50–100 мл хужайра титри бўлади. Қатламда ўстириш учун кюветалар вертикал камералардан ташкил топган бўлади (ҳар бири 35–70 донадан). 25–26⁰С ўстирилади 16–18 соатдан кейин юпқа қават ҳосил бўлиши кўзатилади, 3-4 суткадан кейин спора ҳосил бўлиши, 4-5 суткадан сўнг тўлиқ конидий ҳосил бўлиши бошланади.

Бу даврда қатлам ажратилади ва куруқ кюветкага жойлаштирилиб, қопқоғи ёпилади ва 2-3 кун миқдорлаш учун қолдирилади. Шундан кейин улар ажратилади ва 28⁰С ҳароратда қуригилади.

Қуритилган спора қатлами полиэтилен қопчаларга жойланиб, 18–20°C ҳароратда қуруқ жойларда сақланади.

Боверин тайёрланишидан аввал тайёр спорали материал шарсимон идишда майдаланилади ва қатор элаклардан ўтказилади. Тайёр материалнинг титри аниқланади ва 15-20 минут давомида зарур каолин миқдори билан аралаштирилади. Тайёр препаратнинг 1 граммида 1,5 млрд. дан кам бўлмаган конидиоспоралар бўлади.

Барча амалга оширилган босқичлар 11–12 кунни эгаллайди, шундан инокулят олиш учун—1 кун; ферментёрда ўстириш -1–1,5; шкафларда ушлаш—5; қатламни дозалаш—2; қатламни қуритиш 2–3 кунни ташкил этади. Боверин қайрағоч барг кемирувчи зараркунандалари, шунингдек олма, шарқий мевахўр ва ўрмон зараркунандаларига қарши қўлланилади.

Боверинни картошка ўсимлигидаги колорадо қўнғизига қарши қўллаш самарали фойда беради. Препаратга кимёвий инсектицидлар қўшиб қўллаш 100% барча ёшдаги личинкаларни 100% гача nobуд қилади. Бовериннинг сарф меъёри 1 гектарга 1–2 кг бўлади. Ўсимликларга препарат пуркаш орқали сепилади. Кимёвий препаратлар билан аралаштириш, препаратни қўллашдан 2 соат олдин амалга оширилади.

11.3.ВИРУСЛИ ЭНТОМОПАТОГЕН ПРЕПАРАТЛАР

Ҳамма энтомопатоген препаратлар ичида вирусли препаратлар хўжайин хашаротга нисбатан ўзининг ўта спецификлиги билан характерланади. Улар одатда бир турдаги хашаротларгагина таъсир кўрсатади. Уларнинг бу яққол тор доирадаги таъсирининг ўзи бу препаратларнинг инсон, флора ва фауна учун безарарлигини кўрсатади.

Вируслар ўзларининг ноқулай ташқи таъсирларига (ҳарорат, намлик) ўта чидамли бўлиб, улар хашаротлардан ташқи ҳолатда ҳам 10–15 йилгача ўз таъсир кучини йўқотмайди.

Ҳашоратнинг вируслар билан касалланиши уларнинг овқатланиши орқали юз беради. Хашарот ичакларига тушган вирусли танача ишқорли рН да парчаланишни бошлайди. Эркинликка чиққан вирионлар ичак деворлари орқали хужайраларга ўтиб, ядроларда вируслар репликацияси руй беради. Бўш вируслар бошқа хужайраларни ҳам зарарлай бошлайди ва оқибатда хашаротлар личинкаларининг nobуд бўлишига олиб келади.

Вирусларнинг фарқланувчи белгилари шуки, улар фақатгина тирик тўқималардагини кўпая олади. Бу эса ўз навбатида саноат миқёсида вирусли энтомопатоген препаратларни ишлаб чиқаришда бир мунча қийинчиликлар туғдиради, чунки вирусларни кўпайтириш технологияси жараёнида фақатгина тирик хўжайин-хашаротлардан фойдаланиши талаб этилади.

Ҳозирги пайтда 3 хил вирусли энтомопатоген препаратларни ишлаб чиқариш йўлга қўйилган: вирин-ЭКС(карам қуртига қарши), ЭНШ (ток ичак қурти касалига қарши), АББ (амерака оқ капалагига қарши). Ҳар

қандай вирусли препаратни ишлаб чиқариш хўжайин-хашаротни уларнинг физиологик соғломлигини таъминловчи сунъий озиқа муҳитида ўстиришдан бошланади. Маълум бир ривожланиш фазасида (одатда қўнғиз даврида) хашаротлар овқатига вирусли суспензия қўшиш йўли билан улар зарарлантирилади. Бунинг учун инокулят олдиндан бир қанча касалланган личинкалардан олиб тайёрланади.

Хашаротлар зарарлангандан сўнг унинг тўқимасида максимал вируслар тўпланишини таъминловчи қатъий аниқ шароитда сақланади. 7–9 кундан кейин нобуд бўлган ва чалажон личинкалар йиғилади, 33–35°C да улар қуритилади, механик усулда тўқималар йиғиндиси - тана майдаланади. Олинган массага физиологик эритма ёки дистилланган сув 1 қўнғизга 1 мл ҳисобида қўйилади, майдаланиб суюлтирилган тўқима филтрланади. Ишлаб чиқариш препарати вирин-ЭКС полиэдралари филтратни центрифуга усулида чўктириб олинади. Чўкма минимал миқдорда дистилланган сувда суюлтирилади ва 1 мл дан 1 млрд. гача полиэдрлар титри бўлгунча стерилланган глицерин қўйилади.

Тайёр препарат флаконларга бир ёки бир неча гектарга етарли миқдордаги меъёردа жойланади. Ушбу технология инокулят сарфи билан таққосланганда полиэдрлар миқдорини 5-10 минг марта ошириш имкониятини беради. Битта қўнғизда ўртача 36 млрд.гача полиэдрлар унинг қуруқмас оғирлигининг 30% ини ташкил этувчи 36 млрд.гача полиэдрлар олиш имконияти мавжуд.

Ишлаб чиқаришда вирин-ЭНШ препарати филтратига лактоза қўйилади аралаштирилгандан сўнг суспензия ҳажмининг 4:1 нисбатида ацетон қўйилади. Тиндирилгандан сўнг устки қисм суюқлиги тўкилади чўкма эса ацетон тўлиқ учиб кетгунча қуритилади. Тайёр препарат формасини тайёрлашда қуруқ чўкма қўшимчалар - каолин ёки бентонитга 1 граммлари 1 млрд. полиэдрлар титрини олишгача аралаштирилади.

Препаратнинг ёғли формаси чўкмани дастлаб стерил 50% ли глицерин эритмасида 1 мл да полиэдрлар титри 2 млрд. - бўлгунча деспиргирлаш йўли билан тайёрланади, кейин стерил ҳолда соляр мойи ҳажми миқдорида қўйилади, аралаштирилади ва флаконларга қўйилади.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ:

Энтомопатоген препаратларга қўйиладиган талаблар нималардан иборат?

Бактериал энтомопатоген препаратлар ишлаб чиқариш тарихи ҳақида нималарни биласиз?

Bacillus thuringiensis энтомопатоген бактерияси ҳақида маълумот беринг?

Бактериал энтомопатоген препаратлар таъсир механизми қандай кечади?

Энтобактерин ишлаб чиқариш технологияси қандай босқичлардан

иборат?

Энтобактерин препарати олишда қандай продуцент ва озиқа муҳитидан фойдаланилади?

Замбуруғли энтомопатоген препаратларнинг афзалликлари нималардан иборат?

Замбуруғли препаратларнинг асосини қандай продуцентлар ташкил этади?

Замбуруғли препаратлар таъсир механизми ҳақида маълумот беринг?

Суюқ озиқа муҳитида ўстириш орқали боверин олиш технологияси ҳақида маълумот беринг?

Замбуруғларни озиқа муҳити сиртида ва озиқа муҳити ичида ўстиришнинг бир биридан афзаллик ва ноқулай томонлари ҳақида нималарни биласиз?

Вирусли энтомопатоген препаратларнинг таъсир механизми ҳақида маълумот беринг.

Вирусли препарат продуцентларини ўстириш қандай амалга оширилади?

Вирусли препаратни тайёрлаш жараёни ҳақида маълумот беринг.

АДАБИЁТЛАР

1. Костина Л. Изучение особенностей структурной организации дельта-эндотоксинов *Bacillus thuringiensis* подвидов *galleriae* и *israelensis*// Автореф. Канд. Диссер. М., 1989. 18с.
2. Орешкин К.Н. Технология средств защиты растений. М.: Технологический ин-т пищевой промышленности. 1989. 245с.
3. Тромфименков В.Н., Ореовский В.И., Дубинина Т.П., Расницын А.С. Физиологические, биохимические и инсектицидные свойства *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*// биотехнология, 1990 №1 с21-25.
4. Хужамшукуров Н.А. Создание инсектицидного биопрепарата на основе мутантных штаммов энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* против колородского жука (*Leptinotarsa deselineata* say L) Авт. канд. дисс. Ташкент. 2002г. 22с.
5. Кандыбин Н.В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика. М.: Агропромиздат, 1989, 172с.

12. ЧОРВАЧИЛИКДА БИОТЕХНОЛОГИЯ

12.1. ҚИШЛОҚ ХЎЖАЛИК ҲАЙВОНЛАРИНИНГ КЎПАЙИШИНИ БИОТЕХНОЛОГИК НАЗОРАТ ҚИЛИШ

12.1.1. Ҳайвонларнинг кўпайишини эндокрин назорати

Қишлоқ хўжалик ҳайвонларини кўпайиш биологиясини ўрганиш, айниқса эндокринологияда охириги 30-35 йил мобайнида эришилган муваффақиятлар бу жараёнини биотехнологик усуллар ёрдамида бошқариш имкониятларини яратди.

Ўтган асрни биринчи ярмида ҳайвонларнинг кўпайиш физиологиясини ўрганишда эришилган энг катта муваффақият гипофиз безини олдинги қисмини вазифаларини аниқланиши бўлди, десак хато бўлмайди. Бу соҳани ўрганиш натижасида яратилган бир қатор янгиликлар гипофиз безининг олдинги қисмида организмда ўтадиган қарор биологик жараёнлар тўғридан-тўғри ёки унинг бошқа органларга таъсири орқали бошқариб турилишини исботлаб берди. Бугунги кунда жинсий безларни ривожланиши ва уларни функцияси гипофиз безини олдинги қисмида синтез бўладиган гонадостимуляторли хусусиятига эга бўлган гормонлар (туркум хужайраларини секрециясини бошқариб турувчи гормонлар) билан боғлиқ эканлиги тасдиқланган.

Сут эмизувчиларни гипофизини олдинги қисмида жинсий безларни фаолиятини бошқариб турадиган 3 та гормон ишлаб чиқарилади. Булар: фолликулаларни муътадиллаштирувчи гормон (ФМС), лютеинлаштирувчи гормон (ЛГ) ва пролактин ёки лютеинотроп гормон (ЛГТ), бу гормонни фақатгина кемирувчи ҳайвонлардагина лютеинотроп (етилган тухум хужайрасини тухум фоликуласидан чиқишини чақирилиши) таъсир кўрсатиши аниқланган.

Уруғлангандан кейинги дастлабки 6-8 кунда сигирларни қонида ЛГ миқдори унча юқори бўлмайди. Кейин бу кўрсаткич доимий равишда кўтарилиб боради. Бу жараён ЛГ ни гипофизда ошиб бориши билан параллел равишда содир бўлади. Аммо бу гармонни тўпланиш тезлиги гипофизда сигир қонидаги миқдорга нисбатан баландроқ бўлади. Гипофизда ЛГ ни тезроқ тўпланиши, ёки уни миқдорини гипофизда ошиб бориши энг аввало организмнинг биологик талабидан келиб чиқиб, етилган тухум хужайраларини чиқиши билан боғлиқ. Демак етилган яъни уруғланган тухум хужайрани тухум фолликуласидан чиқиши олдида гипофиздаги ЛГ миқдори максимумга кўтарилади. Гипофиздан ажраладиган иккинчи-гонадотроп гормон ФМГ ни миқдори ҳам фолликуллари етилиши билан бир вақтда содир бўлади.

7-10 кунларда ЛГ ни секрецияси (ажралиши) 60-80 минутда қайтариладиган пульсесимон шаклга ўтиб, буғоз бўлган сигирларда тухум

хужайраларини чиқиш олдидаги ҳолатга, бўғоз бўлмаганларида эса унчалик кўп бўлмаган даражада кўтарилиш сезилади.

Илмий адабиётларда, барча ҳайвонларда қўшиладиган кунда, баъзиларида эса бу кундан аввалроқ ҳам ЛГ миқдорини ошиши кузатилгани ҳақида баён этилган.

Қўйларнинг қонларида ЛГ гормонини чиқиш ҳалқаси қўшилишдан кейинги дастлабки 12-16 соатда бошланиб, 8-10 соат давом этади. Бу даврда унинг миқдори дастлабки миқдордан 30-50 маротаба ошади. Тухум хужайраларини чиқиши ЛГ миқдори энг юқори нуқтага чиққандан сўнг 21-26 соатлар орасида содир бўлади.

Ўтган асрнинг иккинчи ярмида гипофизни гонадотропик (жинсий гормонларни секрециясини бошқариб туриш хусусияти) хусусиятини (вазифасини) назорат қилиб турувчи, гонадотропик-ризлинг (ГН-РГ) гормони очилди. Гипофизнинг бу хусусияти қуйдагича амалга оширилади: гипоталамуснинг нерв толалари охиридан нейрогормонал моддалар ажралиб, гипофизар оёқчалар орқали гипофизнинг олдинги қисмидаги сиусларга узарилади ва шу туфайли гипофизар хужайраларни секреция қилиш фаолиятига таъсир кўрсатади. Нейросекретор хужайралар ҳам нерв ҳам эндокрин фаолиятга эга бўлганликлари туфайли гипоталамусда бошланғич нерв импульсларини эфферент занжирларни гумарал қисмига томон бошқариб юборилади.

Бугунги кунда ГН-РГ ўнта аминокислотадан ташкил топган декапептид эканлиги ва барча ҳайвонларда бир хил эканлиги аниқланган. ГН-РГ нинг мураккаб бўлмаган структуравий тузулишга эга булиши ва уни барча ҳайвонларда бир хил бўлиши тез орада уни кимёвий синтез йўли билан олишга имкон яратди. Россияда сурфагон номи билан ГН-РГ ишлаб чиқарилади ва у ҳайвонларда тухум хужайраларни ажралишини бошқариш мақсадида ишлатилади.

XX асрда яратилган улкан илмий ишламалардан яна бири – простагландин F-2 а лютеолитик факторнинг очилишидир. Кўпгина олимлар томонидан ҳайвонлар бачадонини олиб ташлангандан кейин ҳам узоқ вақт давомида сариқ тана (жёлтое тело) сақланиб қолиши кузатилган. Бу эса бачадонда литик факторлар фаолият кўрсатиб туришларидан гувоҳлик беради.

Лютеолизин тухумдон венасидан, унга яқин ўтган тухумдон артериясига қайтарма ток механизми бўйича ўтиши ва артериал қон орқали тўғридан – тўғри тухумдонга тушиши аниқланган.

Сигирлар, чўчқалар ва қўйлар бачадонидан простогландин F- 2а тўлқинсимон шаклда чиқарилиб турилади. Бу тўлқинни ҳар бири бир неча соат давом этади. Сариқ тананинг тазазули (регрессияси), одатда простогландин F- 2а ажралиш бошлангандан сўнг 2 сутка ўтганда бошланади, қўшилишга талаб эса сариқ тана таназзулидан 24-48 соат ўтгач намоён бўлади.

12.1.2. Ҳайвонларнинг жинсий давр (ҳалқа) ини бошқариш

Бир гуруҳ ҳайвонларни қўшилишга интилиш даврини бошқариш усули - қўшилишни бир-бирига мос равишда олиб боришдир. Бу эса чорвачиликни ривожлантириш учун қатор қулайликлар яратади. Энг аввало сунъий уруғлантириш даврини анчага қисқартиради. Бу эса қўшилишга кетадиган вақтни қисқартиришга, шу туфайли меҳнат ҳақини камайтиришга олиб келади. Бундан ташқари, бу усул тухум ҳужайраларини етилишини аниқ вақтини белгилашга имкон яратади, қўшилишга иштиёқ бўлиш-бўлмаслигига қарамасдан, сунъий уруғлантиришни маълум бир вақтда ўтказиш имконини беради. Оқибатда уруғни эскириб қолишдан асрайди, ҳайвонларни урчитиш билан боғлиқ бўлган сарф-харажатларни иқтисод бўлишига олиб келади.

Ҳайвонларда қўшилишга бўлган иштиёқни уйғотиш ва етилган тухум ҳужайраларни тухумдон фолликуласидан бир-бирига мос равишда чиқаришда икки асосий ёндошиш маълум:

- Биринчиси – *сарик тана фаолиятини тўхтатиш ёки уни бутунлай олиб ташлашга асосланган. Натижада барча гуруҳ ҳайвонлар жинсий даврнинг фолликуляр фазасига бир вақтда кирадилар ва шу туфайли бир вақтда қўшилиш иштиёқига бўладилар. Бу мақсадни амалга ошириш учун юқорида келтириб ўтилган, омил лютеолитик фактор=простагландин $F_{(2\alpha)}$ (ПГФ-2 α) дан кенг фойдаланилади.*
- Иккинчи ёндошиш – *фолликулларни ривожланишини секинлаштиришга асосланган бўлиб, бунда лютеин фаза даврини сарик таналар регрессияси амалга ошмагунча, сунъий равишда чўзиб турилади. Секинлаштирувчи фармакологик препаратни таъсирини тугатиш, фолликулларни ўсиб, ривожланишига олиб келади ва бир вақтни ўзида фолликуляр фаза даврига ва нихоят бир-бирига мос равишда қўшилишга иштиёққа ва ёрилган тухум ҳужайраларни фолликуллардан ажралишига олиб келади. Бунинг учун фармакологик агент сифатида прогестерон ёки унинг синтетик аналогу прогестагендан фойдаланилади. Бу препаратларни қабул қилган барча ҳайвонларда, даврнинг қайси фазасида бўлишларидан қатъий назар бир неча кун орасида қўшилишга интилиш пайдо бўлади.*

Йирик шохли ҳайвонлар. Сунъий урчитиш (уруғлантириш) натижаларига таъсир этадиган яккаю-ягона омил бу қўшилишга интиштиришдир. Қўшилишга интилиш –18-24 кун орасида қайтарилиб туриладиган сигир ёки ғуножинни қисқа жинсий талабидир. Сигир тухум ҳужайраси етилиб, тухумдон фолликулидан ажралиб, тухум (уруғ) ўтказгич воронкага тушганда, у тез ва тўлиқ уруғланади («қочади»). Қочишга интилиш пайдо бўлгандан 10-14 соат ўтгандан кейин, етилган

тухум хужайралари фоликуллардан ажралади ва бу жараён ўртача 18 соат давом этади. Сперматозоидлар тухум хужайралари билан қўшилиш қобилятига эга бўлгунга қадар, бир неча вақт улар сигирни жинсий йўлида бўлиши керак, лигини эътиборга олсак, (бу жараён фан тилида «Капацитация» деб аталади) уруғланиш овуляциядан бир неча соат олдин содир бўлади.

Демак, урчиш сифатли ўтиши учун уруғланиш, қўшилишга интилиш даврининг кейинги 2/3 қисмида амалга ошиши мақсадга мувофиқ бўлади. Бу эса сигирларни қўшилишга интилиш даври бошлангандан кейинги 24 соатни ташкил этади. Қўшилишга ҳоҳиши бўлган сигирлар ёки ғуножинларни ташқи кўриниши ҳам ўзгариб, улар тез ҳаракатчан, буқалардан урчидиган аҳволга тушиб қоладилар.

Уруғланишни оптимал вақтини аниқлаш учун қуйидаги 27-жадвалда келтирилган маълумотлардан фойдаланиш мумкин.

27-жадвал

Сигирларни уруғланиш даври

Қўшилишга интилиш олдидаги давр	Қўшилишга интилиш билан ҳаракатсизланиш рефлекси намоён бўлиш вақти	Фолликулларда етилган тухум хужайраларини ажралаш даври (овуляция)	Тухум хужайра ҳаётининг давом этиш даври	
6-10 соат	18 соат	10-14 соат тухум хужайраларни ажаралиши	6-10 соат	
уруғланиш учун вақтли	уруғланиш мумкин	уруғланиш учун энг яхши вақт	Уруғланиш мумкин	Уруғланиш вақтидан ўтган

Юқорида айтиб ўтилганидек, уруғланишга (қўшилишга) интилиш даврини бир-бирига мос қилишни асосий йўлларида бири сарик тананинг фаолият даврини қисқартиришдир. Бу мақсадда, йирик шохли ҳайвонлар учун простагландин препаратлари ишлатилади.

Жинсий давр ҳалқасини дастлабки кунларида (1-5 кунлар) яъни сарик тана пайдо бўлмаганда простагландинни фойдаси бўлмайди. Агар сарик тана жинсий ҳалқани охирида ўз фаолиятини йўқотса, (18-21 кунлар) бунда ҳам простагландинлардан фойда йўқ.

Агар сигир ёки ғуножинларда сарик тана ҳосил бўлган кунлар (асосан жинсий ҳалқанинг 6-17 кунлари) простагландин юборилса, у сарик таналарни регрессиясини (парчаланишини) чақиради, оқибатда молларда қўшилишга иштиёқ пайдо бўлади ва овуляция дориланганидан кейин 2-5 кун ичида содир бўлади.

Одатда простагландиндан бир ёки икки маротаба фойдаланилади. Простогландинлардан бир мартотаба укол қилинганда, жинсий ҳалқадан 4-5 кун ўтган бўлса, у барча ҳайвонларда қўшилишга интилиш ҳисини ўйғотади. Сигирларда қўшилишга интилиш уколдан кейин 48-72 соат ўтгач, овуляция эса қўшилгандан кейин тахминан 20-24 соат ўтганда содир

бўлади. Шундай қилиб, бир мартотабалик уколдан кейин уруғланиш мумкин, сариқ тана ҳосил бўлган молларни 2-3 кун мобайнида, қўшилишга интилиш бошланганда амалга ошириш мумкин.

Простогландин икки маротаба укол қилинганда, уколлар ораси 11 кунни ташкил этиши керак. Иккинчи уколдан 5 кун ўтгач 90-95 % молларда қўшилишга интилиш пайдо бўлади. Ҳайвонларни, одатда бир маротаба простагландин қабул қилгандан кейин 60-72 соатдан кейин, икки маротаба укол қабул қиладиган бўлса 72 ва 96 соатдан кейин уруғлантириш тавсия этилади. Шунинг ҳам айтиб ўтиш лозимки, иккинчи уколдан кейин 76-80 соат ўтгач, сигирларда қўшилишга хоҳиш уйғонмаган бўлса ҳам уларни уруғлантириш мумкин. Кўпчилик вақтларда, простагландин бир марта укол қилинган сигирларда 32-38 кундан кейин, икки маротаба укол қилинганларида эса 20-26 кундан кейин қўшилишга иштиёқ қайтарилади. Қўшилишга интилишни қайтарилиш даврини режаланиши ва уни қисқа вақт орасида аниқланиши уруғлантиришга кетадиган сарф харажатларни камайишига олиб келади.

Қўшилишга интилишни бир-бирига монан ўтказишга иккинчи ёндошиши, жинсий ҳалқани лютеин фаза (босқич) даврини узайтиришга асосланган бўлиб, бу мақсадда йирик шохли ҳайвонлар учун прогестерон ёки унинг ҳосилалари ишлатилади. Шундай препаратлардан бири Синхромат-Б. Бу препаратдан фойдаланиш қуйидагича амалга оширилади: энг аввало сигирни қулоғи терсининг ташқи томони тагига норгестамет (уни таркибида синтетик прогестаген бўлади) киритилади, (инплантация қилинади)кейин мушак орасига 3 мг норгестамет ва 6мг эстрадиол валериант юборилади. 9 кундан кейин қулоқ териси тагига қўйилган инплантат олиб ташланади. Оқибатда, барча ҳайвонлар 24-36 соат орасида қўшилишга интиладилар.

Инплантат олиб ташлангандан кейин 48-54 соат орасида сигирларда қўшилишга иштиёқ уйғонмаса ҳам уларни уруғлантириш мумкин бўлади.

Қўшилишга иштиёқ уйғонишни яна бир йўли ҳайвонлар жинсий органлари ичига прогестерон шимилтирилган махсус ускурма ўрнатиб қўйишдир. Бу усул Россияда кенг қўлланилади ва ускурмани ПРИД деб номланган. ПРИД ҳайвонга 6 ёки 7 кун қўйиб қўйилади. Қўшилишга интилишни бир-бирига монан қилиб ўтказиш мақсадида, ускурмани олиб ташлашдан 1-2 кун аввал простагландин F-2 а ёки уни аналоглари укол қилинади. ПРИД олиб ташлангандан кейин 3000 М.Е СЖК укол қилинса ҳам яхши натижа кўрсатади.

Сигир ва гуножинларда тана полиовуляцияни кучайтириш мақсадида кўплаб гормонлардан фойдаланиш йўллари ҳам синаб кўрилган. Улардан энг кўп ишлатиладиганлари 2,5-3,0 минг бирликка эга бўлган СЖК дан фойдаланишдир. Маълумки, байталларга юборилган СЖК ни ярим ҳаёт даври 6 кунни ташкил этиб, гистеректомия усули ёрдамида СЖКда 2 та комплекс борлиги аниқланган, улардан бирини ярим ҳаёт ўтиш даври 40,0 – 51,2 соат, иккинчисиники 118,4-129,4 соатдир.

СЖК нинг бу хусусияти ҳайвонларда суперовуляция вақтида бир маротаба юбориш билан чегараланиш имкониятини берсада, узоқ вақт таъсири натижасида тухумдон фаолиятига салбий таъсир кўрсатади. Шуни ҳам эслаб ўтиш лозимки, салбий таъсир нафақат қўшилишга мойиллик давридан аввалроқ, бу даврдан кейин ҳам намоён бўлиши мумкин. Бу эса, организмда жинсий гормонларни нормал меъёрини ўзгаришига айниқса уларни бир-бирларига нисбатини ўзгаришига олиб келади.

СЖКнинг бундай салбий таъсирини олдини олиш ҳамда суперовуляция даврида олинадиган эмбрионларни сонини кўпайтириш ва уларни сифатини яхшилаш мақсадида кейинги вақтларда гонадотропинга қарши антителадан фойдаланиб келинмоқда.

Сигирларни қўшилишга мойиллик даврида, 3000 шартли бирликка СЖК (10 кунда ҳалқаси) ва 37,5 мг простагландин F2a (12 кун), моноклонал антителалар ёки қўйнинг СЖК қарши антителаси юборилганда овуляцияга учрамаган фолликулалар сони камайиб назоратдаги 6,5%дан 1,7 ва 2,7%га тушиб қолади ва уруғланиш назоратдаги 60% ўрнига 80%га кўтарилиб кетганлиги кузатилган. Антизардоб юборилган сигирлар қонида тезда эргостеронлар миқдори кескин камайиб кетиши, ҳамда бу кўрсаткич эмбрионларни ажаратиб олмагунча бир хил туриши, назоратдаги ҳайвонларда эса эрогостеронлар миқдори қўшилишига мойиллик даврида асосий кўрсаткичдан камаймаганлиги ҳамда қўшилишга иштиёқ ўтиши билан яна кўтарилиши кузатилган.

Сигирларда поливуляцияни мутадиллаш мақсадида СЖК дан ташқари гипофиз гонадотропинларидан ҳам фойдаланилади. Бу мақсадда тозаланган ФМГ ёки уни ЛГ билан аралаштириб фойдаланилади. Аммо, бу гормонлар СЖК дан фарқли ўлароқ, 4-5 кун давомида 2 маротаба укол қилинади.

Донор - сигирларга гормонлар юбориш қуйида келтирилган жадвал асосида олиб борилади (28-жадвал).

28-жадвал.

Сигирларга гонадотропинлар юбориш жадвали
(В.Хансел ва Б.А.Хилва, 1985)

Дори юбориш куни	ФМГ		F2a	
	миқдори, мг	Вақти, соатда	миқдори, мг	Вақти, соатда
1	6	7; 18	-	-
2	4	7; 18	-	-
3	2	7; 18	10	7
4	2	7; 18	12	12; 18

Бунда сигирларда қўшилишга интилиш простагландин F2a юборилгандан кейин 40-50 соатдан сўнг бошланади. Уруғлантириш ундан 12-24 соат ўтгандан кейин амалга оширилади. эмбрионлар жарроҳлик ишлатмасдан уруғлангандан кейин 7,0-7,5 кун ўтгач ажратиб олинади.

Гормон қабул қилган ҳайвонлар овуляция даври (вакти) кўпайиши муносабати билан, уларни уруғлантириш технологияси ҳам ўзгаради. Авваллари сигирларга бир неча доза сперма юбориш йўли билан уруғлантириш тавсия этилган эди. Одатда 50 млн. тирик сперматозоид юбориб, қўшилишга мойиллик туғилгандан кейин 12-20 соат ўтгач уруғлантириш қайтарилган. Кўп йиллик илмий назоратлар оқибатида, яхши уруғлантириш учун бир доза сперматозоид ҳам етарли, факат у сигирларда қўшилишга иштиёқ уйғонгандан 24 соат ўтгандан кейин юборилиши лозим.

29-жадвалдан кўриниб турибдики, сигирларга қўшилишга интилиш бошлангандан кейин 24 соат ўтгач бир доза уруғни ишлатганда, уруғланиш даражаси (78.0 ва 90% ўрнига 87.2%) ва кўчириб ўтқазишга ярайдиган эмбрионлар сони (60.6 ва 75.9% ўрнига 65.1%) икки доза уруғни ишлатганда олинган натижалардан унчалик фарқ қилмайди.

29-жадвал

**Уруғланиш даври ва сперманинг дозаси суперовуляцияга учраган
сигирларни уруғланишига таъсири.**

гуруҳ	Қўшилишга мойиллик бошлангандан кейинги давр, соат	Сперманинг дозасини сони	Уруғланган тухум хужайраларни сони, ажратиб олинган тухум хужайралар сонига нисбатан, %да	Кўчириб ўтқазишга ярайдиган эмбрионлар сонини, %да
1	+12	1	26.1	23.0
2	+12	2	78.0	60.6
3	+24	1	87.2	65.1
4	+24	2	90.0	75.7

Юқори сифатли ҳўкизларни спермаларидан фойдаланганда бу кўрсаткичларни иқтисодий самараси катта аҳамиятга эга.

Қўйлар. Қўйларда суперовуляция чақириш мезонлари қорамолларга ўхшайди: СЖК ёки ФСГ жинсий доиранинг лютен босқичини охири кунлари (11-13 кунлар) простогландинлар билан ишлов бериш билан бирга ёки простогландин билан ишлов беришни охирида юборилади. СЖК тирик вазнини ҳар бир килограммига 20-45 ИЕ ёки ҳар бир қўйга 2000 ИЕ ҳисобидан юборилади. Масалан, простогландинни аналогли простенол 100 мкг миқдорида жинсий доиранинг 4-13 кунлари орасида СЖК билан ишлов берилганда кейин 24-72 соат ўтгач юборилади. Қўшилишга иштиёқ простогландин билан ишлов берилгандан кейин 2-4 кун ўтгач бошланади. Простогландин бир маротаба укол қилинганда совлиқларни факатгина 65% дагина қўшилишга иштиёқ туғилиши мумкин. Шунинг учун ҳам совлиқларга орадан 8-9 кун ташлаб икки маротаба простагландин билан укол қилиш тавсия этилади. Икки марта простагландин қабул қилган совлиқларда қўшилишга иштиёқ 38-40 соатда, ЛГнинг энг юқори миқдори 50 соатда, овуляция – 73-74 соатдан кейин содир бўлади.

Қўшилишга мойилликни бир-бирига мослаб чиқаришнинг яна бир йўли совлиқларни жинсий органлари ичига прогестаглар (кронол 30-45 мг) шимитилган ускурма ўрнатишдир. Бундай ускурмалар 14-16 кунга қўйилиб, ундан асосий мақсад ўтовдаги барча қўйларни бир вақтда жинсий ҳалқанинг фолликуляр босқичига келтиришдир. Ускурма олиб ташлангандан кейин кўпчилик совлиқларда қўшилишга интилиш 24-72 соатдан кейин, яъни ускурма олингандан кейинги кунга тўғри келади. Ускурма олинаётган вақтда 350-750 шартли бирликда СЖК юборилса, қўшилишга иштиёқни бир-бирига монанлиги янада ошади ва бу жараён тезлашади.

Совлиқларга гормонал препаратлар бериш қуйидагича амалга оширилади: урчитиш фаслида жинсий органлар ичига флюгестерон аустат – ФГА, кронолон, медроксипрогестерон ацетат МАП ёки прогестагенларни бошқа ҳосилалари эритмасида шимитилган ускурма 14 кунга қўйиб қўйилади. Ускурмаларни чиқариб олаётган вақтда 500 шартли бирлик СЖК укол қилинади. Шундан кейин 2 кун ичида совлиқлар қўчқорга келадилар. Бу жараёндан ўтган қўйлар агар июн ёки июл ойида уруғланган бўлсалар уларни 60%дан кўпроғи қўзилайдилар. Табиий уруғлантирилганда 10та совлиққа 1 та қўчқор бўлиши ва қўчқорлар совлиқларга юқоридаги ташкилий масалалар тугагандан 48 соат ўтгандан кейингина қўйилишлари шарт.

Отлар. Байталларга (урғочи от) 1,25-10 мг простагландин F_{2a} бир маротаба ёки 300-600 мкг простогландин JSJ 79939 ни аналогларидан икки маротаба укол қилинганда қўшилишга интилиш уч кун орасида чақирилади (сарик таналар ҳосил бўлганда укол қилинган бўлса). Сигирга ўхшаб байталларни сарик танаси ҳам 5 кунликкача простогландинлар таъсирида намойил бўлиб туради. Шунинг учун ҳам жинсий ҳалқани дастлабки 4 кунда қилинган простагландинни таъсири бўлмайди. Байталларда қўшилишга мойиллик ҳар хил бўлганлиги сабабли простагландин уколдан 3 кун орасида қўшилишга интилишни бир-бирига мос равишда ўтишини таъминласада, овуляция жараёни унчалик аниқ ўтмайди (7-12 кун уколдан кейин). Шунинг учун ҳам овуляция ўтиш даврини камайтириш мақсадида қўшилишга иштиёқ бошлангандан 2 ёки 3 кун ўтгач ХГ ёки ГН-РГ инъекция қилинади.

2000-3000 шартли бирликда ХГ препаратини вена қонига юборилганда, 36-48 соат орасида 90 % байталларда овуляция бошланади, шу муносабат билан бир марталик қўшилишга иштиёқ давридаги қочирилган байталларни сони 2,7 дан 1,8 гача қисқаради ва буғоз бўлган байталлар эса 50 дан 56 % гача ошади.

Чўчқалар. Чўчқалар кўп уруғли ҳайвон бўлганликлари учун, кўп сонли эмбрионларни гормонлар юбормасдан ҳам олиш имконияти бор. Аммо, гормон қабул қилган чўчқаларда овуляциялар сони кўпайишини унутмаслик керак.

12.1.3.Эмбрионларни трансплантацияси

Қишлоқ хўжалик ҳайвонларини сунъий қочириш усулларини яратилиши ва уларни қўлланиши ҳайвонлар генетикасини яхшилаш соҳасида катта ютуқларга эришишга олиб келди. Бу ҳамда ҳайвон уруғини (сперматозоидларни) музлатилган ҳолда узоқ вақт сақлаш усулларида фойдаланиш бир эркак ҳайвондан бир йилда ўн минглаб насл олиш имкониятини яратди. Шу орқали зотли ҳайвонлардан унумли фойдаланиш муоммаси ечилди.

Маълумки анъанавий йўл билан бир урғочи ҳайвоннинг умри давомида атиги бир неча авлод олиш мумкин ҳолос. Урғочи молларни авлод қолдириш имкониятларини пастлиги ва авлодлар орасидаги даврни узунлиги (масалан қорамол 6-7 йилда авлод қолдиради) чорвачиликда генетик жараёнларни чегаралаб қўяди. Бу муаммони ҳал қилишни олимлар, эмбрионларни трансплантация қилиш усулидан фойдаланиш билан боғлиқ деб билади. Бу усулни асосий моҳияти шундан иборатки, генетик соғлом ва ҳар томонлама етук бўлган сигирлар, ҳомиласи кўтариб юришдан ва ўз боласини озиклантиришдан озод этилади. Бундан ташқари тухум ҳужайраларини умумий миқдорини кўпайтириш мақсадида, бундай моллар рағбатлантирилади ҳам (озикани сифатлироқ ва кўпроқ беришдан тортиб, ҳар хил касалликларнинг олдини олиш учун керак бўладиган доридармонларгача). Уруғланган тухум ҳужайра маълум вақтдан кейин зотли сигирдан олиниб, зоти пастроқ бўлган молларга ўтқазилади ва унда ривожланади.

Эмбрионлар трансплантацияси технологияси қуйидаги асосий босқичларни ўз ичига олади:

- *суперовуляция чақириш донорни суъний уруғлантириш;*
- *эмбрионларни ташқарига чиқариб олиш (жарроҳлик ёки ножарроҳлик йўллари билан);*
- *ажратиб олинган эмбрионларни баҳолаш уларни сақлаш (узоқ вақт ёки қисқа вақт);*
- *бошқа молга ўтқазил.*

Суперовуляцияни (урғочи молларда гормонлар ёрдамида кўплаб овуляция чақириш) тезлатиш. Сут эмизувчиларни ургочилари кўплаб (ўн минглаб) жинсий ҳужайралар билан тугиладилар. Улардан кўпчилиги фолликулаларни шикастланиши оқибатида ўлиб кетадилар. Аммо ўлаётган фолликулаларни барчаси гонадотроп таъсирига сезувчан бўлганлиги сабабли улар етиладилар. Ургочи молларни фолликуляр босқичда гонадотропинлар билан укол қилинганда ёки лютеин босқичда простогландин F_{2a} ёки унинг аналоглари ёрдамида сариқ таналарни регрессияни кучайтрилганда кўплаб овуляцияга ёки бошқача айтганда суперовуляцияга олиб келади.

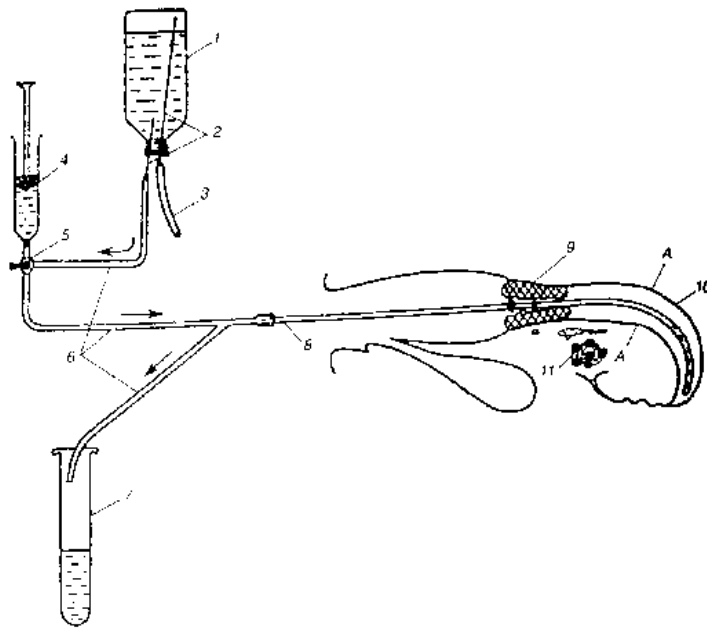
12.1.4. Эмбрионларни ажратиб олиш

Йирик шохли хайвонларда эмбрионлар тухум йўлидан бачадонга қўшилгандан кейин 4-5 кунлар орасида келиб тушади (овуляциядан 3 ёки 4 кун ўтгач), аммо суперовуляцияга учраган сигирларнинг тухум йўлида эмбрионлар 7 кунгача қолиб кетиши мумкин. Шу сабабли, эмбрионларни тухум йўлидан ёки бачадон шохларидан ажратиб олишлик, уларни ҳаракати билан аниқланади.

Эмбрионларни жарроҳлик йўлидан фойдаланмасдан ажратиб олиш фақатгина бачадон шохлари мумкинлигини эътиборга олиб, уларни фақатгина қўшилишга мойиллик бошланганидан 5 кун ўтгач ажратиш тавсия этилади.

Жарроҳлик усули билан эмбрионларни ажратиб олиш жуда яхши кўрсаткичларга эга бўлган бўлсада, ишлаб чиқариш шароитида бу усулдан фойдаланиш иқтисодий жиҳатдан қимматга тушиб кетади.

Эмбрионларни жарроҳлик бўлмаган йўл билан ажратиб олиш қуйидагича амалга оширилади (33-чизма).



33-чизма. Қорамол бачадонини ювиш чизмаси:

Шишадиган қадама (манжет) сақловчи эгилувчан катетер жинсий органдан бачадон бўйини орқали бачадон шохларига киритилади. Қадама шиширилганда бачадон шохидан чиқиш йўли бекилади. Катетер икки каналли бўлганлиги сабабли бачадон ичига юборилган суюқликни ташқарига оқиб чиқиш имконини яратади. Агар катетер бир каналлик бўлса, ювадиган суюқлик бир неча (5-8) маротаба юборилади ва кейин суюқлик бачадон шохидан оқиб чиқади. Ҳар икки ҳолатда ҳам 200-300 мл Дюльбекко яратган фосфат буфери эритмасидан фойдаланилади.

Эмбрионларни ажратиб олишни энг оптимал вақти қўшилишга интилиш ўтгандан кейинги 6-8 кун чунки ёш бластоцитлар жуда паст

хароратда музлатиш (195%) га чидамли ва юқори натижа билан жарроҳлик бўлмаган йўл билан бошқа ҳайвонга ўтказилиши мумкин. Донор-сигирдан бир йилда 6-8 маротаба фойдаланиш ва 3-6 эмбрион ажратиб олиш мумкин.

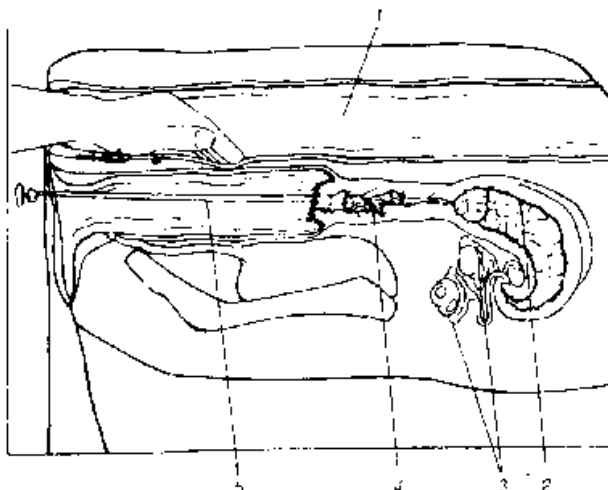
Қўй ва чўчқаларнинг бачадони бўйнидан бачадон шохига катетер ўтиши жуда қийин бўлганлиги сабабли, ножарроҳлик усулидан фойдаланиш мумкин эмас. Аммо, бу ҳайвонларда жарроҳлик усулидан фойдаланиш жуда ҳам осон. Чўчқаларда овуляциядан кейин 40 соат орасида 1-,2-, 4 та эмбрионни уруғ йўлидан ажратиб олади. Бунинг учун шиша идишчаларни (каюла) бачадон шохининг тепа қисмидаги кичик тешикча орқали ичкарига қўйилади (истмус). Шиша идишчалар орқали 20-30 мл ювадиган суюқлик юборилади ва суюқликни тухум йўлини ампуляр охиридан Петри ликобчасига йиғиб олинади. эмбрионларни ажратиб олиш учун бачадондан уруғ йўли ва бачадонни юқори шохи ювилади. Бачадон шохи қисиб турилиб, унга шиша идишча қўйилади. Одатда ювиш учун лактат, пируват ва хўкиз зардобидан олинган **олобумин** сақловчи Дюльбекко буферидан фойдаланилади. Чўчқа эмбрионлари қўшилишгандан кейинги 12-кунгача ажратиб олинishiлари мумкин. Одатда 95% гача эмбрионлар ажралади. Бир йилда бир дона чўчкадан 3-4 маротаба эмбрион олиш мумкин.

Совлиқлардан эмбрионлар ажратиб олиш учун уруғ йўлини ампуляр охирига шиша ёки полиэтилендан ясалган конюла киритилади ва бачадон шохидан уруғ йўлига қараб ювилади. эмбрионлар ажралиш фаоллиги 80% ни ташкил этади.

12.1.5. Эмбрионларни кўчириб ўтказиш

Эмбрионларни жарроҳлик йўли билан кўчириб ўтказиш билан бир қаторда ножарроҳлик йўлидан фойдаланиш ҳам кенг ривожланган (34-чизма).

Пайета деб аталадиган махсус идишчага янги тайёрланган озиқа муҳити сўриб олинади, (суюқликни баландлиги 1,0-1,3 см), кейин 0,5 см ҳаво ва 2-3 см ҳажмда эмбрион сақловчи асосий муҳит сўриб олинади. Кейин яна 0,5 см ҳаво ва озиқа муҳити 1,0-1,5 см сўрилганда бу идишча Касса номи билан аталган катетерга ўрнатилиб, 37⁰С лик термостатга солиб қўйилади. Кейин орқа чиқарув тешигидан назорат қилиш орқали (чизмага қаранг) катетер бачадон бўйинчаси орқали секинлик билан бачадон шохига юборилади (5-7см ичкарига киритилади). Катетерни штокини босиш билан пайета ичидаги суюқлик эмбрион билан биргаликда бачадон шохига юборилади.



34-чизма.
Сигирларда эмбрионларни ўтказиш чизмаси: жарроҳликсиз кўчириб

Эмбрионларни кўчириб ўтказишни самараси донор (эмбрион берувчи) билан реципиент (эмбрион қабул қилувчи) ҳайвонларда қўшилишга бўлган иштиёқни бир-бирига мос равишда, монанд келишига боғлиқ. Айниқса йирик шохли ҳайвонларда ҳомиладор бўлиш сони мана шу монандлик вақтида эмбрион кўчиришга боғлиқ.

Эмбрионларни бачадонни ҳар икки шохига юбориш катта самара беради. Бу усулдан эгизаклар олишда кенг фойдаланилади. Эгизак олиш учун 7 кунлик эмбрионларни уруғланган ҳайвонларнинг қарама-қарши турган сариқ тана сақловчи тухумдонига юбориш керак.

Байтоллар учун эмбрионларни жарроҳлик бўлмаган йўл билан ўтказиш усули ҳам яратилган. Бу усулнинг самарадорлиги овуляциядан кейинги 6-8 кунларда эканлиги тасдиқланган. Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, совлиқларда ва чўчкаларда эмбрионларни кўчириб ўтказиш фақат жарроҳлик йўли билан амалга оширилади. Реципитентларда ҳам донорларда амалга оширилган ишлар бажарилади. Эмбрионларни ривожланиш босқичига қараб, улар ёки уруғ йўлига ёки бачадонга ташланадилар.

Қўшилишга бўлган иштиёқини бошланган совлиқлардан 1-4 кунлари ажратилган бўлса, уруғ йўлига, каттароқ ёшдагилари эса тўғридан-тўғри бачадонга ташланадилар. Кўчириб ўтказилган эмбрионларни тутиб қолиш самараси 70-75% ни ташкил этади.

Чўчка эмбрионлари бачадонни бир шохидан иккинчисига ўтиб юриш хусусиятига эга бўлганлиги сабабли, уларни битта шохга кўчириш етарлидир.

2-5 кунлик эмбрионни кўчириб ўтказилганда, уни тутиб қолиш самараси 60-70 % ни ташкил этади. Кечроқ ўтказилган эмбрионлар чўчкаларда самара бермайди. Шунинг учун 2-4 кунлик эмбрионлардан фойдаланиш тавсия этилади.

12.1.6. Эмбрионларни сақлаш

Эмбрионларни трансплантация қилиш йўлларида фойдаланиш, уларни ажратиб олгандан то бошқа ҳайвонга ўтказгунча ўтадиган даврда самарали сақлаш йўллари яратишни талаб қилади.

Ишлаб чиқариш шароитида, одатда эмбрионлар эрталаб ажратиб олиниб, кечки пайт рециент ҳайвонга ўтказилади. Мана шу вақт орасида эмбрионларни сақлаш учун ҳар хил модификацияга учраган ёки йирик шохли ҳайвонларни эмбрионал зардоби сақлаган фосфатли буфердан фойдаланилади ва уй ҳароратида ёки 37°C да сақланади.

Изланишлар йирик шохли ҳайвонларни эмбрионларини *in vitro* шароитида 24 соатгача, тутиб қолиш хусусиятларини ўзгартирмасдан ўстириб туриш мумкинлигини кўрсатди. 24 соат давомида ўстириб турилган чўчка эмбрионини кўчириб ўтказилганда, унинг тутиб кетишида ўзгариш бўлмаганлиги кузатилган.

Эмбрионларни яшашга чидамлилигини маълум маънода уларни ҳароратини ҳайвон ҳароратидан биров пасайтириш орқали ошириш мумкин. эмбрионларни совуққа чидамлилиги ҳайвон турига боғлиқ.

Совуққа айниқса чўчка эмбрионлари чидамсиздир. Ҳозирча минус $10-15^{\circ}\text{C}$ сақланган чўчка эмбрионларини яшаб кетиши кузатилмаган.

Ривожланишни бош босқичида йирик шохли ҳайвонларни эмбрионлари ҳам 0° дан паст ҳароратга чидай олмайдилар. Аммо, кейинги босқичга ўтган, (масалан морула ёки бластоцист) эмбрионлар паст ҳароратга чидамли бўладилар.

Совлиқларни эмбрионлари ёшларидан қатъий назар (бир-икки ҳужайралик босқичдан то бластоцистгача) 0°C гача бўлган совуққа яхши чидайдилар. эмбрионларни сақлаш ҳароратини 37°C дан 10°C ва 0°C ҳароратда ушлаб турилиши, уларни ривожланишини тўхтатади, аммо модда алмашинуви жараёнлари 5-6 сутка давомида сақлашни таъминлайдиган ҳолатда амалга ошиб турадилар.

Эмбрионларни кўпроқ муддатга сақлаш учун нафақат уларни ривожланишини, балки бутун модда-алмашинув жараёнларини тўхтатиш лозим бўлади. Бундай ҳолат -195°C ёки ундан ҳам паст ҳароратда намоён бўлади, холос.

Кейинги вақтларда амалга оширилган илмий изланишлар натижасида йирик шохли ҳайвонларни эмбрионларини музлатиш ва эритиш тезлиги орасидаги оптимал нисбатини аниқлашга олиб келди. Масалан, агар эмбрионларни секин ($1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) жуда паст ҳароратгача совутилса, (-50° дан паст) ва кейин суяқ азотга ўтказилса, у жуда секин ($25^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ ёки ундан ҳам секинроқ) эритишни талаб қилар экан. Бундай эмбрионларни тезлик билан эритиб юбориш, уларни осмотик парчаланишигача олиб келар экан. Агар эмбрионлар секин ($1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$), аммо фақат -25°C ва 40° гача музлатилса ва кейин суяқ азотга солинса, уларни тез (хатто $300^{\circ}\text{C}/\text{мин}$) эритса ҳам

бўлар экан. Бу ҳолатда қолган сув суюқ азотга ўтказилиши билан шишасимон ҳолатга ўтиб қолиши кузатилган.

Бундай ҳолатларни очилиши, сигирлар эмбрионларини музлатиш ва эритишни осон йўллари топишга олиб келди. Масалан, эмбрионларни худди шунингдек спермани ҳам ҳайвонларга трансплантация қилишдан олдин илиқ сувда 35⁰С да, 20 секунд давомида эритиб ишлатиш мумкин.

Музлатилган ва кейин эритилган (муздан туширилган) эмбрионлар муваффақият билан бир босқичда, ўзи музлатилган пайетада (идишчани ўзида) суюлтирилиши мумкинлиги ҳам исботланган.

Бу усулни асосий моҳияти қуйидагилардан иборат: музлатиб эритилган эмбрионлар бир босқичда музлатилган криопротекторлар эритмасидан, масалан, 1,5м глицеринни фосфатли буфердаги аралашмасидан ҳужайра ичига кириш имконияти (хусусияти) бўлмаган (масалан, сахароза) гипертоник эритмага ўтказилади. Бу эса эмбриондан криопротекторларни (ҳимоя муҳитлари) аста-секин осмотик борабарликни бузмасдан чиқишига олиб келади (0,02 мл 1,5 м глицерин).

Ҳаво пуфакчалари ёрдамида пайетани уч бўлмага бўлинади: биринчисидан – криопротекторлар эритмаси; иккинчисидан – крипротектор эритмасидаги эмбрион; учинчисидан – эритувчи (1,08 м сахароза). Музлатиб, эритилгандан кейин пайеталар тебратиб аралаштирилади. Кейин пайетадаги эмбрион ножарроҳлик йўли билан реципиентга ўтказилади. Бу усул музлатиб – эритилган эмбрионларни сунъий уруғлантириш сингари ишлари имкониятини беради. эмбрионларни эришини бир ва кўп босқичли усуллар билан эритишни таққослаб ўрганилганда ҳар икки усул бир хил натижа бериши кузатилган.

Шундай қилиб, йирик шохли ҳайвонларни эмбрионлари ривожланишни дастлабки кунларида совуққа жуда сезгир бўлиши, аммо кейинги босқичларда айниқса бластоцист босқичида совуққа чидамлилиги ошиб бориши аниқланган. Чўчқалар эмбрионлари ривожланиш давридан қатъий назар совуққа чидамсиз эканлиги, улар 10-15⁰Сда фаолиятини тўхтатиши кузатилган. Йирик шохли ҳайвонлар, қўйлар ва отларнинг эмбрионларини морулалар ва бластоцистлар босқичларида -196⁰С гача музлатиш мумкинлиги кузатилган ва шундай эмбрионлардан авлодлар олинган. Ҳозирча бу усулдан йирик шохли ҳайвонларни кўпайтириш мақсадидагина фойдаланиб келинмоқда.

12.1.7. Тухум ҳужайраларни ҳайвон организмидан ташқарида уруғлантириш

Уруғлантириш тизимини яратиш ва сут эмизувчилар эмбрионларини ҳайвон организмидан ташқарида (*in vitro*) тезроқ ривожланиш босқичларини белгилаб бериш вазифалари улкан илмий ва амалий аҳамиятга эга бўлиб, ҳайвонларнинг кўпайиш самарадорлигини оширишга хизмат қилади.

Организмдан ташқарида (*in vitro*) уруғлантириш тизими, уруғланиш жараёнида яъни эркак ва аёл кўшилиши жараёнида содир бўладиган биокимёвий ва физиологик факторларни ўрганиш учун бебаҳо аналитик инструмент бўлиб хизмат қилади. Фақатгина организмдан ташқари уруғланиш тизимини ўрганиб чиқиш, қишлоқ-хўжалик ҳайвонларида ген ва хужайра муҳандислиги усулларида фойдаланиш, бу усулларни мана шу соҳага тадбиқ этиш имкониятини яртади. Маълумки, ген ва хужайра муҳандислиги бўйича изланишлар олиб бориш учун эндигина пайдо бўлган (энг дастлабки ёшдаги) эмбрионлар керак, бу эса фақатгина жарроҳлик йўли билан тухум йўлидан ажратиб олинмоғи лозим. Юқорида таъкидлаб ўтганимиздек, бу ҳам машаққатли иш, ҳамда ҳар доим ҳам эксперимент учун зарур бўлган даражадаги ёш ҳомилани (зародиш) беравермайди. Бунинг устига, қишлоқ хўжалик ҳайвонларининг кўпайишини гормонал бошқаришни бугунги кунда ўрганадиган усуллар овуляция вақтини аниқ назорат қилиш имконини бераолмайди, оқибатда эмбрионларни тажриба учун керакли бўлган ривожланиши фазасида, керакли микдорда ажратиб олиш катта муоммоларни келтириб чиқаради.

Хужайра ва ген муҳандислиги усуллари эмбрионлар билан узоқ вақт организмдан ташқарида тажрибалар олиб боришни таккоза этади. Кўрсатиб ўтилган барча муоммоларни, сут эмизувчи ҳайвонларни тухум хужайрасини организмдан ташқарида чатиштириш (уруғлантириш) тизимидан фойдаланиш муваффақиятли ҳал қилиб бера олади.

Сут эмизувчиларни тухум хужайраларини *in vitro* чатиштириш қуйидаги асосий босқичларни ўз ичига олади: ооцитларни етилиши, сперматозоидларни капацитацияси, чатиштириш ва зародишларни (эмбрионларни) дастлабки ривожланиш босқичида танлаб олиш.

12.1.8. Ооцитларни *in vitro* етилиши

Сут эмизувчи ҳайвонларни, жумладан йирик шохли ҳайвонлар, қўйлар, чўчқаларнинг тухумдонидagi жинсий хужайраларни кўпчилиги, юқори даражадаги генетик имкониятларга эга бўлиб, мана шу ҳайвонларни кўпайиш имкониятларини белгиловчи беҳисоб манба ҳисобланади. Улар генетик ривожланишни белгилашда овуляцияга нисбатан анча юқори туради. Ҳайвонларнинг кўшилишга иштиёқ пайдо бўлган даврда чиқадиган ва овуляцияга учрайдиган ооцитлар сони тухумдондаги ооцитларнинг бир қисмини ташкил қилади холос. Қолган ооцитлар тухумдон ичида регенерация учрайди ёки бошқача қилиб айтганда атрезияга учрайди. Шундай вазиятда ўз-ўзидан савол туғилиш муқаррар. Нима учун тухумдон ичида қолган ооцитларни қандайдир йўллар билан чиқариб олиб, уларни организмдан ташқарида чатиштириш мумкин эмас? Ҳозирча ҳайвонларда йиғилган барча ооцитларни ҳаммасини чиқариб олиш усули яратилмаган бўлсада, уларни бир қисми фолликулаларидан

ажратиб олиниб, етилтирилиб, *in vitro* шароитида уруғлантириш учун ишлатилади.

Қуёнлар фолликулалари ажратиб олиниб, культурал муҳитга солинганда, ооцитлар мейозини (хромосомалар сонини редукцияга ва генларни рекомбинацияга олиб келувчи, жинсий ҳужайраларни бўлиниш жараёни) ўз-ўзидан қайта тикланиши, биринчилардан бўлиб, 1935 йилда Г.Пинкус ва Н.Энзман томонидан кузатилган эди.

Фолликулардан ооцитлар ажралиб чиққанда, шунингдек овуляциядан олдин эндоген ЛГ чиқарилганда, ооцитлар мейотик тормозланган ҳолатдан чиқиб, зародишлар пуфакчалари ёрилиб кетишига олиб келади. Йирик шохли ҳайвонлар организмда зародиш пуфакчалари ЛГ чиққанидан 5 соатлар ўтганда ёрилади. Ооцитлар метафазанинг I ҳолатига 12 соатдан кейин, метафазанинг II ҳолатига эса 24-25 соатдан кейин етадилар. Организмдан ташқарида ҳам зародиш пуфакчасининг ядро мембранаси, йирик шохли ҳайвонларда 5-6 соатдан кейин юқолади, 12 соатдан кейин хромосомалар метафазанинг I ҳолатига, 20-24 соатдан сўнг эса метафазанинг II ҳолатига етади.

Сигирлар, қўйлар ва чўчқаларни ооцитларини мейотик етилишида кўринадиган турлар орасидаги фарқ 30-жадвалда кўрсатилган.

30-жадвал

Овуляция олдида чиқадиған гонодотропинларга жавобан ҳар хил турдаги ҳайвонлар ооцитлари ядросида (мейоз босқичида) намоён бўладиган вақтинчалик кўрсаткичлар (Хантер, 1980)

Ҳайвонлар тури	Тезлаштирилгандан кейинги яширин давр, соат	Мейотик етилиш босқичлари, соат			
		Метафаза I	анафаза	теофаза	Метафаза II
Сигир	10-12	14-21	22	23	24
Қўй	10-11	12-20	21	22	24
Чўчқа	17-18	26-34	35	36	37

Тухумдон фолликулаларидан ажратиб олинган ооцитларни кўпчилигида мейоз қайтарилиб, метафаза II босқичига етилсада, уларни уруғланиши зародишларни тўлақонли етилишига олиб келаолмайди. Бунга асосий сабаб ооцитларни яхши етилмаслигидир. Сабаблардан яна бири ооцитлар *in vitro* етилганда, уларни цитоплазмасида эркак пронуклеин ташкил бўлиши ва ривожланишини назорат қилувчи фактор етарли ҳосил бўлмаслиги билан ҳам боғлиқ бўлса ажаб эмас. Олимларни фикрларича ооцит цитоплазмасида эркак пронуклеуси етилишини чақирадиган фактори ҳосил бўлиши учун мейотик етилиш бошлангандан кейин энг ками 6 соат давомида ооцитларни фолликула ичида нормал ривожланишини таъминлайдиган шароит бўлиши шарт экан.

Бу фикр мейознинг ҳар хил босқичидаги фолликуллардан ажратилган чўчқа ооцитларини *in vitro* шароитида уруғлантириш буйича қўйилган тажрибаларда ўз тасдиғини топган. Ривожланиш босқичини кўтарилиши

билан фолликуллардан ооцитлар ажратиб олиш нуқтасида зародишларни нормал уруғланиш коэффиценти қўйидагича ошганлиги кузатилган:

- зародишларни пуфакча босқичида – 31,7 %;
- диакинез босқичида – 51,6 %;
- метафаза I босқичида эса 78,2 % уруғланиш содир бўлганлиги кузатилган.

Сут эмизувчиларда мейоз уйғотиш учун атероид гормонлар талаб қилишмаслиги, улар фақатгина ооцитларни нормал физиологик ҳолатда туриши учун зарур эканлиги аниқланган.

Маълумки, фолликуляр хужайраларда ишлаб чиқариладиган стероидли гормонлар ва бошқа бир қанча факторлар, ооцитларни пишиб етилишига ижобий таъсир кўрсатади. Шу муносабат билан ооцитларни фолликуляр хужайралар билан бирга ўстирилиши уларни нормал уруғланиши ва кейинчалик эмбрионал ривожланишини кучайтириши мумкин деган фикрга келинган. Фолликулалар ичидаги кўпгина ходисаларни жумладан, стероидлар ва оксил моддалар биосинтези гонадотроп гормонлар томонидан бошқариб турилади. Шунинг учун ҳам ооцитларни фолликулалар ичида ёки фолликулярли хужайралар билан биргаликда ўстирилганда, озиқа муҳит таркибида гонадотропинлар бўлиши шарт.

Соматик (фолликуляр) ва жинсий хужайралар орасида тўғридан – тўғри алоқа бўлишини шартлигига бир қатор сабаблар мавжуд. Фолликулярли хужайралар ооцитлар озиқланишида катта рол ўйнайдилар. Улар ооцитларни энергетик субстратлар билан таъминлаб турадилар, аминокислоталарни, нуклеотидларни ва фосфолипидларни баъзи –бир олдинги авлодларини ооцитга ўтказишда қатнашадилар, ядрога ва баъзи бир оксилларни тўғридан-тўғри синтез бўлишига йўл-йўриқ кўрсатувчи сигналларни тиклайдилар. Юқорида қайд этиб ўтилганидек, ооцитларни етилиши учун зарур бўлган йўл-йўриқ кўрсатувчи сигналлар, инициациядан кейинги дастлабки 6-8 соат орасида жуда зарурдир.

Ҳозирча фақатгина йирик шохли ҳайвонлар ооцитларини *in vitro* шароитида етилтириш технологияси ишлаб-чиқариш шароитида амалиётда қўлланилиб келинмоқда. Ооцитларни сигирларни тухумдонидан сўйилгандан кейин ёки тириклигида хафтасига 1-2 маротаба ювиб олиш мумкин. Биринчи ҳолатда ҳайвон сўйилгандан кейин, тухумдонлари олиниб, лабораторияга махсус контейнерлар ёрдамида 1,5-2,0 соат орасида етказилади. Лабораторияда тухумдон икки маротаба янги тайёрланган фосфатли буфер билан ювилади. Ооцитлар диаметри 2-6 мм бўлган фолликуллардан, тухумдондан сўриб олиш ёки уни пластинкаларга ўхшатиб кесиш йўли билан ажартиб олинади. Ооцитлар 10 % сигир қони зардобини сақлаган (қўшилишга мойиллик кўрсатган сигир қони) ТСМ 199 муҳитида йиғилади, кейин икки маротаба ювиб ташлаб *in vitro* ҳолатида етиштирилади.

Охирги вақтда тирик сигирларнинг тухумдонларидан ультра товуш ускуналар ёки лапароскоп ёрдамида ооцитлар ажратиб олиш усуллари ихтиро қилинган. Бунинг учун битта сигирни диаметри 2 мм дан кам бўлмаган фоликулларидан хафтасига 1-2 маротаба ооцитлар сўриб олинадилар. Ўртача 1 та ҳайвондан 5-6 та ооцит ажратиб олиш мумкин. 50% дан камроқ ооцитлар *in vitro* шароитида етилтиришга яроқлидир.

Ооцитлар миқдорини камлигига қарамасдан, бу мақсадда ҳайвондан кўп мароталаб фойдаланиш мумкинлигини ҳамда олинган ооцитларни келиб чиқиши ҳақидаги ахборотларни аниқлигини эътиборга олган ҳолда *in vitro* шароитда уруғлантириш усулини истиқболли усуллардан деб ҳисоблашга асос бўла олади. Ажратиб олинган ооцитлар 24 соат орасида пишиб етилади. Ооцитларни *in vitro* шароитида етилтириш учун ишлатиладиган буферни таркиби: 20 % байтал қонидан ажратилган зардоб сақлаган ТСМ 199 муҳити ва унча кўп бўлмаган миқдорда антибиотиклар (50 ед. пенициллин, 50 мкг стрептомицин 1 мл муҳитга).

Ооцитлар фолликулалардан 500 хд да 5 минутдан икки маротаба центрифуга қилиш орқали ажратиб олинади. Чўкмага тушган ҳужайралар юқоридаги муҳитда суспензия қилиниб, етилишга қўйилади. Ооцитлар ва гранулёзли ҳужайраларни ҳамкорликда 38,5⁰С да 5% СО₂ атмосферасида 2 мл муҳит сақлаган Петри ликобчасида ўстирилади.

12.1.9. Сперматозоидларни капацитацияси

Сут эмизувчиларни уруғлантириш усулини яратилишида спермаларни капацитацияси ходисасини очилиши катта босқич бўлиб хизмат қилди. 1951 йил М.К.Чанг ва у билан бир вақтда Г.Р.Аустин сут эмизувчи ҳайвонларни уруғланиши учун сперма овуляциядан бир неча соат олдин ҳайвонларни уруғ йўлида бўлишлари шарт деган фикрга келишган. Шунингдек Г.Р.Аустин каламушларни тухум ҳужайраларига спермани киришини кузатиб бориб, капацитация деган атамани киритди.

Капацитация деганда – сперматозоид уруғлантириш хусусиятига эга бўлгунга қадар, спермада содир бўладиган баъзи—бир физиологик ўзгаришлар жараёни тушунилади.

М.К.Чанг спермаларни капацитацияси учун шарт бўлган оптимал шароитни аниқлаш билан бирга декапацитация имкониятларини ҳам кўрсатиб берди. Декапитация каламушларни спермалари бачадондан ажратиб олиниб, қуён, одам ёки хўкизни уруғ плазмаси билан ишлов берилиб, тухум йўлига юборилганда, шунингдек, уруғ плазмасидан центрифуга қилиш йўли билан декапацитация қилувчи омилни уруғ плазмасидан ажратиб олинганда содир бўлиши кузатилган.

Капацитация спермани иккинчи фазага ўтишини таъминловчи (акросомли реакция), унинг мембранасидаги ўзгаришларни бошланиши, ҳамда плазмали ва ташқи акросомли мембраналарни қўшилишини ўз ичига олади. Ҳозирги вақтда биринчи фазани (сперма мембраналарини

ўзгариши) капацитация, иккинчи босқични (мембраналарни кўшилишини) акросомли реакция деб юритилади. Йирик шохли ҳайвонлар спермасада акросомли реакция фақатгина, овуляция вақтида ёки ундан кейин тухум йўли ампуласида содир бўлади. Бу кузатишлар капацитация тухум йўлининг овуляцияга учраган фолликуляр сақлаган тухумдон томонида содир бўлишини кўрсатади.

Эструс вақтида фақатгина жинсий ҳалқанинг лютенн фазасида эмас қуйларини тухум йўлидан ажратиб олинган суюқлик хўкиз (буқа) спермасада капацитация ва акросомли реакция чақириши аниқланган.

Буқаларнинг эпидидимал спермаларида капацитация ва акросомали реакцияни организмдан ташқарида (*in vitro*) глюкозоаминглюканлар гепарин ҳам чақириши кузатилган.

Сигир организмидagi рангсиз қобикқа ёпишган спермаларни барчаси акросомли реакция эканлиги аниқланган. Бундан ташқари электрон микроскоп ёрдамида, тухум йўлида акросомаларни тўлик сақлаганлиги, фақатгина рангсиз қобикқа ёпишган спермаларгина акросомли реакцияга эга бўлиши кузатилган. Бу илмий далиллар буқа спермаса тухум йўлида капацитацияга учраши, уруғланган спермалар эса акросом реакцияни тиниқ қобик ичида ёки уни атрофида ниҳоясига етказиши кўрсатади. Уй ҳайвонлари спермаларини капацитация қилишнинг бир неча усуллари ишлаб чиқилган. Спермалар сиртидаги, капацитацияга ҳалақит қиладиган оксилни ажратиб олиш учун юқори ион кучига эга бўлган муҳитдан фойдаланилган.

Аммо, сперматозоидларни гепарин ёрдамида капацитация қилиш усули кўпроқ тан олинган. Буқа уруғи музлатилган идишчалар, сув ҳаммомида 39°C да 30-40 соат давомида муз эритилади. Тахминан 250 мкл эриган уруғни капацитация қилиш мақсадида 1 мл муҳит тагига қўйилади. Капацитация учун ишлатиладиган муҳит Тиройда муҳитини, модификацияга учраган (кальций иони сақламаган) таркибидан фойдаланилади.

Инкубациядан кейин бир соат давомида муҳитни ҳаракатчан сперматозоидлар сақловчи тепа қисми (0,5 — 0,8 мл) пробиркадан олиб ташланади ва икки маротаба 500xg да 7 — 10 минут дан центрифуга қилиш йўли билан ювилади. Кейин 200 мкг/мл гепарин эритмасада 15 мин. инкубация қилинади ва суспензия ҳар бир 1 млда 50 миллион сперматозоид сақлайдиган ҳолатга келгунча суюлтирилади.

Россиянинг биотехнология маркази маълумотларига кўра, спермалар қуюқлашиб, тепага кўтарилаёт даврда 5 дақиқа ичида мўътадиллашиб улгуради ва кейинги бир соат давомида ўзгаришсиз қолади (31жадвалга қаранг).

**Спермаларни тепага кўтарилиш
самарадорлигини инкубация вақтига боғлиқлиги**

Инкубация вақти, минут	Тажриба сони	1 мл даги спермалар сони
5	5	$(3,3 \pm 0,46) \cdot 10^5$
15	6	$(3,8 \pm 0,53) \cdot 10^5$
30	5	$(1,0 \pm 0,75) \cdot 10^6$
45	5	$(2,8 \pm 0,72) \cdot 10^5$
60	6	$(3,0 \pm 0,41) \cdot 10^5$

Юқоридаги жадвалдан кўришиб турибдики, инкубация вақтини 45-60 минутдан 5-10 минутгача ўзгартириш мумкин. Бу эса ўз навбатида уруғланиш жараёнини тезлатади ва уни осонлаштиради.

**12.2. *in vitro* шароитида уруғлантириш ва эмбрионларни дастлабки
босқичда ривожланишини таъминлаш**

Сут эмизувчиларда тухум хужайраларини уруғланиши тухум йўлида содир бўлади. Шу туфайли ҳам бу жараёни ўрганиш бироз қийинчилик туғдиради. Шунинг учун ҳам уруғланиш жараёнини айниқса, икки уруғнинг қўшиладиган даврда амалга ошаётган биокимёвий ва физиологик омилларни *in vitro* шароитида ўрганиш катта аҳамиятга эга.

**12.2.1. Ҳар-хил ҳайвонларнинг *in vitro* уруғлантириш шароитида
ишлатиладиган усуллар**

Йирик шохли ҳайвонлар. Уруғлантириш жараёни Тиройда муҳитида бир томчисида амалга оширилади. *in vitro* шароитида, етилган ооцитлар атрофидаги пишиб етилмаган хужайралардан қисман тозаланади ва микротомчи ҳолатида 5 тадан ооцитлардан иборат қилиб бошқа идишга кўчирилади. Ҳар бир идишга 2-5 мкл дан сперматозоид суспензияси солинади. (1 томчида сперматозоидларни миқдори 1-1,5 млн дан кам бўлмаслиги керак.) Уруғлангандан 44-48 соат ўтгач, ооцитларни бўлиниш жараёни кузатилади. Кейин эмбрионлар бир қават (монослой)ли эпителиалли хужайралар устига қўйилади ва яна 5 кунга ривожланиш учун қолдирилади.

Қўйлар. Қўйларда уруғланиш жараёни икки усул билан текширилган: биринчи *in vitro* усули, иккинчи фолликулярли ооцитларни уруғланган тухум йўлига киритиш усули. Йирик шохли ҳайвонлар сингари, қўйларда ҳам уруғланган тухум хужайраларнинг сони фолликулярли ва овуляцияланган ооцитлар сперма билан бирга тухум йўлига юборилганда кўпроқ бўлиши кузатилган. Уруғлантириш тизимини *in vitro* шароитида ишлатилганда бундай хужайралар сони жуда ҳам кам эканлиги аниқланган.

Чўчқалар. Ҳозирги вақтгача чўчқалар ооцитларни *in vitro* шароитида уруғлантириш йўллари маълум эмас. Аммо баъзи—бир олимлар ўстирилган спермаларни пишиб етилгандан кейин чўчқа ооцитларига ўтишини *in vitro* шароитида кузатганлар. Бундай шароитда кўпроқ полиспермия ҳосил бўлганлиги ва ооцитлар ривожланмаганлиги аниқланган.

Чўчқаларни ёш эмбрионларини *in vitro* ҳолатда ўстирилганда яхшироқ натижалар олинган. Масалан, бирдан тўрттагача хужайрага эга бўлган чўчқа эмбрионларини *in vitro* шароитида 48 соат давомида ўстирилиб, уларни жарроҳлик йўли билан кўчирилганда 13 та чўчқадан иккитасида ҳомила пайдо бўлганлиги аниқланган. Саккиз хужайрали эмбрионларни 48 соат давомида бластоцитлар босқичигача ўстирилиб, кўчирилганда 19 та чўчқанинг 10 тасида ҳомила пайдо бўлганлиги, лекин ўтказилган 229 дона эмбриондан атиги 51 таси тирик қолганлиги кузатилган.

12.3. ЭМБРИОНЛАРНИ ТУРЛАРАРО КЎЧИРИБ ЎТКАЗИЛИШИ ВА ХИМЕРЛИ ҲАЙВОНЛАРНИ ОЛИНИШИ

Маълумки, эмбрионларни кўчириб ўтказиш фақатгина бир турга мансуб бўлган урғочи ҳайвонлар орасидагина яхши натижалар кўрсатади. Эмбрионларни эчкидан қўйга, ёки қўйдан эчкига ўтказилганда, маълум вақт ривожлансаларда улар авлод бермайди. Бунга асосий сабаб бошқа ҳайвон антигенига нисбатан урғочи ҳайвоннинг иммунологик реакцияси оқибатида планцеталарни функцияларини бузилишидир. Бундай ҳолат микрожарроҳлик усуллари ёрдамида химерли эмбрионлар олиш йўллари билан тузатилиши мумкин.

Энг аввал, бир турга мансуб бўлган ҳайвонларнинг эмбрионларидаги бластомерларни қўшиш орқали химерли ҳайвонлар олинган. Шу мақсад йўлида 2 —, 4 —, 8 — хужайрали қўш эмбрионларни қўшиб мураккаб химерлар олинган. Мураккаб бирлашган эмбрионларнинг ҳар бири 2 тадан 8 тагача эркак ва урғочи ҳайвонлардан иборат бўлган баробар сонли эмбрионлар бластомерларидан ташкил топган. Эмбрионларни агарга ўтказилиб, кейин қўйларни тухум йўлига кўчирилган ва дастлабки бластоцитлар босқичигача ривожлантирилган. Яхши ривожланган бластоцистлар реципиент қўйларга кўчириб ўтказилган ва натижада тирик қўзичалар олинган. Шу усулда олинган қўзичоқларни кўпчилигини қон таркиби ва ташқи кўриниши химер бўлганлиги кузатилган. Донор эмбрионларини ички қисмидан иммуножарроҳлик йўли билан олинган хужайра массасини реципиент эмбрионларининг бластоцистларига инъекция қилиш орқали ҳам химер ҳайвонлар олинган. Бунда донор бластоцитлари проназа ферменти 0,5%ли эритмасида инкубация қилинади.

Проназа ферменти билан ишлов берилган эмбрионларни ўз ҳолатига қайтариш ва уларни фаолиятини тиклаш учун, 3 соат давомида ўстирилади. Кейин тиниқ қобиқсиз эмбрионлар 1 соат давомида қўй

жигари ҳужайраларига қарши олинган антизардобда ўстирилади, уч маротаба ювиб ташланиб, денгиз чўчқаси (морская свинка) қонидан олинган зардобни эритмасига (1:4) 1 соат солиб қўйилади. Трофобластларни лизисга учраган ҳужайралари пипеткалар ёрдамида олиб ташланади, ажратиб олинган ҳужайра ичидаги масса реципиент бластоцистларнинг трофобластларига инъекцион пипетка ёрдамида юборилади. Шу йўл билан бластоцитларни кўчириб ўтказиш орқали қон гуруҳлари ва ташқи белгилар билан ажралиб турувчи химерли кўзичоқлар олинган.

Йирик шохли химерли ҳайвонларни шунингдек, 5 — 6,5 кунлик эмбрионларни яримта—яримтасини ўзаро қўшиш йўли билан ҳам олинган. Қўшилган (агрегация учраган) эмбрионларни жарроҳсизлик йўли билан кўчириб ўтказилган, агрегацияга учраган эмбрионлардан олинган етти бузоқчанинг бештасида химерлик белгилари бўлмаган.

1984 йилда С.В.Фехилли ва бошқалар агарга киритилган ва 4-5 сутка давомида қўйни тухум йўлига жойлаштирилган қўй ва эчки бластомерлари аралашган бластоцитлар ташкил қилишини кузатганлар. Бу бластоцитлар ҳаётий бўлиб, янги авлод туғилиш фазасигача ривожланган. Ушбу тажрибада қўй ва эчкини 4 ҳужайрали эмбрионларидаги 1 тадан бластомердан 17 бластоцит олинган ва улардан 7 та авлод туғилган. Барча ҳайвонлар кўзичоқларга ўхшаган бўлсаларда уларни учтасининг жун тузилиши улоқчаларникига ўхшаб кетган.

12.4. ҲАЙВОНЛАРНИ КЛОНЛАШ

Ҳайвонлар қолдирадиган авлодлар сони унчалик кўп бўлмайди. Юқори ҳосилдорликни белгиловчи, ихтисослашган генлар комплексининг сони жуда ҳам кам бўлиб, кейинги авлодларга ўтганда ўзгаришларга учрайди.

Шундай бўлишига қарамасдан, соматик ҳужайраларнинг ядросида муайян организм ҳақида тўлиқ генетик ахборот тўпланган бўлиб, бу ахборотни тўлиқ фаолияти учун шароит яратиб берилганда, исталганча генетик нусхалар (клонлар) олиш имкони борлиги маълум.

Кўпгина соматик ҳужайралар дифференциалланган ҳолатда бўлишини эътиборга олиб, дастлаб бу вазифани ривожланишни маълум босқичидаги, аммо дифференцияга учрамаган муртақларнинг эмбрионал ҳужайралари ёрдамида ечишга ҳаракат қилинган. Ооцитларнинг цитоплазмасида кўчириб ўтказилган ядро ишини қайта дастурлаш ва янги эмбрионларнинг ривожланганлиги дастурини ишлатиб юборадиган махсус омиллар сақланиши, ядрони (бластомерларни) етилган ооцитларга кўчириб ўтказиш имконларини яратади.

Бир уруғли эгизакларни олиниши чорвачилик учун катта аҳамият касб этади. Бир томондан, бир донордан олинадиган бузоқчаларни сони кўпаяди, иккинчидан генетик бир хил бўлган эгизаклар пайдо бўлади. Бир

бирига мос бўлган эгизакларни кўплаб олиниси — буқаларни авлод колдириш сифатини баҳолаш, сперма маҳсулотлар баҳосини камайитириш, препаратларни баҳосини камайитириш, ҳамда чорва молларини боқиш соҳасида олиб бориладиган изланишларни соддалаштириш имкониятини яратади.

Бир неча ўн йиллар илгари сут эмизувчиларни эмбрионларини энди ривожланиб келаётган босқичида микрожарроҳлик йўли билан иккига ва ундан кўпроқ қисмга ажратиш ва ҳар бир бўлаги кейинчалик алоҳида организмгача ривожланишини таъминлаш мумкинлиги ҳақида фикр қилинган эди. 1970 йилда икки хужайрали эмбрионларни бластомерларни механик йўл билан ажратиш орқали бир уруғли сичқонларни дастлабки авлоди яратилган эди. 1979 йилда С.М.Вилладсен юқоридаги техникадан фойдаланиб, аммо бластомерларни агарга киритиб, икки хужайрали эмбрионларни бўлиш орқали бир уруғлик эгизак кўзичоқлар яратишга эришган эди. (Бир уруғли—ибораси бир эмбриондан ажратилган бластомерлардан олинган эгизаклар—ред). Кейинчалик қўйилган тажрибалар 4 — 6 — 8— хужайрали эмбрионлар бластомерларни икки гуруҳга ажратиш орқали бир хил эгизаклар олиш мумкинлигини кўрсатган эди. 2,4,8-хужайрали эмбрионларни ярми ҳам, қўйларни бутун эмбрионлари сингари тўла ривожланиш имкониятига эга. Бундай бўлинган бластомерларни музлатилган ҳолатда сақланиш мумкинлиги, ҳар хил ёшдаги монозигот эшаклар олиш учун қўйиладиган тажрибаларда ишлатиш мумкинлигини кўрсатди.

Чорак эмбрионларни ёки 8-хужайрали эмбрионларни 4 жуфт хужайрага ажратиб сақланганда, уларни яшаб қолиши нормал эмбрионлардан паст эканлиги кузатилган. Саккиз хужайрали эмбрионларнинг алоҳида ажратиб олинган бластомерларидан ҳосил бўлган эмбрионларни яшаб қолиши деярли нолга тенг эканлиги ҳам кузатилган.

Яримта эмбриондан олинган бластоцитлар 32 та хужайрадан ташкил топиши, яъни меъёридагидан 50% хужайра сақлаши аниқланган. Тўрт хужайрали эмбриондан олинган алоҳида бластомерлар ҳам бластоцит ҳолатигача ривожланиши кузатилган. Аммо бундай бластоцитлар 16 ёки ундан ҳам камроқ хужайрадан ташкил топади. Меъёридаги бластомерларда хужайралар сони 32 тани ташкил этади.

Саккиз хужайрали босқичда ҳар бир бластомер бластоцитгача ривожланиш имкониятига эга, аммо улар жуда кичик бўлиб, тахминан 8-хужайрадан иборат бўлади. Бундай бластоцитларни кўчириб ўтказилганда, уларни бор-йўғи 10% га яқинигина туғилиш босқичигача ривожланади холос.

Бу тажрибалар асосида қўйидагича хулосага келиш мумкин: эмбриондаги хужайралар сонини камайитириш, уларни бластоцистларгача ривожланишини пасайтирувчи асосий омил бўлиб хизмат қилсада, бўлиниш жараёни ривожланишини босқичида содир бўлиши унчалик катта аҳамиятга эга эмас. Олимларни фикрича, монозигот эгизаклар олиш учун

етилган моруллалардан ва бластоцистлардан фойдаланиш мақсадга мувофиқдир.

Ҳозирги вақтда ривожланишини ҳар— хил босқичида эмбрионларни бўлиниши учун оддий техникадан фойдаланилади, яъни уларни целлюцитлар қисмидан баробар 2 қисмга бўлиш;

Бир уруғли эгизаклар олиш мақсадида йирик шохли ҳайвонларни эмбрионлари ривожланишини кейинги босқичда фойдаланиш енгиллашади, чунки уларни ажратиб олиш учун жарроҳлик йўллари фойдаланилади. Чўчқаларни 6 кунлик эмбрионларини бўлишни ҳам оддий техникаси ишлаб чиқилган. Бунинг учун шиша ниналар ёрдамида эмбрионни ички ҳужайра массаси ва тахминан 40% целлюцид қисми қирқилади. Кейин целлюцидларни ички қисмидаги трофобласт қавати кесилади. Эмбрионларни ярмини ўзини целлюцид қисми билан иккинчи ярмини эса целлюцид қисмсиз реципиентни бачадон шохига (бачадон-ғувур уланган жойдан 5см оралиққа) кўчириб ўтказилади.

Эмбрионларни иккига бўлиш техникаси қўй ва эчкиларда ҳам кенг қўлланилиб келинмоқда.

Бластоцистларни ривожланишини кейинги босқичида бўлиш қулайроқ, чунки ялтироқ қобиғи ёш бластоцистларникига нисбатан юқароқ, цитоплазмаси эса эластиксимон бўлади.

Монозигот эгизакларни олишни қулай шароитини ишлаб чиқишда, бўлингандан кейин ва яримта эмбриони трансплактация қилингандан кейин *in vitro* шароитида ўстиришни давомийлиги ва уларни музлатилган ҳолатда сақланишига катта эътибор берилган.

Яримта эмбрионни 4 соат ёки ундан кўпроқ вақт давомида ўстирилиши кейинги яшаб қолишига салбий таъсир кўрсатади. Йирик шохли ҳайвонларни эмбрионларини яримтасини *in vitro* шароитида 24 соат давомида ўстирилиши, уларни яшаб қолишини 4—6 соат давомида *in vitro* ўстирилганларига қараганда тахминан 3 марта камайтиради.

Сигирларнинг бўлинган эмбрионларини музлатилган ҳолатда сақлаш мумкинлиги аниқланган. Эмбрионал ҳужайралар ядросини энуклеация қилинган тухум ҳужайрасига кўчириб ўтказилгандан кейин ядро қайтадан дастурланади ва оқибатда янги эмбрион ривожланади. Назарий томондан донор эмбрионидан ажратилган барча бластомерлар бир хил генетик асосга эга бўладилар ва бир хил зотларни ривожланишини белгилаш имкониятига эга бўладилар. Ядрони кўчириб ўтказиш оқибатида ҳосил бўлган эмбрионлар, ўз навбатида ядро донорлари сифатида ишлатилишлари мумкин.

Бир неча генерациядан кейин юзлаб, ҳатто минглаб бир-бирига жуда ҳам ўхшаш эмбрионлар олиш имконияти яратилади.

Ядрони қайта кўчириш йўли билан эмбрионларни клонлаш уч асосий босқични ўз ичига олади: донорнинг соф ядросини ажратиш, ооцитларни энуклеацияси ҳамда ядрони энуклеирланган тухум ҳужайрасига кўчириб ўтказиш. Сут эмизувчиларни ядросини кўчириб ўтказиш ооцитларни

кучайтирмайди. Шунинг учун ҳам тўртинчи босқич яъни ооцитларни кучайтириш ва уруғ ҳамда ооцит мембраналарини кўшилиши керак бўлади. Электр импулси таъсирида ооцитларни ва донорнинг хужайра ядроси билан реципиентнинг энуклеирланган ооцитлари мембраналарини кўшилиши фаоллашади. Хужайра ядросини кўчириб ўтказиш технологияси клонланган тирик куёнчалар, сичқончалар, кўзичоқлар, улоқчалар, бузоқчалар ва чўчқалар олишни фаоллаштириб юборди. Фақат имплантациядан олдинги даврда эмбрионлар тотипотент (соматик хужайраларни авлод бериш дастурини тўлиқ амалга ошириш ҳолати) бўлиши аниқланган бўлсада, бу технологиянинг самарадорлиги ҳозирча паст.

Йирик шохли ҳайвонларда турли босқичда бу технологиянинг самарадорлиги қўйидагича (% ҳисобида): энуклеация (тухум хужайрадан ядро материалларини олиб ташлаш) босқичи- 70-80 клонланган эмбрионларни морул—бластоцитларини ривожланиш босқичи 2-30% ни ташкил этади. К.Р.Вондиоли (1991) тажрибаларида бир дона эмбриондан клонланган эмбрионларни ядроларини бир неча бор қайта кўчириб ўтказиш натижасида 190 дона ядроси қайта кўчириб ўтказилган эмбрионлар олинганлиги кўрсатилган.

Аммо ядрони кетма-кет қайта кўчириш, тўртинчи даврдан кейин бачадонда эмбрионал йўқотишлар юқори даражада кўтарилиши ҳам кузатилган. Натижада, эмбрионларни кетма-кет уч маротаба кўчириб ўтказилгандан кейин бузоқча олиш имконияти бўлмаган.

Эмбрионал хужайралар ядросини энуклеирланган тухум хужайрасига кўчириб ўтказиш, эмбрионларни бўлиниш технологиясига нисбатан кўплаб устунлик томонларига эга. Булар қўйидагилардан иборат:

биринчидан, эмбрионларни 64 хужайрали босқичида олинган алоҳида эмбрионал хужайралар бир хужайрали зиготаларда қайта дастурланиши ва кўплаб генетик бир хил ҳайвонларни нусхаларини бериш мумкин;

иккинчидан, клонланган эмбрионлардан қайта кўчириш йўли билан олиш, клонлар технологияни потенциал имкониятини ошириб, кўплаб клонлар ишлаб чиқариш имкониятини яратади.

Соматик хужайралар ядросини энуклеирланган тухум хужайрасига кўчириб ўтказиш йўли билан ҳайвонларни клонланиши.

Юқорида келтирилган экспериментлар, усуллар ва йўллар оқибатида йигилган тажрибалар соматик хужайралар ядросини энуклеирланган тухум хужайрага кўчириб ўтказиш орқали ҳайвонларни клонлашни ташкил қилиш учун асосий манба бўлиб хизмат килди.

Бу икки усулни бир-биридан жиддий фарқи шундан иборатки, эмбрионал хужайралар ядросини кўчириб ўтказиш йўли билан клонлаш ўзаро бир хил бўлган ҳайвонлар яратиш имконини берса, катта ёшли ҳайвонларни соматик хужайралар ядросини кўчириб ўтказиш нафақат ўзаро бир хил ҳайвонларни, балки соматик хужайралар донори билан бир хил бўлган ҳайвонлар яратиш имкониятини яратади. Бу эса биринчи

кундаёқ чегараланмаган сонли генетик бир хил бўлган насл олиш имкониятини яратди. Шу туфайли ҳам бу усулни қишлоқ хўжалик ҳайвонларини селекцияси ва кўпайтириш учун қанчалик инқилобий бўлганлигини айтиб ўтишга ҳеч қандай эҳтиёж йўқ.

Соматик ҳужайралар ядросини ишлатиб, ҳайвон клонларини яратиш биринчи маротаба, яқиндагина оламдан ўтган Долли исмли кўйни туғилиши билан 1977 йилда Вильмут (Wilmut e.a. 1977) бошчилигидаги бир гуруҳ олимлар томонидан намоиш этилган эди. Вильмут ҳамкасблари билан сут беги ҳужайрасининг ядросини кўйни энуклеирланган тухум ҳужайрасига трансплантация қилган эдилар.

Ўшандан бошлаб жаҳонни кўплаб илмий лабораторияларининг йўналишлари катта ёшли ҳайвонлар ва уруғ ҳужайраларини қайта дастурлаш имкониятларини ўрганишга қаратилган эди.

Neuman ва бошқалар (1998 йил) этилган уруғни териси ва мушагидан олинган фибропластлар ядроси билан клонланган эмбрионлардан иккита бузоқча олишга эришдилар. Аммо клонланган эмбрионларни бластоцитларгача ривожланиш фаоллиги жуда ҳам паст (3-8%).эканлиги аниқланган.

Клонларни яратиш махсус монографияларда ҳамда мутахассис олимлар томонидан ёзилган илмий мақолаларда кўплаб чоп этилган.

Фаннинг ва иқтисодиётнинг муҳим бўлаги бўлган клонлаш муаммолари билан қизикқан ўқувчиларни кўйида келтирилган олимларнинг илмий ишлари билан батафсилроқ танишишга таклиф этамиз: Talbotet ва бошқалар, 1988; Heyman et.al. 1998; Zakharcheto et.al 1999; Wells et.al. 1999; Tsunoda et.al. 1998; Moens et.al 1996; Kato, Tsunoda 1995; Delthaise et.al. 1995; Laveir et al. 1997; ва ҳ.к.

Ҳайвонларни клонлаш бўйича йиғилган илмий натижалар шунини кўрсатадики, қайта тузилган эмбрионларни ривожланиши бўйича эришилган ютуқлар асосан, ядро донорининг реципиент билан келиштирилишига боғлиқ. Реконструкция вақтида реципиент ёки донор ҳужайра ҳалқалари фазаларини бир-бирига тўғри келмайдиган ҳолатда танлаш ДНК ни парчаланишига ва қайта тикланган эмбрионни нотўғри уруғланишига олиб келади. Донор ядроси билан реципиент цитоплазмаси орасидаги ўзаро алоқа ҳар хил босқичда амалга оширилиши мумкин. Бу жараён ҳозирги вақтда чуқур таҳлил қилинмоқда. Ривожланишни дастлабки босқичида алоҳида бластомерларни баробарлаштириши ҳар хил ҳайвонларни, жумладан куёнларни (Collas Pet.al 1992), йирик шохли ҳайвонлар (Campbell et. al. 1993), ва сичқонлар (Otaegu P.J. et al., 1994) ҳужайра даврини ўзаро алоқасини ўрганиш учун восита бўлиб хизмат қилади.

12.5. ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ ЙЎЛИ БИЛАН ТРАНСГЕН ҲАЙВОНЛАР ЯРАТИШ

Геннинг микроинъекцияси. Геннинг микроинъекцияси икки йўл билан:

1-эмбрионларни ривожланишини пронуклеус босқичида жарроҳлик йўли билан чиқариб олиш;

2-донорни сўйгандан кейин ажратиб олиш;

Микроинъекция учун зарур бўлган уруғланган тухум хужайра олиш мақсадида, ҳайвонларга гормон юбориб, уларда суперовуляция чақирилади ва ундан кейин наркозланган ёки сўйилган ҳайвонлар тухум йўлини ювиш орқали тухум хужайралар ажратиб олинади (G.Brem. 1993).

Эмбрионларни микроинекция қилиш учун энг аввало мустаҳкам ўрнатилган ишчи столи бўлмоғи шарт. Стол устига микроскопни ушлаб турувчи ва инъекция қилувчи пипеткаларни бошқариб турувчи иккита микроманипулятор ҳамда инъекцион босимни бошқарувчи ускуна ўрнатилади. Микроскоп турган столчага оғзи парафинланган инъекция муҳит сақловчи идиш жойлаштирилади. Муҳитга эмбрионлар аралаштирилади. Керак бўлганда, инъекция учун тайёрланган эмбрионлар паст босим ёрдамида ушлаб турувчи пипетка устига, инъекция қилиниши лозим бўлган пронуклеус эса яхши кўринадиган жойга жойлаштирилади. Инъекция қилувчи пипеткани учи (уни ички диаметри 1 мкм гача) ДНК эритмаси билан тўлдирилади ва секин асталик билан 1-2 пкл хужайра мембранаси орқали пронуклеусга киритилади. Операцияни аниқ бажарилганлиги пронуклеуснинг шишиб чиқишидан сезилади. Фақат мана шундай, кўзга кўринадиган ҳолатда ядро хажмини кенгайтириш ҳақиқатдан ҳам ДНК эритмаси проуклеусга киритилганлиги ҳақида гувоҳлик беради. Инъекциядан кейин эмбрионлар ушлаб турувчи пипеткадан бўшатилиб реципиентга кўчирилиб ўтказилгунча ўстириб турилади. Сичқонларни ва қуёнларни ривожланиш босқичига мос ҳолда ажратиб олинган уруғланган тухум хужайраларидаги пронуклеуслар кўзга яхши кўринадилар, бу эса инъекцияни муваффақиятли ўтишини таъминлайди. Қишлоқ хўжалик ҳайвонларининг эмбрионларининг цитоплазмасида қорамтир, ёғ сақловчи гранулалар бўлиб, улар пронуклеусларни кўринишини қийинлаштиради.

Эмбрионларни 3-5 минут давомида 15000*g тезликда центрифуга қилинганда қорамтир гранулалар тухум хужайраларини бир томонига тўпланадилар, марказда жойлашган пронуклеуслар яхши кўриниб, инъекция учун шароит туғилади. (Wall R.J. et.al. 1984) Қўйларни эмбрионлари учун центрифугалаш талаб қилинмайди, улардаги пронуклеусларни кўриш учун Номрский оптикасидан фойдаланиш kifоя. Шунинг ҳам эслаб қолиш лозимки, қишлоқ хўжалик ҳайвонларини эмбрионларига микроинъекция қилиш сичқон ёки қуёнларникига нисбатан биров қийинроқ кечади.

In vitro шароитида қисқа муддатли (бир неча соатгача) ўстирилган эмбрионлар бир-бирларига мослаштирилган реципиентларни тухум

йўлларига трансплантация қилинади. Баъзи пайтларда узоқ муддатда ўстирилган микроинъекция қилинган эмбрионларни тўғридан-тўғри реципиентларни бачадонига трансплантация қилиш ҳам мумкин.

Генларни (эмбрионларни) кўчириб ўтказиш ва эмбрионлар олиниши ва уларни донорларни мослашишига боғлиқ. Чунки тухумдонлар, тухум йўллари ва бачадон кўчириб ўтказилган эмбрионларни ривожланиб кетишини таъминлайдиган ҳолатда бўлишлари лозим.

Сперматозидлари уруғлантириш ҳолатида бўлмаган эркак моллар билан қўшилиш, инсон гонадотропинлари ёрдамида овуляцияни кучайтириш, гипофиз безини олдинги қисмидан олинадиган гормон таъсирида амалга оширилади.

Қишлоқ хўжалик молларининг тухум хужайраларига қон чиқармасдан кириш мумкин бўлмаганлиги сабабли, микроинъекция қилинган тухум хужайралари реципиенти жарроҳлик йўли билан трансплантация қилиш орқали амалга оширилади. Бу мақсадда, реципиент наркоз остида реципиентдан тухумдон ва тухум йўли чиқариб олиниб, тухумдонни овуляцияни кучайтиришга (овуляцион хужайралар, сарик тана) муносабати назорат қилинади ва мослашмаган (синхронизация бўлмаган) реципиентлар чиқариб ташланади. Кейин махсус катетерлар ёрдамида микроинъекция қилинган эмбрионлар махсус воронка орқали тухум йўлига юборилади.

Сичқон, куён ва чўчқаларга 20-30 тадан зиготалар юборилади. Чўчқага эмбрионлар ҳаммаси бир тухум йўлига, сичқон, куён, қўй, эчки ва йирик шохли ҳайвонларни ҳар бир тухум йўлига алоҳида, икки-тўрттадан эмбрион юборилади.

Микроинъекция қилинган эмбрионлардан пайдо бўлган (туғилган) ҳайвонлар алоҳида назоратда бўлиб, уларнинг тўқималари, қонидан анализлар олиб ДНК ни интеграцияси (ҳамкорликда ишлаб кетганлигини) аниқланади. Бунинг учун PCR—диагностика, догблогбридизация (Саузерн усули) усулларида фойдаланилади.

Ҳайвонларни трансген линиясини ташкил қилишда уларни жинсий хужайраларини барчаси, ҳеч бўлмаганда уларнинг ярми трансген сақланганлиги катта аҳамият касб этади. Трансген туғилган ҳайвонлар ва улардан олинган авлодларни текшириб кўрилганда ДНК ривожланишни дастлабки босқичида (уруғланган тухум хужайраларнинг пронуклеус босқичи) инъекция қилинишига қарамасдан хилма хил (мозаика) ҳайвонлар пайдо бўлиши кузатилган. **Мозаика деб бир зиготадан келиб чиққан, аммо ҳар хил генотипга эга бўлган икки ва ундан кўпроқ хужайра линиясидан ташкил топган ҳайвонларга айтилади.** Трансген мозаик ҳайвонларда, трансген хужайра линияларидан ташқари трансген бўлмаган линиялар ҳам сақлайди. Бундай ҳайвонлардан трансген авлодлар олишда қийинчиликлар пайдо бўлади. Олим ва мутахассисларни фикрларича микроинъекция йўли билан олинган трансген ҳайвонларни тахминан 30% мозаика ҳисобланади.

Нима бўлганда ҳам трансген ҳайвонлар яратиш Мендел қонунига (50% қайтарилиш) унчалик ҳам тўғри келаверди. Уларда трансген ўтказиш имконияти мерос қолганлиги сабабли, мозаикаларни бир қисми, трансген линияларга асос бўла олмайди.

Меъёрида трансген мерос колдириш, моногибрид чатиштириш учун Мендел қонуни тўғри келади, чунки кўпчилик ҳолларда интеграция фақат хромосоманинг биргина нуқтасида содир бўлади. Гомологик трансген бўлмаган хромосомада трансгенга тўғри келадиган аллель бўлмаганлиги сабабли “гетерозигота” тўғри келмайди.

Мозаикаларга қайтадиган бўлсак, улар фақатгина F_0 - генерацияда пайдо бўлишини эслаб қолиш лозим. F_j — генерацияси ҳайвонлар ва уларни кейинги авлодлари (агар улар ижобий бўлсалар) барча соматик ва эмбрионал ҳужайраларида ген тузилмаларини сақлайдилар. Шундай бўлишига қарамасдан бир неча ҳолатларда авлоддан-авлодга трансгенни мерос қолдиришда номўътадиллик сезилган.

Бирламчи трансген ҳайвонларни геномида бирданига бир неча интеграция нуқта бўлиши жуда ҳам кам кузатилган. Иккита бир-бирига боғлиқ бўлмаган интеграция нуқтага эга бўлган трансген ҳайвонларнинг 75% га трансгенни авлодга мерос қолдириш (бунда 25%) икки трансгендан бири мерос қолдирса, 25% ҳайвонларни геномида интеграциянинг ҳар икки нуқтаси бўлади ва фақат 25% авлодлар нотрансген бўлиши мумкин. Меъёрида, гомозигот трансген авлодларни қўшилишида қўйидагича парчаланишни кузатиш мумкин: 50% гомозиготли, 25% гомозигот трансгенли ва 25% нотрансген организмлар.

1997 йилгача генларни микроинъекция қилиш орқали ўтказиш, йирик трансген ҳайвонлар олишни бирдан - бир ишончли усули бўлиб хизмат қилган. Дастлаб бу усул трансген сичқонлар олиш учун (Gordon J.et.al, 1980), кейинроқ эса йирик қишлоқ хўжалик ҳайвонларини яратиш мақсадида (Hammer RE.et.al.1985) ишлатилган.

Иқтисодий ва техник имкониятлар чегараланганлиги сабабли аввалига бу усулдан фақатгина баъзи-бир лабораториялар фойдаланиш имкониятига эга бўлганлар. Бу лабораторияларда йирик ҳайвонлар жумладан, йирик шохли ҳайвонларни трансген формалари олинган. *in vitro* шароитида уруғлантирилган қорамоллар эмбрионларига микроинъекция орқали ген киритиш усулидан фойдаланиш жарроҳлик йўли билан пронуклеус босқичида эмбрионларни ажратиб олиш ёки суперовуляцияга учраган донор сигирлар сўйилгандан кейин трансплантация қилиш каби қимматбаҳо усуллардан воз кечишга олиб келган. (Krimpenflort P., et.al 1991). *in vitro* шароитида ўстирилган эмбрионларга микроинъекция орқали ген киритиш усулини пайдо бўлиши, донор-сигирларни сақлашга имконияти бўлмаган лабораторияларда ҳам бундай экспериментлар қўйиш имкониятини яратилган.

Аммо бу усулни самарадорлиги ҳамон жуда ҳам паст бўлган. Трансген авлод бериш имкониятига эга бўлган 1 та ҳайвон яратиш учун 100 дан кам бўлмаган ҳайвонларни ҳомиладор қилишга тўғри келади.

Шунинг учун ҳам олимлар трансгенозни самаралироқ усулини топишга ҳаракат қилдилар.

Шундай усуллардан бири- эмбриондаги генни интеграциясини реципиентга кўчириб ўтказгунча аниқлашдир. Эмбрионларда киритилган ДНК ни бор йўқлигини, ривожланишни дастлабки босқичда PCR ёрдамида аниқлаш мумкин деб тахмин қилинган эди. (Ninomiya T., 1989). Аммо бу техника, ДНК ни ноинтеграцион шаклда узоқ муддатда сақланганлиги туфайли трансген эмбрионларни оддий эмбрионлардан ажрата олмади.

Бошқа бир усул, ҳамма микдори геномга интеграция қилингандагина экспрессия қилинадиган репортер генлар фаоллигини аниқлашга асосланган. Улардан баъзи бирлари антибиотикларга чидамликка (Bondioli K., 1996), люцифераза ферментини фаоллигини (Menck M.C. et.al., 1998; Nakamura A. et.al, 1998) ёки яшил нур берадиган оксилни (GFP) аниқлашга асосланган. Бу оксилни аниқлаш жуда ҳам осон, аммо унинг экспрессияси фақат ДНК интеграцияси билан чегараланмайди.

Шунинг учун ҳам ижобий ёки салбий хатоликка йўл қўйилиши мумкин.

Трансфикация қилинган ядроларни кўчириб ўтказиш фақат трансген эмбрионларни кўчириш имкониятларини очади, чунки бунда трансген интеграцияси асосида танланган хужайраларнинг ядроси ишлатилади. ТТТу муносабат билан реконструкция қилинган эмбрионларни трансплантация қилишдан кейин олинган ҳар қандай янги туғилган организм трансген бўлади ва трансген эмбрионларни кейинги селекцияси талаб қилинмайди.

Трансфикация қилинган ядроларни кўчириб ўтказиш, геномни махсус қисмига тўғридан-тўғри интеграция қилиш имкониятини берувчи устунликка ҳам эга. Микроинъекция қилинганда трансгенлар геномни ҳар қандай қисмида жойлашиб олишлари мумкин. Натижада улар аҳамиятли генларни бузилишлари, ёки хромосомани трансляция ва транскрипция учун мумкин бўлмаган қисмларида аралашиб кетишлари ва бундан ташқари улар ҳеч қачон таъсирчан бўлмайди.

Иккинчи томондан, микроинъекция ёрдамида тузилган конструкциялар ўзи билан қўшимча ахборот олиб киради ва геномда бор ахборотларни бойитади холос. Агар бирор бир эндоген генларни фаоллигини сусайтиришдек муаммолар мақсад қилиб қўйилса, бундай муаммолар тўғридан-тўғри эмас, балки билвосита ечилади, масалан РНК ёки рибосомалар ёрдамида.

Ретровирусли векторлар. A.W.S.Chan ҳамкасблари билан биргаликда (1998) биринчилардан бўлиб, ретровирусли векторга эга бўлган генни бевосита ооцитга киритиш йўли билан боғлиқ бўлган

трансгенларни ўлчамлари билан чегараланган бўлсаларда, уруғланадиган ҳайвонлар учун айниқса *in vitro* шароитида муқобил усул ҳисобланади.

Экзоген ДНК векторлари сифатида сперматозоидларни ишлатилиши.

Экзоген ДНК векторлари сифатида сперматозоидларни ишлатилиш ҳозиргача ҳар хил мулоҳозаларга сабаб бўлиб келмоқда (Gandolfi F. Et.al. 1998). Кейинги олинган натижалар (Maiore B.et.al., 1998), изланиш учун ягона йўлдан фойдаланилганда ҳам, ҳар хил лабораторияларда (баъзан битта лабораторияда ҳам) бир бирига тўғри келмайдиган фикр мулоҳозалар келиб чиқишига сабаб бўлмоқда.

Сперматозоидлар эркак ҳайвонлардаги трансген олиш учун фойдаланиши мумкин бўлган, ягона эмбрион хужайра эмаслиги аниқланган. 1994 йил Brinster et.al., бир ҳайвондан олиниб, бошқа турдаги ҳайвонга ёки ўша ҳайвонни тухумдонига киритилган спермалар фаолият кўрсатишини кузатган эдилар. Бу эса бошқа ҳайвон тухумдонига кўчириб ўтгунга қадар бу хужайраларга экзоген генларни кўшиш имкониятини яратади. *in situ* шароитида эркак ҳайвонлар муртак хужайраларини линиясини тирик ҳайвонлар тухумдонига бевосита ДНК инъекция қилиш орқали трансформация қилиш мумкинлиги кўзатилган (J.Kim ва бошқалар., 1997). Бу усул сперматозоидларни баъзи бир техник ёки тиббий сабабларга кўра, уруғ тукувчи каналлар орқали ўтказилиши мумкин бўлмаган ҳайвонлар учун ўта муҳимдир.

12.5.1. Ҳар хил турдаги трансген ҳайвонлар яратиш

Дунёдаги кўплаб селекционер олимларни нияти нафақат фойдали-хўжалик кўрсаткичлари яхшиланган ҳайвонларни танлаш балки, генотипларни ўзгариш орқали ўзига ёққан маълум мақсадга йўналтирилган ҳайвон турларини яратиш ҳамдир. Масалан, кимга ёқмайди дейсиз, агар катталиги мушукдай бўлган лилипут туялар уйингизда чопқиллаб юрса...

ДНК ни генетик ахборот ташувчи эканлиги аниқлангунча, рекомбинант техника асослари яратилмагунча (рестриктаза ферменти очилмагунча ва ДНК ни клонлаш усули яратилмагунча) бу хом хаёл кўринар эди ва шундай бўлиб қолган эди. Нисбатан қисқа вақтда геномдан алоҳида ген ажратиб олиш, самарали фаолият кўрсатувчи ген конструкциялари яратиш йўллари ишлаб чиқилди. Кейинроқ бегона генларни реципиент ҳайвонлар геномига киритиш усуллари яратилди. Шундай қилиб, селекционерлар хусусиятлари олдиндан белгилаб қўйилган ҳайвонлар яратиш имкониятларига эга бўлдилар. Ҳар хил генларни қишлоқ-хўжалик ҳайвонларига кўчириб ўтказишдан қўйилган асосий мақсад бир томондан ҳайвонларни ҳосилдорлигини (сут бериш, ёғ ёки гўшт йиғиш, жунларни тез ўстириш, ва х.к.) ошириш бўлса, иккинчи томондан уларни ҳар хил касаликларга чидамлилигини оширишга ҳамда

биологик фаол моддаларни кўплаб синтез қила оладиган ҳайвон-биореакторларни яратишга қаратилган.

12.5.2. Янги, фойдали (хўжалик нуқтаи назаридан) хоссаларга эга бўлган трансген ҳайвонлар

Дастлаб, ген муҳандислигини асосий йўналишларидан бири ҳайвонларни ўсиш тезлигини ошириш, сут бериш имкониятларини ва маҳсулотларини сифатини яхшилашга қаратилган эди.

Ҳайвонларни ўсиши мураккаб жараён бўлиб, генларни таъсирига, озиқланиш шароитларига ва атроф-муҳит таъсирига боғлиқ. Генетик нуқтаи назардан айниқса, оксилларни кодловчи, ўстириш гормонлари тўплами, жумладан ўстириш гормони (УГ), ўстириш гормонининг рилизинг омили (УГ-РФ) ва инсулинга ўхшаш омил (УГ-ИФ) катта қизиқиш уйғотади.

Ўтган асрнинг 40-йилларида гипофиз безидан олинган УГни сигирларни сут беришига таъсири борлиги исботланган эди. Аммо, бу препаратни жуда ҳам қимматлиги учун ҳамда ҳайвонлар гипофизидан кўп миқдорда олишни иложи бўлмаганлиги сабабли, бу препарат кенг қўлланила олмади.

1970 йилларда ген муҳандислигини ривожланиб бориши оқибатида бу препаратни микробиологик синтез орқали ишлаб чиқариш имконияти туғилди. Микробиологик синтез орқали олинган УГ, худди гипофиздан олинганга ўхшаб, лактацияни ҳамда ҳайвонларни ўсишини кучайтириши тасдиқланди. Рекомбинат УГ ни йирик фермаларда ишлатганда (13 мг/кун) сигирларни сут бериши 23-31% га ошганлиги кузатилди. Бу препаратни таъсирини узок муддатга чўзадиган шакллари яратиш усуллари ишлаб чиқилди. Бу препарат ҳайвонларга ҳар 15 кунда ёки 1 ойда юборилади. УГ кўзиларга, улоқчаларга, чўчка болаларига ёки бузоқчаларга ҳар кун юборилганда (инъекция йўли билан), уларни ўртача ўсиши 20-30% га ошганлиги ва ривожланиш бирлигига нисбатан озиқа миқдори камайганлиги кузатилди. Чўчка болаларини ўсиши тўқималарида оксил миқдорини кўпайишига ва ёғ миқдорини камайишига олиб келиши ва шу туфайли маҳсулот сифатини ошганлиги кузатилган.

УГ сақлаган биринчи сичқон 1982 йилда яратилган. Уларда ўсиш тезлиги тўрт маротабага, охирги тирик вазн эса икки маротаба ошганлиги кузатилган. УГ ёрдамида ўсишни тезлаштириш учун чўчкаларни озиқаси одатдагидан кўпроқ оксил (18% гача) ва кўшимча лизин сақлаши лозим. Трансген чўчкаларни кейинги авлодлари юқорида кўрсатилганидек озиқлантирилганда уларни ўртача суткалик вазни 16,5% гача ошганлиги кузатилган (Брем Г. ва бошқалар, 1991). УР ва УР РФ сақлаган трансген кўйларда УР миқдори баландлиги аммо ўсиш тезлиги ошмаганлиги кузатилган.

Кўпчилик олимлар УГ қабул қилинган чўчқаларда ёғ қатлами назоратдаги 18-20 мм ўрнига, трансгенларда 7-8 мм бўлганлиги, трансген қўйларда ҳам ёғ миқдори 25-30% дан 5-7% га тушганлигини кузатганлар.

Трансген линия олиш учун ишлатилган сичқонларда ўсиш маҳсулдорлиги бўйича аввал селекция ишлари олиб борилган. Кўпинча чўчқалар эса шу кўрсаткич бўйича ўн йиллар давомида танланган авлодлардан олинган.

Бундай фикрни тасдиғи сифатида 30 авлод ўсиш тезлиги бўйича селекция қилинган сичқонларни оғирлиги дастлабкисидан икки баробар ошганлигини кўрсатиб ўтиш кифоя. Улар, трансгенларга нисбатан жуда ҳам кам оғирликка эгалар. Айтилганлар асосида бегона УГ ни киритилган сичқонлар селекция қилинмаган сичқонларга нисбатан ўсиш тезлигини бирданига тезлатиб юборар экан деган фикрга келиш мумкин. Чўчқаларни мавжуд популяциясида бунинг тескараси, балки ўсишни генетик потенциали, кўтарилиш потенциалига жуда ҳам яқин бўлганлиги сабабли УГ ёки уни генини киритиш ўсиш тезлигига жуда кам таъсир кўрсатиши мумкин.

Тирик организмларга керакли ген тизимини киритиш орқали маҳсулот сифатини яхшилаш ва уни таркибини ўзгартириш бўйича истиқболли ишлар амалга оширилиши мумкин. Масалан, лактаза ферменти генини қўй, эчки ёки йирик шохли ҳайвонлар геномига киритиш орқали лактозасиз сут берадиган трансген ҳайвон яратиш мумкин. Киритилган ген лактаза ферментини кўплаб ишлаб чиқаради, лактаза лактозани глюкоза ва галактоза парчалайди, оқибатда парҳез сут етиштириш имконияти яратилади.

Ҳайвонларда маститни йўқотадиган антителалар ишлаб чиқарадиган генлардан фойдаланиш ҳам катта истиқболга эгадир.

Юқорида кўрсатиб ўтилганидек, УГ сақлаган трансген ҳайвонлар ҳужайраларида оксил миқдори кўпайиб, ёғ миқдори камаяди. Бу эса олинадиган гўшт маҳсулотларини сифатини тубдан яхшилаш имкониятини яратади.

Маҳсулдорликни ошириш, айниқса маҳсулотларни сифатини яхшилашни молекуляр усуллари келажак зоотехника фанини айниқса, чорвачиликни ривожлантиришда катта аҳамият касб этади.

12.5.3. Касалликларга чидамли бўлган трансген ҳайвонлар

Қишлоқ хўжалик ҳайвонларидан олинадиган маҳсулотларни 10% га яқини йўқотилади. Шунинг учун ҳам касалликларга чидамли бўлган ҳайвон зотларини яратиш селекционерлар олдида турган энг долзарб масалалардан биридир.

Чидамлилиқ-ҳайвонларни муайян микроорганизмлар, вируслар, паразитлар ва токсинларга бўлган мойиллигини белгиловчи меросий генетик боғлиқликдир.

Афсуски, баъзи бир ижобий мисолларни эътиборга олмаганда ҳар хил касаллиликларга чидамли бўлган ҳайвонлар турларини селекция йўли билан яратиш унчалик катта муваффақиятларга олиб келмаган. Масалан, ёввойи ҳайвонлар қони аралашган йирик шохли ҳайвонларни бир қатор қонни касаллантирувчи паразитларга чидамли бўлган популяцияси яратилган. Касаликка чидамлилиқ одатда полиген белгиларга эга бўлади. Мисол учун, йирик шохли ҳайвонларни муайян зотларини трипан касаликка чидамлилигини яратиш, ушбу касалликдан ташқари, иссиққа чидамлилигини оширади ва уларда озика ёки турар жой танламаслик хусусиятларини беради.

Шунинг билан бирга резистентликни алоҳида генларга асосланган механизмлари ҳам бор. Масалан, энди туғилган чўчқа болаларини диарея касаллигига резистентлиги *E.coli* бактериясининг К88 штаммига боғлиқ эканлиги ёки сичқонларни гриппга чидамлилигини кўрсатиб ўтиш мумкин.

Бу воқелик бегона ген сақлаган трансген ҳайвонларни алоҳида касалликларга мойил бўлмаган турларини яратиш учун асос бўлиб хизмат қилган. Юқумли касалликларга нисбатан ҳимоя механизми, касал қўзғатувчисини киришига тўсқинлик қилиш ёки рецепторларни ўзгартириш билан боғлиқ. Касал қўзғатувчиларни организмга кириши ёки уларни кўпайишига тўсқинлик қилувчилар-иммун механизмлари ва гистологик мосликни бош комплексини генларини экспрессияси ёки интерлейкинлар, интерферон, нейропептидлар ва гормонлар каби молекулаларни иммунологик хусусиятидан келиб чиқади.

Резистентлик генларига мисол қилиб, сичқонни M_x генини кўрсатиш мумкин. Барча сут эмизувчиларда модификацияга учраган ҳолда топилган бу ген M_x^+ - сичқонларда грипп А нинг вирусга нисбатан иммунитет ишлаб чиқаради. Бу штамм алоҳида ажратиб олинган, клонлаштирилган ва амалиётда қўлланилган. Хусусан трансген чўчқалар олишда ишлатилган. Бу чўчқалар РНК даражасида M_x генини экспрессия (генетик ахборотни кўриниши) қилишган (Брем Г. ва бошқалар, 1991). Трансген чўчқаларни M_x -оқсил экспрессия қилиши ва бу чўчқаларни грипп вирусига резистентлиги ҳақида маълумотлар ҳозирча чоп этилмаган.

Голландияда мастит касаллигига чидамли трансген ҳайвонлар яратиш устида илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бундай ҳайвонларни сут беги тўқималарида лактоферин гормони миқдори одатдагидан кўпроқ бўлиши аниқланган. Адашган РНК гени сақловчи трансген ҳайвонлар яратиш ҳам катта аҳамиятга эга. Бу РНК ни ҳужайра ичига экспрессия бўлиши, бошқа РНК билан гибридизация бўлишига олиб келади, бу эса вирус геномини репликациясини сусайтириш билан баробар.

Россия академиясининг академиги Т.И.Тихоненко томонидан аденовирусга қарши РНК генини конструкцияси яратилган ва унинг асосида Россиянинг Биотехнология марказида трансген қуёнлар олинган.

Шу гуруҳ олимларни бошқа бир тажрибалари натижасида адашган РНК гени сақлаган трансген ҳайвонларни лейкоз вируси билан

касалантирилганда бу ксалга нисбатан, чидамлилиқ хусусияти пайдо бўлганлиги кузатилган.

Юқумли вирусларга қарши хужайра (тўқима) ичида иммунизация қилиш имкониятлари кўрсатилган. Вирусларни эндоген оқсиллари, айниқса уларни мутант шакллари ўша вирусларга қарши ҳимоя воситаси бўлиб хизмат қила олади. Хусусан, хужайраларига вирус қобиғи оқсиллари киритиш йўли билан товукларни лейкоз касалига қарши чидамли бўлган товук зотлари яратилган.

Юқорида кўрсатилган мисоллар ҳар хил касалликка чидамли бўлган трансген ҳайвонлар яратиш қанчалик истиқболли эканлигига гувоҳлик бера олади.

12.5.4. Трансген техникасидан сут таркибини яхшилаш мақсадида фойдаланиш

Бозорни кенгайтиришни ва сут маҳсулотларини ишлаб чиқариш баҳосини тубдан камайтиришни энг самарали йўлларида бири трансген ҳайвонлар яратиш орқали сут таркибини яхшилашдир.

Генетик селекция туфайли охириги 10-15 йилда сут саноати, сут маҳсулотларини сифатини кўтариш бўйича анча ютуқларга эришилди. Аммо, авлодлар орасидаги вақт узок бўлганлиги сабабли, селекциянинг анъанавий усуллари асосланган янги генетик ютуқлар жуда ҳам секин ўтади. Бу хусусиятларни мерос қолишини жуда ҳам кам бўлиши, улар орасидаги ўзаро муносабатни пастлиги ҳар хил хусусиятга эга бўлган сут маҳсулотлари селекциясини ҳар хил йуналиши орқали олиниши бу усулдан фойдаланишни чегаралаб қўйган.

Сут таркибига ўзгартиришлар киритиш кўпроқ фармацевтика саноати томонидан амалга оширилган. АҚШда йиллик баҳоси 3 млрд доллар қилиб белгиланган сут безидан биореакторлар сифатида фойдаланиш бозори фармацевтика саноати учун жуда катта қизиқиш уйғотган. Бундай биореакторлар ёрдамида сутда бир неча фармацевтика маҳсулотлари синтез қилинган ҳамда сут безини синтез ва секреция қилиш имкониятларидан унумли фойдаланилган.

Сут безидан биореактор сифатида фойдаланишни самарадорлиги шунчалик юқорики, агар тозалаш жараёнини самарадорлиги кам бўлганда ҳам маҳсулот баҳоси бир неча маротаба пасайиши мумкин. Сут безида нафақат фармацевтик оқсиллар балки биологик фаол пептидлар ҳам синтез қилиниши мумкин. Масалан, трансген қуёнлар сут билан, кальций алмашинувини бошқариб турувчи кальцитонин—пептид олинган. Бу пептид остеопорозада ишлатилади. Яқин орада сут безига қўшимча генлар киритилган трансген ҳайвонлар ёрдамида инсон саломатлиги йўлида хизмат қила оладиган биологик фаол моддалар ишлаб чиқарилса ажаб эмас.

Анъанага кўра сутнинг баҳоси, уни сифати сутдаги ёғ миқдори билан белгиланар эди. Бугунги кунда бу муносабат ўзгарган ва эндиликда, сутдаги оксил билан белгиланадиган бўлмоқда. Сут сифатини шунингдек, унинг таркибида бўлмаган ёки кам миқдорда учрайдиган компонентлар қўшиш орқали ҳам ошириш мумкин. Сут таркибида 4 та асосий компонент: ёғ, оксил, лактоза ва транспорт бўладиган компонентлар учрайди. Трансген сичқонлар билан олиб борилган тажрибалар асосида биринчи кундаёқ ишлаб турган саноат талабларига жавоб берадиган ҳамда истеъмолчиларни талабларини қондирадиган ҳолатда сут маҳсулотлари олиш мумкин деган фикрга келинган.

12.5.5. Трансген ҳайвонлар ёрдамида амалга ошириладиган, сут таркибидаги сифат ўзгаришлари

Сут оксили таркибидаги ўзгаришлар. Иқтисод нуктаи назаридан сут таркибида казеинни миқдорини ошириш катта аҳамиятга эга, чунки у сифатли пишлоқ тайёрлаш имкониятини яратади. Пишлоқ ҳосил бўлиш жараёнида казеин ўзига ёғни ва сувни тортиб олади шу туфайли сутни бижғишини тезлатади ва сифатли пишлоқ ҳосил бўлади. Сут безида оксил синтези чегаралаб қўйилган деган фикр бор. Ҳар қандай қўшимча оксил ишлаб чиқариш сутдаги эндоген оксил миқдорини камайишига олиб келади. Мана шу воқеяликдан келиб чиққан ҳолда сут таркибидаги кераксиз оксилларни синтезини секинлаштириш, ҳисобдаги казеин миқдорини оширишга интилиш мумкин. Бу мақсадга С-лактоглобулин тўғри келади. Бу оксил фақатгина кавш қайтарувчи ҳайвонлар сути таркибида бўлиб, сигир сутининг асосий аллергени ҳисобланади. Шунинг учун ҳам сут таркибида уни миқдорини камайиши, сут сифатини яхшилашга хизмат қилади. Муайян генни фаоллигини пасайтириш ёки тўхтатиш мақсадида к-РНК ёки рибосомалар антисенсларидан фойдаланилган (Sokol D.L. ва бошқалар 1996).

Сутдаги лактоза миқдорини камайтириш. Лактоза сут таркибидаги асосий шакар бўлиб, кўпчилик инсонларни ошқозон-ичак фаолиятини бузилишига олиб келади. Баъзи бир инсонларни сут истеъмол қилганда ошқозон димланиши ҳам шу шакар туфайлидир. Лактаза ферменти — дисахарид лактозани иккита моносахарид глюкоза ва галактозага парчалайди. Сут таркибидаги лактоза миқдорини камайтириш мақсадида бир неча саноат усуллари ишлаб чиқилган. Шундай усуллардан бири сутни иммобилизация қилинган лактаза ферменти сақлаган вертикал реакторлардан ўтказишдир. Лактозасиз сут инсон организми учун ҳам фойдали бўлиб, ундан пишлоқ ишлаб — чиқариш самарадорлиги ҳам ошади (Hettinga D.H. 1989 йил).

Бу муаммони трансген технология бир неча йўллар билан ечишга ҳаракат қилган. Биринчидан, бир неча тажрибалар лактозани кам сақлайдиган сут ишлаб чиқаришга асосланган. Бу мақсадда гомологен

рекомбинация орқали а-лактоальбумин танқисли сичқонлар яратилган, чунки бу оксил лактоза синтезида иштирок этадиган компонентлар тўпламидан биридир. Бундай генетик манипуляция натижасида сутида оз миқдорда лактоза сақлайдиган ёки бутунлай сақламайдиган сичқон яратишга эришилди. Аммо бу шакар сут безида осмотик босимни бошқариб туришда алоҳида аҳамиятга эга бўлганлиги сабабли юқори ёпишқоқликка эга бўлган жуда кам миқдорда сут пайдо бўладиган бўлди ва бундай ҳайвонлар ўз болаларини тўйдира олмайдилар.

Яна бир усул сутни *in vitro* ҳолатда лактозасизлантиришдир. Сут бези тўқималарига экспрессия қилиш йўли билан лактоза гидролизга учратилади. Бунда бир йўла икки муаммо ечилади, яъни ҳайвонларни сут бериш имкониятлари камаймайди ва шакарни сутдаги миқдори камаяди, аммо сут безига салбий таъсир кўрсатилмайди (Лоз В. ва бошқалар, 1999).

Сут таркибидаги сифат ўзгаришлари. Сут ўзининг энг муҳим хусусиятлари қатори ҳар хил керакли моддаларни ташувчи вазифасини ҳам бажаради, бу эса унинг озика бирлигини ҳамда функционал хусусиятларини янада кўтаради. Масалан, аёл сутидаги лактоферрин нордон табиатли оксил бўлиб, бактериостатик (бактерияларни ўсишини тўхтатиб қўйиш) хусусиятига эга, ҳамда организмга темирни адсорбциясини кучайтиради. Бу оксил жуда кам миқдорда сигир сутида ҳам учрайди, аммо уни миқдори кўпайтирилганда бир неча ижобий натижаларга олиб келади. Масалан, инсон лактоферринини экспрессия қилувчи трансген сичқон яратилган (Platenburg G.J. ва бошқалар 1994). Бу тажрибаларда лактоферрин темир адсорбциясини кўпайтириши ва авлодларни сақланишини ҳимоя қилиши кузатилган. Бунга сабаб, ҳужайралар орасидаги бўшлиққа жойлашиб олган темирни миқдорини чегаралаб қўяди ва шу туфайли бактерияларни ривожланишини назорат қилади.

Бундай ёндошиш энди туғилган ҳайвонлар учун оддий сут тезроқ ва осонроқ ўтказишга олиб келади. Мана шу хусусиятлардан келиб чиққан ҳолда, инсонни лактофермен генини сақловчи трансген хўкиз яратилган (Krimpenfort P. ва бошқалар, 1991).

Бактериостатик таъсир, бевосита сут безига йўналтирилган ва мастит касаллигини камайтириш хусусиятига эга бўлган бошқа оксил томонидан ҳам кўрсатилиши мумкин. Масалан, лизоцим нафақат бактерияларга қарши таъсирга эга, бу ферментни казеин билан боғланиш хусусиятига сутдан пишлоқ тайёрлашда ҳам кўл келади. Казеинни кўпроқ чўктириш ҳисобидан пишлоқ миқдорини оширади (Мага ва бошқ. 1995). Ўзига хос антитела чиқариш ҳисобидан, чакалоқларда унча катта бўлмаган иммунитет ҳам ҳосил қилса керак деган фикрлар ҳам бор. Трансген сичқонларнинг сутида махсус вирусли омилни нейтрализация қиладиган, юқори титрга эга бўлган, сут безидан махсус иммуноглобулинлар экспрессиясини кучайтира оладиган антителалар олинган.

Шундай қилиб, инсон оксилларни сигир сутига ўтказиш натижасида уни инсон истеъмолига янада яқинроқ, қулайроқ бўлишига олиб келиш мумкин. Ҳайвон сутига инсон лактоферинни, лизоцими ёки иммуноглобулинларни қўшилиши бу соҳада қилинган дастлабки кадамлардир. Шунинг билан бирга бу қўшилишлар даволаш нуқтаи назаридан ҳам катта фойда келтиради. Худди шунингдек ҳайвон организмига уни физиологик фаолиятига ҳеч қандай таъсир кўрсатмасдан ҳайвон оксилларини, инсонникига алмаштириш ҳам мумкин.

Тиббиёт ва технологик жараёнлар учун керакли бўлган физиологик фаол моддалар синтез қилувчи трансген ҳайвонлар.

Трансген ҳайвонлардан биореакторлар сифатида фойдаланиш асосида, ҳайвонларга тиббиёт ёки технологиялар учун керакли бўлган физиологик фаол моддалар синтез қилувчи генларни киритиш ётади.

Авваллари бундай моддалар инсон тўқималари ёки инсон тўқималарининг биологик суюқликларидан, яъни қон (қон ивишини бошқарувчи омил ва қондаги бошқа оксил моддалар) ёки гипофиздан (ўстириш гормони) олинар эди. Инсон тўқималарини тайёрлаш жуда ҳам қиммат ва қийин бўлганлиги сабабли бундай моддалар жуда кам миқдорда ишлаб чиқарилар эди. Бунинг устига инсон тўқималари (қони), инсондаги баъзи-бир касалликларни (гепатит, спид, ва бошқа) донорга ўтказишгача олиб келиши мумкин эди.

Молекуляр генетика фани ютуқларини ишлаб чиқаришга жорий қилинган дастлабки кунларда рекомбинат микроорганизмлар, кейинроқ эса сут эмизувчиларни трансген ҳужайрали линиялари яратилди. Бундай трансген сут эмизувчи ҳайвонлар худди биореакторлар сингари экзоген бошқача қилиб айтганда бегона генлар кодлайдиган оксил табиатли моддаларни ишлаб чиқариш имкониятига эгалар. Бундай тизим фармакология ва тиббиёт учун ўта зарур бўлган- инсулин, инсонни ўстириш гормони, баъзи бир қон ивитадиган омиллар каби биологик фаол моддалар ишлаб чиқариш учун кенг ва муваффақиятли фойдаланилди. Трансген ҳайвонлар биологик фаол моддаларни продуцентлари сифатида микроорганизмлар ёки ҳужайра (тўқима) тизими олдида бир қатор устунликка эгалар.

Сут эмизувчиларни оксиллари трансген микроорганизмлар томонидан синтез қилинганда тўлиқ гликозирланмайди (шакарларни ўзларига улаб олмайдилар), гидрооксилана олмайдилар ёки карбоксиллана олмайдилар. Микроорганизмларни оддий рекомбинат тизимида бундай ишларни амалга ошириш мумкин эмас ёки амалга ошганда ҳам қисман амалга оширилади, ўз навбатида бу эса оксил тузилишини бузилишига ва физиологик фаолликни пасайишига олиб келади. Сут эмизувчиларни ген муҳандислиги ёрдамида яратилган ҳужайраларида пайдо бўладиган оксиллар тўғри ва тўлиғича модификацияга учрашади аммо, культурал ҳужайралардан олинадиган оксилларни умумий миқдори жуда ҳам паст бўлади. Бунини

устига трансген хужайра линиясини яратишни ўзи ўта мураккаб ва қиммат ишдир.

Трансген тўқималар ўстириладиган саноат реакторларини баҳоси ҳам ўта баланд. Трансген ҳайвонларни яратиш қиммат бўлишига қарамасдан, бир маротаба яратилган ҳайвонлар ўзларидан бутун хусусият ва хоссалари авлодига ўхшаган мерос қолдиради, шу туфайли ҳам улардан олинадиган моддалар баҳоси унчалик баҳона бўлмайди, уларни фаолликлари эса баланд бўлади.

Гетероген оксиллар ҳайвон танасидаги кўпгина тўқималардан олиниши мумкин. Структура генларни махсус бошқариш элементлари билан бирлаштириб, трансгенлар экспрессиясини муайян органда тўплаш мумкин бўлади. Трансген биореакторлар ёрдамида ишлаб чиқариш сут безининг эпителиал хужайрасига мақсадли йўналтирилган трансген экспрессия орқали сут билан оксил ишлаб-чиқаришда энг катта муваффақиятларга эришилган.

Сут оксилсини синтези учун жавобгар генни промотори билан ўралган структура гени биринчи навбатда сут безининг хужайраларига экспрессия қилинади. Сут билан гетероген оксил синтез қилувчи трансген ҳайвонлар яратишнинг асосий босқичларидан бири экспрессияни сут безининг секретациясида иштирок этувчи эпителиясига йўналтирувчи промоторни аниқлашдан иборатдир. Ҳозирги вақтда aSI—казеинни промотори, P-казеин, а—лактоальбумин ва зардобни нордон оксили (WAP) промоторлари ажратиб олинган.

Сут безини бегона оксил синтези учун ишлатилиши унинг оксил синтези бўйича юқори ҳосилдорлиги билан асосланади. Эндоген сут оксилларнинг умумий қонцентрацияси турга қараб 2% дан 6% гача ташкил қилади (жадвал), демак 1 литр сутда 20 дан 100 грамгача оксил сақланади. Ҳозирча 1 л сутда кўрсатилган микдорда рекомбинат оксил олиш мумкин бўлмасда шунча микдор сутдан бир ёки ундан кўпроқ фармацевтика нуктаи назаридан аҳамиятли оксил ажратиб олиш тижорат учун етарли ҳисобланади.

Ҳар хил турдаги ҳайвонлар сутдаги оксил микдори

Ҳайвон тури	Сутдаги оксилнинг ўртача микдори, %
Сигир	3.3.
Эчки	3.7
Қўй	5.8
От	2,2
Чўчка	4,9
Ит	7,1
Қуён	10,4

Трансген ҳайвонлар сутидан олинган рекомбинат оксиллардан қўйидагилар маълум: инсонни С —оксили, гемофилга қарши омил IX, альфа-1-антитрипсин, тўқималарни плазминогенли активатори, лактоферрин, инсонни зардоб альбумини, интерлейкин —2, урокиназа ва

химозин альфа-1-антитрипсин ва химозиндан ташқари рекомбинант оксиллар олиш тижорат нуқтаи назаридан қизиқиш уйғотадиган босқичдан ўтганича йўқ. Инсонни рекомбинант альфа-1-антитрипсини ва химозин олиш усуллари ҳозирнинг ўзидаёқ тижорат босқичидан ўтган.

Буюк Британиянинг Эдинбург шаҳрида фаолият кўрсатаётган бир гуруҳ олимлар 1992 йилда инсон альфа-1-антитрипсин гени ва беттаглобулин промотори сақловчи трансген қўй яратишга эришган эдилар.

Бу олимлар яратган тўртта қўй сутидан бу оксил миқдори 1 литрга 1 гр, битта қўйда эса аввалига 60 г/л, кейинроқ бу кўрсаткич 35 г/л га тушиб, шу ҳолда узок муддат сақланган ва у сут таркибидаги барча оксилларни ярмини ташкил этган. Яратилган барча қўйлар соғлом бўлиб, лактацияда ҳеч қандай ўзгариш кузатилмаган. Оксил миқдори шундай бўлган ҳар бир қўй сутидан йилига 10 кг гача фармацевтика ва тиббиёт учун зарур бўлган оксил ишлаб чиқариш мумкин, бу эса ўпка эмфиземаси билан оғриган 50 та касални даволашга етади. Москва шаҳридаги бир гуруҳ олимлар: Л.К.Эрнест, Г.Брем., М.И. Прокофьев, И.Л. Гольдман ва бошқалар 1 л сут таркибида 200-300 мг химозин ферменти сақловчи трансген қўй яратишга эришдилар. Пишлоқ ишлаб чиқаришда асосий компонентлардан бири бўлган химозинни мана шу йўл билан ишлаб — чиқаришни йўлга қўйилганда, у бузоқ ва кўзичоқларни ширдон сувидан олинадиган ферментни ўрнини босади, бу эса анъанавий усулдан 5—10 маротаба арзонга тушади.

Фармакологик оксилларни ишлаб чиқаришга бўлган қизиқиш энг аввало иқтисодий фойда келтириш билан боғлиқ. Трансген ҳайвонлардан фойдаланиб, фармакологик оксилларни ишлаб чиқариш баҳоси ген муҳандислиги ёрдамида яратилган микроорганизмлар ва сут эмизувчилар ҳужайраларини рекомбинат линиялари ёрдамида олинганига қараганда 100-1000 маротаба арзонроқ тушади.

Дунёни нуфузли компания ва фирмаларида фармакологик фаол оксил табиатли моддаларни трансген ҳайвонлар ёрдамида ишлаб чиқаришни йўлга қўйиш устида илмий изланишлар олиб борилмоқда. Шундай фирмалардан Джинзайм (АҚШ), ППЛ Терапевтике (Англия -АҲН), Ред. Кросс (АҚШ) Фарминт (Голландия) ва бошқалар. Фармацевтика фирмаларни буюртмалари бўйича АҚШни Инфиген фирмаси сутицар фарм препаратлар сақлаган трансген ҳайвонлар яратиш устида ишлайди.

Россияни Биотехмарказида ҳам охириги 10 йилда трансген ҳайвонлар яратиш устида ишлар олиб борилмоқда. Ҳозиргача трансген куён, қўй, эчки яратишган. Бу марказда охириги йилларда сутида қимматбаҳо онкология ва кардиологияда ишлатиладиган доривор моддалар сақланган, трансген ҳайвонлар яратиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда. Трансген куёнлар ишлатилганда 10—12 ой мобайнида клиник текширувларга етарли миқдорда доривор модда йиғиб олиш имконияти бор.

Сутида рак (химиотерапия ва радиотерапиядан кейин) иликни кўчириб ўтказганда (ҳамда СПИД билан оғриган ўткир лейкопия (окқонлик) касалликларида ишлатиладиган гранулоцитлар колония стимуляция қиладиган омил сақловчи трансген куён олинган.

Бундай препаратни гликозилланмаган шакли чиқарилади. Унинг бир даволаш курсини (5-7 мг) баҳоси 2,5-4,0 минг доллар. Ҳозирча бу оксилни самаралироқ бўлган, яъни гликозилланган шаклини тайёрлаш йўлга қўйилмаган. Трансген ҳайвонлардан фойдаланилганда препаратни ҳам самарадорлигини ошириш ҳам уни баҳосини 10 маротабага камайтириш мумкинлиги ҳақида тахмин қилинмоқда.

Сутда инсон қон зардобининг альбумини сақлаган йирик шохли ҳайвонлар, хусусан, трансген сигир яратиш устида ишлар тезкорлик билан олиб борилмоқда. Бунга сабаб бу препаратга бўлган талаб жуда ҳам катта дунё бўйича 100 тоннани ташкил этади. Шунча препарат олиш учун 5400 та трансген сигир керак бўлади. Фақатгина Россия бозорида бу препаратга талаб йилига 1 млрд. долларни ташкил этади.

Сутида моноклонал антителалар сақловчи трансген ҳайвонлар тайёрлаш дастури тайёрланмоқда. Моноклонал антителалар технологиясидан фойдаланиб, организмдаги қатор энг муҳим биологик жараёнларни бошқариш, ҳар хил касал кўзғатувчиларни иштирокини аниқлаш, организмни муайян гуруҳ ҳужайраларига жумладан, рак ҳужайраларига танлаб таъсир этиш мумкин. Бундай тизимни қўйилиши рак касалликларини даволашда инқилобий рол ўйнашга ният қилинмоқда.

Инсонга кўчириб ўтказиш мақсадида, трансген ҳайвонлардан органлар донори сифатида фойдаланиш бўйича ишлар олиб борилмоқда. Керакли ген конструкциялари ҳайвон муртагига ўтказиш орқали, одамга трансплантация қилинган ножинс тўқималар ва аъзоларни битиб кетмаслиги хавфни камайтирилган трансген ҳайвонлар яратиш мумкин. Олимларни фикрларича, биринчи босқичда бу технология кандли диабет касаллигини даволашда ишлатилиши мумкин. Бунда, касалга Лангенгарс оролчалари тўқималари (Р~ҳужайралар) кўчириб ўтказилади ва ўтказилган тўқималар ўз-ўзидан кўпайиб, ошқозон ости безини фаолиятини бажаради.

Трансген ҳайвонлар яратган кўпчилик олимлар, яратилган ҳайвон саломатлигида қандайдир ўзгаришлар бўлишини кузатганлар. Шуни ҳам айтиб ўтиш лозимки, трансген ҳайвонлар ҳамиша назорат остида бўладилар ва озгина ўзгаришлар сезилган ҳайвонлар кейинги кўпайишига қўйилмайди. Шунинг учун ҳам бундай ўзгаришларни кузатилиши трансген ҳайвонлардан мерос олиш учун унчалик хавф туғдирмайди.

Америкалик олимларни фикрларича (Pursel ва бошқалар, 1990) ўстириш гормони гени ўтказилган трансген чўчқада баъзи бир ўзгаришлар, жумладан уларни ўсиш назорат қиладиган озика моддаларни самарасини ошиши, танасидаги ёғ миқдорини камайтириши ва х.к. ҳайвонларда оксоқлик ва ошқозонида яра пайдо бўлишига: глюкоза метаболизимини бузилиши, бошқа ўзгаришларга олиб келиши мумкин. Улар бундай ўзгаришларни

трансген хайвон қонига сўрилган ўстириш гормонини таъсири натижаси деб тахмин қилганлар.

Ҳар хил трансген хайвонларда меъёрдан ташқарига чиқадиган ўзгаришлар бўлиши ёки бўлмаслиги ҳақида бир-бирларига қарама-қарши фикрлар айтилган. Шундай бўлиши ҳам ўринли, чунки бундай изланишлар бошланганига ҳозирча кўп вақт бўлганича йўқ, буни устига ҳар хил илмий лабораторияларни имкониятлари турличадир.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ.

1. Ҳайвонларни кўпайишини эндокрин назоратини тушунтириб беринг?
2. Гонадотропинлар нима ва уларни вазифалари нималардан иборат?
3. Сперматозоидларни капацитацияси нима?
4. Эмбрионларни кўчириб ўтказиш ва химерли хайвонларни олинишини изоҳланг.
5. Ҳайвонларни клонлашни изоҳлаб беринг.
6. Трансген хайвонлар ёрдамида сут таркибини ўзгартириш механизмини тушунтириб беринг.

АДАБИЁТЛАР

1. Прокофьев М.И. Регуляция размножения сельскохозяйственных животных. -Л. Наука 1983.
2. Прокофьев М.И. Достижения и использование эмбриологии в животноводстве. Международный сельскохозяйственный журнал. № 3. -С. 43-50, 1987.
3. Прокофьев М.И. Регуляция воспроизводства крупного рогатого скота. -М. Московский рабочий. 1989.
4. Мирошниченко О.И. и др. Получение трансгенных кроликов геном ас-РНК против ЕІА области аденовируса AS. Доклады ВАСХНИЛ, 1988, №5, -С.31-37.
5. Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных. - М. ВО «Агропромиздат» 1988.
6. Шевелуха В.С. и др. «Сельскохозяйственная биотехнология» -М. Изд. «Высшая школа», -С.469., 2003 .
7. Эрнест Л.К., Прокофьев М.И. Биотехнология сельскохозяйственных животных. -М. Колос, 1995
8. Лагутина И.С. и др. Влияние возраста клеток-доноров ядер на эффективность развития клонированных эмбрионов кроликов. Онтогенез, Т.32. № 2. -С. 130-139..2001 .
9. Лагутина И.С. и др. Исследование влияния омилов, влияющих на эффективность электрослияния энуклеированных яйцеклеток с клетками донорами. Онтогенез, Т.33.№2., -С.100-106. 2002.
- 10.Erust L.K. et.al. Transgenic rabbits with antisense RNA gene targeted a adenovirus AS.. Theriogenology, -С. 37, 8, 1311-1316., 1992.

13. ВЕТЕРИНАР ТИББИЁТДА БИОТЕХНОЛОГИЯ

Ҳайвонлар орасида ҳар-хил касаллик тарқалиши қатор факторлар билан боғлиқ бўлиши, улар орасида эса мамлакатга хориждан келтирадиган озиқа маҳсулотларини сифати ҳам сабаб бўлиши мумкин. Озиқ-овқат ва ҳайвонлардан олинадиган барча маҳсулотлар мамлакатга киришдан олдин давлат чегара назоратидан ўтказилади. Уни чегара ветеринар назорат пункти аэропортда, темир йўл вокзалларида, автомобил йўлларида амалга оширмақлари лозим. Ўзбекистонда қатор Европа мамлакатларида содир бўлиб турган эпизоотия касалликлари ҳозирча учрамаган бўлсада, бундай касалликларни келиб чиқиши сабалари чуқур ўрганишни ва энг аввало ҳар хил хавфли касалликларга ўз вақтида ташхиз қўйишни талаб қилади.

Ветеринария – санитария қоидаларига асосан Ўзбекистонга киритиладиган озиқа моддалари ва озиқага қўшиладиган қўшимчалар фақатгина шу маҳсулотларни ишлаб чиқаришга, уларни экспорт қилувчи мамлакатларни марказий давлат хизмати томонидан рухсат этилган корхоналарда ишлаб чиқарилиши ва доимий равишда уларни назоратида бўлиши керак.

Охирги йилларда Европанинг энг ривожланган мамлакатларида содир бўлаётган, ўта хавфли, йирик шохли ҳайвонларга қирғин солган лабсимон энцефалопатия касаллиги ҳақида фикр қилмоқчимиз. Бу касаллик прион табиатли касалликларга киради. Прионлар одам ва ҳайвон бош миясида нейродегенератив ўзгаришлар чақиради. Энг хавфли томонларидан бири – бу касаллик жуда узок муддатли инкубацион даврга эга бўлиб, (баъзида 30 йилгача), секин ўтади, баъзан, шамоллаш белгилари билан бошланиб, жавоби бўлмаган ҳамда фақат ўлим билан тугайдиган касалликлар сафида туради. Бу касаллик Буюк Британияда эпидемияга айланиб кетиб, миллионлаб ҳайвонларни ўлимига сабаб бўлганлиги ва бу эпидемия бир неча бор қайтарилаётганлиги ташвишли ҳолдир.

Шунинг учун ҳам бу касалликни мамлакатга кириб келишини олдини олиш мақсадида Россия 1989 йилдан бошлаб Буюк Британиядан гўшт маҳсулотлари (консерва, қорамол сут маҳсулотлари, тирик қорамол, сперма, эмбрионлар, гўшт ва гўшт суяк уни ва бошқа озиқалар) ни харид қилиш таъқиқлаб қўйилган. Мол гўштини Европада ҳамкорлик мамлакатларидан реэкспорт қилиш ҳам ман этилган. Юқумли касалликларга қарши курашни энг асосий йўлларида бири- бу вакцинациядир. Бошма-бош вакцинация қилиш орқали оспа бутунлай йўқотилган, қутуриш, яшур ва бошқа касалликлар кескин қисқарган. Ўз вақтида вакцинация ўтказиш катта иқтисодий самара беради. Анъанавий вакцина препаратлари кучсизланган ёки бутунлай фаолиятини йўқотган касал қўзғатувчилар асосида, ҳар хил озиқа муҳитида купайтириш асосида, аниқ бўлган ёки янги яратилган технологиялар асосида ишлаб-чиқарилади.

Замонавий биотехнология кўплаб вакциналар вариантларини ишлаб чиқаришни режалаштирган, аммо улар орасида катта қизиқиш уйғотадиганлари: рекомбинат вакциналар ва вакцина антигенлардир. Ҳар иккала вакциналар ҳам ген-муҳандислик усулларида фойдаланиб яратилади. Рекомбинант вакциналар тайёрлаш учун одатда яхши ўрганилган қорамолларда оспа чақирадиган вирусдан фойдаланилади (оспа вакциналар). Оспа вирусининг ДНК сига ҳар хил касалликни чақирадиганларга қарши иммуноген оксиллар кодловчи бегона генлар киритилади: грипп вирусининг гемагмутинини ва герпес вирусининг генкопротеин Д, гепатит В вирусининг сиртқи антигени, молярия антигени ва бошқа йўллар орқали олинган вакциналарни устунлик томони шундаки, ДНК участкаларини бирлаштириш асосида, ҳар хил патогенларга қарши поливалент препаратлар яратиш мумкин. Бу эса ҳайвонларни бир вақтни ўзида ўша регионга хос бўлган кўплаб юқумли ва хавфли касалликларга қарши эмлаш имкониятини беради.

Вакцина антигенлар касал кўзгатувчиларни генини *E.coli*га, ачитқиларга, ҳашоратлар ёки сут эмизувчилар тўқималарига клонлаш орқали тайёрланади. Ҳозирги вақтда гепатитнинг HBS – вирусини сиртқи антигени (зардоб гепатити), яшур вируси қобиғидаги оксил VPI – генлари клонланган. Яшур вируси бир неча серотип ҳолатида учрайди. Оксил муҳандислиги усуллари ёрдамида бир оксил антигени доирасида ҳар хил серотипларнинг иммуноген компоентларини тузилиши мумкин.

Вакцина антигенлар сақлаш ва ташишга чидамли, ишлатилиши нисбатан содда, жуда кам миқдорда оксил сақлагани учун аллергенлик хусусияти ҳам ўта паст, инфекцион касаллик чақирмайди. Аммо, ҳозирча уларни иммуногенлиги пастлиги учун фойдаланишда бироз муомма пайдо бўлиб турибди. Бунга сабаб, вакцина касал кўзгатувчини иммунитет ҳосил қилиш учун зарур бўлган барча компоентларини сақламаслигидир. Масалан, вирус хужайрани тарк этаётиб, кўпинча уни мембранасига «ўраниб» олади. Мана шу мембрананинг ген муҳандислиги йўли билан олинган оксилда йўқ бўлган компоентлари, иммуноген ҳоссаларга эга бўлишлари мумкин. Вакцин-антигенларни иммуногенлигини кўтаришни, вакциналарни иммобилизация қилиш, ёки уларни липосомаларга киритиш, уларга адъювантлар (муътадиллаштирувчи моддалар) қўшиш орқали амалга ошириш мумкин.

Биотехнологик изланишларни кўп йўналишлари тиббиёт ва ветеринария муоммоларини ечиш билан боғлиқ. Олимлар янги авлод антибиотикларини яратиш устида тинмай меҳнат қилмоқдалар. Бунга сабаб, ҳозир ишлатилиб келаётган антибиотикларга кўпчилик касал кўзгатувчи микроорганизмларни ўрганиб қолганлиги, уларни заҳарлилиги, баъзи бирларини аллергенлик хусусияти ва бошқа камчиликларидир.

Бу муаммони ечишда қуйидаги йўналишларда изланишлар олиб борилиши лозим:

- янги продуцентларни синаб кўриш, катта миқдорда антимикроб агентлар синтез қиладиган микроорганизмларни танлаш ва ўрганиш;
- антибиотикларни заҳарлилигини пасайтириш мақсадида уларни кимёвий модификация қилиш (масалан, узоқ вақтлардан буён оғир микозга қариш ишлатилиб келинаётган амфотерицин В, буйрукда қайтариб бўлмайдиган бузилишлар чақиритиш аниқланган, амфотерицинни метил эфири камроқ токсинликка эга бўлиши билан бирга замбуругга қариш хусусиятини йўқотмаган; пенициллинлар ва цефалоспоринларни ҳар хил иммобилизация қилинган ферментлар ёрдамида модификация қилинган, ўзларидан фаолроқ ҳосилалари олинган).
- антибиотикларни молекулаларини ташиқил қиладиган алоҳида фрагментларни синтез қилмайдиган мутант штаммларни олиш ва уларни ишлатиш, бундан фрагментларни аналоглари (ёки антибиотикларни аналоглари) озиқа муҳити таркибига киритилади, микроорганизмлар бу аналогларни биосинтез учун ишлатади, оқибатда модификация қилинган антибиотиклар синтез бўлади;
- ген муҳандислик усулларини ишлари микроорганизм геномига антибиотикларни модификация қилишда қатнашадиган ферментлар ҳақида ахборот киритиш, масалан: антибиотикларга метил гуруҳи киритиш учун метилаза ферменти керак бўлади ва х.к;
- ҳужайра муҳандислиги усулларида фойдаланиб, гибрид антибиотиклар яратиш; (масалан шакарлар агликонини янги комбинациялари) ва х.к.

Маълум бўлган антибиотикларни биосинтезини самарадорлигини кўтариш ҳам биотехнология фанининг долзарб масалаларидан биридир. Олимлар ва мутахассисларни продуцент штаммларни индуцирланган мутагенез ва кўп босқичли танлаш бўйича олиб борган изланишлари яхши натижаларга олиб келган. Масалан, пенициллин синтез қилувчи *Penicillium* ни штаммининг самарадорлиги юз маротабадан кўпроқ оширилган. Антибиотиклар биосинтезида «муаммолик жойларни» генларини клонлаш ёки биосинтетик ферментларни ягона оперонда кодлашган мумкинлиги маълум маънода истиқболлар очади.

Истиқболли йўналишлардан яна бири антибиотикларни капсулаланган ҳолатда ишлаб-чиқариш, уларни липосомал шакллари уларни организмни керакли қисмига етказди ва ўша жойда ўз таъсирини кўрсатади, демак уларни иккинчи даражали таъсири камаяди ва самарадорлиги ошади. Бундай ишланмалар бошқа доривор моддалар учун ҳам фойдалидир. Масалан, калазар – лейшманиялар чақирадиган касаллик бўлиб, уни даволашда ўта заҳарли бўлган сурьма препаратлари ишлатилади. Бу

препаратларни даволаш миқдори (дозаси) инсон ҳаёти учун заҳарли. Липосома таркибига киритилган сурьма тўғридан-тўғри касалланган органларга қораталоқ ва жигарга олиб келинади, шу туфайли одатдагидан камроқ миқдорда (дозада) бўлсада, самаралироқ таъсир кўрсатади.

Антибиотиклар ўрнига инсон организмига уларни продуцентлари – касаллик қўзғатувчисининг антогонистлари юборилиши мумкин. Бундай усуллар М.И.Мечников ишларидан бошланган бўлиб, у йиринг чақирувчи микробларга қарши сут ачитувчи бактериялардан биринчи бўлиб фойдаланган эди. Тишларни кориесини келиб чиқишидан оғиз бўшлиғида яшовчи бактерия *S.mutans* катта рол ўйнайди, уни оғизга киритилганда ўзидан коррозив кислоталар чиқаради ва шу туфайли ёввойи штаммларни сиқиб чиқаради.

Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, чорвачиликни ривожлантиришда қишлоқ хўжалик ҳайвонлари орасида кўплаб учрайдиган юқумли касалликларни олдини олиш, бу мақсадда тирик рекомбинант вакциналар ва ген муҳандислик усуллари билан яратилган вакцин – антигенлардан, фойдаланиш, бундай касалликларни моноклонал антителалар ва ДНК РНК – проба орқали эрта диагностика қилиш катта аҳамиятга эга.

Ҳайвонларни маҳсулдорлигини ошириш мақсадида ҳозирги вақтда микробиология саноати замбуруғлар, бактериялар, ачиткилар ва сув ўтлари асосида қимматли озиқалар ишлаб чиқармоқда. Бир ҳужайралиларни юқори миқдорда оқсил сақловчи биомассаси қишлоқ хўжалиги ҳайвонлари организмида яхши сўрилади. Масалан, 1 т ачитқи озиқаси – 400-600 кг чўчка гўшти, 1500 кг гача парранда гўшти, 25-30 минг дона тухум бериши ва 5-7 тонна буғдойни иқтисод қилиш имконини яратади. Буни жуда катта аҳамияти бор, чунки бутун дунёда 30 % қишлоқ хўжалик майдони ҳайвонлар ва паррандаларга озиқа етказишга ажратилган.

Озиқ-овқат саноатида, озиқа маҳсулотларини қайта ишлаш ва сақлашни янги усуллари яратиш, озиқа қўшимчалари олиш (масалан, микроорганизмлар синтез қиладиган биополимерлар, аминокислоталар, хушбўй ҳид ва таъм берадиган моддалар), бир ҳужайраликлар синтез қиладиган оқсиллардан фойдаланиш ва озиқа маҳсулотларини қайта ишлашда ферментлардан фойдаланиш ва х.к. иқтисодиётни кўтаришга хизмат қиладиган қўшимча омиллардир.

Шунингдек, диагностикани такомиллаштириш учун ферментлардан фойдаланиш, мураккаб дори-дармонлар яратишда ферментлардан фойдаланиш (масалан, стероидлар), янги антибиотиклар синтез қилиш ва улардан ҳайвонларни юқумли патологиясида фойдаланиш ҳам катта фойда келтирадиган соҳалардир.

Ҳозирги вақтда тобора кенгайиб бораётган ветеринария тиббиётида вакциналардан фойдаланиш, уларни ген муҳандислиги усуллари асосида замонавий шаклда рақобатбардош қилиб чиқаришни саноат асосида йўлга қўйиш ҳам катта аҳамият касб этадиган биотехнологик жараёнлардан

биридир. Аммо, бу усулни ишлатилиши қуйидаги сабабга кўра мураккаблашган: маълумки, ҳар қандай типдаги антигенли деатамаантларни иммуногенлик активлиги қанчалик намоён бўлиши учун уларни антитела билан ўзаро таъсирини кўп ёки камлигини белгилаб берувчи омил антитела томонига қараган сиртқи қисми ҳисобланади. Бошқача қилиб айтганда вирус оқсилларини иммуногенлик ва антигенлик хоссалари уларни иккиламчи, учламчи ва тўртламчи структураларига боғлиқдир. Айни мана шу далил субъекдиницаларни иммунлик фаолияти камроқ бўлишига асосий сабабдир, чунки субъекдиницаларда энг керакли антиген деатамаантлар жойлашган бўлади.

Яқинларгача, вирус ва бактерияларни юзали оқсилларини синтез қилишни энг афзал йўли микробиологик синтез деб ҳисобланар эди. Шу йўл билан ўзига хос мувоффақиятларга ҳам эришилди (Рекомбинант ДНК олишни кўзда тутилмоқда). Вирус генларини бактерияга экспрессия қилинди (гемагглютинин, грипп, яшур ва бошқа вируслар оқсиллари).

Аммо, бактериал хужайраларнинг рекомбинантли плазмидаларида синтез бўладиган қобикли оқсилларни бирортаси ҳам субъекдиница типдаги вакцина бўла олмади. Шундай бўлишига шубҳа билан қарайдиган олимлар сони ошиб бормоқда. Бу бактериал тизимда синтез бўладиган вирус оқсиллари ўзларининг иммуногенлик хусусиятлари ва маҳсулотни миқдори бўйича эукариот организмларда ўтадиган синтез олдида самарасиз эканлиги билан тушунтирилади. Бугунги кунда яшурга қарши синтез қилинган, табиатан олигопептид бўлган вакцина кенг қўлланилиб келинмоқда. Бундай вакциналар умуман хавфсиздир. Улар иккинчи даражали таъсирга эга эмаслар, фақатгина уларни ишлаб чиқариш баҳоси жуда ҳам қиммат. Шуларни ҳисобга олган ҳолда вирусларни бир неча хиллари ва серотипларига нисбатан полиантигенли деатамаантларни ген муҳандислик йўли билан синтез қилиш истиқболлироқ кўринади. Антиген деатамаантлар уларни ташувчи оқсил молекуласига антитела билан учрашуви таъминланадиган ҳолатда жойлашишлари керак. Бу вазифа бажарилиши қийин бўлмаган вазифалар сирасига кириб, у оқсил молекуласини эриган ҳолатида иккиламчи ва учламчи структураларини аниқлаш усуллари орқали ечилади. Бундай ҳолатда оқсилларни иммуногенлик активлиги, уларни мултимер агрегатлар ҳосил қилиш имкониятлари билан боғлиқ бўлмайди. Оқсилларни иммуноген хусусияти албатта уларни бирламчи структураси билан аниқланган бўлади. Шундай бўлганда, ген-муҳандислиги усуллари ёрдамида ишлаб-чиқарилиши бошлаб юборилган иккинчи авлод вакциналарни микроорганизмлар тизимида ҳам тайёрлашни йўлга қўйиш технология нуқтаи назаридан мумкин бўлиб қолади.

Фақат мана шу йўналиш билан сунъий вакциналар яратиш имкониятлари чегараланиб қолмайди. Вирусларни нейтрализация қилувчи антителаларни пайдо бўлиши учун жавобгар антиген деатамаантлар кўпчилик вирусларда бирламчи структураси ўзгарувчанликга молик

бўлган оксилларни муайян қисмларида жойлашган бўлади. Шунинг учун ҳам вируснинг бир серотипига қарши тайёрланган вакцина, шу турга мансуб бўлган, аммо бошқа серотипли вируслардан яхши ҳимоя қилаолмайди.

Аммо, ҳайвонларни оксилни ўзгармайдиган қисми билан иммунизация қилинганда, организмда оксилни кам ўзгарувчан қисмига қарши антитела ҳосил бўлади. Бундан фарқли ўлароқ бутун вирус ёки антиген деатамаантлар сақловчи, ажратиб олинган оксил билан иммунизация қилинганда бундай ҳодиса кузатилмайди. Бу феноменни механизми ҳозирча номаълум. Бу жараёни механизмини очилиши кенгроқ таъсир спектрига эга бўлган вакциналар яратилишига хизмат қилса ажаб эмас. Гриппнинг А ва В вируси қобиғида жойлашган оксилнинг консерватив (ўзгармайдиган) участкаларига қарши антитела шу серотипларни барчасини нейтрализация қилаолади. Мана шу технологияни йўлга қўйилиши кенг таъсир спектрига эга бўлган вирусга қарши вакциналар яратилишига олиб келади деган фикрлар мавжуд.

Оксил молекуласида иммуноген бўлмаган участкаларни борлигини тушунтирувчи умумий назария ҳамда «жим турган» аммо «гапиришга» имконияти бор участкаларни иммуногенлигини оширувчи бир қатор тадбирлар ишлаб чиқилган ҳозирги вақтда ҳайвонларни бир қатор юқумли касалликларини (яшур, қутуриш, ичкетиш ва бошқа вирусли касалликлари) олдини олувчи ген-муҳандислик вакциналари яратилган. Шунингдек бактериялар чақирадиган инфекцияга қарши препаратлар ҳам ишлаб чиқарилмоқда. Масалан, АҚШда стафилококклар учун захарли бўлган оксил топилган. Маълумки, стафилококклар йирик шохли ҳайвонларда мастит (сут безларини шишиши) чақирадилар. Лаборатория текширувлар бу оксил бир неча минут орасида таъсир қилиш ҳамда антибиотикларга чидамли бўлиб қолган ҳужайраларни ўлдиришини кўрсатган. Келажакда, кўп валентлик ген-муҳандислик вакциналарни яратиш ва ишлаб-чиқиш, кўп маънода шу йўл билан хусусиятлари олдиндан белгиланган оксиллар яратиш муаммоларини ечишдек фундаментал тадқиқотларни натижаси сифатида амалга оширилиши мумкин.

Касал қўзғатувчиларни молекуляр гибридизация усуллари орқали аниқлашда рекомбинант ДНК дан фойдаланиш мумкин. Бу усул юқумли касалликларни тез ва аниқ диагностика қилиш, шу касални ташувчи ҳайвонларни аниқлаш имкониятини яратади. Бу усул асосида радиактив моддалар ёки биочиплар билан белгиланган (мечонный) ДНК зондларини ишлатиш, кейин зондларни касаллик қўзғатувчисини олиб ҳайвон тўқималарини нусхалари билан гибридизация қилиш ётади. Бу усул айниқса бекилган (аниқ бўлмаган) инфекцияларни хламидиозлар, секин инфекциялар ва х.к. аниқлаш учун жуда бебаходир. ДНК асосидаги молекуляр зондлардан фойдаланиш хусусиятлари бир-бирларига яқин

бўлган юқумли касалликлари кўзғатувчиларини аниқлаш имкониятини яратади.

Тиббиётдаги каби, ветеринария фанида ҳам авлоддан мерос ўтадиган касалликларни даволашда ген-терапия усулларида фойдаланиш истиқболлари бор. Қимматбаҳо ҳайвонларни геномини сунъий ўзгартириш албатта амалга оширилмоғи лозим. Бундай технологияни принципиал чизмалари ҳозирги вақтда тиббиётда синаб кўрилмоқда. Маълум миқдордаги соғлом тўқималарни (геномли соғлом) кўчириб ўтказиш ижобий натижаларга олиб келиши муқаррар. Бундай шароитлар ҳозирги вақтда тиббиётда текширилиб, синовлардан ўтказилмоқда. Шунинг билан бир қаторда олимлар ва мутахассислар олдида ҳайвонларда трангенот технологиясини такомиллаштириш, генетик чидамли ҳайвонлар яратиш ва уларни ҳар хил инфекцион касалликларга юқори даражада чидамли бўлган турларини яратишдек улкан вазифалар турибди.

Шундай қилиб, ветеринар тиббиётда биотехнологиядан энг аввало генетик муҳандислик усулларида кенг фойдаланишни биқиёс имкониятлари ётибди. Бундан бош мақсад чорвачиликни санитария аҳволини яхшилаш, инсон ҳаёти учун хавф туғдирмайдиган чорва маҳсулотлари яратишдир.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ.

1. Мамлакатларга хориждан кириб келаётган озиқа моддаларига қўйиладиган талаблар ва уларни кириб келиши учун ветеринария – санитария қоидалари нималардан иборат?
2. Ветеринария муаммоларини ечишда қандай биотехнологик изланишлар олиб бориш керак?
3. Ветеринарияда ишлатиладиган антибиотиклар ўрнини босувчи моддалар тайёрлашда М.И.Мечников ишларига изоҳ беринг?

АДАБИЁТЛАР

1. Баев А.А. – Биотехнология. М., Наука, 1984.
2. Беккер М.Е. – Введение в биотехнологию. М., Пищевая промышленность, 1978
3. Бич Г., Бест Д., Брайерли К и др. Биотехнология, Принципом приложения. М., Мир, 1988.
4. Варфаломеев С.Д., Калюжный С.В. Биотехнология: Кинетические основы микробиологических процессов М., Высшая школа, 1990.
5. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология. М., Изд-во МГУ, 1989.
6. Еликов П.П. Основы биотехнологии. Санкт-Петербург. Иф. «Наука», 1995.

7. Давранов К, Хўжамшукуров Н. Умумий ва техник микробиология. Тошкент изд.-во ТашГАУ, 2004.
8. Кантере В.М. Теоритические основы технологии микробиологических производств. М., «Агропромиздат», 1990.
9. Основы биотехнологических процессов. Ч. 1992.
10. Тутов И.К, Ситьков В.И. Основы биотехнологии ветеринарных препаратов – Ставрополь, 1997.
11. Физические основы и способы микрофильтрации и ее применение в технологии производства ветеринарных иммунобиологических препаратов Ч. IV. «Микрофильтрация» (Воронин Е.С, Тихонов И.В и др) М., МГАВМи Б.им.К.И. Скрыбина, 2000.
12. Красота В.Ф., Завортяев Б.П. и др. Биотехнология в животноводстве. М., Колос, 1994.
13. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. – Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов. М., Россельхозакадемия, 2000.
14. Сергеев В.А. – Вирусные вакцины. Киев., Урожай, 1993.

14. ОЗИҚ-ОВҚАТ ВА ОЗИҚА МАҲСУЛОТЛАРИ ИШЛАБ ЧИҚАРИШДА БИОТЕХНОЛОГИЯ

14.1. ОЗИҚА МАҲСУЛОТЛАРИ ВА ИЧИМЛИКЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ

Фаннинг ҳар хил тармоқлари ривожланиб бориши билан, инсон саломатлиги ва у озиқланаётган маҳсулотлар орасида узвий боғлиқлик борлиги тобора ёрқинроқ ўз аксини топиб бормоқда. Ҳозирги даврга келиб, озиқа маҳсулотлари ёки уларнинг таркибига кирувчи алоҳида компонентлари кўплаб хасталикларга сабаб бўлиши аниқланган. Озиқа маҳсулотларини ишлаб чиқаришда қўлланиладиган янги технологик жараёнлар ёки янги ишланмалар соғлом, юқори сифатли озиқа тайёрлаш имкониятларини яратади.

Соғломлик билан озиқа маҳсулотлари орасида мавжуд бўлган ўзаро алоқа озиқа тайёрлашнинг бутунлай янги йўналиши – «Функционал озиқа» тайёрлаш ва уни ишлаб чиқариш учун туртки бўлди. Соғлом озиқа истеъмол қилиш ғояси янги бўлмасдан, у ўтган асрнинг 50-йилларида озиқа маҳсулотларини таркибини қайта кўриб чиқиш зарурлиги ҳақидаги фикрларнинг пайдо бўлишига олиб келган эди. Орадан кўп ўтмай, 1960-йилларда «*табиатга қайтиш*» деган и шиорлар пайдо бўлган эди.

Шундан кейин озиқа маҳсулотлари таркибига кирувчи: - холестерин, ёғлар, шакар ва тузларнинг миқдорини камайтириш зарурлиги исботлаб берилди. Бу эса озиқа маҳсулотларини каллория миқдорини пасайишига олиб келган ҳамда озиқа маҳсулотларини тайёрлашга ихтисослашган ташкилотлар мана шу кўрсатмаларга риоя қилишга мажбур бўлган эдилар. Бугунга келиб, озиқа маҳсулотларига бўлган талаб биров бўлсада яна ўзгарди. Замонавий талабларга кўра, озиқа нафақат соғлом, балки у функционал бўлиши, яъни организмга мақсадга йўналтирилган ҳолда таъсир кўрсатиши зарур.

Жаҳонда бундай мақсадга йўналтирилган, функционал озиқа тайёрлаш бўйича Япония мамлакати карвонбошилиқ қилиб келмоқда. Бу мамлакатда, озиқа маҳсулотлари тайёрлаш билан юздан кўпроқ йирик компаниялар шуғулланишига қарамасдан уларнинг фаолияти, улар ишлаб чиқараётган маҳсулотларнинг сифати қаттиқ назорат остига олинган.

Кейинги 10-15 йилда ишлаб чиқарилиши йўлга қўйилган энг катта аҳамиятга молик бўлган “Функционал озиқа маҳсулотлари” сифатида балиқ мойи ва ўсимликлардан олинадиган антиоксидантларни кўрсатиш мумкин. Бу маҳсулотлар атеросклеротик ҳамда қон томирининг бошқа касалликларини олдини олиш хусусиятига эгадирлар.

Замонавий нуқтаи-назарга кўра озиқа маҳсулотлари таркибида β-каротинни ишлатилиши ҳар хил шиш касалликларини содир бўлишини пасайтирса, кальций тузлари – остеопороз хасталигини, махсус ёғлар эса –

юрак-қон томир хасталикларини олдини олади. Организмга тушган целлюлоза толалари инсон организмни юрак қон-томир хасталиклардан ва шиш пайдо бўлишидан сақлаши аниқланган. Цинк организмнинг ҳар хил юқумли касалликларга чидамлилигини оширади. Магний юракнинг ишемик касалликлари ва ўткир юрак хасталикларини келиб чиқишини олдини олади. Функционал озиқаларни асосий компонентлари бўлиб, парҳез тола, олиго- ва полисахаридлар, сут бижғитувчи бактериялар, органик кислоталар, аминокислоталар, пептидлар, оксиллар, глюкоза, этил спирти, изопреноидлар, витаминлар, тўйинмаган ёғ кислоталари (айниқса антиоксидантлик хусусиятига эга бўлган бирикмалар) хизмат қиладилар.

Функционал озиқадан фойдаланиш асосан икки мақсадга хизмат қилади: организмга етарли (керакли) миқдорда метаболик зарур бўлган озиқа компонентлари етказиб бериш ва уни (организмни) ҳар хил касалликлардан ҳимоя қилиш.

Янги озиқа маҳсулотларини тайёрлаш учун юқумли бўлмаган, токсин сақламаган табиий компонентлар ишлатилишини эътиборга олган ҳолда, бундай маҳсулотларни кенг миқёсда ишлаб чиқариш учун тегишли компонентларни кўпроқ тайёрлаш ёки тўплаш энг долзарб масалага айланиб қолишини ҳисобга олиш зарур бўлади.

Биотехнологиянинг асосий вазифаси эса экологик тоза функционал озиқани кенг миқдорда ишлаб чиқаришдан иборатдир.

Биотехнология ёрдамида (ферментатив катализ, микроорганизмларни ўстириш, ҳайвон ва ўсимлик хужайраларини кўпайтириш ва ҳ.к.) озиқа маҳсулотларини кенг миқдорда тайёрлаш имконияти яратилади.

Озиқа маҳсулотларини ишлаб чиқаришнинг биологик босқичларини, қатор ўтадиган кимёвий реакцияларни бирин-кетинлигига таққослаш мумкин. Катализатор (фермент) иштирокида субстратни ўзгариши тез амалга ошишини эътиборга олсак, бошқа шунга ўхшаган реакциялардан афзалроқ ўтишини кузатиш унчалик қийинчилик туғдирмайди. Кўп асрлар давомида олиб борилган кузатишлар, микроблар ёрдамида (иштирокида) амалга ошириладиган ўзгаришлар, ўзларининг тезлиги ва энергияга бўлган муҳтожликлари бўйича нафақат кимёвий реакциялардан, балки, бошқа биологик манбаларга нисбатан ҳам қатор устунликларга эга эканликларини намоёниш этганлар.

Биздан аввал ўтиб кетган авлод-аждодларимиз ҳали микроорганизм деган тириклик борлигидан хабарсиз бўлган даврларда ҳам улар ёрдамида хилма-хил озиқа ва ичимлик маҳсулотлари тайёрлаб истеъмол қилишганлар. Ўша даврларда қандайдир «аниқ бўлмаган куч» борки, у нафақат маҳсулотни тайёрлаш жараёнларида, балки унинг бузилиб, айнаиб қолишида ҳам иштирок этиши маълум бўлган. Инсонлар биологик моҳиятини тушунмасдан, уни билмасдан туриб, микроорганизмларни сақлаш ва улардан баъзи бир технологик жараёнларда фойдаланиш йўллари билганлар.

Микроорганизмлардан ажралган ферментлар ёрдамида тайёрланган дастлабки маҳсулотлар пиво ва пишлок (пишлок) бўлса ажаб эмас. Ҳозирга келиб, ферментлар ёки микроорганизмларни ўзлари асосида яратилган технологиялар замонавий озиқ-овқат саноатида етакчи ўринларда турадилар.

Бугунги кунда озиқа маҳсулотлари ишлаб-чиқариш саноатнинг энг кенг тарқалган соҳаси бўлиб, ҳақиқатда мамлакатнинг бюджет айланмасининг 20-25% ини ташкил этади. Озиқ-овқат саноати бирламчи ишлаб чиқаришдан ташқари кенг тарқалган тармоқларга эга бўлиб, улар хилма-хил типга эга бўлган транспорт соҳаси, тижорат идоралари, идишлар ишлаб чиқарувчи заводлар, савдо-сотиқ тармоқлари, ҳар-хил изланиш соҳалари ва бошқаларни ўз ичига олади. Иқтисодий ривожланган мамлакатларда муаммоларни тезкорлик билан ҳал қилиш мақсадида озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқарувчи компаниялар бирлашиб, йирик мульти-миллий компанияларни ташкил этадилар.

Юқори сифатли маҳсулотлар ишлаб чиқариш кўп факторларга боғлиқ бўлиб, улардан энг муҳимлари, уруғни сифати, ҳайвонларни зоти, селекция қилиб, танлаб олинган, кўп йиллик ўсимликларни сифат белгилари ҳисобланади. Қишлоқ хўжалиги билан истеъмолчилар орасидаги боғлиқлик одатда озиқ-овқат саноати орқали амалга оширилади.

Озиқ-овқат саноатининг асосий вазифаларидан бири юқори сифатли озиқа маҳсулотлардан кўзга ёқимли, хушбўй ҳидли ва таъмли маҳсулот етиштиришдан иборатдир.

Озиқ-овқат саноати биотехнологиясининг энг муҳим, асосий вазифаси эса замонавий биология фанлари ҳамда биомухандислик фани эришган ютуқларни озиқа маҳсулотларининг анъанавий қайта ишлаш жараёнлари билан бирга боғлаб, янги, замон талабларига жавоб бераоладиган, экологик тоза озиқа етиштиришдан иборатдир.

Бу мақсадга фақатгина озиқа маҳсулотларини ишлаб чиқариш жараёнларида биология ва технология фанларининг энг замонавий ютуқларини жорий қилиш орқали эришиш мумкин ҳолос. Замонавий биотехнологияни озиқ-овқат саноатига аралаштириш уни инфратузумларини тубдан ўзгартириб юбормайди.

Бунга асосий сабаб тараққиётни ҳозирги босқичида, истеъмолчи нуктаи назаридан озиқа маҳсулотлари етиштиришда кўпроқ озиқа маҳсулотларининг сифати ва кимёвий таркибининг илмий асосланган кўринишига нисбатан уларни анъанавий кўринишда бўлиши мақулроқ кўринади.

Мутахассисларни баҳолашларича (шу жумладан патентлар ҳам), янги озиқа маҳсулотлари тайёрлаш билан боғлиқ бўлган илмий изланишлар тайёр маҳсулотни тан нарҳини 2% дан ошмайди. Кўпинча маҳсулот катта миқдорда ишлаб чиқарилади ва истеъмолчини қизиқишини эътиборга олган ҳолда имконият борица пастроқ баҳоланади.

Биотехнологиянинг замонавий усуллари озиқа таркибига кирувчи алоҳида компонентларни катта ҳажмда ва кўплаб ишлаб чиқариш имкониятини яратади. Масалан, озиқ-овқат саноатида ишлатиш учун зарур бўлган органик кислоталар, аминокислоталар ва ҳ.к. Бу маҳсулотлар одатда ўртача баҳоланадилар. Кам миқдорда ишлаб чиқариладиган, қимматбаҳо маҳсулотлар сирасига, юқори тозаликга эга бўлган оксил моддалар, шакар ўрнини босадиган моддалар киридилар.

Озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқарувчи корхоналар, саноатни бошқа тармоқларининг корхоналарига нисбатан ўзига хосликга эгадирлар. Ишлаб чиқариладиган маҳсулотларни кўп сонлилигидан ташқари, улар муайян шароитдаги истеъмолчини талабларидан келиб чиққан ҳолда ҳар хил ҳажмда ишлаб чиқарилади. Улар орасида минглаб ишчиларни иш билан таъминлайдиганларидан бошлаб атиги 2-3 киши билан чегараланадиган кичик цехларгача бор. Бу корхоналар ҳар хил технологик жараёнлардан фойдаланадилар. Масалан, механик операциялар (майдалаш, элаш, кесиш, экстракция қилиш, эзиш, аралаштириш, филтрлаш ва ҳ.к.), биологик жараёнлар, жумладан ферментатив реакциялар ва микробиологик жараёнлар (аэроб, анаэроб); кимёвий ўзгаришлар (гидролиз, синтез ва бошқалар); физик таъсир (чўкмага ажратиш, ҳарорат таъсири, босим, қуёш нури билан ишлов бериш).

Яқин келажакда озиқ-овқат саноати, ўсимликларни ҳосилдорлигини ошиши, микроорганизмлар ва ҳайвонларни масулдорлигини кўпайиши ҳисобидан янада ривожланиб кетади деб тахмин қилинмоқда. Бу мақсадга эришиш учун ҳар хил усуллардан, масалан, селекция, мутагенез, ҳужайра ва ген муҳандислиги усуллари билан фойдаланилади.

Озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқариш технологияларига ген муҳандислигини киритиш ҳисобидан анчагина ўзгаришларга эришиш кутилмоқда. Серҳосил, ҳар хил касалликларга чидамли бўлган, тез ривожланувчи трансген микроорганизмлар, ўсимликлар ва ҳайвонлардан фойдаланиш бу тармоқни ривожланишига янги туртки бўлиши мумкин.

Замонавий биотехнология озиқ-овқат саноатини барча тармоқлари билан, (шу жараёнда ишлатиладиган организмларни сифатини яхшилашдан бошлаб, озиқа маҳсулотларини сифатини тузатишгача) чамбарчас боғлиқдир.

Биотехнологияни ачиш-бижғиш жараёнларида янада фаолроқ иштирок этиши кутилмоқда. Озиқа маҳсулотлари (нон, пишлок, қатик, кефир, йогурт), ичимликлар (вино, пиво, коньяк, виски, саке, водка), сабзавотларни тузланганлари (ферментатив йўл билан олинганлари), - кўпсонли биокимёвий реакциялар оқибатида енгил ҳазм бўлувчи, сифатли, ёқимли мазали озиқа маҳсулотларига айланиб борадилар. Буни устига замонавий биотехнологияни янги имкониятларини масалан, микроорганизмларни йирик ($1000-3000\text{м}^3$) реакторларда ўстириш, мембраналар орқали филтрлаш, сепарация қилиш (ажратиш) ҳисобга олинганда озиқ-овқат маҳсулотларини янги, сифатли, ҳамда уларни кўп

миқдорда ишлаб чиқаришда биотехнологияни роли беқиёс эканлиги янада ёрқин намоён бўлади.

Озиқа маҳсулотлари ишлаб чиқариш жараёнида намоён бўладиган ўзгаришлар, ўз ўзидан, табиий биологик жараён бўлиб, улар шу маҳсулотлар таркибида бўлган ферментлар ёрдамида амалга ошадилар. Иккинчи томондан эса технологик жараёнларни жадаллаштириш ва уларни сифатини яхшилаш мақсадида реакция муҳитига ташқаридан қўшимча керакли фермент препаратлари киритилади. Бу фикрни тўлароқ намоён қилиш учун қуйидаги 32-жадвал келтирилган.

32-жадвал

Озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш жараёнларида ишлатиладиган ферментлар

Жараён	Фермент
Крахмал гидролизи	α-амилаза, β-амилаза, глюкоамилаза
Фруктоза-глюкоза шарбати ишлаб чиқариш	Пуллуланазалар, ксилоизомераза, целлюлаза, ксиланаза.
Сут маҳсулотларини қайта ишлаш	Ренин, лактоза, липаза.
Пиво ишлаб чиқариш	α -амилаза, β - амилаза, полигалактураназа, пектинлиаза, ксиланаза.
Нонвойчилик	α - амилаза, протеаза, липоксигеназа, фосфолипаза А, фосфолипаза Д.

14.2. САБЗАВОТЛАРНИ ФЕРМЕНТАЦИЯ ҚИЛИШ

Сабзавотларни консервация қилишни энг қадимий усулларида бири, бу шўр сувдан фойдаланишдир. Бу жараёнда сут ачитувчи бактериялар иштирок этадилар. Бунда консервант ролини ош тузи ва сут кислотаси бажарадилар. Кўпгина мамлакатларда бу усулдан саноат миқёсида фойдаланилади. Карам, бодринг ва бошқа сабзавотлар тузли сувда бижғитиш ёрдамида консервация қилинади. Баъзи ҳолларда баъзи-бир сабзавотлар ёки мевалар олдиндан ишлов беришни талаб қилади. Масалан, маслинани 18% ли шўр сувга солишдан олдин уни сатҳида жойлашган олеорупеин – номли гликозид моддаси чақирадиган қўламса мазани йўқотиш мақсадида натрий гидрооксидини эритмаси билан ишлов берилади.

Сабзавотлар шўр сувда бирин-кетин микроорганизмлар таъсирига учрайдилар. Дастлаб, кислород бўлганлиги сабабли шўр сувда аэроб микроблар ривожланадилар. Шунга қарамасдан, тезкорлик билан сут ачитувчи бактериялар ва ачитқичлар (*Saccharomyces*, *Torulopsis*) ривожлана бошлайдилар ва оқибатда сут кислотаси ва сирка кислотаси ҳосил бўлади. Бижғишни охириги босқичида ачитқичларни ривожланишлари учун яхшироқ шароит туғилади. Ачиши мумкин бўлган углеводлар тугаши билан бижғиш жараёни тўхтайтиди. Бижғиш жараёнини бошқариш мақсадида, ўз-ўзидан ҳосил бўладиган микрофлора ўрнига

керакли бўлган бактерияларни тоза штаммларидан фойдаланилмоқда. Бундай шароитда ҳароратни (7,5⁰С) ва тузни концентрациясини (2,25%) аниқ ушлаб туриш ҳисобидан юқори сифатли тузланган сабзавот маҳсулотлари тайёрланишига эришилади.

Бижғиш жараёнида сабзавот маҳсулотлари микроорганизмларни хушбўй ҳид ва ўзига хос маза берувчи метаболитлари билан тўйинадилар. Бундан ташқари улар оксил моддалари билан ҳам тўйинадилар. Сут кислотали бижғиш орқали маҳсулот тайёрлаш географияси кўпроқ Шарқ мамлакатларига хосдир. Масалан, тузланган балиқ – бу шарқ таомидир.

Соя ўсимлиги уруғини сут кислотали бижғитиш орқали олинадиган озиқа маҳсулотлари ҳам Шарқ мамлакатларига хосдир. Маълумки, соя уруғидан жуда ҳам хилма хил маҳсулотлар тайёрланади. Хитой, Япония, Корея, Малайзия, Индонезия мамлакатларида соя уруғини микроорганизмлар ёрдамида ишлов бериш орқали кўп сонли маҳсулотлар тайёрланади. Масалан, Индонезияда тайёрланиб, бутун жаҳонда ноёб (деликатес) ҳисобланган «Темпе неде» номли таом соя уруғидан ферментация қилиш орқали тайёрланади. Соядан тайёрланган овқатга хушбўй ҳид берувчи ва уни оксил моддалари билан бойитувчи Корея ва Хитой таомлари ҳам бутун дунёга маълум.

Хитойнинг анъанавий овқати – «Суфу» - сояни *Mucor* замбуруғи билан бойитиш орқали тайёрланади. Япония деликатеси – «Натто» сояни *Aspergillus oryzae* замбуруғи билан қайта ишлаш орқали тайёрланади. Кўпчилик ҳолларда соя ўсимлигини ювиб, тозалаб унга замбуруғ экилади.

Замбуруғ (*Rhizopus*, *Mucor*, *Aspergillus*) секин ўсиб, ривожланиб, ўсимлик тўқималарини ораларига, ичига кириб кетади ва ўзидан нафақат серкалорияли оксил моддалари, балки хушбўй ҳид ва ўзига хос бўлган маза берадиган биологик моддалар чиқарадилар. Шарқ таомларини деликатеслиги ҳам ана шунда. Шу ўринда қадимий Хитой овқати бўлиб келган, эндиликда Япония ва бошқа мамлакатларида ҳам кенг истеъмол қилиб келинаётган соусни технологиясини келтиришни лозим топдик. Бу соусни тайёрлаш учун дастлаб тузланган соя уруғини *Aspergillus oryzae* замбуруғи билан ферментация қилинади.

Ҳосил бўлган эритмага тузли сув қўшилади ва 8-12 ой мобайнида биғжишга қўйилади. Аралашма типдаги бу бижғиш асосан *Pediococcus Soyaе* бактерияси ва *Saccharomyces rouxii* ва *Torulopsis* ачитқи замбуруғлари томонидан амалга оширилади. Бундай мураккаб бижғиш оқибатида, маҳсулот тўлиғича микроорганизмлар метаболитлари – сут кислотаси ва бошқа озиқа кислоталари ҳамда этил спиртидан иборат маҳсулотга айланади. Бижғиш жараёни тугагач, тайёр маҳсулот сиқилади ва идишларга қўйилади. Бундай маҳсулотни «Моромом» деб юритилади.

14.3. ЧОЙ, КОФЕ

Шарқий Осиё, Африка ва Лотин Америкаси мамлакатларида алкогольсиз, ферментация қилинган ичимликлар чой ва кофе

Ўсимликларидан тайёрланади. Шарқ мамлакатларида чой ичимлиги қадим-қадимлардан буён дармон берувчи ичимлик сифатида истеъмол қилиниб келинган бўлсада, чой тайёрлаш технологияси XX-асрларда яратилган, холос. Чой маҳсулотларини хилма-хиллиги ўсимликни турига ва чой баргига ишлов бериш технологиясига боғлиқ. Чой тайёрлашни уч хил технологияси маълум: - қора, кўк ва дубил моддаларини оксидланганлик даражаси ҳар иккаласини орасида бўлган учинчи хил чой. Тайёр чой ферментация даражасига қараб қуйидаги категорияларга бўлинади:

- ✓ *ферментланмаган чой, - бунда дубил моддаларнинг (катехинларни) оксидланиш даражаси 12% дан ошмайди;*
- ✓ *кам ферментацияланган чой – дубил моддаларнинг оксидланиш даражаси 12-30%;*
- ✓ *ферментацияланган чой – дубил моддаларнинг оксидланиш даражаси 35-40%.*

Ҳар бир категорияга кирувчи маҳсулотлар оксидланиш даражасига қараб, ўз навбатида яна бир неча кичик гуруҳларга бўлинади. Ферментланмаган чой – бу кўк чой. Оксидловчи ферментларни фаоллигини йўқотиш учун маҳсулот сув буғи ёки иссиқ, нам ҳаво билан ишлов берилган. Оқибатда ишлов беришни кейинги босқичларида чой баргида ферментатив оксидланиш ўтмайди.

Иккинчи категорияли чой – камферментацияланган, қисман ферментация қилинади; бундай чойга сарик, олранг (қизил) ва қора чойлар кирадилар.

Агар кўк чой тайёрлашда асосий мақсад катехинларни соф ҳолда сақлаб қолиш бўлса, ферментация қилинган, қора чойда чой баргидаги катехинларни барчасини имкони борича тўлиқ оксидлаш туради. Бу технология асосида тайёрланган қора чой ўзига хос хушбўй ҳидга эга бўлиб, яхши дамланади.

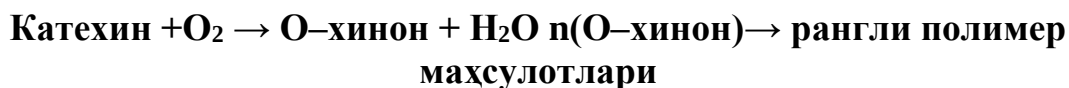
Қора чой тайёрлаш учун янги терилган чой баргларида қуйидагича ишлов берилади: сўлдирилади, буралади, ферментация қилинади ва қурилади. Сўлдириш муҳим технологик босқич ҳисобланади, чунки бунда чой баргида асосий биокимёвий ўзгаришлар содир бўлади, чойни таъмини белгиловчи хушбўй бирикмалар буралиш ва ферментация босқичида пайдо бўлади.

Сўлдириш босқичида асосан пероксидаза ва полифенолоксидаза (пирагалол ядроси сақлаган катехинларни оксидланиши) ферментларини таъсирига муҳим эътибор берилади. Буралиш даврида чой баргини структурасига шикаст етади ва хужайралар бузилади, оқибатда оксидловчи ферментларни ўзларини субстратлари билан учрашувига имкон яратилади. Чой баргида ферментация эндоген ферментлар ҳисобидан амалга оширилади. Худди мана шу хусусияти билан чой тайёрлаш технологияси озиқ-овқат саноатини бошқа технологияларидан фарқ қилади.

Чунки кўпчилик технологияларда фермент препаратлари жараёни тезлаштириш мақсадида ташқаридан қўшилади. Чой тайёрлаш

технологиясида ферментация асосий жараён ҳисобланади ва тайёр маҳсулотни сифатини белгилайди.

Буралиш даврида, хужайра структураси бузилиб катехинларни полифенолоксидаза ферменти иштирокида жадал оксидланадилар ва натижада хиноинлар ҳосил бўлади. Кейин хиноинлар конденсацияга учраб, қўнғир рангли моддага айланадилар. Бу жараёни қуйидагича изоҳлаш мумкин:



Шундай қилиб, чой баргининг ферментацияга учраш жараёнида катехинлар оксидланиб конденсацияга учрайдилар, натижада ишлов берилган чой баргларида катехинни оксидланган маҳсулотлари-теофлавинлар ва теарубигинлар тўпланадилар.

Бу моддалар чойни мазасини, таъминини ва хушбўй ҳидини белгилайдилар. Шубҳасиз чой тайёрлашни асосини ташкил қилувчи ферментатив оксидланиш жараёнида биотехнологияни роли энг муҳимдир. Масалан, бу маълум шаклдаги катехинларни миқдорий ўзгариши ёки оксидланиш жараёнида тўғрисида-тўғри иштирок этувчи ферментларни генларини фаоллашуви билан боғлиқ бўлган жараёнлардир.

Эрувчан кофе тайёрлаш технологияси тўғрисида фикр юритиладиган бўлса, бу масала жуда ҳам кам ўрганилган. Кофе тайёрлаш технологияси қуйидагича: кофе меваси сувда экстракция қилинади, эримасдан қолган чўкма, эритмадан ажратилади ва уни табиий ферментацияси амалга ошади. Бу жараёнда бактериялар ва ачитқи замбуруғлари иштирок этадилар. Худди мана шу жараён кофега ҳид ва таъм беришда муҳим аҳамият касб этади. Умуман олганда кофе тайёрлаш технологияси чуқур илмий асосга эга эмас. Шунга қарамасдан кофенинг сифати кўпчилик ҳолларда (деярли ҳамма вақт) коммерция талабларига тўлиқ жавоб бераолади. Кофе истеъмол қилиш бутун дунёда тобора ошиб бормоқда. Ҳозир Лотин Америкаси мамлакатлари ва АҚШда кофе тайёрлашни илмий асослари чуқур таҳлил қилинмоқда.

14.4. ПИШЛОҚ ТАЙЁРЛАШ

Сут микроблар ёрдамида табиий йўл билан қайта ишланган биринчи маҳсулот ҳисобланади. Чунки сут таркибида микроорганизмлар озикланиб, кўпайишлари учун зарур бўлган деярли барча компонентлар мавжуд бўлиб, шунинг учун ҳам у тез ачиб қолади. Бу жараёни асосини сут шакари – лактозани сут кислотасига айланиши ташкил этади. Минг йиллар давомида сутни ўзидан-ўзи ачиб қолиш сабаблари ўрганилиб келинган ва оқибатда сутдан ачиб қолиш сабаблари ўрганилиб, сутдан ачитиш орқали пишлоқ ва бошқа маҳсулотлар тайёрлаш технологиялари яратилган.

Пишлоқ тайёрлаш учун сутга маълум авлодга мансуб бўлган бактерия солинади. Тайёрланадиган маҳсулотни сифати, хушбўйлиги, ва бошқа қатор хусусиятлари мана шу бактерияларни авлоди ва турига боғлиқдир.

Сутнинг ачиши давомида сут ачитувчи бактерияларни кўпайиши муҳим технологик жараён ҳисобланади, чунки кўпайишга мойил бўлган бактериялар бошқа авлодга ёки турга мансуб бўлган бактерияларни ўсиб, кўпайишига йўл қўймайди ва шу туфайли маҳсулотга ўзига хос сифат, яъни ҳид ва таъм беради. Сут ачитувчи бактериялар ошқозон-ичак микрофлорасига ижобий таъсир қиладилар. Сутга бактерия солингандан кейин, у маълум ҳароратда ушлаб турилади, бу эса сутни ачишига олиб келади. Бу жараёни чуқурроқ ўтказиш мақсадида, яъни сут таркибидаги оксил моддаларни парчалаш учун унга қўшимча протеолитик ферментлар солинади. Бундай ферментлар кўзичоқни ёки бузоқчани ошқозонидан олиниб, у сычуж ферменти ёки ренин деб аталади. Ренин сут эмган бузоқча ёки кўзичоқ – ошқозонини тўртинчи бўлимида ҳосил бўлади. Ҳайвоннинг ёшига қараб сычуж ферменти ўрнига бошқа протеолитик ферментлар ҳосил бўла борадилар ва улар пишлоқ ҳосил қилаолмайдилар.

Ҳар йили бутун дунёда 25 млн. литрга яқин сычуж ферменти ишлаб чиқарилади. Шунга қарамадан бу ферментга бўлган эҳтиёж тўлиғича етарли эмас. Чуқур илмий изланишлар натижасида сычуж ферментига ўхшаган спецификликка эга бўлган микроб ферменти топилган ва у қисман бўлсада бу ферментни ўрнини босиш учун пишлоқ тайёрлаш технологиялар регламентига киритилган.

Яна бир биотехнологик жараён – бу ренин синтез қиладиган генни ажратиб олиниб, у мицелиал замбуруғлар геномига киритилган ва шу йўл орқали сычуж ферментини жуда ҳам ўхшаш аналоги яратилган. Шундай қилиб, сычуж ферменти саноат шароитида ҳайвонлар ошқозонидан (бузоқча, кўзичоқ, чўчка боласи) ва замбуруғлардан олинади.

1998 йилнинг маълумотига қараганда, замбуруғлардан ажратиладиган ренин ферментининг аналоги, бу ферментга бўлган талабни учдан бир қисмини қоплай олган. Микроб ферментлари пишлоқ ишлаб чиқариш анъанавий катта бўлган мамлакатлар–АҚШ ва Францияда кўпроқ ишлатилади.

Сутга фермент солинганидан кўп ўтмасдан сутдаги казеин оксили қисман парчаланади. Коагуляцияга учраган казеин гелсимон массани ҳосил қилади ва ёғ билан ёпишади, шундан кейин ажралган зардоби филтрлаб ажратиб олинади, куюқ масса сиқилиб, қолган суюқлик иложи борица ажратиб ташланади ва сурпга ёки бошқа материалга ўраб қуриштилади. Кейинги босқич – пишлоқни пишириш (етилтириш). Сутдан пишлоқ тайёрлаш – дегидратацион жараён бўлиб, унда казеин ҳамда сут таркибидаги ёғ моддалари 6-12 маротаба куюқланади. Баъзи-бир пишлоқларни етилтириш жараёнида унга ташқаридан микроорганизмлар (бактериялар ва замбуруғлар) солинади, бу эса пишлоққа хушбўй ҳид,

ўзига хос таъм беради. Табиатда бактериялар авлоди ва турлари ўта кўп бўлгани учун ҳам пишлоқни турлари йилдан йилга кенгайиб бормоқда.

Пишлоқни таъми, хушбўйлиги ва сифати қуйидаги омилларга боғлиқ: сутни тури (эчки, қўй, сигир сути) пишлоқ тайёрлаш ҳарорати, иккиламчи микрофлорани иштироки ва ҳ.к. (33-жадвал).

33-жадвал.

Ҳар хил турдаги пишлоқларнинг етилишида иштирок этувчи микроорганизмлар

Пишлоқ тури	Сут ачитувчи бактериялар	Иккиламчи микрофлора
Юмшоқ пишиб етилмаган пишлоқлар		
Коттедж	Streptococcus lactis	Lenconostoc citrovorum
Невшатель	Streptococcus cremoris Streptococcus diacetilactis	
Юмшоқ етилган пишлоқлар		
Бри	Streptococcus lactis	Penicillium camemberi
Камамбер	Streptococcus cremoris	Penicillium canoliolum
Яримюмшоқ пишиб етилмаган пишлоқлар		
Рокфор	Streptococcus lactis	Penicillium roqueforti
Азяго	Streptococcus cremoris	Penicillium claucum
Брик	Streptococcus thermophilus	Brevibacterium linens
Горгонзола	Streptococcus sp	
Монтер	Streptococcus sp	
Сулугуни	Streptococcus sp	
Қаттиқ етилган пишлоқлар		
Чеддер	Streptococcus lactis	Penicillium roqueforti
Швейцарский	Streptococcus cremoris	Penicillium glaucum
Стильтон	Streptococcus durans	Lactobacillus casei
Колби	Streptococcus thermophilus	Lactobacillus helvericus
Груэр	Streptococcus sp	
Жуда қаттиқ етилган пишлоқлар		
Пармиджано	Streptococcus lactis	
Романо	Streptococcus cremoris	
Гуда	Streptococcus bulgaricus	
Пастасимон (эриган) пишлоқлар		
Мозарелла	Streptococcus lactis	Lactobacillus bulgaricus
Проволоне	Streptococcus thermophilus Lactobacillus bulgaricus	

Қуйида тижорат учун ишлаб чиқариладиган пишлоқлардан баъзи-бирларини келтириб ўтамыз:

- ✓ *пишиб етилмаган пишлоқ;*
- ✓ *кам миқдорда ёғ сақлаган творог;*
- ✓ *юқори миқдорда ёғ сақлаган кремсимон пишлоқ;*
- ✓ *пишиб етилган пишлоқ;*
- ✓ *қаттиқ пишлоқ;*
- ✓ *«Гуда» - қўй сутидан тайёрланган пишлоқ;*

- ✓ «Чердер» ёки «Швейцария» пишлоғи (бактериялар таъсирида пиширилади);
- ✓ «Рокфор» ёки бошқа кўк рангли пишлоқ (махсус авлодга мансуб микроскопик замбуруғ таъсирида пиширилади);
- ✓ Юмшоқ пишлоқ;
- ✓ «Сулуғуни»;
- ✓ «Лимбургер» (бактериялар таъсирида пиширилади);
- ✓ «Камамбер» (бактериялар ва замбуруғлар таъсирида пиширилади).

Юмшоқ пишлоқни икки хили сотувга қўйилган (50-80% намликга эга) – пишиб етилган ва пишиб етилмаган. Пишиб етилмаган юмшоқ пишлоқ, мисол учун творог, технологик ҳалқа туганданок тайёр маҳсулот сифатида савдога қўйилади. «Камамбера» ёки «Бри» номли юмшоқ пишлоқ тайёрлаш учун махсус ачитки замбуруғлари ёки *Penicillium* замбуруғунинг махсус штаммлари ишлатилади.

Юмшоқ пишлоқларни баъзи навлари творог таъмини беради. «Лимбургер» типдаги пишлоққа тузлик сув билан ишлов берилади, бу эса сут ачитувчи бактериялар, ачитки замбуруғлари ва бактериялар кўпайишини тезлатади.

Яримқаттиқ пишлоқ тайёрлаш учун етилган массани намлигини пасайтириш мақсадида юқори ҳароратда ушлаб турилади. Бундай пишлоқларни ўртача намлиги 40-45% дан ошмаслиги керак.

«Чердер» типдаги қаттиқ пишлоқ 40% гача намлик сақлайди. Қаттиқ пишлоқ тайёрлаш учун тайёр массага *Penicillium roqueforti* замбуруғининг споралари аралаштирилади ва ғовакчалар пайдо қилиш учун массага ҳаво юборилади. Замбуруғларни пайдо бўлиши пишлоқга ўзига хос бўлган хуш-бўй ҳид ва таъм беради. Бундай пишлоқлар Европа мамлакатларида севиб истеъмол қилинади. Бу типдаги пишлоқларга «Рокфор», «Стильтон», «Горгонзола», «Дания кўки» кабилар киради. «Груэр» пишлоғи қаттиқ пишлоқларни махсус синфига киради. Бу типдаги пишлоқларни тайёрлаш даврида анъанавий усуллар билан биргаликда массага пропион ачитувчи бактериялар (*Propionbacterium shermanii*) аралаштирилади. Бундай бактериялар ўзларидан карбонат ангидриди чиқаради – бу эса маҳсулотга ўзига хос хуш-бўй ҳид беради.

Сутдан бошқа маҳсулотлар ҳам тайёрлаш мумкин. Улардан ажралиб турадиганлари нордон маҳсулотлардир. Масалан, кўпчилик мамлакатларда йогурт тайёрланади. Грузияда унинг аналоғи мацони тайёрланади. Одатда йогурт сутга *Lactobacillus bulgaricus* ва *Streptococcus thermophilus* ўстириш орқали тайёрланади. Бу жараёнда *L.bulgaricus* ацетальдегид ҳосил қилади, ацетальдегид ҳосил қилади, *Streptococcus thermophilus* синтез қиладиган ферментлар ёрдамида сут шакари лактоза сут кислотасига айланади ва шу туфайли йогуртга хос бўлган нордон таъм пайдо бўлади.

Сметана (қаймоқ), қимиз, кефир, виля (Финляндияда кенг истеъмол қилинадиган ичимлик) ва бошқа маҳсулотлар сут ачитувчи бактериялар билан ишлов берилган сутни пастеризация қилиш орқали тайёрланади.

14.5. АЛКОГОЛЛИ ИЧИМЛИКЛАР

Хилма-хил ичимликлар тайёрлашда биотехнологик усуллардан фойдаланиш тобора ошиб бормоқда. Алкоголли ичимликлар ўзларини белгиларига, кўрсаткичларига қараб ҳар хил гуруҳларга бўлинишлари мумкин. Шундай бўлсада, уларни технологик кўрсаткичларига қараб, ферментланган ва ферментланмаган гуруҳларга бўлиш мақсадга мувофиқ бўлур эди. Ичимлик таркибидаги алкогольни миқдорига қараб эса – концентрланган, дистилланган ва концентрланмаган гуруҳларга бўлиш мумкин. Ферментация жараёни (бижғиш) нафақат спирт ҳосил бўлишни ўз ичига олади. Бу жараёнда ачитқи замбуруғларни метаболик имкониятларидан келиб чиққан ҳолда ачиётган муҳитда қатор бирикмаларни кетма-кет ўзгариб туришларини кузатиш мумкин.

Замонавий биотехнологик усуллар орқали (уларни ёрдамида) мана шу бижғиш жараёнида иштирок этадиган организмларнинг метаболик имкониятларини янада кенгайтириш имкониятлари яратилади. Бу эса алкогольли ичимликлар тайёрлашда биотехнологияни ролини аниқлаб беради.

Кўпчилик алкогольли ичимликлар бошоқли ўсимликларни уруғини ёки бошқа крахмал сақловчи маҳсулотларни қайта ишлаш орқали тайёрланади. Россия, Голландия, Олмония, Польша, Скандинавия мамлакатлари ва бошқа кўпгина мамлакатларда пиво ва бошқа бакувват ичимликларни бошоқлардан тайёрлаш анъанага айланган. Европанинг жанубий мамлакатлари: Испания, Италия, Франция, Греция, Югославия, Грузия, Арманистан, Молдова – бундай ичимликларни асосан узумдан тайёрлашади. Ҳар хил қувватга эга бўлган ичимликларни ҳар хил мевалар (олма, олхўри, тут меваси, шафтоли, тропик ва субтропик ўсимликларни мевалари) ва асалдан тайёрлаш ҳам анъанага айланиб бормоқда.

Алкоголли ичимликларни одатдан ташқари кўп хилда чиқарилишини бир неча сабаблари бор. Бундай сабаблардан асосийси – ичимлик чиқараётган мамлакатни иқлим шароити билан боғлиқ. Осиё мамлакатларида алкогольли ичимликлар тайёрлаш бўйича катта тажрибалар йўқ. Одатда, қадимда шароб тайёрланган (бу ҳам иқлим билан боғлиқ бўлса ажаб эмас). Ҳозирда ишлаб чиқариладиган ичимликлар ташқаридан келтирилган технологиялар асосида тайёрланади, шунинг учун бўлса керак сифати бўйича бошқа мамлакатларда чиқариладиганларидан анча фарқ қилади.

Алкоголли ичимликларни ишлаб чиқариш ва сотиш, ўрта асрларданоқ мустақкам бизнесга айланган. Мана шунинг учун ҳам бундай ичимликларни (вино, коньяк, виски, водка ва ҳ.к.) тайёрлаш жараёнларига

бирор-бир янгилик киритиш катта қаршиликларга учрайди. Шунини алоҳида таъкидлаш лозимки, “қўл бола” ичимликлар тайёрлаш муаммоси бутун дунёда кенг тарқалгандир. Афсуски, алкогольли ичимликлар тайёрлашда ягона халқаро назорат тизимини ташкил қилиш имконияти яратилганича йўқ.

Алькоголли ичимликлар тайёрлаш учун ўсимлик субстратларидан – моно-, ди-, олигосахаридлар ва полисахаридлардан (крахмал, целлюлоза, баъзида гемицеллюлоза) фойдаланилади.

Полисахаридларни олдиндан парчалашга (гидролиз) тўғри келади. Бу жараён эса, тегишли ферментлар ёрдамида (крахмал – амилазалар; целлюлоза ва гемицеллюлоза эса целлюлолитик ферментлар), камдан кам ҳолларда концентрантланган ноорганик кислоталар (сульфат ёки хлорид кислоталари) иштирокида амалга оширилади. Полимерларни кислоталар ёрдамида парчалаш одатда техник мақсадлар учун ишлатилади.

Целлюлоза – ва гемицеллюлоза сақловчи маҳсулотлар озиқа спирти тайёрлаш учун одатда яроксиз ҳисобланади ва шунинг учун ҳам улар фақатгина техник мақсадлар учун спирт олишга ишлатилади.

Субстратларга тегишли ишлов берилгандан кейин (полисахаридлар парчалангандан сўнг), шакар эритмасига ачитки замбуруғи солинади. Одатда бу мақсадда сахаромицетлар (*Sacharomyces sp.*) ишлатилади.

Камдан-кам ҳолларда бактериялардан – *Zymomonas mobilis* дан фойдаланилади. Бундай усул кўпроқ Марказий Америка мамлакатларида кўпроқ ишлатилади.

Сахаромицетлар ҳар хил моносахаридларни – глюкоза, фруктоза, галактоза; ва дисахаридларни – сахароза, мальтозани этил спиртигача бижғитиб берадилар.

Сахаромицетларни бошқа авлодга мансуб бўлган ачитки замбуруғларига нисбатан этил спиртига чидамли эканлиги аниқланган. Бижғиш жараёни тугаганда аралашмада 14-16% гача этил спирти тўпланади. Бижғиб турган муҳитда этил спиртини бу миқдори ачитки замбуруғини ўсишини тўхтатади, бу вақтга келиб муҳитни нордонлиги кўтарилиб боради. Бунга сабаб, сахаромицетлар томонидан синтез бўладиган органик кислоталарни миқдорини ошишидир. Бижғиш жараёнида ҳосил бўлган спирт эритмасини биологик хусусияти, тўғридан-тўғри суюлтирилган спирт эритмасидан мана шу билан фарқ қилади.

Технологик ҳалқани кейинги босқичи – бу дистиляциядир. Бу жараён ва унда ишлатиладиган асбоб ускуналар илмий ва техникавий адабиётларда кенг ёритилган.

Дистиляция – бу этил спиртни концентрация қилиш ва уни тоза фракциясини ажратишдир. Мана шу босқич кенг маънода алкогольли ичимликларни сифатини белгилаб беради.

Баъзи бир ҳолларда тайёр маҳсулотни органолептик сифатларини тузатиш мақсадида, этил спиртни ўзига хос ҳид ва хушбўйлик берадиган моддаларда тиндириб ҳам қўйилади.

Одатда қувватли ичимликларда этил спиртини миқдори 20-50% орасида бўлади. Қувватга соладиган ичимликлар ва ликёрлар тайёрланганида ҳар хил ўсимликларни гулларида, баргларида ва мевалардан ажратиб олинган хушбўй моддалардан фойдаланилади. Бу мақсадда синтетик моддалардан ҳам фойдаланиш йўлга қўйилган.

Қуйида келтирилган 34-жадвалда ҳар хил ферментация қилинган ичимликлар келтирилган. 35-жадвалда эса кенг тарқалган ва миллий ферментланган ва дистилланган (ёки этил спирти бўйича концентранган) ичимликлар келтирилган.

34-жадвал.

Ферментланган, дистилланмаган алькоголли ва алькоголсиз ичимликлар

Субстрат	Ичимлик	Ишлаб чиқарадиган мамлакатлар
Бошоқлилар, арпа (крахмал)	Пиво Эль	Марказий Европа Бельгия, Германия, Канада
Арпа, шоли, жавдар, шакар лавлаги	Квас	Россия, Украина, Германия
Просо	Боуза Тумба	Украина Индия
Шоли, мевалар, узум, чиқиндилари (грапагача)	ароқ Саке Сонт	Яқин шарқ, Хиндистон, Россия, Италия, Грузия Япония. Хиндистон.
Шоли	Ганг-чу	Хитой
Узум	Вино	Яқин шарқ, Европа, Хитой, Австралия, Жанубий Америка, АҚШ, Марказий Осиё.
Олма	Сидр	Буюк Британия, Франция.
Асал		Буюк Британия, Россия.

35-жадвал.

Ферментланган, қувватли ичимликлар

Субстрат	Маҳсулот
Меласса	Ром
Агава	Текила
Олхўри	Сливовица
Олча	Кирги
Узум	Коньяк (бренди)
Маккажўхори, рожь	Бурбон, виски
Картошка, буғдой, рожь	Ароқ
Арпа	Виски
Арпа, картошка	Акватит
Нок	Нок брендис
Шоли	Хитой брендис

14.5.1. ВИНО

Бир кўринишда ажабланарли туюлсада, вино тайёрлаш технологияси пиво тайёрлашга нисбатан оддийроқ ҳисобланади. Бу жараён 5000 йиллар мобайнида деярли ўзгармади. Тахмин қилишларича вино яқин шарқ ва Европа мамлакатларини ичимлиги ҳисобланади, бу районларда токни ҳар хил навлари (*Vitis vinifera*) ўстирилади. Бугунги кунгача виночилик Франция, Италия, Испания, Германия, Греция, Венгрия, Молдова, Россия, Украина, Кавказ орти мамлакатлари, ҳаттоки Марказий Осиё мамлакатлари, Хитой ва бошқа мамлакатларда ҳам кенг ривожланган.

Бу мамлакатларда токни эндемли навлари кўпроқ тарқалган. Кейинги вақтларда вино тайёрлайдиган мамлакатларни географияси тобора кенгайиб бормоқда ва уларга Австралия, АҚШ, Чили, Аргентина, Исроил, Жанубий Африка Республикаси ва бошқа мамлакатлар қўшилдилар. Бу мамлакатларни тупроқ ва иқлим шароити ток ўстиришга мос келади. Бир неча юз йиллар мобайнида токни оқ ва қизил узум берувчи, селекция йўллари билан танланган навларидан таркибида 15-25% шакар сақлаган шарбат сиқиб олинади ва ундан вино тайёрлаш учун фойдаланилади. Қизил вино қора узумни сиқиш ва бутун массани ферментация қилиш орқали олинади. Бинафша вино – оқ узумни шарбатига қора узумни пўстлоғини (шарбатини сиқиб олгандан кейин қолган массани) аралаштириш йўли билан тайёрланади.

Яқинларгача узум шарбати табиий микрофлора ёрдамида ўз-ўзидан бижғитилар эди.

Эндиликда спиртли бижғиш жараёнига бўлган эътибор тубдан ўзгарган. Юқори сифатли вино тайёрлаш учун маҳаллий шароитга мослаштирилган селекция йўли билан танлаб олинган ачитқи замбуруғининг тоза культурасидан фойдаланилади, бу эса мўътадил равишда бир хил сифатли вино тайёрлаш имконини беради. Аввал айтиб ўтилганидек, бу мақсад учун *Saccharomyces* авлодига мансуб бўлган ачитқи замбуруғининг маҳаллий шароитга мослашган штаммларидан фойдаланилади. Бижғиш маълум шароитда амалга оширилади: катта ҳажмли махсус идишларда 7-14⁰С да олиб борилган бижғиш жараёни мақсадга мувофиқ натижалар беради. Бижғишни тугаганлигини ҳар хил кўрсаткичлардан сезиш мумкин. Улар орасида энг муҳимлари қуйидагилар: этил спиртининг миқдори, шакар қолдиғи, глицерин, учувчан кислоталар миқдори ва ҳ.к.

Бижғиш тамом бўлганида вино таркибидаги спирт миқдори 10-14% бўлиши керак. Бундан ташқари бижғиш жараёнида кўпинча параллел равишда бактериял (*Leuconostoc sp.*) бижғиш ҳам амалга ошади ва унда олма кислотаси, сут кислотасига айланади. Бижғиш тугагандан кейин янги ёш вино қариши учун каттароқ ҳажмдаги идишларга қуйилади. Бундай вақтда дубдан тайёрланган идишлардан фойдаланиш яхши натижалар беради. Винони сақлаш жараёнида уни ҳарорати пасаяди ва чўкма ҳосил

бўлади. Одатда бу жараён бижғийдиган массада кимёвий ўзгаришлар содир бўлиши билан бир вақтда ўтади.

Юқорида айтиб ўтилганидек вино ишлаб чиқариш озиқ-овқат саноатининг энг қадимий технологияларидан ҳисобланади. Шунга қарамадан баъзи-бир мамлакатларда винони катта ҳажмда тайёрлаш мақсадида, доимий ўстириш усулидан фойдаланилади. Бу технологияга асосан бижғиш кетаётган чанга (идишга) доимий равишда узум шарбати қуйиб турилади ва ундан худди шу ҳажмда ёш вино қуйиб олинади. Шунини алоҳида таъкидлаш керакки, маълум устуворликка эга бўлишга қарамадан, бу усул кенг миқёсда қўлланилаолмади.

Юқорида келтириб ўтилган технологиялар мевалардан вино тайёрлаш учун ҳам ишлатилади. Баъзи-бир ҳолатларда, масалан гуручдан ичимлик (саке) тайёрланаётганда крахмални ферментация қилиш жараёнида керакли миқдорда бижғийдиган шакар моддалари ажралади. Саке 20% этил спирти сақлайди. Қувватлироқ вино тайёрлаш учун тайёр маҳсулотга керакли миқдорда тоза этил спирти қўшилади. Кўпчилик винолар 20% гача этил спирти сақлайди. Шунинг учун ҳам улар микроблар томонидан ифлосланмайдилар. Бундай винолардан баъзиларининг номларини келтириб ўтамиз: «Портвейн», «Вермут», «Шерри», «Кагор», «Мускат», «Токай» ва ҳ.к.

«Фино» ва «Херес аммотилиядо» (Испаниянинг Херес деган районида тайёрланган) бундан мустасно. Бу номли виноларни тайёрлаш учун винони қувватини ошириб бўлгач, уни «қаритиш» мақсадида оғзи очиқ идишларга қуйилади, яъни кислородли муҳит пайдо қилинади, бу эса ўз навбатида винони тозасида микрофлора пайдо бўлишига олиб келади. Одатда бу микрофлора таркибида сахаромицетлар ҳам учрайдилар. Мана шу микрофлорани метаболитлари «Херес» типигаги виноларга хушбўй ҳид бериб туради.

Вино тайёрлаш билан шуғулланадиган мамлакатларни бу технологияларга бўлган муносабатлари бир-бирларидан фарқ қилади. Бунга сабаб вино тайёрлашда ишлатиладиган узум навларини ҳар хиллиги, ачитки замбуруғларини штаммларини хусусиятларидаги фарқ, винони баҳолашдаги фарқлар билан боғлиқдир. Виночиликни муайян мамлакатни иқлими, шу мамлакат ҳалқларини маданияти ва анаъналаридан ажратилган ҳолда муҳокама қилиб бўлмайди, чунки, айтиш мумкин ана шу омиллар виночиликни имкониятларини яратади.

Винони фойдали хусусиятлари ҳақида жуда ҳам кўп адабиётлар чоп этилган. Аниқланишича, винода 700 дан кўпроқ ҳар хил кимёвий табиатга эга бўлган метаболитлар топилган, булар: антиоксидантлар, пептидлар, органик кислоталар, алкалоидлар, стероидли гормонлар, ҳар хил табиатли фенол бирикмалари, углеводлар ва ҳ.к. Масалан, охириги йилларда чоп этилган илмий адабиётларда кўрсатилишича, фенол бирикмаларни организмга таъсири ҳар томонлама аҳамият касб этади. Бу бирикмаларни модда алмашувида иштирок этиши уларни аҳамиятини янада ошириб

юборди. Вино таркибидаги фенол бирикмалари цинга, авитаминоз, плеврит, перитонит, эндокардит, нурланиш, глаукома, гипертония, ревматизм, атеросклероз каби қатор хасталикларга даво эканлиги адабиётлардан маълум. Шундай экан, кам қувватли узум виноси – кам алькоголли шифобахш шарбат сифатида, меъёрида истеъмол қилинганда, инсон саломатлигига хизмат қилиши мумкин.

Адабиётларда спиртли бижғиш жараёнини олиб борувчи *Saccharomyces cerevisiae* ачитқи замбуруғини генетик тавсифини ўрганиш ҳақида кўплаб маълумотлар мавжуд.

Рекомбинантли ДНК технологияси ёрдамида кенгрок метаболитик спектрга эга бўлган ачитқи замбуруғи культуралари яратилган. Улардан баъзи бирлар фақат алоҳида технологияларда, масалан лактоза, пентозалар ва целлобиозаларни бижғитиш жараёнларида ишлатилмоқда.

Олимларни фикрларича экологик тоза вино маҳсулотлари тайёрлаш учун ачитқи замбуруғларини шундай штаммларини яратиш лозимки, улар ўзларини асосий вазифаларидан (бижғитиш) ташқари, токни агротехникаси учун зарур бўлган (ишлатиладиган) кимёвий моддаларни истеъмол қилиб, уларни узум мевасига ўтадиган фойдали моддаларга айлантириш хусусиятига эга бўлсин.

14.6. ПИВО

Шакар моддалари эриган суюқликда микроорганизмлар тез ривожланиши барчага маълум. Худди мана шу воқеялик кўпгина технологик жараёнларни яратиш учун хизмат қилди десак хато бўлмайди. Ер шарини хилма-хил жойларида олиб борилган археологик кузатишлар асосида олим ва мутахассислар бошоқли ўсимликлардан олинган экстрактларни бижғитиш бундан 6000 йиллар аввал бошланган деган фикрга келишган. Бундан 20-25 йил аввал пивони асосан истеъмол қилувчилар Европа мамлакатлари, АҚШ ва Австралия халқлари деб ҳисобланган бўлса, бугунги кунга келиб, бу фикр анчагина ўзгарган. Пиво Хитой, Ҳиндистон (гуруч пивоси) ҳаттоки араб мамлакатларида ҳам, ҳатто Марказий ва Жанубий Африкада ҳам пиво (Соргодан тайёрланган) севиб истеъмол қилинадиган бўлиб қолди. Бугунги кунда дунёнинг барча мамлакатларида пиво истеъмол қилинади десак хато бўлмайди. Айниқса, охириги 10-15 йилда бу ичимликка бўлган эҳтиёж кун сайин ошиб бормоқда. Маълумотларга қараганда дунёда пиво тайёрлаш йилига 1 млн. гектолитрдан ошиб кетган. Мутахассисларни фикрларича бундай анъана яна 20-25 йил давом этиши мумкин.

Пиво крахмал сақловчи бошоқли ўсимликлардан тайёрланади. Пиво тайёрлашни технологик чизмаси қуйидагича: куруқ арпа, то униб чиққунга қадар сувда ивитиб қўйилади. Эндигина униб чиққан арпа дони майсаларида амилаза ва протеаза ферментларини фаоллиги ошади. Амилаза ферменти крахмални олигодекстринларгача парчалайди, бу эса

пивони ёпишқоқлигини ва кўпик ҳосил қилишини белгилаб беради. Протеаза ферменти уруғдаги оксил моддаларни аминокислоталаргача парчалаб беради. Бу моддалар ачитқи замбуруғлари ўсиб, ривожланишлари ва пивога ўзига хос хушбўй ҳид бериш учун энг зарур моддалардир.

Униб чиққан арпа майсалари майдаланади ва сувга (60-65°C) солинади. Бундай шароитда майса ривожланишдан тўхтади (ўлади), ферментлар (амилаза, протеаза) эса ўз фаолликларини сақлаб қоладилар. Сувдаги аралашма (солод) катта чанларга қуйилиб, бир неча соат ушлаб турилади. Мана шу вақт мобайнида крахмал ва оксил моддаларни парчаланиши билан боғлиқ бўлган асосий ферментацион жараён тугайди. Сувлик эритма, (уни шунингдек пиво суслоси ҳам деб юритилади) чўкмадан ажратилиб, хмель аралаштирилади ва қайнатилади.

Хмель пивога хос хушбўй ҳид беради ва пивога антисептик хусусият беради. Кейин хмель филтрлаш орқали эритмадан ажратиб олинади. Тоза эритма бижғитиш учун тайёр ҳисобланади.

Ферментация ёки бижғитиш махсус идишларда – биореакторларда ачитқи замбуруғларини махсус штамлари иштирокида амалга оширилади. Бу мақсад учун одатда *Saccharomyces cerevisiae* нинг этил спирти синтез қилувчи махсус штамларидан фойдаланилади. Шунингдек *Saccharomyces carlsbergensis* ҳам ишлатилади.

Бугунги кунда бу штаммлар генетик модификация ҳам қилинган (протопластлар ёпиштирилган, генлар клонлаштирилган) ва ачитқи замбуруғини янги, фаолроқ шакллари яратилган.

Англиядан бошқа Европа мамлакатларида пивони сахаромицетлар ёрдамида бижғитиш жараёни 10-15°C да олиб борилади. Англияда эса бу жараён 28-30°C да ўтказилади. Албатта ҳарорат пивони хусусиятига таъсир кўрсатади. Бижғиш жараёни тугагандан кейин пиво бир неча ҳафта мобайнида чанларда 0-2°C да ушлаб турилади ва кейин пастеризация қилиниб, бутилларга қадоқланади.

Пивони узоқ муддат сақлаб турилганда, иссиқлик ёки ёруғлик таъсирида лойқа пайдо бўлади, бу эса пивони товар кўринишига салбий таъсир кўрсатади.

Пиво лойқаланмаслиги учун АҚШда пиво таркибидаги оксил моддаларни қисман парчалаш усули яратилган. Бу усул протеолитик ферментларни таъсирига асосланган ва унда совуқ ҳолатларда лойқа ҳосил бўлишини деярли олди олинган. Бу мақсад учун папаин, пепсин, фицин, бактериал протеазалардан фойдаланилади. Энг аввало протеолитик ферментлар рН 4,5 (пивони рН кўрсатгичи) да фаол бўлиши шарт.

Фермент миқдорини шундай белгилаш керакки, ундан оксил қисман парчалансин, акс ҳолда пиво кўпикланиш хусусиятини йўқотиб, таъмини ўзгартиради.

14.7. НОН

Нонвойчилик инсониятнинг энг қадимий касбларидан биридир. Бунга сабаб, нон инсон озиқланиши учун физиологик зарур бўлган компонент ҳисобланади. Нон тайёрлаш инсон цивилизациясини бошларида бошланган бўлса ажаб эмас. Дастлаб нон сувга аралаштирилган уннинг пиширилгани бўлган. Ўшандан бошлаб, ҳозирги кунгача нон тайёрлаш доимий равишда такомиллашиб бормоқда.

Бу масалада мамлакатимизда катта тажриба тўпланган. Эътибор қилсангиз ҳар бир вилоятни нон ёпишдаги тажрибалари кўз ўнгингизда намоён бўлади. Технологик нуқтаи назардан нон тайёрлашда ачитқилардан фойдаланиш катта аҳамият касб этди. Шу ўринда, нон тайёрлаш жараёнида ачитқи дастлаб ҳаводан тушган десак хато бўлмас. Кўп мамлакатларда нон унга ачитқи, туз, шакар ва озроқ ёғ ёки маргарин қўшиб тайёрланади. Бу компонентлар ачитқини тез ривожланиши учун зарур ва оқибатда нонни сифатини яхшилашга хизмат қилади. Бугунги кунда миллий урф-одатлар, каллорияни кўтариш, пархез, тўй-хашам ва бошқа эҳтиёжлардан келиб чиққан ҳолда нонга бошқа компонентлар ҳам қўшилади.

Унни тузли сувда яхшилаб аралаштирилгандан кейин унга *Saccharomyces cerevisiae* ачитқи замбуруғи қўшилади. Бошоқлилар, жумладан буғдой кам миқдорда паст молекуляр массага эга бўлган, бижғийдиган шакар моддалари сақлайди. Иккинчи томондан 50% дан кўпроқ крахмал сақлайди ва у ачитқи замбуруғлари томонидан парчаланмайди. Шунинг учун ҳам крахмални глюкоза ёки мальтозагача парчалайдиган ферментлардан фойдаланилади.

Илмий изланишлар натижасида ун таркибидаги крахмал замбуруғ ва бактериялардан олинган амилазалар ёрдамида яхши парчаланиши аниқланган. Крахмални гидролизи хамирга ташқаридан қўшиладиган амилолитик ферментлар ёрдамида амалга ошади. Амилолитик комплекс бир неча ферментларни ўз ичига олсада, улардан фақатгина икkitаси: амилаза ва глюкоамилаза нонвойчиликда кенг қўлланилади. Амилазани замбуруғлар (*Aspergillus oryzae*, *A.niger*, *A.awamori* ва бошқалар) ва бактериялар (*Bacillus subtilis*, *B.amylolignefaciens*, *B.mesentericus*, *B.stearothermophilus*) синтез қиладилар. Глюкоамилаза фақатгина қора аспергилларда (*Aspergillus awamori*, *A.niger* ва бошқалар) кўпроқ синтез бўлади.

Нонвойчиликда ишлатиладиган бактерия ёки замбуруғ амилазалари орасида устуворлик замбуруғ ферментларига берилади. Бунга асосий сабаб замбуруғ α -амилазалари бактерияларникига нисбатан ҳароратга чидамсизроқ, юқори ҳароратда тез парчаланиб, нон мағзига салбий таъсир кўрсатмаслигидир. Замбуруғ амилазаси қўшилган хамирда шакар миқдори кўпроқ бўлиб, ачиш жараёни тўлароқ ўтади, карбонат ангидрид газини кўпроқ чиқади, меланоидинлар ҳосил бўлиши ошади ва тайёр маҳсулотни сақлаш вақти чўзилади. Фермент қўшилганда нон, кекс ва нон

махсулотларини таъми яхшиланади, хушбўй ҳидли, ташқи кўриниши ёқимли бўлади. Замбуруғлардан олинган α -амилаза таркибида протеаза ҳам учрайди, бу эса хамирдаги оксилларни, хусусан асосий оксил – клейковинани ҳам парчаланиб кетишига олиб келади. Шунинг учун ҳам нонвойчиликда протеазани фаоллигини тўхтатиб кўядиган модда (ингибитор) калий бромат ишлатилади. Бугдойни қаттиқ навларидан олинадиган унлардаги клейковинани қисман парчаланиши, ижобий натижа беради.

Тажрибаларда кузатилганидек, нонвойчиликда глюкоамилазани ишлатилиши ҳам ижобий натижа беради. Бу ферментни эплаб ишлатилганда, керакли миқдорда глюкоза ҳосил бўлади. Юқорида таъкидланганидек, глюкоамилаза крахмал молекуласидаги ички боғларни гидролиз қилаолмайди, демак уни молекуляр массасини тез камайтириб юбора олмайди. Бу фермент фақатгина крахмални қайтарилган учидagi глюкозани гидролиз қилишга қодир холос, шунинг учун ҳам у биополимерни умумий физикавий хусусиятларига жуда ҳам кам таъсир кўрсата олади холос. Бу эса жуда ҳам муҳим, чунки крахмал нонга шакл беради, уни бутунлай парчаланиб кетиши маълум шаклдаги нон ёки нон маҳсулотлари тайёрлашни қийинлаштириб юборади. Нонвойчилик тажрибасида бошқа ферментлар ҳам ишлатилган (целлюлаза, ксиланаза), аммо бундай мисоллар шунчалик камки, шунинг учун ҳам уларни муҳокама қилишни зарур деб билмадик. Нон тайёрланаётганда хамирдаги шакар моддалари ачитки замбуруғлар томонидан истеъмол қилинади ва улар томонидан спирт ва карбонат ангидрид газига айлантирилади. Нон ёпиш (пишириш) жараёнида спирт учиб кетади, карбонат ангидрид газига эса хамир орасида тарқалиб, унга ўзига хос бўлган бўшлиқ сақлаган шакл беради.

Охириги йилларда нон тайёрлашда анчагина ўзгаришлар юз бермокда, энг аввало бу хамир қорадиган ва унга ишлов берадиган машиналарга таалуклидир. Нонвойчиликни янада кенгайиб бориши, бу жараёни тезлаштирувчи барча янги усуллардан фойдаланишни таққазо этади. Худди шу мақсадга эришиш учун хамиргга кўпроқ ачитки замбуруғлари ва фермент препаратлари аралаштирилмокда. Бундай нонни сифати эса аввалгилардан паст бўлмаслигини эътибордан ташқарида қолдириш мумкин эмас.

Замонавий биотехнология нуқтаи назаридан ачитиш жараёнида ишлатиладиган *Saccharomyces cerevisiae* ачитки замбуруғининг генетикаси ўта яхши ўрганилган ва у ген – муҳандислик тажрибалари ўтказиш учун муҳим манба эканлиги аниқланган. Бу культурага α -амилаза ва β -галактозидаза генлари киритилган, бу эса ушбу микроорганизмни генетик спектрини янада бойитган. Яқин келажакда нон тайёрлашда бугдойни янги навларидан, ҳамда технологик қулай машина ва механизмлардан, микроорганизмларни янги, серҳосил, мақсадга тўлиқ жавоб бераоладиган

штаммларидан фойдаланиш орқали нон ишлаб чиқаришни янада юқори даражага кўтариш мумкинлигини муҳокама қилинмоқда.

14.8. ШАКАР ЎРНИНИ БОСУВЧИ МОДДАЛАР

Сахароза ёки бошқа табиий шакарларни ҳаттоки меъёрида истеъмол қилиш ҳам баъзи ҳолларда атеросклероз, диабет, семириб кетиш ва бошқа потологияларга олиб келади. Шунинг учун ҳам охирги вақтларда шакар табиатли бўлмаган, аммо ширин таъм берадиган моддаларни излаб топишга алоҳида эътибор берилмоқда. Ширин таъм берадиган бирикмаларни икки гуруҳга ажратиш мумкин: табиий органик бирикмалар – оксиллар, дипептидлар ва кимёвий синтез йўли билан олинган бошқа бирикма ва моддалар.

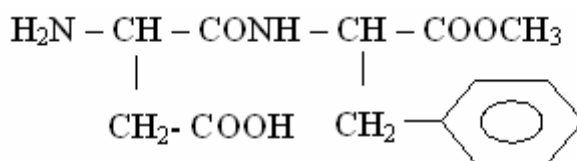
Шакарни ўрнини боса оладиган моддаларни танлашда уларни метаболизмга қўшилиши, каллорияси, инсон саломатлигига безарарлиги, муайян моддани ишлаб чиқариш технологиясини баҳосига алоҳида эътибор берилади. Ҳозирги вақтда илмий адабиётларда жуда ҳам кўп миқдорда шакар ўрнини босаоладиган моддалар чоп этилган бўлсада, улардан бир нечасигина ҳаётга тадбиқ этилган ҳолос.

Ширин таъм берувчи моддаларга моносакхаридлар ва кичик молекулалик олигосакхаридлар, крахмални парчалаш орқали олинган моддалар ва уларни қисман изомеризация қилиш орқали олинган маҳсулотлар (глюкоза ва фруктозани аралашмаси), ҳамда углевод бўлмаган типдаги бирикмалар киради.

АҚШ ва Ғарбий Европа мамлакатларида сахарозага нисбатан ҳисоб-китоб қилинганда аҳоли бошига бир йилда 55-56 кг ширинлик истеъмол қилинади.

Шакар ўрнини босадиган, кимёвий синтез йўли билан олинадиган модда - сахарин бир неча ўн йиллаб кондитер саноатида кенг ишлатиб келинган ва бугунги кунда янги, пасткалорияли моддалар билан алмаштирилган. Шундай моддалардан бири метилланган дипептид – аспартамдир. Бу модда биотехнологик йўл билан синтез қилинади. Аспартам (уни савдога чиқарилган номи «Нутрисвит») диетик ичимликлар тайёрлаш учун кенг қўлланилади.

Аспартамнинг синтезида энг муҳим модда – бу фенилаланин аминокислотасидир. Бу аминокислота микробиологик синтез йўли билан олинади. Уни кимёвий формуласи қуйидагича:



L - а – аспартил – L – фенилаланин (Аспартам)

Бу модда тўлиғича токсикологик синовлардан ўтказилиб, озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш технологияларида кенг ишлатилиб келинмоқда. Шакар ўрнини босадиган моддалардан яна бири - стевиозид диққатга сазовордир. Бу модда Жанубий Америкада ўсувчи *Stevia rebaudiana* ўсимлигидан ажратиб олинган. Бу ўсимлик қора денгиз қирғоқларида ҳам ўсиб, юқори ҳосил беради. Бу ўсимликни барглари жуда ширин бўлиб, атиги 3-4 донаси 1 л сувни ширин қилиб юборади.

Бу ўсимликни ўстириш марҳум профессор Жўракул Турсунов томонидан мамлакатимизнинг Сурхандарё вилоятида амалга оширилган. Эндиликда бу вилоятда стевия ўсимлигининг бир неча гектарлик плантацияси яратилган.

Стевия ўсимлиги баргидан шакар ўрнини босадиган модда ажратиш эса профессор М.М.Рахимов томонидан амалга оширилган. Стевиозидни молекуласи 3 та глюкоза ва 1 та таъмсиз агликондан иборат. Бу моддани тоза ҳолда ажратиб олиш мураккаб бўлганлиги сабабли, уни озиқ-овқат саноатида кенг қўллаш имконияти яратилганича йўқ.

Бошқа типдаги шакар ўрнини босаоладиган моддалардан бири - флавонол-7-глюкозиддир. Бу модда цитрус ўсимликларида сақланади. Бу бирикмани унча мураккаб бўлмаган модификацияга учратилганда – шакардан ҳам ширин бўлган дигидрохалконлар ҳосил бўлади. Бу бирикмалар орасида эътиборга лойиқлари – нарингениндигидрохалкон, неогесперединдигидрохалкон ва гесперединдигидрохалкон-4-β-D-глюкозид ҳисобланадилар. Бу бирикмаларнинг охириги 2 таси сахарозадан 300 маротаба ширинроқдир.

Нарингениндигидрохалкон – сахарозадан 2000 маротаба ширинроқ бўлсада, камроқ заҳарлик хусусиятига ҳам эгадир. АҚШда нарингениндигидрохалкон саноат миқёсида ишлаб чиқарилади.

Неогесперединдигидрохалкон-4-β-D-глюкозид цитрус ўсимликлари чиқиндиларидан (сокини сиқиб олгандан кейин қолган чиқиндилар) ажратиб олинади.

Тауматин – оксил табиатли бирикмадир. Саноатда тауматин *Thaumatococcus danielli* ўсимлигининг мевасидан экстракция қилиш орқали ажратиб олинади. Бугунгача аниқ бўлган шакар ўрнини босаоладиган моддаларнинг энг ширини тауматин ҳисобланади. 36-жадвалда саноатда ишлатиладиган бирикмаларни ширинлигининг эквиваленти келтирилган.

36-жадвал.

Баъзи бир табиий ва кимёвий синтез йўли билан олинган моддаларни ширинлигини сахарозага нисбатан эквиваленти

Бирикма	Ширинлик эквиваленти
Сахароза	1,0
Циклабат	50,0
Аспартам	150,0
Сахарин	300,0
Тауматин	3000,0

Шакар ўрнини босадиган моддалар саноатда ҳар хил ичимликлар (алькоголли ва алькоголсиз), джемлар, шиннилар, конфет, сақичлар, пирожнийлар ва бошқа ширинликлар тайёрлашда ишлатилади.

Шуни алоҳида таъкидлаш лозимки яқин 10-15 йилда шакар ўрнини босадиган моддаларни истеъмол қилиш янада ошади. Бунга йилдан йилга уларни ишлаб чиқариш ҳажмини 8-9% га ошиб бориши гувоҳлик беради.

14.9. ОЗИҚ-ОВҚАТ САНОАТИ ЧИҚИНДИЛАРИ

Озиқ-овқат саноати ва қишлоқ хўжалиги чиқиндилари бутун дунёда кўп миқдорда тўпланиб бораётганлиги учун ҳам нафақат маҳаллий балки халқаро муаммоларга сабаб бўлмоқда. Айниқса биологик фаол кислород ҳосил қиладиган чиқиндиларга нисбатан ўта каттиқ қонунлар яратилган.

Органик чиқиндиларни утилизация қилишга алоҳида эътибор берилмоқда, улар асосида ҳайвонлар учун озиқа моддалари, хилма-хил химикатлар, биогаз ва бошқа маҳсулотлар тайёрлаш технологиялари яратилган ва бундай изланишлар жадал давом этмоқда.

Чиқиндиларни қайта ишлашни иккинчи йўналиши – уларнинг таркибидаги захарли моддаларни ажратиб олиш ва уларни зарарсизлантириш; биологик фаол бирикмалар ёки иккиламчи метаболитлар ажратиш ва улардан ҳайвонларни озиқлантириш ва даволаш мақсадида фойдаланиш. Баъзи мамлакатларда, масалан АҚШ, Англия, Франция, Японияда жуда катта чиқиндилар бозори ташкил этилган. Чиқиндилар сотиб олиниб, гуруҳланади ва кейин қайта ишланади.

14.10. МИКРООРГАНИЗМЛАРДАН ОЛИНАДИГАН ОЗИҚА КОМПОНЕНТЛАРИ

Замонавий озиқ-овқат саноатида микробиологик синтез йўли билан олинадиган моддалар, айниқса алоҳида тозалаб олинадиган озиқа ингредиентлари жуда катта аҳамият касб этмоқда. Иқтисодий ривожланган мамлакатларда бундай моддалар тўла сифатли озиқа рецептурасини яратишда қўшимча, энг муҳим моддалар сифатида ишлатиб келинмоқда. Микробиологик ингредиентлар тайёрлаш (ишлаб чиқариш) учун анъанавий йўллар билан бирга, биотехнологияни энг янги ютуқларидан ҳам фойдаланиб келинмоқда. Шулардан баъзи-бирлари тўғрисида қисқача тўхталиб ўтамиз.

14.10.1. Озиқ-овқатда ишлатиладиган органик кислоталар

Сирка кислотаси. Озиқ-овқатда бу кислотани сувли эритмаси ишлатилади. Эритмада унинг миқдори 4% дан кам бўлмаслиги керак.

Сирка, одатда вино таркибидаги этанолни бижғитиш орқали тайёрланади. Бижғитиш жараёни *Acetobacter* лар ёрдамида амалга оширилади.

Лимон кислотаси. Бу кислота озиқ-овқат саноатида энг кўп ишлатиладиган органик кислота ҳисобланади. Лимон кислотаси антиоксидант ва ичимликлар, джем, шиннилар, конфет ва бошқа ширинликлар тайёрлашда консервант сифатида, ҳамда уларга ўзига хос нордонлик бериш мақсадида ишлатилади.

Озиқ-овқат саноатида йилга 100000 тонна тоза лимон кислотаси ишлатилади. Уни *Aspergillus niger* замбуруғини махсус мутантларини ўстириш орқали ҳамда кимёвий синтез орқали олинади. Охирги йилларни статистик анализи йилдан-йилга микробиологик синтез йўли билан олинadиган лимон кислотасини миқдори ошиб бораётганлигидан далолат беради. Лимон кислотаси ишлаб чиқарадиган бир неча микробиологик заводлар қурилиб, ишга туширилган ва фаолият кўрсатиб келмоқда.

Озиқ-овқат саноати учун зарур бўлган органик кислоталарни бошқалари ҳам худди шу йўл билан, яъни микробиологик синтез йўли билан амалга оширилмоқда. Қуйидаги 37-жадвалда микробиологик синтез орқали олинadиган, озиқ-овқат саноати учун зарур бўлган органик кислоталар келтирилган.

37-жадвал.

Озиқ-овқат саноатида ишлатиладиган кислоталар ва уларни синтез қилувчи микроорганизмлар

Кислота номи	Углерод манбаи	Микроорганизм -продуцент
1	2	3
Сут кислотаси	Крахмал, глюкоза	<i>Laktobacillus delbrueckii</i> , <i>Rhizopus oryzae</i>
Мой (ёғ) кислотаси	Крахмал, глюкоза	<i>Clostridium butyricum</i>
1	2	3
Пропион кислотаси	Глюкоза	<i>Propionibacterium shermani</i>
Глюкон кислотаси	Глюкоза	<i>Aspergillus niger</i>
Вино кислотаси	Глюкоза	<i>Gluconobacter suboxydans</i>
Сирка кислотаси	Этанол	<i>Acetobacter aceti</i>
Итакон кислотаси	Глюкоза	<i>Aspergillus terreus</i>
Янтар кислотаси	Глюкоза	<i>Bacterium succinicum</i>
Фумар кислотаси	Глюкоза, парафин	<i>Rhizopus delemar</i> , <i>Candida hydrocarbonfumarica</i>
Олма кислотаси	Глюкоза, парафин	<i>Candida hydrocarbofumarica</i> , <i>Pichia membranalfaciens</i>
Лимон кислотаси	Меласса, сахароза	<i>Aspergillus niger</i>

14.10.2. Аминокислоталар

Дунёда ҳар йили 700000 тоннадан кўпроқ аминокислоталар ишлаб чиқарилади. Бу соҳада Япония бошқа мамлакатлардан кўра кўпроқ, яъни йилига 2 млрд. АҚШ доллариға тенг бўлган баҳода тоза ҳолатдаги аминокислоталар ҳамда уларни аралашмасини ишлаб чиқаради.

Аминокислоталар озиқ-овқат маҳсулотларини таъмини яхшилаш ва уларнинг озиқа қийматини ошириш мақсадида кенг қўлланилади. Аминокислоталарни биосинтези учун озиқ-овқат маҳсулотларини ҳар хил таксономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизмлардан фойдаланилади. Масалан, лизин ва глутамин кислотасини синтези учун *Cornebacterium glutamicum* ва *Brevibacterium flavum* бактериялари ишлатилади.

Аминокислоталар синтез қилувчи микроорганизмларнинг кўпчилиги классик микробиология усулларида фойдаланиб, танлаб олинганлар, яъни улар мутантлар ҳисобланади. Паст молекуляр оғирликга эга бўлган бирикмаларни суперпродуцентларини яратиш стратегияси унчалик яхши йўлга қўйилмаган бўлсада, баъзи аминокислоталарни продуцентлари ген-муҳандислик усуллари ёрдамида яратилган ва улардан ишлаб чиқариш миқёсида фойдаланиб келинмоқда. Кимёвий йўл билан, яъни синтез қилиш орқали олинадиган аминокислоталарни миқдори ҳозирча кўпроқ. Масалан, кенг миқёсда ишлатиладиган аминокислоталардан глицин ва метионин асосан кимёвий синтез йўли билан ишлаб чиқилади.

14.10.3. Витаминлар

Замонавий нуқтаи назарга асосан ҳар хил кимёвий тузилишга эга бўлган бирикмалар шартли равишда витаминлар гуруҳига қўшиб қўйилган. Хусусият ва тузилишларини чуқур ўрганиб борган сари бу гуруҳга кирувчи моддаларнинг таркиби ўзгариб турибди. Хусусиятларида коферментлик хоссалари ёки фаолликлари бўлмаганликлари учун В₁₅, Р ва F витаминларини (илгари шундай юритилган) витаминлар сафидан чиқариш тавсия этилган.

Энг янги классификацияга асосан, витаминлар гуруҳига қуйидагилар киритилган:

В-гуруҳи:	В ₁ – тиамин;
	В ₂ – рибофлавин;
	В ₃ – пантотен кислотаси;
	В ₅ – никотин кислотаси;
	В ₆ – пиридоксин;
	В ₉ – фолин кислота;
	В ₁₂ – кобаламин.
А-гуруҳи:	Н – биотин;
	С – аскорбин кислотаси;
	А – ребитиноллар α- ва β-каротинлар.
Д-гуруҳи:	кальцеферол;
	эргокальцеферол;
	эргостерин (провитамин);
	7-дигидрохолестерин (провитамин).
Е- токофероллар;	
К-нафтохинонлар, уларни кофермент шакллари ва ҳар хил ҳосилалари.	

Витаминларга талаб ошиб бораётганлиги учун, уларни синтез қилувчи микроорганизмларни танлаш, селекция қилиш, ген-муҳандислик ёки ҳужайра биотехнологияси усулларида фойдаланиб, серҳосил штаммлар яратишга алоҳида эътибор берилмоқда. Бундай қизиқиш микроорганизмларда витаминларни кўплаб синтез қилиш (суперсинтез) имкониятлари топилгандан кейин айниқса ортиб кетди. Масалан, рибофлавинни замбуруғлар, бактериялар ва айниқса ачитқилар жуда кўп миқдорда синтез қилишлари аниқланган. В₁₂ витаминини кўп миқдорда синтез қилувчи бактерияларни мутантлари ҳам яратилган. Юқорида келтириб ўтилган витаминларни барчаларини ҳам ишлаб чиқариш йилдан-йилга ошиб бормоқда. Биргина С витамини йилига 40000 тонна ишлаб чиқарилишига қарамасдан, унга бўлган талаб тўла қондирилмаган. Озиқ-овқат саноатини витаминларга бўлган талаби асосан табиий манбалар ҳисобидан ва кимёвий синтез йўли орқали қондирилади.

Шундай бўлсада, витаминларни кўплаб ишлаб чиқаришда биотехнологиянинг роли секин-аста ўсиб бормоқда, масалан рибофлавин ва β-каротинни микробиологик синтези саноат миқёсида йўлга қўйилган.

14.10.4. Полисахаридлар

Ферментларга ўхшаб, баъзи-бир полисахаридлар ҳам микроорганизмларни ҳужайрадан ташқаридаги метаболитлари ҳисобланади. Озиқ-овқат саноатида полисахаридлар маҳсулотга шакл бериш ва уларни қуюлтириш учун кўпроқ ишлатилади. Шарқ мамлакатларида, хусусан Япония ва Хитойда қадимлардан қуюлтирувчи, таъм ва шакл берувчи модда сифатида денгиз ўсимликларидан фойдаланиб келинган.

Полисахаридларни қуюлтирувчи ва шакл берувчи манбалар сифатида ишлатилишини асосий сабаби, уларни нейтраллиги ва биологик ҳамкорлик хусусиятларидир. Масалан, *Pseudomonas spp.* бактерияси синтез қиладиган полисахаридлар қуюлтирувчи модда сифатида кенг ишлатилиб келинаётган глюкоманнозлар билан биргаликда бемалол ишлатилаверадилар. Микроблар синтез қилувчи полисахаридларни янги манбаларини топиш замонавий озиқ-овқат саноатининг энг долзарб масалаларидан биридир.

Биотехнологик усуллар билан олинадиган янги озиқаларни ижобий томонлари билан биргаликда салбий томонлари ҳам бор. Масала шундаки, озиқ-овқат саноати – консерватив тармоқ ва шунинг учун ҳам ҳар қандай янгиликни катта қийинчилик билан қарши олади.

Биринчидан, жамоа анъанавий озиқаларга ўрганиб қолган, янги маҳсулотларни истеъмол қилишга тайёр эмас, айниқса ген-муҳандислик йўллари билан яратилган маҳсулотларни истеъмол қилишга қаршилар жуда ҳам кўплаб топилади. Шундай қилиб, ҳалқнинг катта қисмини

анъанавий бўлмаган янги маҳсулотларга қарашлари салбий бўлиб, улар биотехнологиянинг реал имкониятларига шубҳа билан қарайдилар.

Шуниси қизиқки, замонавий биотехнология асосан энг ривожланган мамлакатларда яратилган ва янги маҳсулотларни асосий ишлаб чиқарувчилари ҳам ана шу мамлакатлардир. Аммо, бу маҳсулотлар асосан озиқ-овқат етишмаётган, энди ривожланаётган мамлакатларда сотилмоқда. Бу воқеълик ҳар қандай инсонни ўйлантириб қўйиши мумкин, аммо замонавий биотехнологиянинг бошланиши ачиш-бижғиш жараёнлардан, яъни микроорганизмларни анаэроб шароитдаги фаолияти асосида қурилганлигини эсдан чиқармаслик керак.

Юз йиллар мобайнида бижғиш маҳсулотлари (нон, пишлоқ, пиво, вино ва ҳ.к.) инсониятни кундалик истеъмол молларига айланган ва шундай бўлиб турибди. Аммо, вақт, давр ўз талабларини қўяди ва инсон табиатдаги баъзи-бир организмларни мақсадга мувофиқ равишда ўзгартириб боришга мажбур.

Бундай машаққатли меҳнат қанчалик ўзини оклайди? Энг замонавий биотехнологиянинг усуллари асосида яратилган озиқа маҳсулотларидан кенг фойдаланиш, уларни узоқ давр мобайнида истеъмол қилинганда қандай ўзгаришларга олиб келиши ёки келмаслигини фақатгина вақт кўрсатади.

Бугунги кунда ген-муҳандислиги усуллари ёрдамида яратилган организмлар асосида озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқариш жадал давом этмоқда. Иқтисодиёт нуқтаи назаридан бу жараёни тўхтатиш жуда ҳам мураккабдир. Шунинг учун ҳозирги кунда ишлаб чиқарилаётган маҳсулотни сифатини баҳолашга алоҳида эътибор берилмоқда. Ген-муҳандислиги асосида яратилган организмлар янги авлод технологияларига асос бўлиб хизмат қилса ажаб эмас. Бундай технологияларни анъанавий технологиялардан фарқи икки ҳолат билан белгиланади:

- ✓ *генларни клонлашни катта аниқлик билан назорат қилиши мумкин;*
- ✓ *анъанавий усуллар ёрдамида бир-бирларига яқин бўлмаган организмларга ген ўтказиш мумкин эмас.*

Ген муҳандислигини ишлатилиши организмни ишлаб чиқариш тавсифини тузатишга ва кераксиз хусусиятлардан озод этишга олиб келади. Озиқ-овқат саноатида ген-муҳандислигини асосий вазифаси — маҳсулот сифатини ва хавфсизлигини тузатиш, ишлаб чиқадиغان маҳсулотларни асортиментини кўпайтириш ва уларнинг тан нархини пасайтиришдан иборатдир.

14.10.5. Таъм берувчи қўшимча моддалар

Статистик маълумотларга қараганда озиқ-овқат маҳсулотларини сотишдан тушган пул айланмасини 90 фоизи уларни озиқа бирлиги эмас балки органолептик хоссаларига қараб сотилган маблағ ҳисобланар экан.

Охирги 20-25 йилларда синтетик алкогольсиз ичимликларга, чайналгик резинкаларга, ҳар хил ширинликларга (шакар ўрнини босувчи моддалар асосида тайёрланган) ва шунга ўхшаган ташқи кўриниши киши эътиборини тортадиган, хушбўй маҳсулотларга бўлган муносабат, уларни кўплаб харид қилиниши юқоридаги фикримизни далилидир. Бугунги кунда бундай маҳсулотларни ишлаб чиқариш йилига 5% га ошиб бормоқда ва мўътадил бизнес манбаига айланган. Хушбўйлик берадиган маҳсулотларни ишлаб чиқариш икки йўл билан олиб борилади:

- ✓ *ўсимликлардан ёки ўсимликларни тўқима культураларидан ва микроорганизмлардан ажратиш;*
- ✓ *кимёвий синтез орқали.*

Таъм беришда ёғ кислоталари, моно- ва сесквитерпенлар, лактонлар, натрий глутамат, аминокислоталар ва бошқа табиий бирикмалар катта роль ўйнайди.

Кимёвий синтезни компьютерлаштириш йўлга қўйилгандан кейин бу усул фармакология ва озиқ-овқат саноати учун зарур бўлган, алоҳида компонентларни катта миқдорда ишлаб чиқариш учун кенг ишлатила бошланди. Масалан, эфир мойларини кимёвий синтези, уларни олишни биотехнологик усулидан кўра кўпроқ маҳсулот беради. Аммо биотехнологик усулни жадаллик билан ўсиб бориши яқин келажакда уни истиқболлари аниқлигини ва кимёвий синтездан кўра сифатлироқ ва кўпроқ маҳсулот етказиб бериши мумкинлигидан дарак бермоқда.

1986 йилда дунёда 1,5 млрд. долларлик таъм берувчи маҳсулотлар тайёрланган эди. Бугунги кунда бу маҳсулотни ишлаб чиқариш анча кўпайган. Бу йўналишда АҚШ биринчи ўринда туради ва бу мамлакатда бутун дунёда чиқариладиган таъм берувчи маҳсулотларни 50% ишлаб чиқарилади. Европа мамлакатлари – 30% бошқа мамлакатлар (жумладан Хитой, Япония ва Россия ҳам шуларга киради) атиги 20% ишлаб чиқаришади, холос.

Мутахассисларни берган маълумотига қараганда, фақат янги таъм берувчи моддаларни истеъмол қилинишини ўсиши 1997-2010 йилларда 12-15% дан кам бўлмаслиги керак.

Охирги ўн йиллар орасида олиб борилган илмий тадқиқотлар бундай маҳсулотлар нафақат ўсимликлар, балки микроорганизмлар томонидан синтез бўлишини ҳам кўрсатди ва бу далилга катта эътибор берилмоқда.

Микроб биомассасидан олинган моддалар ароматик бирикмалардан ташқари глутамин кислотаси ва рибонуклеотидлар сақлаши аниқланган. Бу моддалар токсинлик хусусиятига эга эмас ва табиий таъм бериш билан характерланади. Бундан ташқари, микроб биомассаси, оксил гидролизатлари (аминокислоталар ва углеводлар) иссиқлик билан ишлов берилганда ўзига хос, хушбўй хид бериши кузатилган. Масалан, АҚШда нонвойчиликда ачитқи замбуруғларидан *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis (lactis)*, *Candida utilis (Torula)* лардан фойдаланишга

рухсат этилган, фақатгина уларни миқдори унга нисбатан 2% дан ошмаслиги керак.

Шуни ҳам эътиборга олиш лозимки, таъм берувчи маҳсулотлар сифатида микроб биомассасидан фойдаланиш, бу озиқ-овқат саноатининг янги йўналиши ҳисобланади ва ҳозирги даврда бу соҳада чуқур изланишлар олиб борилмоқда.

Бугунги кунда ишлатиб келинадиган таъм берувчи моддалар қуйидагича классификацияланган:

- ✓ *ҳайвон, ўсимлик ва микроорганизмлардан олинadиган таъм берувчи, табиий бирикмалар ва уларни композициялари;*
- ✓ *табиий ароматизаторларга ўхшаши, лекин кимёвий синтез орқали олинadиган бирикмалар;*
- ✓ *табиатда (аналоги) ўхшаши бўлмаган ёки ҳозирча топилмаган синтетик бирикмалар;*
- ✓ *таъм сифатини кучайтириб берадиган табиий бирикмалар;*
- ✓ *ноорганик тузлар.*

Ачитқи замбуруғларини биотехнологияда роли фақатгина уларни бижғитиш жараёнини олиб бориши ва оксил тўплаши билан чегараланмайди. Саноат шароитида ачитқи замбуруғларини ўстириш орқали улардан витаминлар, ферментлар, каротиноидлар, органик кислоталар ва бошқа физиологик фаолиятга эга бўлган метаболитлар ажратиш олиш мумкин. Пиво ва нон маҳсулотлари тайёрлашда ишлатиладиган *Saccharomyces* авлодига мансуб ачитқи замбуруғларини қуруқ биомассасидан автолизат ва гидролизатлар тайёрлаш бошқаларга қараганда иқтисодий самаралироқ эканлиги аниқланган.

Юқорида келтириб ўтилганидек озиқ-овқат маҳсулотларини таъминати тузатиш учун натрий глутамат, нуклеотидлар, ачитқи замбуруғларини экстрактлари, оксил гидролизатлари ишлатилади. Таъм сифатини яратишда ёғ кислоталари, эфир мойлари, моно-, дитерпенлар, аминокислоталар, лактонлар, метилкетонлар ва бошқалардан фойдаланилади.

Таъм сифатини хилма-хил бўлишида овқат таркибидаги полимерларни моно-, димерларгача парчалаб берувчи гидролитик ферментларни роли ҳам каттадир. Шу нуқтаи назардан глутамин кислотаси ва нуклеин кислотасини кўпроқ синтез қилувчи ачитқи замбуруғлари ва бактериялар анча истиқболли ҳисобланадилар (38 ва 39-жадваллар).

38-жадвал.

Микроорганизмлар биомассасида глутамин кислота миқдори

Сут ачитувчи бактериялар	10,5 – 12,0
Метан оксидловчи бактериялар	12,0 – 14,0
Ачитқи замбуруғлари	10,5 – 15,0
Микроскопик замбуруғлар	4,5 – 11,0
Сув ўтлари	6,5 – 8,0

**Микроорганизмлар биомассасида
нуклеин кислотанинг миқдори**

Микроскопик замбуруғлар	0,7 – 1,8
Бактериялар	4,0 – 15,0
Сув ўтлари	4,0 – 6,0
Ачитки замбуруғлар	5,0 – 12,0

Кўп сонли тажрибалар асосида глютамин, инозит ва гуанилат натрий, 5-дезоксирибонуклеотидлар, ачитки экстрактлари табиий таом ва хушбўй ҳид берадиган моддалар деб тан олинган. Гўшти таъмига ўхшаш маҳсулот катта аҳамият касб этади. Шу мақсадда Европада асосан ачитки автолизатлари ишлатилади, жанубий Америкада эса паст навли гўшти экстрактларидан, Осиё мамлакатларида сояни қайта ишлаш маҳсулотларидан фойдаланилади.

Ачитки замбуруғлари таркибидаги оксилни кўплиги (30% гача) бу биомассани глютамин ва нуклеин кислотага бойлиги, уни озиқ-овқат саноатида кенгрок қўллаш имкониятини яратиб беради. АҚШ, Англия, Франция, Голландия, Италия, Бельгия, Япония ва бошқа мамлакатларда 50 дан ортиқ компаниялар ҳар хил хушбўй маҳсулотларни тайёрлаш билан шуғулланадилар.

14.11. СИФАТНИ БАҲОЛАШ

Кўпчилик озиқ-овқат маҳсулотларини узоқ вақт сақлаш ва ташиш жараёнларида, улар *Listeria*, *Salmonella*, *Campulobacter* каби касал қўзғатувчи микроорганизмлар билан захарланишлари мумкин. Шунинг учун ҳам озиқ-овқат ва қишлоқ-хўжалик маҳсулотларини микробиологик назорат қилиб туриш талаб қилинади. Бу эса тегишли асбоб-ускуналар, махсус хоналар ва шароитлар, вақт ва мутахассис талаб қиладиган машаққатли жараёндир.

Зарарланган озиқ-овқат маҳсулотлари ва агробиологик манбаларни биотехнологиянинг замонавий усуллари орқали баҳолаш анъанавий усуллардан бирмунча фарқ қилади. Молекуляр биология фани ютуқларидан фойдаланиб, чунончи антителалар детекция тизимидан ёки ДНК-РНК технологиясидан фойдаланиб, манбани микробиологик зарарланганлигини аниқ ва тез кузатиш мумкин. Бу усул шунчалик соддаки, уни ҳатто ўрганиб олган оддий лаборантлар ҳам бажараоладилар.

Озиқ-овқат саноатига кириб келган яна бир янги усул бу иммун усулидир. Бу усул ёрдамида маҳсулотларни сифатини назорат қилиш тобора кенгайиб бормокда. Масалан, озиқ-овқат маҳсулотларидан салмонеллалар ажратиш ёки микотоксинларни аниқлаш анъанавий усуллар ёрдамида олиб борилганда жуда узоқ вақтни (бир неча кеча-кундузни) талаб қилади. Худди шу анализни аффин хроматография усулида, тегишли

антителалар ва токсин сақланган колонкалар ёрдамида 30 дақиқа мобайнида амалга оширилади.

Ҳозирги вақтда иммун усуллар бактериал токсинлар, антителалар, гормонларни аниқлашда катта самара билан ишлатилиб келинмоқда. Бу усулни яна бир устунлик томони у жуда ҳам кам миқдордаги токсинларни ҳам аниқлаш имконини беради.

14.12. СУНЪИЙ ОВҚАТ ТАЙЁРЛАШДА ЗАМОНАВИЙ ЙЎНАЛИШЛАР

Анъанавий озиқ-овқатга нисбатан, сунъий овқат истеъмол қилиш қатор устунликларга эга. Масалан, қанд диабет, баъзи-бир ферментлар биосинтезини пастлиги (панкреатит), витаминлар синтезини бузилиши, крахмални организмда пишлоқилмаслиги ва бошқа қатор касалликларга дучор бўлган инсонлар сони тобора ошиб бормоқда. Ўз-ўзидан маълум бўладики, бундай инсонларни овқатини таркибини ўзгартирилганда ижобий натижаларга эришиш мумкин. Худди шундай сунъий овқат ёши катталарга ва ёш болаларга ҳам жуда зарур.

Юқори каллорияли овқат спортчиларга, шахтёр, металлург, геолог, чўпон, пахтакорлар учун ҳам зарур. Овқат таркибидаги баъзи компонентларни кўпайтириш, баъзиларини (кераксизларини) бутунлай олиб ташлаш ҳисобидан уни функционал самарасини кўтариш мумкин. Масалан, натрий ва калий элементлари етишмаганда нерв импульслари ўтмайди, кальций етишмаганда мушаклар қисқараолмайди, йод етмаганда эса қалқонсимон безни фаолияти ишдан чиқади. Бундай озиқага кам миқдорда қўшиладиган моддалар икки категорияга бўлинади:

- ✓ *кальций, натрий, калийни минерал тузлари, буларни макроэлементлар ҳам деб юритилади;*
- ✓ *микроэлементлар: хром, кобальт, цинк, мис ва селен, булар организмда жуда ҳам кам миқдорда учрайдилар.*

Бу элементларни танқислиги организм фаолиятида жуда катта ўзгаришларга олиб келади. Масалан, марганецни танқислиги гипогликемия олиб келса, никел, йод, хром ёки рух танқислиги қалқонсимон безни ишдан чиқаради.

Функционал муҳим бирикмаларни иккинчи категорияси — витаминлардир. Булар ҳам организмда ўта кам миқдорда учрайди ва уларни танқислиги организм фаолиятини бутунлай ўзгартириб юборади. Қуйида баъзи-бир витаминлар, уларни сақловчи маҳсулотлар ҳамда витаминлар етишмаганда организмда рўй берадиган ўзгаришлар рўйхати келтирилган 40-жадвал).

У ёки бу элементларни танқислигини, мана шу элементлар сақлайдиган сунъий овқат истеъмол қилиш орқали осонлик билан олдини олиш мумкин. Албатта, бу моддаларни таблеткалар, капсулалар ва бошқа шаклларда ҳам истеъмол қилиш мумкин. Аммо, бу элементларни етишмаслигини ҳамда уларни ичакда сўрилиши қийин кетишини

эътиборга олган ҳолда, уларни овқат таркибида истеъмол қилиш мақсадга мувофиқ натижаларга олиб келади.

40-жадвал.

Ҳар хил маҳсулотларнинг витаминлар сақлаши

Витаминлар	Витаминларга бой маҳсулотлар	Танқислик белгилари
А (ретинол), поливитамин А (β-каротин)	Жигар, тухум сариғи, сут, сариёғ, сабзи, помидори, қовун, нок, шафтоли, залдори	Кўришни пасайиши, айниқса қоронғида, ёруғликдан кўрқиш, тери қуриши, терини қуёш ёруғлигига сезгирлиги, шамоллаш, томоғ-бурун касалликларни тез-тез ўтиб туриши, иммунитетни пасайиши.
В (кальцеферол)	Жигар, тухум сариғи. Замбуруғлар, сариёғ, пишлок	Болаларда – рахит. Катталарда – ялқовлик, чарчаш, тиш (ЭМ)алини бузилиши, мушакларда оғриқ.
Е (токоферол)	Ўсимлик мойи, ёнғоқ, бодом, сут, сариёғ, тухум, кора нон.	Мушакларни чарчаши, тери қариши, юрак томир хасталикларга берилиш.
К (менадион)	Жигар, карам, тухум, шпинат, гўшт, гулли карам.	қон оқиши.

Замонавий қарашларга асосан озиқ-овқатни оқсил қисми, шу овқатнинг асосини ташкил этади. Сунъий тайёрланган овқат керакли (натурал) ингредиентларни композицияси ҳисобланади. Алоҳида компонентлардан тайёрланган овқат рецептураси ҳам маълум. Аммо, кўпроқ битта ёки бир неча компонентлардан иборат бўлган ва овқатга қўшиб истеъмол қилинадиган қўшимчалар ишлаб чиқарилмоқда. Бундай қўшимчалар овқатни бойитиш ҳамда организмда етишмайдиган элементларни ўрнини тўлдириш мақсадида ишлатилади.

Сунъий озиқа тайёрлаш учун кўпроқ полисахаридлар, оқсил моддалар, нуклеин кислоталар, ёғлар, маҳсулотларни гидролизаторлари, углеводород, ҳар хил витаминлар, органик ва аминокислоталар, хушбўй ҳид берувчи моддалар, баъзида эса инерт (организмга фойда ёки зарар келтирмайдиган) моддалар ишлатилади. Мана шу ингредиентларни миқдорини, уларни сонини ўзгартириш асосида ҳар хил таркибли, каллорияли ва хушбўйликга эга бўлган сунъий озиқ-овқат маҳсулотлари тайёрланади.

Алоҳида ингредиентларни кўп сонлилиги, улар асосида ҳар хил вариантга эга бўлган (каллорияси, кимёвий таркиби, биологик хусусияти ва ҳ.к.) овқатларни кўплаб тайёрланганлиги «Махсус овқат» деган атамани пайдо бўлишига олиб келди.

Бундай «Махсус овқат»ларга енгил ҳазм бўладиган, юқори каллориялик, узоқ муддат таъсир этувчи, пархез ва ҳ.к. овқатлар киради. Афсуски, кўплаб мамлакатларда ушбу йўналишда илмий ва амалий ишлар

фаол олиб борилаётганлигига қарамасдан бу соҳага оид адабиётлар ёки чоп этилган мақолалар сони жуда ҳам кам.

14.13. ҚАЙТА ИШЛАШ АСОСИДА МАҲСУЛОТЛАР ТАЙЁРЛАШ

14.13.1. Микроорганизмлар биомассасини комплекс қайта ишлаш

Микроорганизмларни хужайралари, худди ўсимлик ёки ҳайвонларнинг хужайра ва тўқималари каби, оксил моддалардан ташқари озиқ-овқат учун керакли бўлган бошқа компонентлар, чунончи нуклеин кислоталари, карбон сувлар, аминокислоталар, органик кислоталар, фосфолипидлар, витаминлар ва бошқа ингредиентлар сақлайди. Бу бирикмалар нафақат ҳайвонларни озиқлантириш учун, инсон учун озиқ-овқат тайёрлашда ҳам қўл келади.

Шунинг учун ҳам микроорганизмларни катта ҳажмда кўпайтириш манбаларини топиш долзарб масала бўлиб қолаверади. Сунъий тайёрланган овқатларни (таъм берувчи, юқори каллорияли, ҳид берувчи ва ҳ.к.) миқдорини тобора ортиб бориши бундай компонентларни ишлаб чиқаришни муайян технологияларини яратилишига олиб келди. Микроорганизмлар биомассасидан алоҳида компонентлар ажратиш мақсадида, уларни комплекс қайта ишлаш мана шундай янги яратилган технологиялардан биридир. Бундай ёндошиш оксилларни алоҳида фракцияларини (жумладан ферментларни ҳам), липидларни, нуклеин кислоталари, карбон сувлар ва ҳ.к. ажратиб олишга имкон беради. Худди шунингдек, паст молекуляр оғирликга эга бўлган моддалардан юқори молекулаликларини ажратиш ва бу моддаларни молекуляр массаси, озиқа бирлиги ва бошқа сифатларига қараб бўлиб олиш имкониятини ҳам беради. Бугунги кунда хужайраларни, айниқса микроб хужайраларни комплекс қайта ишлаш жуда ҳам ривожланиб, юқори босқичга кўтарилган.

Бу технологиядан қуйидаги йирик компаниялар: British Petroleum (Англия), Chochst-ude (Германия), Philips Petroleum, Provest Corporation (АҚШ) ва бошқалар фойдаланадилар. Бундай биотехнологиялар ёрдамида деярли барча хужайра компонентлари, жумладан озиқ-овқат, медицина ҳамда техник мақсадлар учун оксил гидролизатлари ҳам ишлаб чиқарилмоқда.

Микроорганизмлар биомассасини комплекс қайта ишлаш бир неча босқичдан иборат. Биринчи босқич – бу экстракция. Бу босқичда хужайрадан ажратиб олмоқчи бўлган асосий моддани хусусиятларига қараб эритувчи шу моддани тўла экстракциясини таъминлаб берувчи рН – кўрсаткичи, ҳарорат ва ҳ.к. танлаб олинади.

Экстракция бўлувчи бирикмаларни физик-кимёвий хусусиятлари, уларни қайси бирикмалар синфига мансублигидан фойдаланиб, экстракция жараёни босқичма-босқич олиб борилиши ҳам мумкин. Дастлаб сув билан, тузлик эритма, органик эритувчилар билан ва ҳ.к. Экстракция вақтида

керакли модда ферментатив ўзгаришларга учраб қолмаслигига эътибор бериш керак, хусусан биополимерларни парчаланишининг (оқсил, полисахаридлар, липидлар, нуклеин кислоталар ва ҳ.к.) олдини олиш керак.

Компонентларни қайта ишлаш чизмаси, қайси моддага устуворлик берилишига қараб чизилади. Бу мақсадда ҳар хил технологик усуллардан фойдаланилади: чўктириш, ҳар хил эритувчига ўтказиш, адсорбция, концентрлаштириш (куюлтириш), хроматография в ҳ.к. Эритувчини тўғри танлаш ҳам катта аҳамиятга эга. Керакли моддани чўкмага тушириш, аксинча чўкмани эритиб, моддани суюқликга ўтказиш, филтрлаш, мембраналардан ўтказиш ҳам энг муҳим технологик босқичлардан ҳисобланади. Мембраналарни тўғри танлаш нафақат моддани ажратиб олиш, балки уни тозароқ ҳолатда тайёрлаш имкониятини ҳам беради. Биополимерларни молекуляр массасига, ион алмашишига, изоэлектрик нуқтасига, аффинлигига (биологик мослигига) қараб ажратиш усуллари ҳам замонавий биотехнологик жараёнларда тобора кенг қўлланилиб бормоқда.

Кичик ва катта молекулалик моддаларни бир-биридан ажратиш учун кўпроқ юқори молекулали моддаларни органик эритувчилар ёрдамида чўкмага тушуриб олиш тавсия этилади. Экстрактлардан керакли моддаларни ажратиб олиниши яна бир йўли – бу ҳарорат билан ишлов беришдир. Экстракт юқори ҳароратда ушлаб турилганда, температурага чидамсиз бўлган моддалар денатурацияга учраб, чўкмага тушадилар. Чўкмани эса, мақсад ва имкониятлардан келиб чиққан ҳолда ёки филтрлаб, ёки мембраналардан ўтказиб, ёки центрифугалар ёрдамида ажратиб олинади.

Липидлар ва стеринлар органик эритувчилар ёрдамида экстракция қилиб олинади. Бунинг учун хлороформ, эфир, метанол, этанол ва бошқа эритувчилардан фойдаланиш мумкин. Бу босқич энг керакли бўлиб, бошқа моддаларни экстракциясига халақит қилувчи липид, фосфолипид, стеринларни мураккаб эфирлари, ди-, триглицеридлар, ёғ кислоталаридан қутулиш имконини беради. Эритмаларни денуклеинизация (нуклеин кислоталарни ажратиб ташлаш) босқичи ҳам энг муҳимдир. Бу босқичда полимерли ва олигомерли нуклеин кислоталари ажратиб олинади. Бу фракция сувда эрувчи пептидлар, азотли асослар, нуклеотидлар, олигонуклеотидлар, нуклеозидлар ва бошқа моддалар ҳам сақлайди.

Ҳужайра ичидаги паст молекулали моддаларни ажратиб олиш учун, биомассани автолиз қилиш усулидан кенг фойдаланилади.

Автолиз – *бу ҳужайра биополимерларини (оқсил, карбон сув, липидлар, нуклеин кислоталар, полисахаридлар) табиий парчаланишидир.* Автолиз ҳужайра ичидаги ферментлар ёрдамида амалга ошиб, сувда эримайдиган юқори молекулали моддаларни, сувда эрувчи мономерларга айлантириб беради. Бундан ташқари жараёни янада юмшоқроқ шароитда, тезроқ

ўтказиш мақсадида ташқаридан фермент эритмалари аралаштирилади. Муайян ферментлар таъсирида тегишли биополимерлар тез парчаланadi.

Бундай йўл кўпинча ҳайвонлар ва паррандаларнинг емига қўшимча моддалар тайёрлашда ишлатилади.

14.13.2. Микроорганизмлар биомассасидан озиқа оқсил тайёрлаш

Бирлашган Миллатлар ташкилотининг озиқ-овқат маҳсулотлари ва қишлоқ хўжалиги бўлимининг берган маълумотларига кўра озиқа оқсилга бўлган танқислик дунёда йилига 10 млн. тоннани ташкил этади.

Мана шу етишмовчиликни тўлдириш учун энг истиқболли йўл – микробиологик синтез эканлиги кўп сонли, экспертлар томонидан кўрсатиб берилган. Мана шу йўл билан олинган, ҳайвон ва паррандалар учун озиқа сифатида ишлатиладиган оқсил маълум талабларга жавоб бериши керак, озиқ-овқатга ишлатилиши мўлжалланган оқсил моддалари эса яна қатор талабларга жавоб беришлари шарт. Биринчидан, озиқ-овқатга мўлжалланган оқсил фракцияси бутунлай паст молекулали метаболитлардан тозаланган бўлиши ҳамда токсик хусусиятга эга бўлган оқсил моддаларини бутунлай сақламаслиги керак. Шу мақсад учун ҳар хил таксономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизмлардан озиқа оқсил ажратиш усуллари яратилган.

Озиқага мўлжалланган оқсил концентрати, (уни яна изолят ҳам деб юритилади) махсус санитария-гигиена, иқтисодий, технологик ва экологик талабларга жавоб беришдан ташқари маълум озиқа бирлигига эга бўлиши шарт.

Саноатда ишлаб чиқариладиган оқсил препаратлари уч категорияга бўлинади. Биринчи категория кам миқдорда оқсил сақловчи – (20-25% гача) препаратлар. Иккинчи категория юқори миқдорда оқсил сақловчи оқсил концентратлари (60-70%), ва ниҳоят учинчи – 80% дан кўпроқ оқсил сақловчи оқсил изолятлари. Оқсил фракцияларини ажратиб олиш ва тозалаш уларни сақлаш муддатини узайтиришга олиб келади. Бунга сабаб, препарат таркибида бўлган, енгил оксидланувчи ҳужайра компонентларини олиб ташланганлигидир. Бу кўпроқ липидларга таълуқлидир. Маълумки, оқсил билан липидларни ўзаро таъсири лизин билан метионинни парчаланишига олиб келади, бу эса оқсилни озиқалик хусусиятини пасайтиради. Бундан ташқари липидларни оксидланиши озиқа маҳсулотга ўхшамаган ранг беради. Озиқа учун тайёрланган оқсил инсон саломатлиги учун зарарли бўлган бирикмалардан озод бўлиши керак.

Ўсимлик ва ҳайвон оқсилларига бўлган талаблар микроб оқсиллари учун ҳам сақланиб қолади, аммо микроб оқсилларига яна қўшимча санитария-гигиена талаблари қўйилади. Мана шу талабларга жавоб берган микроблардан олинган оқсиллар ҳар хил кўринишда озиқ-овқатга қўшимча сифатида ишлатилади: бутун биомасса (асосан липидлар ва нуклеин

кислоталардан тозаланган), ҳар хил тозаликга эга бўлган оксил фракциялари шулар жумласидандир.

Ғарбий Европада микроб биомассасидан озиқ-овқат саноатида фойдаланиш анча қийинчиликларга дучор бўлмоқда. Шунга қарамасдан АҚШ ва бошқа қатор мамлакатларда ачитқи замбуруғи биомассасининг 10 хил тури овқатга қўшимча сифатида ишлатилиб келинмоқда.

Аниқ озиқа мақсадларидан келиб чиққан ҳолда биомассани қайта ишлаш технологияси бир-биридан фарқ қилади. Ачитқи замбуруғини биомассасани дезинтеграция (майдалаш, бузиш) қилишни ҳар хил усуллари маълум, механик (майдалаш), кимёвий (сувсиз аммиак, ишқорий, кислотали муҳит) физик (ультратовуш) ва қатор бошқа бирин-кетин келадиган усуллари шулар жумласидандир. Уларни барчаларини мақсади биомасса таркибидаги оксил моддаларини тўлиғича экстракция қилиб олишдир. Деярли барча ҳолатларда оксиллар биомассасидан ишқорий муҳитда (рН 9,0-14,0 гача) маълум ҳароратда (40-90°C) яхши ажралади.

Бу усулни ҳам ҳар хил модификацияси маълум. Улардан кўпроқ ишлатиладигани икки босқичли экстракциядир. Микроб биомассасидан оксил моддаларни нордон (рН 1,0-3,0) муҳитда ҳам экстракция қилса бўлади. Изолятда оксил миқдори кўп бўлсада, уларни таркибида олтингугурт сақловчи аминокислоталар миқдори жуда кам бўлади. Ишқорий шароитда оксилни экстракция қилинганда эритмага нуклеин кислоталар кўпроқ чиқади, шунинг учун ҳам кейинги босқичда уларни олиб ташлашга тўғри келади. Оксилдан нуклеин кислотасини ажратишни энг оддий йўли – бу 50-70°C да 1-4 соат мобайнида ишлов беришдир. Баъзи ҳолларда эритмаларга эндо- ва экзонуклеазалар билан ишлов берилади, бунда нуклеин кислоталар паст молекулали асосларгача пачаланади ва оксилдан осон ажралади. Липидларни олиб ташлаш учун саноатда ишлатиладиган бир неча йўллар маълум. Шулардан бири липидларни изопропанол ва этанол билан икки босқичли экстракция қилиш. Шунингдек, биомассадан липидларни метанол ёрдамида ҳам экстракция қилиб олинади, бунда ажратиб олинadиган липидларнинг миқдори 2% га камайиши кузатилган.

Умумий қабул қилинган усуллардан ташқари, камроқ тарқалган технологик ёндошишлар ҳам маълум. Хуллас ҳар-бир манба учун қўйилган вазифаларга ва чиқариладиган маҳсулотни сифати ва унга қўйилган талабларга қараб тозалаш усуллари танланса мақсадга мувофиқ бўлади.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Озиқ-овқат маҳсулотлари тайёрлашда биотехнологиянинг роли нималардан иборат?
2. Алькоголсиз ичимликлар тайёрлаш технологиясини шарҳлаб беринг.
3. Сабзавотларни ферментациясида иштирок этувчи микроорганизмлар ва уларни бу жараёндаги фаолияти нималарга асосланган?

4. Чой ва кофе тайёрлаш технологиясини тушунтириб беринг?
5. Пишлоқ тайёрлаш биотехнологияси қандай босқичлардан иборат?
Пишлоқ турларига мисоллар келтиринг.
6. Вино ва пиво тайёрлаш биотехнологиясини изоҳлаб беринг.
7. Нон ва нон маҳсулотлари тайёрлашдаги замонавий технологияларни изоҳлаб беринг.
8. Шакар ўрнини босаоладиган ширинликлар, уларни тайёрлаш биотехнологияси, бу жараёнда ген-мухандислик усуллари роли нималардан иборат?
9. Сунъий таом тайёрлаш технологияларини тушунтириб беринг.
10. Микроорганизмлар биомассасидан озиқа оқсил тайёрлаш биотехнологияси асослари нималардан иборат?

АДАБИЁТЛАР.

1. Биотехнология: Учеб. пособие для ВУЗов. В 8кн. Под ред. Н.С.Егорова и В.Д. Самуилова. Высш. Шк. 1987.
2. Бунин В.Н. Микробиологический синтез витаминов. М., 1972.
3. Бурьян Н.И., Тюрина Л.В. Микробиология виноделия М., 1979.
4. Авакянц С.П. Биохимические основы технологии шампанского. М., 1980.
5. Грачева И.М., Гаврилова Н.Н., Иванова Л.А. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жиров. М.: Пищевая пром-сть, 1980. 448с.
6. Безбородов А.М., Квеситадзе Г.И. Введение в биотехнологию М.: 2002.

15. АМИНОКИСЛОТАЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

Кейинги йилларда халқ хўжалиги ва медицинада турли хил аминокислоталар кенг миқёсда қўлланилмоқда. Асосан улар оксилли озиқаларнинг тўйимлилигини оширишда катта аҳамият касб этади. Баъзи бир озиқ овқат ва озиқа маҳсулотлари ўзида алмашинмайдиган аминокислоталарни хусусан, лизинни етарли миқдорда сақламайди. Бундай маҳсулотларга маккажўхори, буғдой, гуруч ва бошқаларни мисол қилиб келтириш мумкин. Саноат асосида ишлаб чиқарилаётган аминокислоталар озиқа тўйимлилигини ошириш мақсадида соф ҳолда ёки бошқа ингредиентлар билан комбинирланган (аралаштирилган) ҳолатда озиқа таркибида қўлланилади. Шунинг учун ҳам аминокислоталардан фойдаланишганда озиқада оксиллар миқдорини сақлашини ошириш имконияти вужудга келади. Сунъий аминокислоталарни қўллаш табиий озиқалар сарфини иқтисод қилишга олиб келиши илмий ва иқтисодий асослаб берилган.

Аминокислоталардан нафақат қишлоқ хўжалиги ҳайвонлари озиқалари таркибида балки, озиқ овқат саноатида ҳам кенг фойдаланиш мумкинлиги исботланган. Улар шунингдек, қатор полимер хом-ашёлар тайёрлашда масалан, синтетик тери, қатор махсус толалар ва озиқ овқат маҳсулотларини кадоқлаш учун плёнкалар тайёрлашда ҳам ишлатилади. Баъзи бир аминокислоталар ёки уларни ишлаб чиқарувчиларининг инсектицид таъсири ўрганилган. Метионин ёки γ-аминомой кислота доривор воситалар сифатида кенг қўлланилади.

Аминокислоталардан халқ хўжалигининг турли соҳаларида кенг фойдаланилишини Япония мамлакати мисолида яққол кўриш мумкин. Японияда бутун мамлакат бўйича ишлаб чиқариладиган аминокислоталарнинг 65% -и озиқ овқат ишлаб чиқариш соноатида, 18% ини чорвачиликда, 15% ини медицинада ва 2% и турли хил соҳаларда қўлланилади. Айни вақтда жаҳон миқёсида аминокислоталар ишлаб чиқариш йилига бир неча миллион тоннани ташкил этмоқда. Жаҳон миқёсида L-глутамин кислота, L-лизин, DL-метионин, L-аспарагин ва глицин ишлаб чиқариш етакчи рол ўйнайди. Аминокислоталарни олишнинг асосий усуллари қуйидагилар ҳисобланади:

- ✓ ўсимлик хом ашёлари оқсилли гидролизатларидан экстракциялаш;
- ✓ кимёвий синтез;
- ✓ ўсувчи ҳужайралардан микробиологик синтез;
- ✓ микроорганизмлардан ажратилган ферментлар ёки иммобилланган микроб ҳужайраларидан фойдаланиш.

Япония мамлакати мисолида аминокислоталарни олишнинг қуйидаги усуллари келтириш мумкин (41-жадвал). Микробиологик синтез асосида кўплаб аминокислоталарни олиш айни вақтда истиқболли ва иқтисодий самарали усул ҳисобланади.

Аминокислотларни микробиологик синтездан ташқари юқорида келтирилганидек, ўсимлик ва ҳайвон хом ашёлари сақлаган табиий оксиллар гидролизи йўли орқали олиш мумкин. Бу усул кўҳна усуллардан бири ҳисобланиб, унинг асосий камчиликларидан бири оксилли озиқа ёки озиқ овқат маҳсулотлари сифатида ишлатиладиган хом ашёлардан фойдаланилишидир. Масалан, жанубий шарқий Осиёда натрий моноглюмат соя шротидан олинади. Шу каби бир қатор хом ашёлардан бу усулда аминокислоталар олиш иқтисодий самара бермайди.

Аминокислоталарни кимёвий синтез қилиш етарли даражада самарадор бўлиб, юқори автоматизациялаш орқали узликсиз ишлаб чиқаришни ташкил этиб, ҳоҳлаган тузилишли бирикмани олиш имкониятини беради. Бунда озиқ овқатда ишлатилмайдиган хом ашёлардан фойдаланилади ва катта миқдордаги маҳсулотни ташкил этади. Бироқ, бу жараёнлар кўпбосқичли бўлиб, улар мураккаб асбоб-ускуналарни талаб этади.

41-жадвал.

Японияда аминокислоталар ишлаб чиқариш усуллари ва бир йилдаги ҳажми.

Аминокислоталар	Ишлаб чиқариш усули	Ишлаб чиқариш ҳажми, т/йил
Аланин	Ф,Х	150-200
Аргинин	М, Х, Г	100-300
Аспарагин кислота	Ф	1000
Аспарагин	Х, Г	10-50
Цитруллин	М, Х	10-50
Цистеин	Г	1-10
Цистин	Г	100-200
Глицин	Х	5000-6000
Глутамин кислота	М	100000
Гистидин	М, Г	100-200
Гомосерин	М	10-50
Оксипролин	Г	10-50
Глутамин	М	200-300
Изолейцин	М, Г	10-50
Лейцин	М, Г	50-100
Лизин	М	15000
Метионин	Х	60000 - 70000
L-метионин	М	100-200
Орнитин	М, Г	10-50
Фенилаланин	М, Х	50-100
Пролин	М, Г	10-50
Серин	М, Г	10-50
L-треонин	М	50-100
DL-, L-триптофан	Х, Ф	100
Тирозин	М, Г	10-100
Валин	М	50-100
ДОФА	Ф	0,1

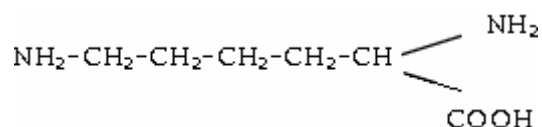
Изоҳ: Ф-ферментатив синтез; Х-кимёвий синтез; М-микробиологик синтез; Г-ўсимлик хом ашёлари ва ҳайвон оқсил гидролизатларидан экстракциялаш йўли орқали; ДОФА-диоксифенилаланин.

15.1. Лизин ишлаб чиқариш

Бошоқли ўсимликларни (буғдой, арпа, маккажухори ва бошқалар) уруғларидан олинадиган оқсиллар алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори бўйича, айниқса лизин миқдори бўйича ФАО эталони талабларига жавоб бера олмайдилар. Шунинг учун ҳам қатор мамлакатларда (Япония, АҚШ, Франция, Испания, Россия, Латвия ва ҳ.к.) бу аминокислотани (лизинни) саноат асосида ишлаб чиқариш йўлга қўйилган.

Маълумки, лизиннинг икки хил оптик фаолликдаги D-L-шакллари мавжуд:

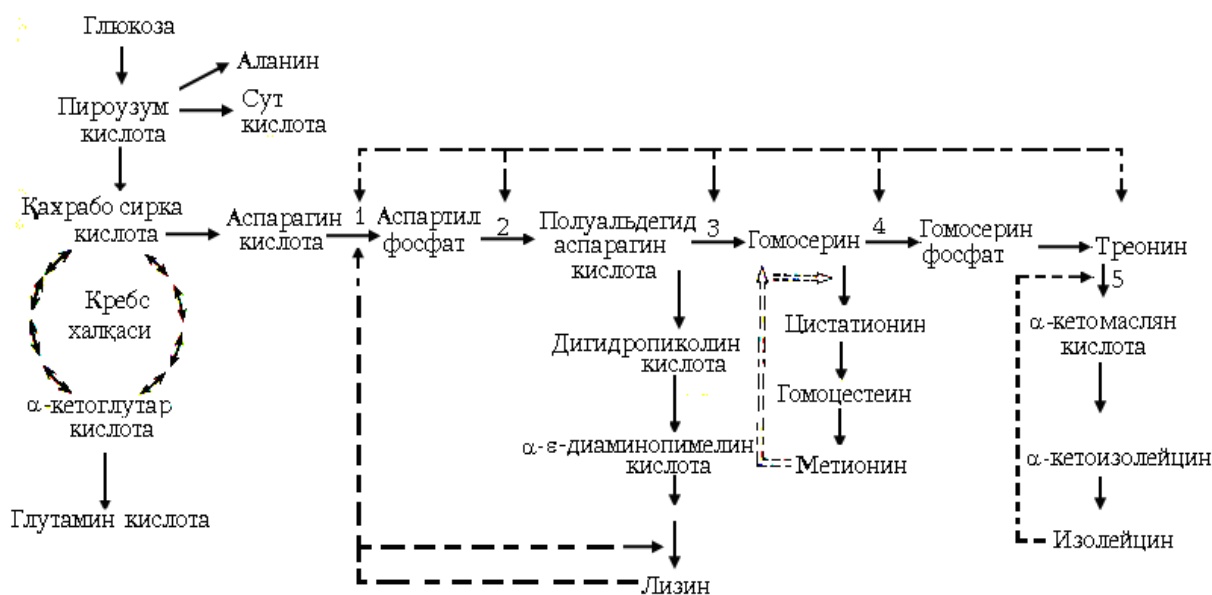
Лизин (α - ϵ -диаминокапрон кислота): $C_6H_{14}N_2O_2$



Лизин одам ва ҳайвонлар организмида қатор ўта муҳим биокимёвий функцияларни бажаради: хужайрада кальций транспорти, овқат ҳазм қилиш ферментлари секрециясини ва умумий азот нисбатини оширишни таъминлайди ва ҳ.к.

Лизиннинг озиқ овқат саноатида қўлланилиши маҳсулотларнинг сифатини яхшилаб, уларнинг биологик қийматини оширади. Шунингдек, лизин ҳайвонлар озиқасидаги энг танқис аминокислоталар ҳисобланади. Ҳайвонлар озиқа рационига лизиннинг 0,1-0,4% миқдорида қўшилиши озиқанинг қийматини кескин оширади ва шу билан бирга уларнинг сарф бўлиш миқдорини қисқартиш имконини беради.

Лизин синтез қилувчи продуцент-микроорганизмлар, ауксотроф бактерияларнинг *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* каби гомосеринга муҳтож мутант туркумлари ҳисобланади. Қуйида микроорганизмларни лизин синтез қилиш чизмаси умумий кўринишда акс эттирилган (35-чизма)

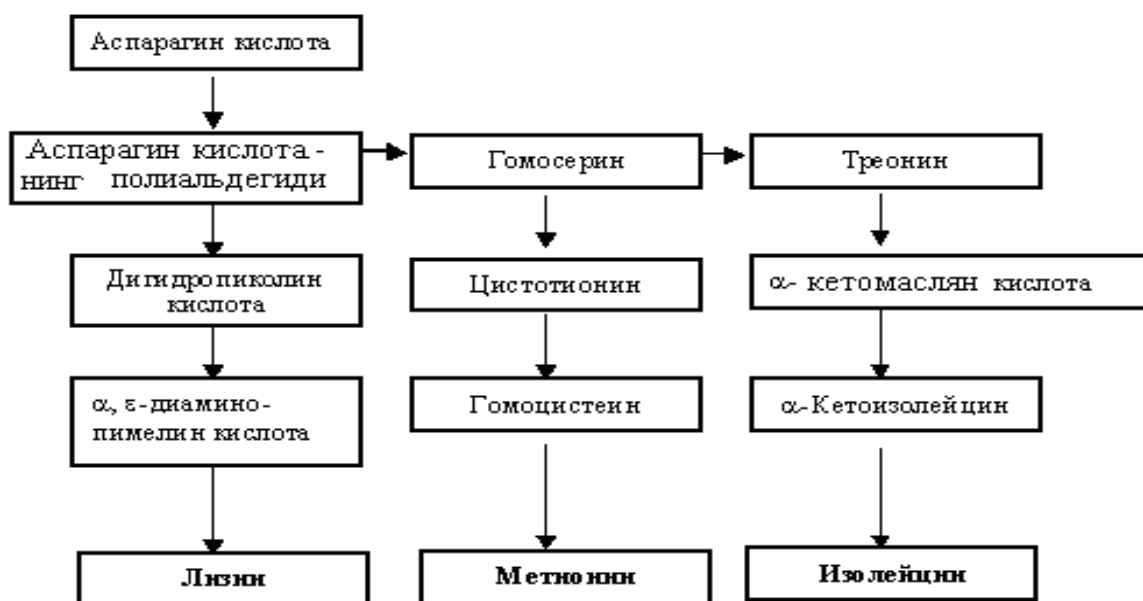


35-чизма. Бактерияларнинг лизин синтез қилиш чизмаси:

1-аспартаткиназа; 2-аспарагин кислота полуальдегид дегидрогеназа; 3-гомосериндегидрогеназа; 4-гомосеринкиназа; 5-треониндегидрогеназа;

Қўш чизиқлар – репрессия механизми; Битталик чизиқлар – ингибирланиш механизми.

Кўплаб мамлакатларда ишлаб чиқаришни асосини *Corynebacterium* туркумига мансуб бактерияларни ауксотроф штамми қабул қилинган. Одатда, ауксотроф штамм олинган ёввойи штаммларда лизинни кўп миқдорда синтез қиладилар, чунки уларда ўзларини бошқариш механизми фаолият кўрсатади. Бактерия хужайраларида лизин аспарагин кислотасидан пайдо бўлади. Бунинг учун аспарагин кислотаси ва лизин орасида қатор оралиқ молекулалари яъни: аспарагин кислотасини ярим альдегиди, дигидропиколлин кислотаси ва L, E –диаминопимелин кислотаси (лизинни олд маҳсулоти) пайдо бўлади. Аспарагин кислотасини ярим альдегиди ҳам бир неча аминокислоталар (треонин, метионин, изолейцин) учун олдмаҳсулотлардан бири ҳисобланади (36-37-чизмалар).



36-чизма. Лизин, метионин, треонин ва изолейцин синтези

Россияда лизин продуценти сифатида *Brevibacterium* туркумларидан фойдаланилади. Лизин продуценти-ауксотроф - биотин, тиамин, треонин ва метионинга талабчан бўлади.

Саноат асосида лизин ва бошқа хил аминокислоталарни олиш, қатъий режимдаги асептик шароит, стерил озиқа муҳити ва продуцентнинг тоза культурасидан фойдаланишни талаб этади.

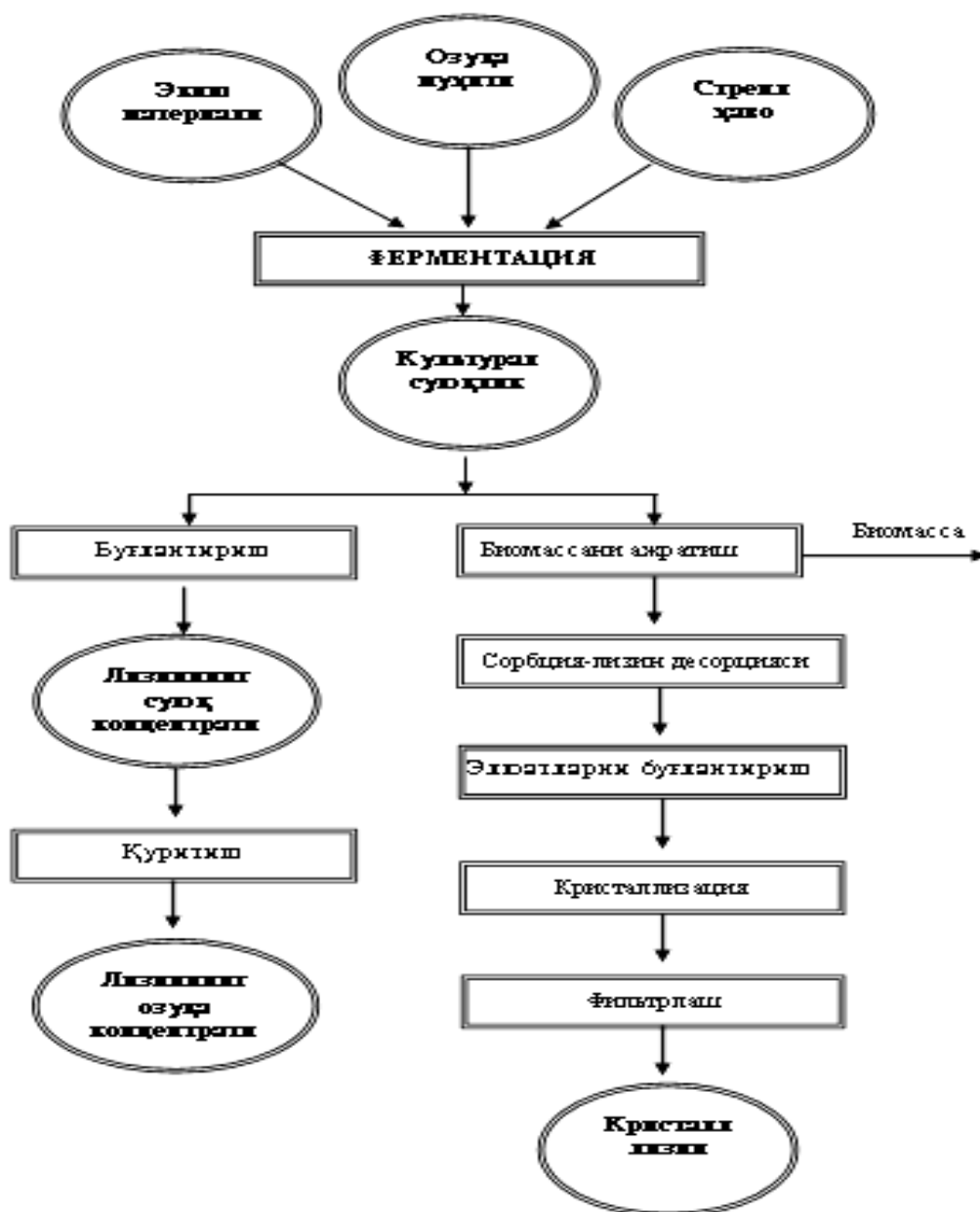
Лизин олишнинг технологик жараёнлари қуйидаги босқичлардан иборат (37-чизма):

- экиш материални олиш;
- озиқа муҳитини тайёрлаш ва стериллаш;
- барча ускуналар, коммуникация ва ҳавони тайёрлаш ҳамда стериллаш;
- ферментация;
- L-лизинни ажратиш.

Лизин чиқарувчи биокимёвий заводларда экиш материални тайёрлаш даврий усулда амалга оширилади.

Дастлабки культура ГПА (гўшт пептонли агар) қаттиқ озиқасида пробиркаларда 28-30°C ҳароратда бир сутка давомида ўстириб олинади. Ўсган культуралардан микроорганизмлар суспензияси стерил суюқ озиқа муҳитига (кольбаларга) ўтказилади ва микробиологик тебратгичда (180-200 тез/мин) бир сутка давомида 29-30°C ҳароратда ўстирилади.

Буни **оналик экиш материали** деб ҳам аталади. Сўнгра оналик экиш материали тайёрлаш колбаларидан культуралар экиш колбаларига олинади, бунда колбадаги озиқа муҳитининг 5% миқдори ҳажмида оналик экиш материали солинади.



37-чизма. Лизин ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси

Экиш колбаларида ҳам культуралар 30⁰С ҳароратда 1 сутка давомида микробиологик тебратгичда ўстирилади. Шундан кейин экиш материали колбалардан культураларни аэрация ҳолатида аралаштириб ўстириш амалга ошириладиган инокуляторга олинади ва 29-30⁰С ҳароратда бир сутка давомида ўстирилади.

15.1.1. Экиш материални олиш

Экиш материални олиш учун озиқа муҳити таркиби: меласса (3-5%), маккажўхори экстракти (2,5-3,0%) ва ош тузи сақлайди. рН 7-7,2 гача бўлиши HCl нинг 20% ли эритмаси орқали таъминлаб турилади. Инокулятордаги озиқа муҳити таркиби ферментацион озиқа муҳити таркибига яқинроқ бўлиши зарур.

15.1.2. Озиқа муҳити тайёрлаш ва стерилизациялаш

Лизин продуцентларини ўстириш учун таркибида меласса, маккажўхори экстракти ёки бўр ва ўстириш моддаларини сақловчи муҳитдан фойдаланилади. Углероднинг асосий манбаси меласса бўлиб, таркибида термолабил компонент бўлган сахароза сақлайди, шунинг учун уни алоҳида стериллаш талаб этилади. Меласса реакторга солиниб доимий аралаштирилган ҳолда 80°C гача ҳароратда қиздирилади ва зарур миқдордаги сахароза миқдори ҳосил бўлгунча сув солинади.

Махсус ускуналардаги ҳосил қилинган меласса эритмасига тезда 120-122°C ҳароратгача кучли буғ юборилади ва бу ҳарорат аниқ вақт оралиғида ушлаб турилади.

Озиканинг бошқа компонентлари аралаштирилиб аралаштиргич билан жиҳозланган реакторга қўйилади ва қиздирилади, сўнгра махсус ускунада стерилизация ҳароратида зарур вақт оралиғида ушланиб, кейин совутилади.

Кўпик ҳосил қилувчилар баъзан алоҳида стерилланади, бунга сабаб уларни озиқа муҳитларга нисбатан юқорироқ ҳарорат ва босимдан стерилланишидир.

Лизин олиш жараёнлари қатъий асептик шароитни талаб қилганлиги учун барча ускуналар, реакторлар, коммуникациялар ва ферментацияга бериладиган ҳаво стерилланиши зарур. Ускуналар ва коммуникациялар 135-140°C ҳароратда ўткир буғ босими остида амалга оширилади. Бунда стерилизациянинг “совутиш” усулидан яъни бактериоцид газлар (этилен) ва кимёвий реагент эритмаларидан (шаклин, хлор сақловчи бирикмалар ва ҳ.к.) фойдаланиш мумкин. Совуқ стериллаш амалга оширилгандан сўнг кимёвий реагентлар қолдиқлари стерил сувда ювиб ташланади.

15.1.3. Ферментация

Лизин продуцентларини саноат асосида ўстириш 50-100м³ ҳажмли ферментёрларда даврий ўстириш усулида амалга оширилади. Ферментёрга солинган стерил озиқа муҳитининг 5-6 фоизи миқдорида экиш материали солинади. Ферментёрнинг умумий бандлик бирлиги 0,75 ни ташкил этиши лозим. Ферментаторга экишдан кейин бирданига стерил ҳаво юборилади ва 50°C ҳароратгача қиздирилади. 1 ҳажм ҳаво 1 л озиқа муҳити ҳажмига минутига 0,12-0,13 МПа босимда бериб турилади.

Ферментация жараёни 28-29°C ҳароратда узлуксиз аралаштириш ва аэрация шароитида 48-72 соат давомида олиб борилади.

Кўпиксизлантирувчи воситалар даврий (вақти-вақти билан) қўшиб турилади, озиқа муҳити рН даражаси эса вақти-вақти билан 25% аммиак эритмаси ёки 15% ўювчи калий эритмасидан қўшиш орқали мўътадиллаштирилиб турилади. Ферментация орадан 58-72 соат вақт ўткач тугалланади ва культурал суюқлик мақсаддаги маҳсулотни ажратиш учун кейинги босқичга юборилади.

15.1.4. L – лизинни ажратиш

Культурал суюқликдан тайёрланишига боғлиқ ҳолда турли хил микробиологик препаратлар: лизиннинг суюқ концентрати (ЛСК), лизиннинг қуруқ озиқа концентрати (ЛОК) ва кристалл лизин олиш мумкин. Ушбу препаратларни олиш технологиялари ҳар хил. 2.1-чизмада лизиннинг уч хил препаратлари: СЛК, ЛОК ва кристалл лизин олиш акс эттирилган.

Культурал суюқликдан 10-13% қуруқ модда сақловчи микробиологик концентратлар (СЛК ва ЛОК) олиш учун рН даражаси 5,0 гача хлорид кислотада нордонлаштирилади ва лизинни барқарорлаштириш учун 0,15% натрий бисульфит эритмаси қўшилади.

Сўнгра вакуум-буғлантириш ускунасида барқарорлаштирилган культурал суюқлик, қуруқ модда миқдори 35-40% қолгунча буғлантирилади. Олинган суюқ лизин концентрати ҳайвонлар озиқаларини бойитиш учун қўлланилиши мумкин.

Қуруқ концентратни (ҚЛК) олиш учун, суюқ концентрат (СЛК), иссиқлик остида пуркаб қуритгич мосламада 5-6% намлик қогунча қуритилади. Қуруқ озиқа лизин концентрати жуда гигроскопик бўлади, шунинг учун қуритилгандан сўнг тезда полиэтилен қопчаларда қадоқлаш лозим. Суюқ лизин концентратини суяк уни, озиқа ачиткилари, буғдой кепаги ва бошқалар билан биргаликда қуритилганда кичикроқ гигроскопик ва сочиловчан озиқа лизин концентратини олиш мумкин.

Кристалл лизин культурал суюқликдан ион алмашинув усулларида фойдаланилиб ажратилади. Культурал суюқликдан биомасса центрифугалаш ёки филтрлаш орқали ажратилади.

Лизин филтратдан КУ-2 ёки КБ-4П-2 маркали ион алмашинув смоласида сорбцияланади.

Ион алмашинув колонкаси ювилгандан сўнг лизин сувда 0,5-5,0% ли аммиак сувида ювиб олинади. 1-2% лизин сақловчи элюат хлорид кислота ёрдамида рН-4,9-5,0 гача нордонлаштирилади ва лизин миқдори 30-50% бўлгунча вакуум-буғлантириш ускунасида буғлантирилади. Лизинга хлорид кислота таъсир эттирилганда монохлоргидрат лизин ҳосил бўлади ва 10-12⁰С ҳароратгача совутилганда сарғимтир рангли кристаллар кўринишини намоён қилади.

Монохлоргидрат лизин кристалларида юқори даражада тоза лизин олиш учун унинг таркибидаги кераксиз аралашмаларни ва ранг берувчи моддаларни ажратиб ташлаш зарур. Бунинг учун кўп босқичли, ҳамда этил спирти ёрдамида қайта кристаллизациялаш каби жараёнлардан фойдаланилади. Тоза лизин озиқ-овқат саноатида, медицинада ва бошқа мақсадлар учун қўлланилиши мумкин. Кристалл лизин қоғоз қутиларда қадоқланади.

Лизин синтез қилувчи бактерия асосида маҳсулотни бир неча хилда (кўринишда) тайёрлаш технологияси ишлаб чиқилган: лизинни суюқ

концентрати (ЛСК), лизинни куруқ озиқа концентрати (ЛҚОҚ), юқори концентрациялик озиқа ва юқори даражада тозаланган кристалл ҳолатдаги препаратлар озиқ-овқат ва тиббиётда ишлатиш учун мўлжалланган.

ЛСК – культурал суюқликни вакуум устқурмаларида, куруқ моддаси 40% бўлгунча қуйилтириш йўли билан тайёрланади. Иситиш жараёнида лизинни парчаланиб кетмаслиги учун культурал суюқликга натрий бисульфит ва рН 4,5 –5.0 бўлгунча хлорид кислотаси қўшилади, оқибатда лизинни монохлоргидрати ҳосил бўлади.

ЛҚОҚ тайёрлаш учун культурал суюқлик 90°C иссиқ ҳаво бериш орқали пурқаб қуритгич ускунасида препаратда 4-8% намлик қолгунга қадар қуритилади. Мана шу йўл билан қуритилган препаратда 15-20% лизин монохлоргидрати, 15-17% оқсил, 14% бошқа аминокислоталар, В-гуруҳ витаминлари, минерал моддалар сақланади. Препаратни нам тортиб олиш хусусиятини камайитириш мақсадида, унга тўлдирувчилар: суяк уни, бентонит буғдой кепаги, сўндирилмаган оҳак қўшилади. Тўлдирувчи сифатида кўпроқ буғдой кепаги ишлатилади, у ЛСК га пурқатиб, қуюлтирилгандан кейин аралаштирилади. Яхшилаб аралаштирилгандан кейин паста махсус қуритгичларда қуритилади ва грануляция қилинади. Грануляция қилинган ЛҚОҚ препарати гигроскопик бўлмасдан, таркибида 7-10% лизин сақлайди.

Юқори концентрланган, тозаланган лизин олиш учун культурал суюқлик, филтрлангандан кейин хлорид кислотаси билан рН 1,6-2,0 келтирилади. Кислота билан ўзаро таъсирида пайдо бўлган лизин монохлоргидрати катионитлар билан тўлдирилган колонкаларга юборилади, натижада аминокислота катионитларга адсорбция бўлиб қолади, культурал суюқлик эса колонкадан ўтиб кетади. Кейин 0,5–5% аммиак эритмаси ёрдамида аминокислотани десорбция қилиб олинади (34-чизма).

Элюат вакуум остида 60°C да 30-50% куруқ модда ҳосил бўлгунга қадар қуйилтирилади, ундан кейин хлорид кислотаси билан нордонлаштирилган лизинни монохлоргидрат эритмаси қуритилиб, ҳайвонлар озиқасига қўшимча қилиб ишлатилади.

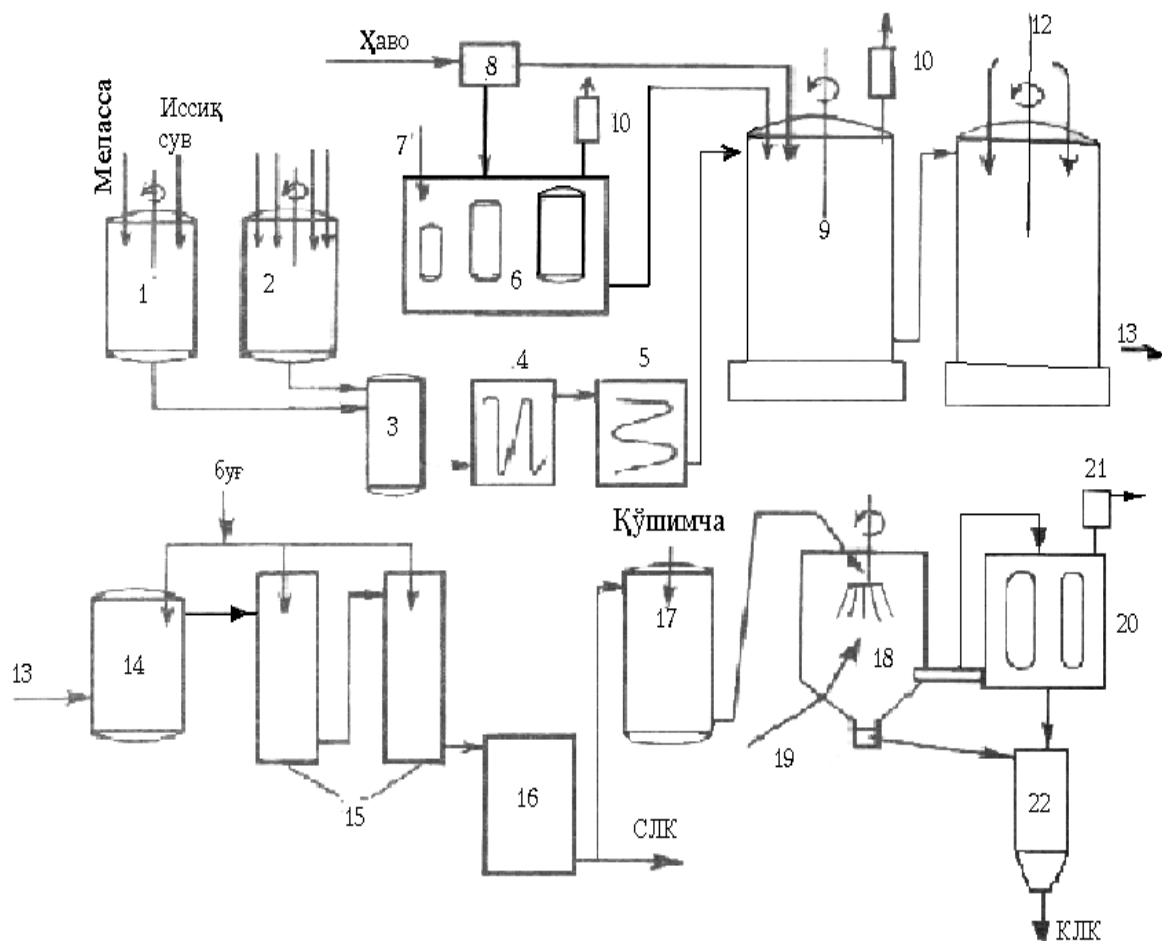
Ҳосил бўлган тузни қайтадан кристаллизация қилиш йўли билан 97-98% монохлоргидрати лизин препарати ҳам олиш мумкин.

Лизин ишлаб-чиқариш жараёнида ишлатишга фойдали бўлган асосий препаратдан ташқари, чиқиндилар, қўшимча маҳсулотлар ҳам чиқади. Масалан, культурал суюқлик ажратилгандан кейин, чўкмада бактерия-продуцентни хужайралари, фосфатлар, озиқа муҳитини ишлатилмасдан қолган компопентлари қолади, буларни қуритиб, оқсил концентрати сифатида ишлатиш ҳам мумкин.

Бошқа томондан, технологиядан чиққан оқава сувлар ҳамда лизин монохлоргидрати ажратиб олингандан кейин қолган сувлар, таркибида аминокислоталар ва бошқа қимматбаҳо компонентлар сақловчи суюқликлар бирга аралаштирилиб, буғлантирилади, кейин қуритилиб,

тўлдирувчи (10% гача) аралаштирилиб, юқори концентрацияли оксил ва алмашинмайдиган аминокислоталар сақловчи (40% гача оксил) концентрат сифатида ишлатилади.

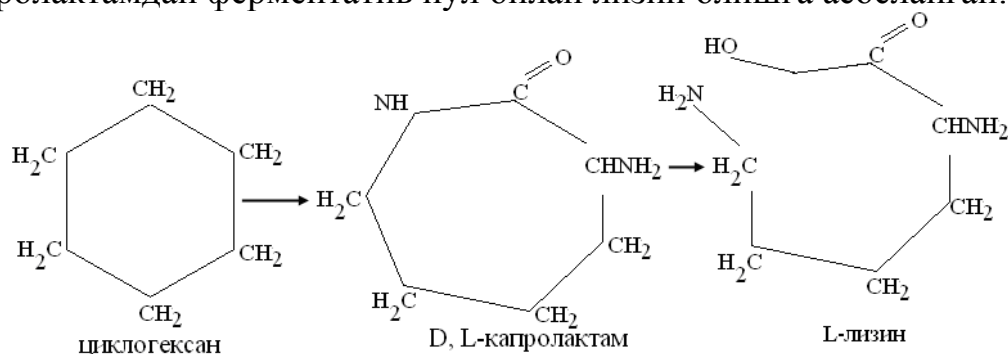
Япония ва АҚШ да лизин ишлаб-чиқаришда кимё-микробиология усулларида ҳамкорликда фойдаланиш усуллари яратилган.



38-чизма. Лизин конценрати ишлаб-чиқариш технологиясининг чизмаси:

1.Иситиш ва лавлаги массасини эритиш; 2- маккажўхори экстракти, озиқа таркибига кирган тузлар ва CaCO_3 ни сувда аралаштириш; 3 – иситиш колоннаси; 4- озиқа муҳитини сақлаб турувчи идиш; 5-иссиқлик алмаштирувчи (совутиш учун);6-экув культурасини кўпайтирувчи ва стерилизация қилувчи ферментёрлар ва ускуналар; 7- экув материалларини узатиш; 8-ҳавони тозалаш ва стерилизация қилиш учун фильтрлар тизими; 9-саноат культурасини ўстирувчи ферментёр; 10-чиқадиған газларни экологик тозаловчи ферментёрлар; 11 – лизинни моноклоргидратини олувчи идиш; 12- реакторга хлорид кислотасини юбориш; 13 – тайёр моноклоргидрат лизини; 14 – моноклоргидратлизин сақлаган культурал суюқлик иситиш; 15- парлатувчи устқурмалар; 16 – суюқ лизинни (с.л.) ёғиладиган идиш; 17 – суюқ лизинни тўлдиргич билан аралаштириш; 18 – пуркатиб қуритувчи устқурма; 19 – иссиқ ҳаво узатувчи; 20 - қуруқ лизин заррачаларини ҳаводан ажратиш; 21 – ҳавони атмосферага чиқаришдан олдин экологик тозалаш; 22 – лизинни қуруқ озиқа концентрати тўпланадиган идиш.

Бу технология циклогександан кимёвий йўл билан олинган α -амино- ϵ -капролактандан ферментатив йўл билан лизин олишга асосланган:



Кимёвий синтез натижасида D- ва L-капролактанни рацемик аралашмаси ҳосил бўлади. Бу аралашма L-амино- ϵ -капролактан гидролаза ферменти сақловчи реакторга юборилади, бу фермент L-капролактанни L-лизинга ўтказиш реакциясини катализ қилади. Капролактанни D-изомери махсус рацемаза ферменти ёрдамида L-шаклга ўтказилади ва реакция яна бошқадан бошланади. Бундай технология асосида лизин олинганда, технология ниҳоясида реакцион аралашмада лизинни миқдори 1 л га 150 г га етади. L-амино- ϵ -капролактан гидролаза ферментини продуценти бўлиб, *Cryptococcus*, *Candida*, *Trichosporon* авлодларига мансуб ачитки замбуруғлари хизмат қилади.

Ачитки замбуруғлари ишқорий шароитда, фермент синтези учун меъёрига етказилган, Mn^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} сингари фаоллаштирувчи тузлар сақлаган озиқа муҳитида ўстирилади. Капролактанни лизинга ўтказиш учун, фаол фермент сақловчи ачитки ҳужайраларини суспензияси, ҳужайра экстракти (ҳужайраларни бузиб, ажратилгандан кейин) ёки тозаланган фермент ишлатилиши мумкин. D-капролактанни L-изомерга айлантириб берувчи фермент – рацеимаза учун продуцент бўлиб, *Achromobacter*, *Flavobacterium* ва бошқа авлодларга мансуб бактериялар хизмат қилади.

D-капролактанни L-изомерга, L-изомерни лизинга айлантириш жараёнларини бирга олиб бориш мумкин. Бунинг учун D,L – капролактанни сувли эритмасига керакли миқдорда ачитки ва бактерия ҳужайралари қўшилади ва меъёрий режим (ҳарорат, pH, аэрация) ушлаб турилади. Реактордан чиқиш вақтида кўпроқ битта молекула –L-лизин ҳосил бўлади, уни аралашмадан ажратиб олинади, тозаланиб, қурилади.

Юқорида акс эттирилган технологиядан ташқари, бошқа усуллар ҳам яратилмоқда. Бундай технологиялар дастлаб кимёвий йўл билан лизинни олдинги ҳосилаларини синтез қилиш ва уларни ферментатив йўл билан лизинга айлантиришга асосланган. Дастлабки ҳисоб-китобларга қараганда бундай технологияни самарадорлиги баланд ва таннархи паст бўладиган кўринади.

Бу усулнинг асосий камчилиги эса аминокислотанинг фақатгина рацемик шаклини олиш мумкинлиги ҳисобланади. Паррандачиликда кенг қўлланиладиган LD-метионинни бу усулда олиш яхши йўлга қўйилган.

Кейинги йилларда аминокислоталарни олишнинг кимёвий-микробиологик комбинирланган усули кенг қўлланилмоқда, бунда дастлабки бирикма кимёвий реакция натижасида олинади кейин эса микроорганизмларнинг махсус штамmlарининг ферментатив фаоллиги ҳисобига охирги босқич амалга оширилади.

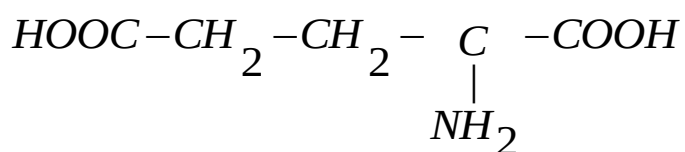
Аминокислоталарни микробиологик усулда синтез қилиш кўпчилик микроорганизмларнинг озиқа муҳотида ушбу маҳсулотларни юқори даражада тўплашига асосланади. Микроорганизмлар орасида юқори даражада глютамин кислота ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлган қатор бактериялар, ачитқи ва замбуруғ турлари мавжуд.

Ўрганилган кўпчилик микроорганизмларнинг штамmlари, уларнинг систематик ҳолатига боғлиқ бўлмаган ҳолда L-аланин ва глютамин кислотани кўп миқдорда синтез қилиши аниқланган. Жуда кўплаб штамmlар эса аспарагин кислота, лейцин, валин, изолейцин ва лизинни жуда кам миқдорда синтез қилиши кузатилган.

Микроорганизмларнинг аминокислоталар тўплаш хусусияти ва турлараро корреляцияси қатъий кўринишда бўлмайди.

15.2. Глутамин кислота ишлаб чиқариш

Глутамин кислота (α -аминоглутар кислота):



Алмашинмайдиган аминокислоталар қаторига кирмасада, ўсимлик ва ҳайвон оксилларининг энг зарурий аминокислоталаридан бири ҳисобланади. Унинг асосида одам организмнинг мўътадил ривожланиши учун зарур бўлган кўплаб физиологик фаол бирикмалар синтез бўлади.

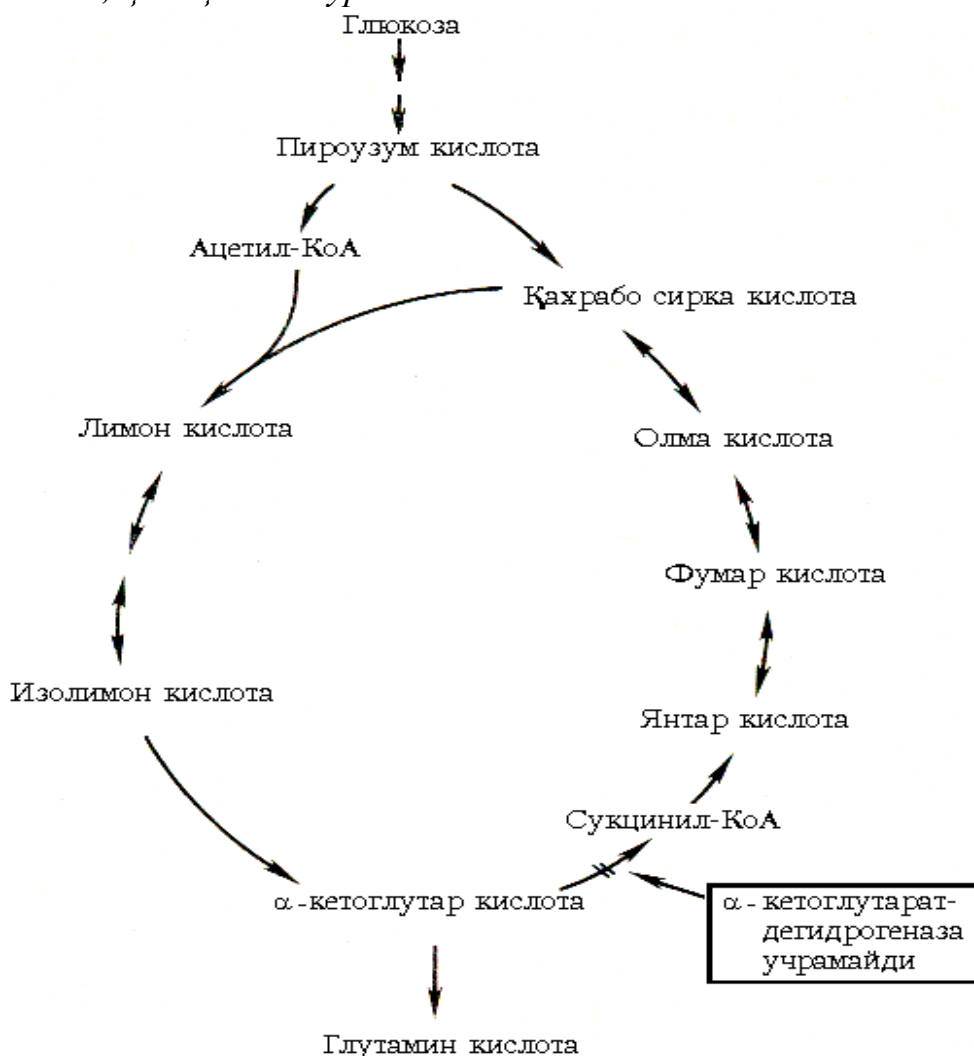
Глутамин кислота буйрак ва жигардаги турли хил бузилишлардан ҳимоя қилувчи омил сифатида хизмат қилиш қобилиятига эгадир, шунингдек, дориларнинг фармакологик таъсирини ошириш ва турли хил моддаларнинг заҳарли (токсик) таъсирини камайтиради. Мана шунга асосан у медицинада кенг қўламда қўлланилади.

Шунингдек, глютамин кислотанинг монокатрийли тузи - натрий глутаматдан ҳам кенг фойдаланилади.

Бу бирикма кўпгина озиқа маҳсулотлари таъмини тузатиш, шунингдек, консерваланган маҳсулотларнинг таъмини узоқ вақт давомида бир меъёрда сақланиб турилишини ҳам таъминлайди. Кўпчилик мамлакатларда натрий глутаматдан сабзавотлар, балиқлар ва гўштли маҳсулотларни консервалашда кенг қўламда фойдаланилади. Глутамин кислотани ишлаб чиқаришнинг самарали ва истикболли усулларида бири - микробиологик синтез ҳисобланади.

Глутамин кислота синтез қилиш қобилиятига эга бўлган маълум микроорганизмлар орасида ишлаб чиқариш аҳамиятига эга бўлганлари **Micrococcus** ва **Brevibacterium** туркумига мансуб бактериялар ҳисобланади. Ушбу кичик, граммусбат, айланасимон ёки овалсимон бактериялар специфик хусусиятига кўра биотин ёки тиаминга талабчан бўладилар. 39-чизмада **Corynebacterium glutamicum** бактериясининг глутамин кислота биосинтези чизмаси келтирилган. Умуман, глутамин кислотани саноат асосида ишлаб чиқаришнинг лизин ишлаб чиқаришдаги каби кўплаб умумий техник жараёнлари мавжуд. Улар қуйидаги босқичлардан ташкил топган (39-чизма):

- ✓ *экиш материали олиш;*
- ✓ *озиқа муҳити тайёрлаш ва стериллаш;*
- ✓ *ферментация;*
- ✓ *кристалл ҳолдаги моддани ажратиб олиш;*
- ✓ *қуритиш, қадоқлаш ва ўраш.*



39-чизма. **Corynebacterium glutamicum** бактериясининг глутамин кислота биосинтези чизмаси

Глутамин кислота олиш учун углерод манбаи сифатида глюкоза, сахароза, крахмал гидролизатлари, меласса ва гидролиз қилиши

мумкин. Углеводлардан ташқари хом-ашё сифатида углеводородлар (метан, этан, нефтнинг н-парафинлари), шунингдек, сирка, фумар кислоталар ва бошқа маҳсулотлардан фойдаланиш мумкин.

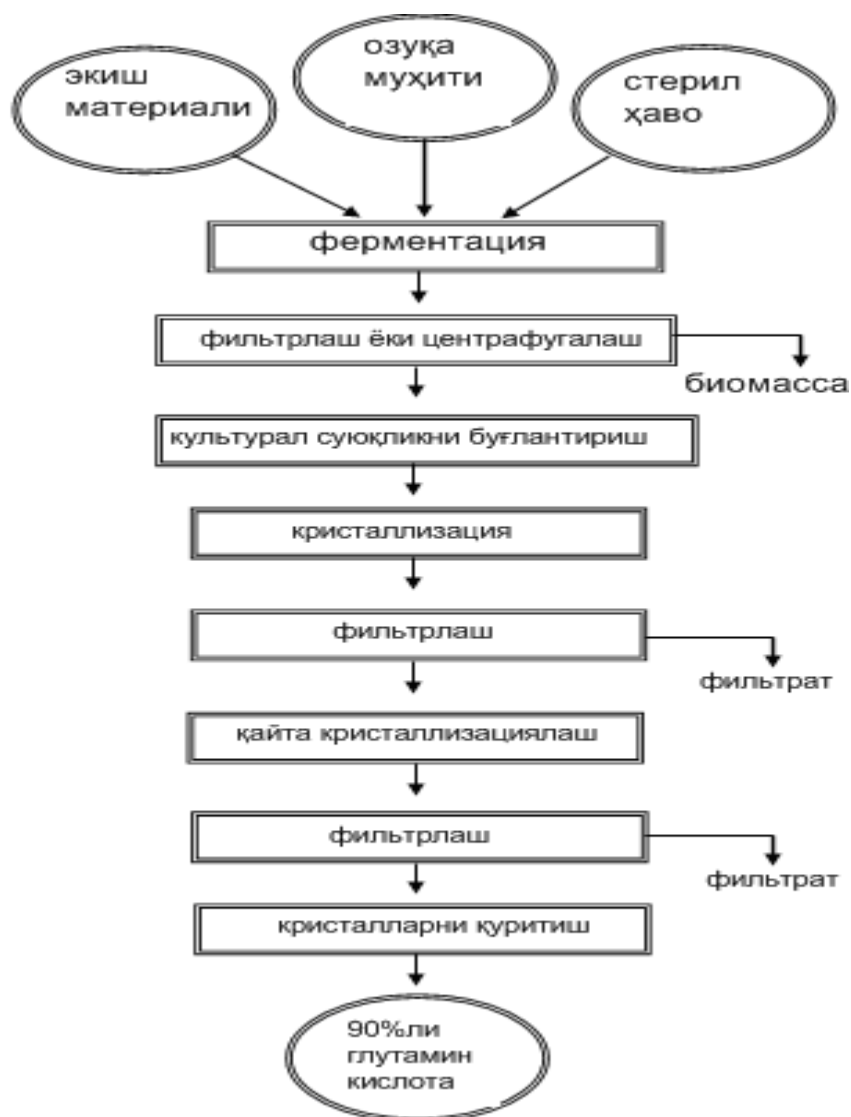
Озиқа муҳитида азот манбаи сифатида 1,5-2,0% миқдорида мочевинадан фойдаланилади, аммо кўп миқдорда солинмасдан талаб даражасида қўшилади ва бунда озиқанинг мочевино сақлаши 0,8% дан ошиб кетмаслиги лозим. Кўпинча мочевинога қўшимча сифатида азот манбаи бўлган аммоний сульфат $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ва аммоний хлорид (NH_4Cl) 0,5% гача ёки аммиакнинг сувли эритмаси қўлланилади.

Озиқа муҳитида культураларнинг мўътадил ўсиб ривожланиши учун юздан ёки ўндан бир фоиз ҳисобида калий (KH_2PO_4 ҳолида), магний ($\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$), марганец ($\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$), шунингдек, озиқа муҳит pH ини мўътадиллаштириш (pH 7-7,2) мақсадида унга бўр қўшиш зарур бўлади.

Глутамин кислота биосинтезини оширувчилар сифатида биотин, тиамин, баъзи бир антибиотиклар (пенициллин, тетраҳалқасин), спирт ва сирт фаол моддалар таъсир этиш хусусиятига эга. Аммо, биостимуляторлар миқдорини қатъий равишда назорат қилиш лозим бўлади. Чунки уларнинг юқори даражали миқдори масалан, биотин биомасса ўсишини тезлаштиради, глутамин кислота ҳосил бўлишини пасайтиради.

Экиш материални тайёрлаш

Экиш материални тайёрлаш оддий лаборатория шароитида амалга оширилади: дастлаб пробиркаларда, сўнга колбаларда микробиологик тебратгичда, кейин 2-5 куб ҳажмли экиш ферментёрларида ўстирилади. Ўстириш ҳарорати 28-30°C, озиқа муҳитининг pH даражаси 6,8-7,5; ўстириш давомийлиги эса ҳар бир босқичда 24 соатни ташкил этади.



40-чизма. Глутамин кислота ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси

Ферментация

Ферментация 50 куб ҳажмли ферментёрларда кучли аэрацияда ва 28-30°C ҳароратда олиб борилади. Ўстириш давомийлиги 2-3 суткага чўзилади. Бу вақт оралиғида озиқа муҳитида 50 г/л гача глутамин кислота тўпланади.

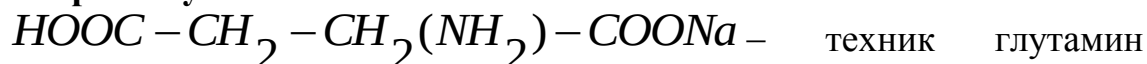
Културал суюқликдан биомасса филтрлаш ёки центрифугалаш орқали ажратиб олинади, културал суюқлик эса вакуум-буғлатиш ускунасида буғлантирилади. Кристаллизациядан кейин глутамин кислота ажратилади. Янада тозароқ маҳсулот олиш учун одатда қайта кристаллизациялаш усули қўлланилади. Културал суюқликдан глутамин кислотани ажратиш учун ионалмаштириш усули ҳам ишлаб чиқарилган бўлиб, бунда КУ2-смоласида сорбцияланади.

Смолага сорбцияланган глутамин кислота колонкадан 0,5-5,0% ли аммиакли сув ёрдамида ювиб олинади. Олинган элюатга фаол кўмир билан

ишлов берилади ва 40⁰С ҳароратли вакуум остида ҳажми 3-5 маротабагача камайгунча қуюлтирилади. Сульфат кислотада нордонлаштирилган (рН 3,2 гача) эритма 4⁰С ҳароратгача совутилади ва бунда глутамин кислотанинг кристаллизацияланиши амалга ошади. Қайта кристаллизацияланган маҳсулотда асосий модда (глутамин кислота) 99,6% ни ташкил этади.

15.2.1. Натрий глутамат тайёрлаш

Натрий глутамат:



кислотадан олинади. Кислота кристаллари сувда эрийди, сувли эритмани фаол кўмир билан ишлов берилиб, 60-70⁰С ҳароратда кристаллар эриши тўлиқ таъминланади. Кейин глутамин кислота эритмаси 45-50% ли NaOH эритмаси билан рН-6,8 бўлгунча нейтралланади ва шундан кейин филтрланади. Филтрат вакуум-буғлатиш ускунасида 40-50⁰С ҳароратда буғлантирилиб, сўнгра совутилади. Кристаллизация паст ҳароратда 3 сутка давомида амалга оширилади. Глутамат натрий кристаллари дастлабки эритмадан центрифугада ажратилиб, иссиқ ҳавода қурилади. Тайёр маҳсулот 98% асосий модда (натрий глутамат) сақлайди.

15.3. Алмашинмайдиган аминокислоталар ишлаб чиқариш

Таркибида юқори миқдорда алмашинмайдиган аминокислоталар сақловчи озиқа оқсиллари концентратлари орқали фақатгина оқсили кам бўлган озиқа маҳсулотлари таркибидаги оқсил моддалар миқдорини меъёрига келтириш мумкин холос, аммо бу маҳсулотлар алмашинмайдиган аминокислоталар миқдорини меъёрга келтириш учун камлик қилади. Ҳайвонлар озиқасини меъёрига келтириш учун баъзи – бир аминокислоталар соф ҳолда қўшилиши шарт, чунки уларни миқдори озиқалар таркибида меъёридан жуда ҳам оз. Дунёда ҳар йили 300 минг тоннадан кўпроқ алмашинмайдиган аминокислоталар саноат асосида ишлаб чиқарилади. Аммо, афсуски бу технология мамлакатимизда жорий этилмаган.

Алмашинмайдиган аминокислоталар тайёрлашни уч йўли маълум:

- *ўсимлик ёки микроб оқсиллини гидролиз қилиш орқали тайёрлаш;*
- *микроблар орқали синтез қилиш (биосинтез);*
- *кимёвий синтез.*

Дунё бўйича соф ҳолда ишлаб – чиқариладиган аминокислоталарни 60% микробиология синтези орқали амалга оширилади. Ҳажм бўйича иккинчи ўринда кимёвий синтез туради. Бу йўлни энг катта камчилиги, кимёвий синтез қилинганда D – ва L- аминокислоталарни аралашмаси ҳосил бўлади.

Маълумки, инсон ва ҳайвон организмлари учун биологик фаолликга фақатгина L-шаклдаги аминокислоталар эгадирлар. Организмга тушиб қолган D- аминокислоталарни нафақат фойдаси йўқ, балки улар L-шаклдаги аминокислоталарни ўринни эгаллаб, уларни биологик фаоллигини бутунлай йўқотади. D- шаклдаги аминокислоталар тирик организмларни фермент тизими таъсирига крмайди, улардан баъзилари эса организм учун захарлидир. Фақатгина битта аминокислота, у ҳам бўлса метионин бу камчиликлардан мустасно бўлиб, бу аминокислотани D-шакли ҳам худди L- шакли сингари биологик фаолликга эга. Шунинг учун ҳам метионин кўпроқ кимёвий синтез орқали олинади. Оксилларни гидролиз қилиш орқали аминокислоталар тайёрлаш технологияси иқтисодий самараси паст бўлгани учун, бу усул ривожланмасдан қолган.

Микробиологик синтез орқали, махсус тайёрланган (селекция қилинган) микроорганизмлар ёрдамида 1 л культурал суяқликда (озика моддасида) 150 граммгача L – аминокислота олиш мумкин. Бу усулда кўпроқ селекция ёки ген муҳандислиги усуллари орқали тайёрланган ауксотроф микроорганизмлардан фойдаланилади. Бундай ауксотроф штаммларда мутаген факторлар ёрдамида муайян аминокислотани синтезини ташкил қилувчи фермент тизимини бошқариб турадиган бир моддани ҳосил бўлиши бутунлай тўхтатиб қўйилган ёки бостириб (ингибирланган) қўйилган мутант ҳосил қилинади. Бундай мутантларда керакли аминокислоталар миқдорини беихтиёр қўпайтиришдан бошқа иложи бўлмайди. Микроорганизмларни ўстириш орқали тоза ҳолда аминокислоталар препаратларини саноат асосида олиб бориш бир ёки икки босқичда амалга оширилиши мумкин.

Бир босқичли синтезда саноат ферментёрларида юқори ҳосилдорликга эга бўлган ауксотроф мутантлар ўстирилади. Ўсиш даври тугаганидан кейин микроорганизмлар ҳужайралари культурал суяқликдан ажратилади, культурал суяқлик қўйилтирилади ва ундан юқори концентрациялик аминокислота ажратиб олинади.

Аминокислоталарни икки босқичли синтезида эса, дастлаб уларни олдинги авлодлари (улар кўпроқ арзонроқ бўлган кимёвий синтез йўли билан) олинади, кейин эса микроорганизмлар синтез қилган ферментлар ёрдамида, уларни ферментатив гидролиз қилиш орқали соф ҳолдаги аминокислоталар олинади. Бундай йўл билан фақатгина L-аминокислоталар ҳосил бўлишини эслаб қолиш лозим. Фермент манбаи бўлиб ёки микроорганизмларни ҳужайралари ёки культурал суяқлик хизмат қилиши мумкин.

15.3.1. Триптофаннинг микробиологик синтези

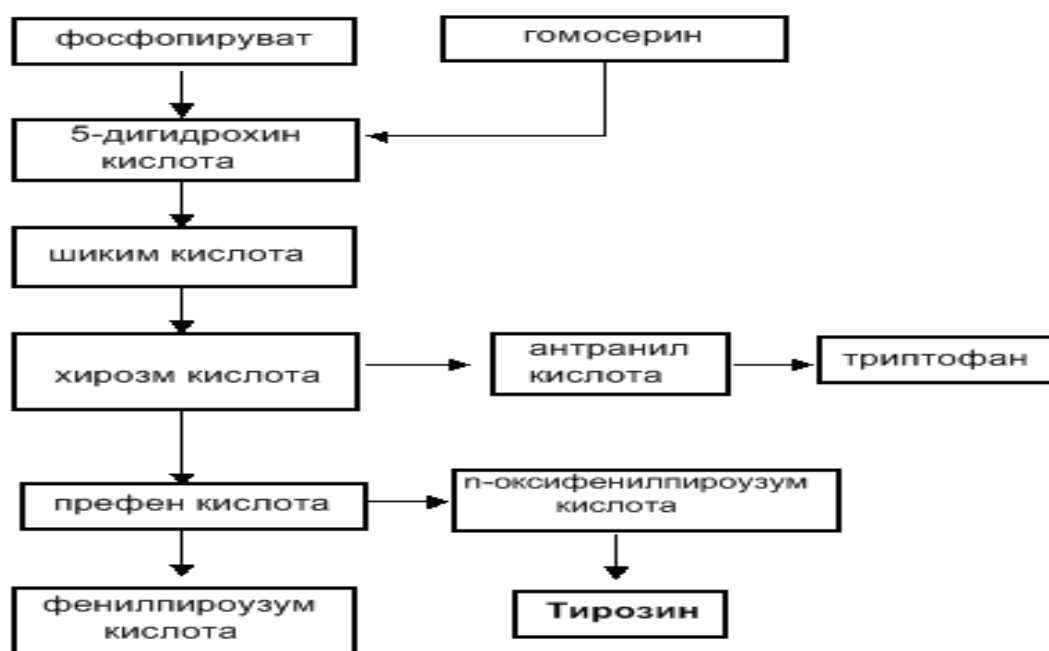
Алмашинмайдиган аминокислоталардан бири – триптофани ҳам саноат миқёсида ишлаб-чиқариш технологияси яратилган. Бу ноёб аминокислота озиқага қўшиладиган ҳолатда ҳамда ўта тоза ҳолда олинган.

Триптофани ишлаб-чиқаришни ҳам икки йўли: бир босқичли-бошқарилиши бузилган ауксотроф мутантларни ферментация қилиш орқали, ҳамда икки босқичли – дастлаб триптофани олд маҳсулотини кимёвий синтез йўли билан кейин эса ферментатив йўл билан, охириги маҳсулот – триптофан олишга асосланган.

Бактерияларда ва кўпгина бошқа организмларда триптофан, эритроза –4- фосфат ва фосфоенолпировиноград кислоталаридан бир қатор кетма-кет келадиган реакциялар орқали: шиким ва хоризм кислоталари, олд маҳсулот сифатида, эса антранил кислотаси орқали олинади (40-чизма).

Ҳар учала аминокислоталарни синтези ҳам охириги маҳсулот билан бўғилади. Улар хоризма кислотаси ҳосил бўлиши билан алоқадор бўлган реакцияларни катализ қилувчи ферментларга таъсир этадилар.

Юқоридаги чизмадан кўриниб турибдики, триптофан ҳосил бўлиши билан алоқадор бўлган метаболитик реакцияларни кучлироқ (тезроқ) кетиши учун хоризма кислотасини префен кислотасига айланишини тўсиб қўйиш керак. Бундай тўсишлар мутация орқали амалга оширилади. Хоризма кислотасини префен кислотасига ўтказувчи фермент фаоллиги йўқ ёки жуда паст бўлган мутантларда, триптофан синтези кучли бўлади, аммо бундай мутантларни нормал ўсиб, ривожланиши учун озиқа муҳити таркибига триптофан синтезини бошқариб - сусайтирадиган микдорда танқис аминокислоталар фенилаланин ва тирозин қўшиш керак бўлади.

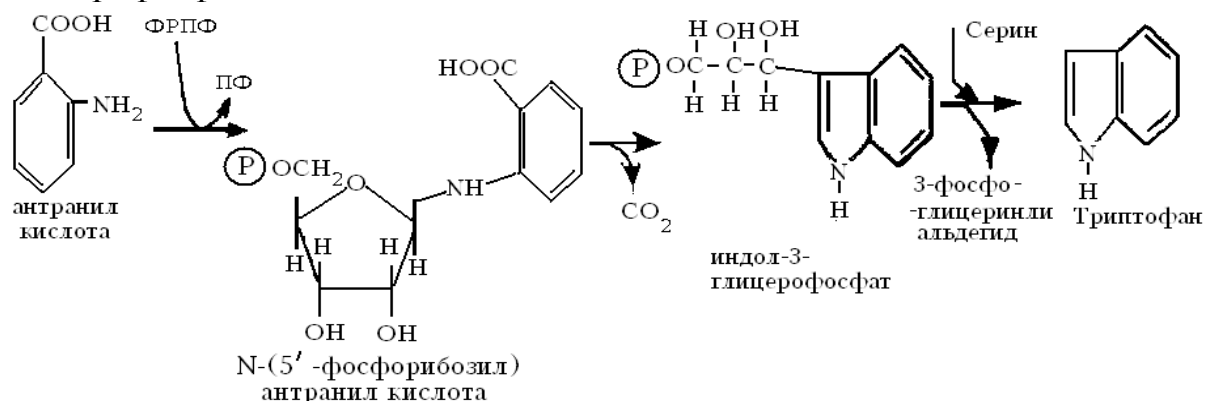


40-чизма. Триптофан, фенилаланин ва тирозин синтези

Bacillus subtilis ни тирозин ва фениланин синтези бузилган ауксотроф мутанти асосида триптофан ишлаб-чиқаришни саноат технологияси яратилган. Барча технологик жараёнлар коринебактерияларни мутант штаммлари асосида лизин ишлаб-чиқаришга ўхшаб кетади. Ферментация 37°C да 48 соат давом этади, культурал суюқликда триптофан миқдори 1 литрига 10 граммни ташкил этади. Культурал суюқликдан ҳужайраларни

Тозароқ ва юқори концентрланган триптофан тайёрлаш учун культурал суюқликни кўшимча тозалашга тўғри келади. Дастлаб уни хлорид кислотаси ёрдамида $\text{pH } 1,0$ га қадар нордонлаштирилади, кейин центрифугалаш орқали чўкма ажратиб олинади. Кейин триптофан сақловчи центрифугат катионит сақловчи ион алмашув колонналаридан ўтказилади, оқибатда аминокислота катионитга боғланиб қолади, культурал суюқлик эса колонкалардан ўтиб кетади. Колонкалар ювилиб ташлангандан кейин (культурал суюқлик таркибидаги моддалардан тозалангандан кейин) аминокислота 5% ли аммиак эритмаси (изопропанол ва сув аралашмасида эритилган) ёрдамида десорбция қилиб олинади. Элюат вакуумда қуриштириб олингандан кейин, $4-8^{\circ}\text{C}$ аминокислота кристаллизация қилинади. Кристалл ҳолатда ажратиб олинган триптофан тузи этанол билан ювилиб, 60°C вакуумда қуриштирилади. Қуриштирилган ва кристаллизация қилинган препарат камида 99% триптофанни хлоридли тузини сақлайди. Культурал суюқлик ажратиб олингандан кейинги чўкма (таркибида бактерия қолдиқлари сақлайди) қуриштирилиб, триптофанга бой бўлган оқсил препарати сифатида ишлатилади.

Россияда триптофан икки босқичда олинади. Дастлаб триптофанни олд маҳсулот – антранил кислота кимёвий синтез йўли билан олинади, кейин у микроблардан ажратилган ферментлар ёрдамида триптофанга айлантирилади. Антранил кислотани триптофанга биокимёвий айланиши уч босқичда ўтади. Биринчи босқичда антранил кислотасидан фосфорибозилпирофосфат (ФРПФ) иштирокида аминоглюкозид – N – (Б¹-фосфорибозил)- антранил кислота ҳосил бўлади. Кейинроқ у молекула ичидаги группаларни жойларини алмашинуви натижасида ва карбоксил гуруҳни йўқотиш (декарбоксилланиш) оқибатида индолил –3-глицерофосфатга айланади.



Охирги босқичда триптофансинтетаза ферменти таъсирида индолглицерофосфат ва серин (аминокислота) дан триптофан синтези амалга оширилади. Триптофан синтетаза ферментининг фаол гуруҳи сифатида пиридоксальфосфат хизмат қилиши сабабли, реакция муҳитида бу коферментнинг иштироки антранил кислотанинг триптофанга

айланиши тезлигини белгилаб беради. Бу реакцияларда фермент манбаи сифатида *Candida utilis* ишлатилади.

Антранил кислотани триптофанга биокимёвий айланиши, ишлаб-чиқариш жараёнида икки босқичда ўтказилади. Биринчи босқичда - фермент манбаи бўлган ачитқи замбуруғини (*C.utilis*) биомассаси тўплаб олинади. Ачитқи замбуруғи қуйидаги таркибдаги озиқа муҳитида ўстирилади: лавлаги мелассаси, мочевина ва минерал тузлар. Ферментация 30°C да 24 соат давом этади. Кейин ферментёрга антранил кислотасини спиртдаги 5% ли эритмаси ва мочевинани 50% эритмаси юборилади. Антранил кислота юборилгандан 3-4 соат ўтгач, ферментёрга қўшимча углерод манбаи – меласса 25% ли эритма ҳолатида юборилади. Ферментациянинг кейинги босқичларида антранил кислота ҳар 3-4 соатдан мочевина – 6 соатдан, меласса эса 12 соатдан сўнг ферментёрга юборилиб турилади.

Ферментация 120 соат, агар ачитқи замбуруғини ўстиришни ҳисобга олинса, 144 соат давом этади. Культурал суюқликда триптофан миқдори 6 г/л етади. Буғлантириб, қурилгандан кейин триптофани озиқа концентрацияси олинади.

Унинг таркиби қуйидагича:

- ✓ қуруқ моддалар – 90%;
- ✓ оқсил – 48–54%;
- ✓ триптофан 1-3%;
- ✓ витамин B_1 –1,5–1,9 мг%;
- ✓ витамин B_2 –2,5–3,3 мг%;
- ✓ витамин-PP – 62-68 мг%.

Юқори сифатли триптофан препарати олиш учун уни культурал суюқликдан ажратиш, тозалаш лозим бўлади. Бу усуллар юқорида келтириб ўтилган.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Аминокислоталар нима?
2. Қандай аминокислоталар алмашинмайдиган аминокислоталар деб аталади ва нима учун?
3. Аминокислоталар халқ хўжалигининг қандай соҳаларида қўлланилади?
4. Аминокислоталарни микробиологик синтез йўли билан олишни кимёвий синтезга нисбатан қандай афзалликларга эга?
5. Қандай бактериялар ауксотрофлар деб аталади?

6. Лизин олиш технологик жараёнининг охирги босқичини гапириб беринг?
7. Қандай микроорганизмлар лизин продуцентлари деб ҳисобланади?
8. Лизин олиш учун экиш материали қандай тайёрланади?
9. Лизин биосинтези учун қандай хом-ашё углерод манбаи ҳисобланади ва улар қандай стерилланади?
10. Лизин ишлаб чиқаришда ферментациядан аввал ускуна ва коммуникациялар қандай стерилланади?
11. Ферментёрда лизин продуцентини даврий ўстириш жараёни қандай амалга оширилади?
12. Лизин қандай препарат шаклида олинади?
13. Кристалл лизин олиш қандай хусусиятлар билан изоҳланади?
14. Глутамин кислота ва натрий глутамат қаерларда қўлланилади?
15. Қандай микроорганизмлар глутамин кислота продуценти ҳисобланади?
16. Глутамин кислота олиш технологик жараёнининг охирги босқичи ҳақида маълумот беринг.
17. Глутамин кислота биосинтези учун углерод манбаи сифатида қандай хом ашёлар қўлланилади?
18. Натрий глутамат қандай олинади?

АДАБИЁТЛАР

1. Биотехнология: Принципы и применения М.: «Мир» 1988.-480с.
2. Биотехнология: Учебн. Пособие для ВУЗов. В 8кн./Под ред. Н.С.Егорова., В.Д.Самуилова.-М.: Выш.шк 1987.
3. Грачева И.М., Гаврилова Н.Н., Иванова Л.А. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жиров. М.: Пищевая пром-сть. 1980. 448с.

16. ОРГАНИК КИСЛОТАЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

Микробиологик синтез орқали турли хил органик кислоталар: сирка, лимон, янтар, итакон, глюкон ва бошқа хил кислоталарни олиш мумкин. Улардан озиқ-овқат, фармацевтика, кимё, енгил саноат ва бошқа турли хил ишлаб чиқариш саноатларида кенг қўламда фойдаланилади.

Микробиологик синтез орқали олинган лимон, сирка ва сут кислоталари анъанавий озиқ-овқат ишлаб чиқаришда кенг қўлланилади ва кимёвий синтезлаш йўлига нисбатан самаралироқ ҳисобланади.

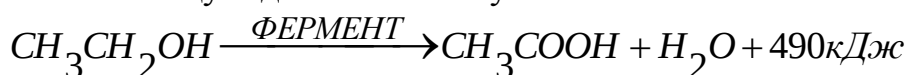
Ушбу кислоталарнинг продуцент-микроорганизмлари бактериялар, моғор замбуруғлари ва ачиткилар ҳисобланади. Сирка ва лимон кислота синтезловчи продуцент-микроорганизмлар аэроблар ҳисобланади. Сут кислотасини эса анаэроб микроорганизмлар ҳосил қилади.

Микроорганизмлар ушбу кислоталарни ўзларини бегона микрофлорадан ҳимоя қилиш мақсадида синтезлайдилар, шунингдек, углеродни заҳира сифатида синтез қилади деган назариялар мавжуд.

16.1. СИРКА КИСЛОТА ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

Сирка кислота CH_3COOH – рангсиз, ўткир ҳидли суюқликдир. Ошхона сиркаси (сирка кислотасининг 5-9% ли сувли эритмаси), сиркали эссенция (70-80%), сувсиз ёки музлатилган сирка кислота (98-99,8%) ҳолидаги сирка кислоталари мавжуд.

Acetobacter туркумига мансуб сирка кислотали бактериялар этил спиртини оксидлаб, сирка кислота ҳосил қилиш хусусиятига эгадир. Этил спиртининг оксидланишини алкогольоксидаза ферменти катализлайди. Реакция тенгламасини қуйидагича ёзиш мумкин:



Саноат шароитида сирка кислотани микробиологик синтез қилиш, сирка кислотали бактерияларни суюқликда узлуксиз ўстириш усулидан фойдаланиб, кетма кетликдаги ферментёрлар бирикмаларида амалга оширилади.

Сирка кислота ишлаб чиқаришнинг технологик жараёнлари қуйидаги асосий босқичларни ташкил этади: (41-чизма)

- ✓ Экиш материални олиш;
- ✓ Хом ашёларни тайёрлаш;
- ✓ Ферментация;
- ✓ Тайёр маҳсулотни тиндириш ва қуйиш.

Ишлаб чиқаришда сирка кислотали бактерияларнинг икки хил тури *Bacterium Schtzenbachii* ва *Bacterium curvum* қўлланилади.

Экиш материалыни лабораторияларда сирка кислотали бактерияларни суюқ озиқада кольбаларда, микробиологик тебратгичда, сўнгра 30 л. ҳажмли лаборатория ферментёрларида ўстириб олинади.

Сирка кислота олиш учун хом ашё сифатида этил спирти, ректификат ёки тозаланган ёғдан фойдаланилади. Сирка кислотали бактерияларнинг ҳаёт фаолияти озиқа муҳитининг рН кўрсаткичига боғлиқ бўлади. Уларнинг яхши ривожланиши учун мўътадил рН кўрсаткичи 3,0-3,2 оралиғида бўлади.

Озиқа муҳитидаги сирка кислота ва этил спирти миқдори ҳам микроорганизмлар ҳаёт фаолиятида муҳим рол ўйнайди ва катта таъсир кўрсатади. Кислоталарнинг мўътадил миқдори 10% деб ҳисобланса, спирт миқдори *Bacterium Schtzenbachii* учун 6-7% (ҳажм), *Bacterium curvum* учун эса 9-14% (ҳажм) ни ташкил этади.

Ферментация жараёни эса бешта кетма кетликда бириккан ферментаторлардан ташкил топган ускуналарда амалга оширилади.

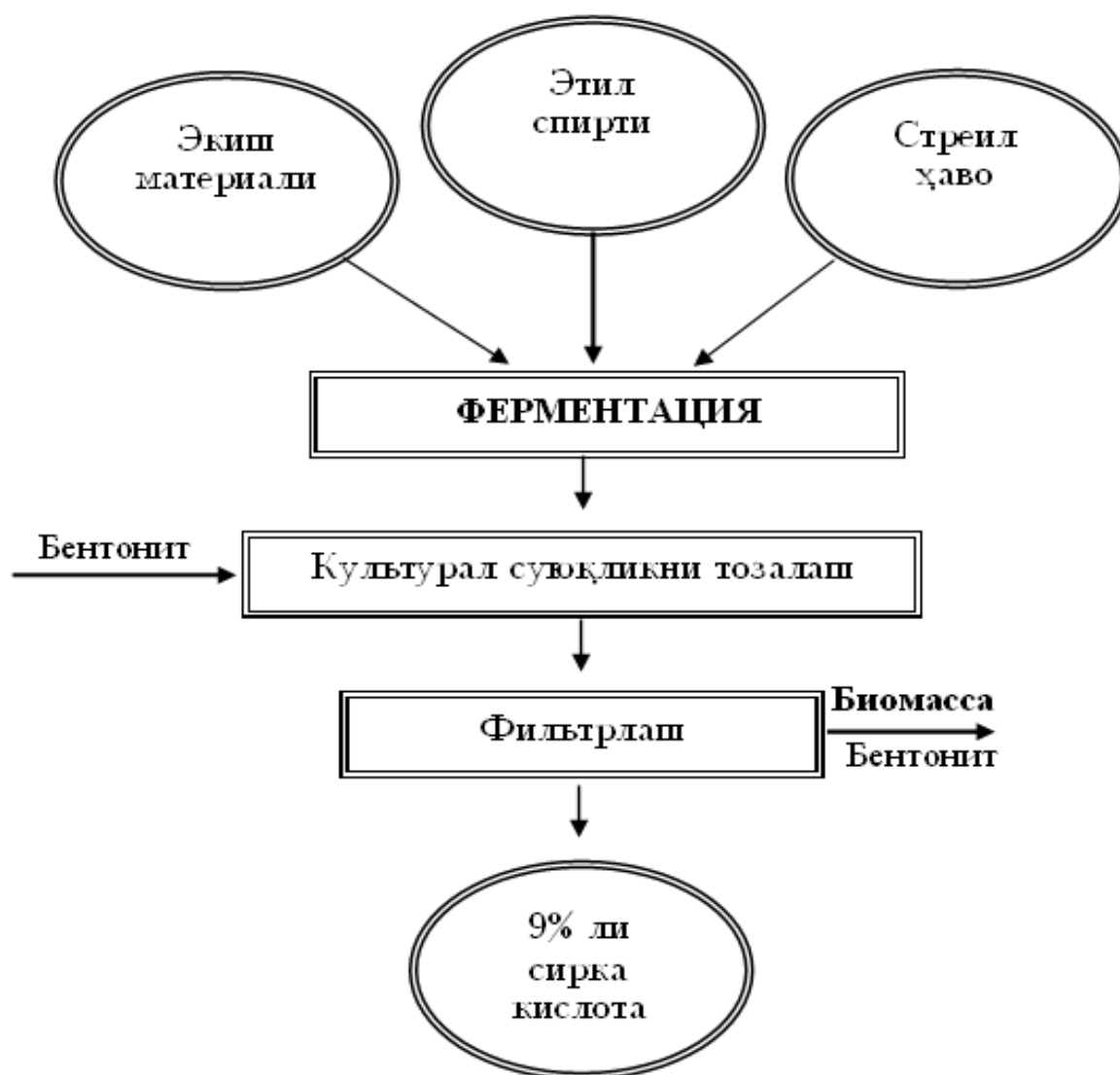
Ҳар бир ускуна аралаштиргич, барбометр ва бурама (спиралсимон) иссиқлик алмаштирувчилар билан таъминланган. Биринчи ферментёрга, этил спирти ва сирка кислотанинг умумий миқдори 6,4-6,7% ни ташкил этадиган озиқа муҳити ва стерил ҳаво узлуксиз берилади ҳамда экиш материалы солинади. Бунда сирка кислотали бактерияларнинг жуда тез ривожланиши учун қулай шароит яратилади. Биринчи ферментёр қолган барча кейинги ферментёрлар учун сирка кислотали бактериялар генератори ҳисобланади. Шунингдек, бунда сирка кислотасида этил спиртининг оксидланиши амалга ошади.

Культурал суюқлик бир ферментёрдан иккинчи ферментёрга ҳосил қилинган ҳаво босими ҳисобига узатилади. Ҳар бир ферментёр этил спирти жадал оксидланиши ва сирка кислотага айланиши учун шароит яратиб беради. Зарур бўлган спирт миқдори билан таъминлаш учун иккинчи, учинчи ва тўртинчи ускуналарга 40% ли этил спирти қўшилади.

Ҳарорат ва аэрация жадаллиги бир ферментёрдан иккинчисига ўтганда пасайиб боради: агарда биринчи ферментёрда ҳарорат 28⁰С га, аэрация жадаллиги эса 0,35-0,40 м³/(м³·мин) га тенг бўлса, охириги ускунага келиб мувофиқ равишда 25⁰С ва 0,1-0,15 м³/(м³·мин) ни ташкил этади.

Культурал суюқлик бешинчи ферментёрдан сирка кислота миқдори 9% дан кам ва 9,3% дан ортиқ бўлмаган ҳолда чиқади.

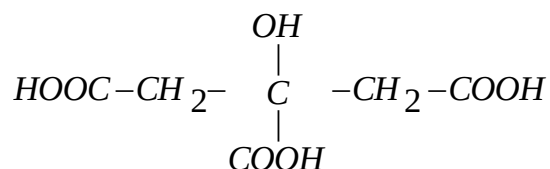
100 л. сувсиз этил спиртидан 75-90 кг сирка кислота олинади. Сирка кислотаси эритмасига тиндириш учун бентонит ва кўп бўлмаган миқдорда лимон кислота қўшилади. Аралаштирилиб бўлингандан сўнг, тиндирилган сирка кислота эритмаси зич-филтрга узатилади. Ўзида 9% сирка кислотасини (ошхона сиркаси) сақловчи филтрат тайёр маҳсулот йиғиладиган жойга узатилади ва ундан қуйиб олиш мумкин бўлади.



41-чизма. Сирка кислота ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси

16.2. ЛИМОН КИСЛОТА ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

Лимон кислота - $C_6H_8O_7$, уч асосли оксикислотадир:



Сувли эритмалардан рангсиз, тиник, ромбик кўринишидаги кристаллар пайдо бўлади.

Лимон кислотаси медицинада, озиқ-овқат, кимё ва енгил саноатда жуда кенг миқёсда ишлатилади. Маълумотларга кўра дунё миқёсида лимон кислотасининг ишлаб чиқарилиш ҳажми йилига 400 минг тоннани ташкил этади.

Лимон кислотасининг бундай катта миқдорда ишлаб чиқарилишига турли хил углерод манбалари, хусусан, углевод ва углеводородлар асосида микробиологик синтезлаш усуллари яратилгандан кейингина эришилди.

Лимон кислотасининг продуцент микроорганизмлари микроскопик замбуруғлар (*Aspergillus niger*), ачиткилар (*Candida lipolytica*, *Candida quilliermondii*) ва бактериялар (*Corynebacterium*, *Arthrobacter*) ҳисобланади.

Россияда лимон кислотаси мелассали озиқа муҳитида *Aspergillus niger* микроскопик замбуруғини ўстириб, микробиологик синтез асосида олинади. Лимон кислотасини ишлаб чиқариш жараёнини ўзида микробиологик технологиянинг барча асосий босқичларини мужассамлаштиради (42-чизма):

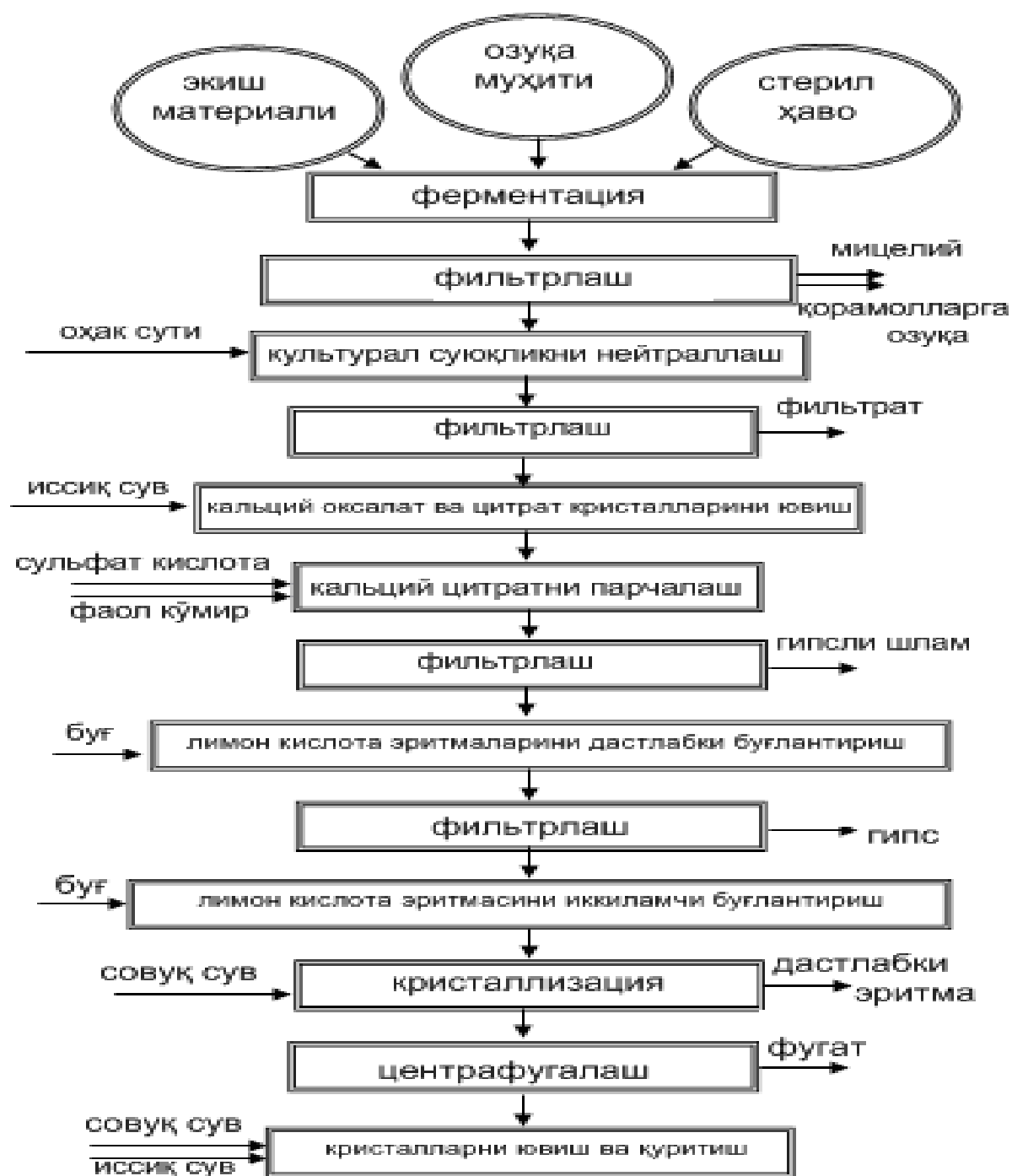
- Экув материални тайёрлаш;
- Меласса - хом ашёларни ферментацияга тайёрлаш;
- Ҳавони тайёрлаш ва стериллаш;
- Ферментация;
- Мицелий-продуцент биомассаларини ажратиш;
- Культурал суюқликдан лимон кислотасини ажратиш ва уни кристалл кўринишида олиш.

Лимон кислотаси продуцентларини юза қисмга ва суюқлик ичига экиш усулларида ўстириш мумкин. Лимон кислотасини бу усулларда ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси фақатгина ферментация босқичида фарқланади. Қолган барча босқичлар бир хилда кечади (39-чизма).

Экув материални тайёрлаш

Махсус микробиологик музейларда *Aspergillus niger* штаммлари курук спора кўринишида (конидий) фаоллантирилган кўмир аралашмасида сақланади. Дастлабки культура пробиркаларда агарли озиқа муҳитида ривожланади, сўнгра қолба ва кюветаларда қаттиқ озиқа муҳитида ўстирилади. Ўстириш ҳарорати 32°C бўлиб, ўстириш давомийлиги ҳар бир босқичда 2 суткадан 7 суткагача давом этади.

Қаттиқ озиқа муҳити сиртида ўстирилганда конидия ҳосил қилувчи мицелиал қоплам ривожланади. Етилган конидийлар вакуум ускунаси ёрдамида йиғиб олинади. Йиғиб олинган конидийлар стерил ҳолдаги қўшимчаларга (талък ёки фаоллаштирилган кўмир) аралаштирилади ва 32°C ҳароратда қуритилади. Тайёр экув материали стерил шиша қолбаларга ёки 0,5 дан 1 литргача бўлган сигимли банкаларга жойланади. Бу усулда ишлов берилган экув материални сақлаш муддати 6 ойдан кам бўлмайди.



42-чизма. Лимон кислота ишлаб чиқаришнинг технологик чизмаси

Хом ашёларни тайёрлаш

Лимон кислотасини саноат асосида олиш учун субстрат сифатида шакар саноатининг қолдиқ маҳсулоти бўлган меласса қабул қилинган. Меласса аниқ стандартга (таркибга) эга бўлмаган хом ашё ҳисобланади, шунинг учун унинг яроқлилиги лаборатория шароитида назорат ферментацияларда лимон кислота синтез бўлиши бўйича текшириб кўрилади.

Яхши, сифатли меласса таркибида 46% дан кам бўлмаган шакар сақлайди. Агарда назорат ферментация жараёнида лимон кислота синтези,

Озиқа муҳити юза қисмида ўстириш усулидаги ферментация

Темир тузлари ва оғир металлarnи чўктириш учун қайнатиш давомида аниқ миқдордаги сариқ қон тузи эритмаси калий гексацианоферроат (ГЦФК) солинади. Меласса эритмасига 60-70⁰С ҳароратда кетма-кетликда азот, фосфор (калий фосфат), макро- ва микроэлементлар (рух, магний, калий ва бошқалар) манбалари қўшилади. Тайёр озиқа муҳити 45-50⁰С ҳароратда стерил идишга ўтказилади. Озиқанинг шакар сақлаши 12-16% ни ташкил этиши лозим.

The diagram illustrates a water treatment process with the following components and labels:

- 1**: Large rectangular tank, likely a settling tank.
- 2**: Pumps or valves at various points in the piping.
- 3**: Vertical cylindrical tank, possibly a filter or aeration tank.
- 4**: Small rectangular tank at the top left.
- 5**: Large rectangular tank with internal baffles, labeled "Тоза хаво" (This air) above it.
- 6**: Small rectangular tank at the bottom left.
- 7**: Vertical cylindrical tank in the middle section.
- 8**: Horizontal rectangular tank below 7.
- 9**: Small rectangular tank below 8.
- 10**: Horizontal rectangular tank at the bottom of the middle section.
- 11**: Two horizontal cylindrical tanks, one in the upper right and one in the lower right.
- 12**: Horizontal cylindrical tank at the top right, labeled "Вакуум" (Vacuum) above it.
- 13**: Small rectangular tank in the upper right.
- 14**: Horizontal cylindrical tank with internal baffles in the lower right.
- 15**: Large bowl-shaped tank in the bottom right.
- 16**: Small rectangular tank below 15.
- 17**: Two vertical cylindrical tanks below 16.
- 18**: Two rectangular tanks at the very bottom right.
- 19**: Vertical rectangular tank in the bottom right, labeled "Ионит билан қайта ишлагаша" (Regeneration with ionite) and "Нейтрализацията" (Neutralization) below it.

Flow lines connect these components, showing the sequence of the water treatment process.

43-чизма. Меласса сақловчи муҳитда лимон кислота олишнинг технологик чизмаси

1-меласса учун идиш; 2-марказлаштирувчи насослар; 3-мелассани суюлтириш учун реактор; 4-стерилизатор; 5-ачитиш камераси; 6- бижғидиган эритмаларни йиғич; 7-нейтрализатор; 8-нутч-фильтр; 9-аралаштиргич; 10- нутч-фильтр; 11- монтеж-йиғич; 12-вакуум-ускунаси; 13-дисольвер; 15-кристаллизатор; 16-кабул бўлими; 17-куритиш; 18-тайёр маҳсулот; 19- фильтратларни йиғиш.

Янги ферментация ҳалқаси олдидан камералар ва кюветалар яхшилаб ювилади ва парошакллин аралашмаси билан стерилланади кейин эса пароаммиакли аралашмада дегазацияланади. Стерилизацияланган ва совутилган камера кюветаларига озиқа муҳити 12 дан 18 см гача қатлам қилиб қуйилади. Махсус ускуналарда *Aspergillus niger* конидийлари яъни экиш материали озиқа муҳитига пуркаб сепилади. Экишдан кейин бир кун ўтгач юпка оқ-сарғиш мицелий қоплами ҳосил бўлади ва уч кун ўтгач қалинлашиб бурмали, қатлам-қатлам тузилишни намоён қилади. Замбуруғ мицелийсининг фаол ўсиш босқичи жуда кам аэрацияда, 34-36°C ҳароратда таъминланади.

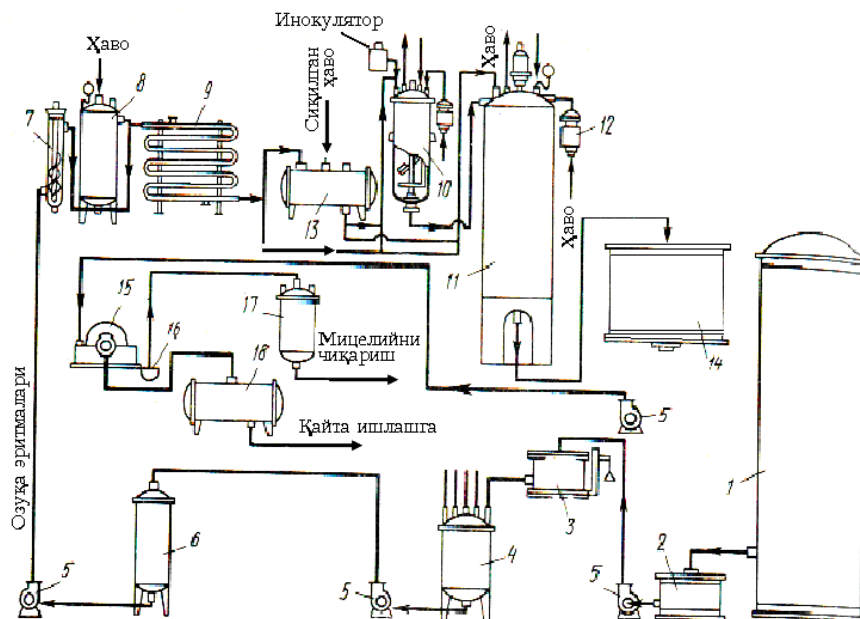
Фаол кислота ҳосил бўлиш босқичида ҳарорат 32-34°C га пасаяди, ҳаво узатилиши эса 3-4 марта ошади. Кислота ҳосил бўлишининг жадаллигининг пасайиши ва ажраладиган иссиқлик миқдори камайишининг олдини олиш учун камерага берилаётган ҳаво секин-аста камайтириб борилади.

Ферментация жараёни эритмада 1-2% шакар қолганда ва культурал суюқликда кислота сақлаши 12-20% ни ташкил этганда тўхтатилади. Кюветалардан культурал суюқлик маҳсулот йиғичга қуйилади, сўнгра кимёвий цехга ўтказилади. У ерда лимон кислота ажратилади. Культурал суюқликнинг лимон кислота сақлаши 12-20% ни ташкил этади. Мицелий кислоталардан иссиқ сув билан ювиб тозаланади ва қорамоллар учун озиқа сифатида қўлланилиши мумкин.

Суяқ озиқа муҳитида ўстириш усулидаги ферментация

Aspergillus niger замбуруғларини суяқ озиқада ўстириш орқали лизин олиш жараёни 100м³ ҳажмдаги ферментёрларда амалга оширилади (41-чизма). Экиш материали сифатида 10м³ ҳажмдаги экиш ферментёрларида олинган ўсувчан мицелийлар қўлланилади.

Меласса эритмаси экиш ва ишлаб чиқариш ферментёрлари учун худди юза қисмда ўстириш усулидагидек олинади, факатгина суюқликда ферментация учун дастлабки меласса эритмаси 4% дан кам бўлмаган шакар сақлаши лозим. Агарда фементация жараёнида шакар миқдори кескин камайса, 25-28% шакар сақловчи стерил меласса эритмаси (қуюлувчи эритма) қуйиш амалга оширилади. Ушбу эритма шундай миқдорда қуйиладики, бунда ферментёрдаги шакар миқдори 12-15% ни ташкил этсин.



44-чизма. Суюқликда ўстириш усулида лимон кислота олишнинг технологик чизмаси:

(Карклиньш ва Пробок, 1972)

1-мелассали бак; 2-қабул қилувчи бак; 3-тарозилар; 4-қайнатувчи қозон; 5-марказлаштирувчи насос; 6-оралиқ идиш; 7-стерил колонка; 8-сақлагич; 9-музлатгич; 10-экиш ферментатори; 11-ишлаб чиқариш ферментатори; 12-бактериологик фильтр; 13-мелассани сақлаш учун идиш; 14-оралиқ йиғгич; 15-барабанли вакуум фильтр; 16-мицелийни қабул қилувчи идиш; 17-мицелийни йиғиш учун вакуум йиғгич; 18-фильтрланган (бижғиган) эритмаларни йиғиш учун вакуум-йиғгич.

Озика муҳити билан тўлдирилган экиш ускунасига, дастлаб термостатда 32°C ҳароратда 5-6 соат сақланган конидий суспензияси қуйилади. Культура доимий аралаштириш ва аэрацияда $34-35^{\circ}\text{C}$ ҳароратда ўстирилади. Ўстириш жараёнида ферментаторга ҳаво узатилиши катъий назорат қилинади, яъни ҳавонинг сарфи ферментация охирларига бориб деярли 10 баровар ошади.

Жадал кўпикланиш давомида кўп бўлмаган миқдордаги кимёвий пеногасител (кўпиксизлантирувчи) солинади (олеин кислота).

Мицелий етилиш жараёни 30-36 соатдан кейин культурал суюқлик кислота миқдорини 1-2% сақлаганда тугалланади. Етилган мицелийлар ишлаб чиқариш ферментёридаги озика муҳитига экиш учун юборилади.

Ферментёрда кислота ҳосил бўлиш жараёни узлуксиз аэрация ва $31-32^{\circ}\text{C}$ ҳароратда 5-7 сутка давом этади. Ҳаво сарфи бошланғич даврда $400 \text{ м}^3/\text{с}$, ферментация охирларида эса $2200 \text{ м}^3/\text{с}$ гача ошиб боради. Шакар миқдорини мўътадиллаштириб туриш учун қуйиш эритмасидан вақти-вақти билан 2-3 марта кўшилади. Бунда шакар миқдори эритмада 12-15% ни ташкил этиши лозим. Жараён охирида эса умумий кислоталик ва шакар миқдори аниқланади.

Кальций оксалат бу шароитда ажралмайди. Кальций цитрат тўлиқ ажралгандан сўнг реакторга оғир металлларни чўктириш учун грануланган барий сульфат солинади. Лимон кислота эритмаси гипс, кальций оксалат, кўмир ва оғир метал тузлари қолдиқларидан вакуум-филтрда ажратилади. Филтрланган лимон кислота эритмаси буғлантиришга йўналтирилади. Вакуум-ускунада буғлантириш икки босқичда амалга оширилади.

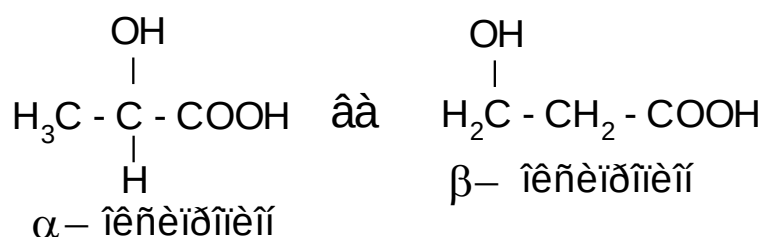
Биринчи ускунада эритма 1,24-1,26 г/см³ зичликкача буғлантирилади ва бунда гипс қолдиқлари чўкмага тушади. Зич-филтрда гипс ажратилиб, сўнг тиниқ эритма иккинчи ускунада 1,35–1,36 г/см³ зичликкача буғлантирилади. Бунда лимон кислота миқдори 80% ни ташкил этади.

70⁰С ҳароратда вакуум-ускунада буғлантирилган эритма кристаллизаторга юборилади. Кристаллизаторда эритма 35-37⁰С ҳароратгача совутилади ва лимон кислота кристаллари ажратишга юборилади. Кристаллизация доимий аралаштириш ва босқичма-босқич 8-10⁰С гача совутиш орқали амалга оширилади. Ҳосил қилинган лимон кислотаси кристаллари центрифугалаш орқали ажралади ва кўп бўлмаган миқдордаги совуқ сувда ювилиб қуриштишга йўналтирилади.

Кристалл лимон кислотасини қуриштиш лентали ёки барабанли пневматик қуришгичда 35⁰С дан ошмаган ҳароратли ҳавода амалга оширилади. Тайёр препарат таркибида 99,5% дан кам бўлмаган миқдордаги лимон кислотаси (моногидратга ҳисоблаганда) сақлаши лозим.

16.3. СУТ КИСЛОТАСИ ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

Сут кислотаси – C₃H₆O₃ бир асосли органик кислотади. Гидрооксил гуруҳ икки хил ҳолатда (α ва β) жойлашиши мумкин, шунинг учун сут кислотаси икки изомерга бўлинади:

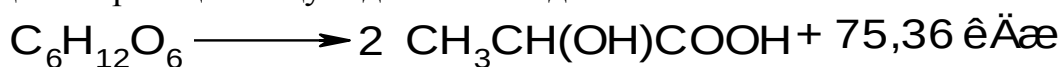


Сут кислотасини ҳам микробиологик ҳам кимёвий синтез йўли билан олиш мумкин. Сут кислотаси продуценти мўътадил ривожланиши 48-50⁰С ҳароратда кечадиган гомоферментатив термофил бактерияларга мансуб бўлган *Bacterium dilruckii* бактерияси ҳисобланади.

Сут кислотаси олиш учун хом-ашё сифатида турли хил углеводлар қўлланилиши мумкин. Кислота ишлаб чиқаришда, таркибида глюкоза, сахароза ва мальтоза сақловчи хом-ашёлардан фойдаланилади. Масалан, Россияда сут кислотаси ишлаб чиқариш учун рафинадли қиём (шакар-

рафинад ишлаб чиқариш қолдиғи), меласса, крахмал (маккажўхори ва картошканики) ва дастлабки қандлаштирилган солоддан фойдаланилади.

Сут кислотали бактерияларнинг глюкозани бижғитиб сут кислота ҳосил қилиш реакцияси қуйидагича кечади:



Кимёвий тенгламага асосан 100 г глюкозадан 100 г сут кислотаси олинади. Бижғиш жараёнида маҳсулотнинг амалий чиқиши шакар массасига нисбатан 90-91% ни ташкил этади.

Сут кислотаси ишлаб чиқаришнинг технологик жараёнлари анаэроб шароитда ўтади (ҳаво тайёрлаш босқичи бўлмайди) ва ҳароратнинг кўтарилиши билан характерланади (зарарли микрофлора билан зарарланиш хавфи пасаяди). Булар сут кислотали бактерияларнинг термофиллиги ва анаэроблигини кўрсатади.

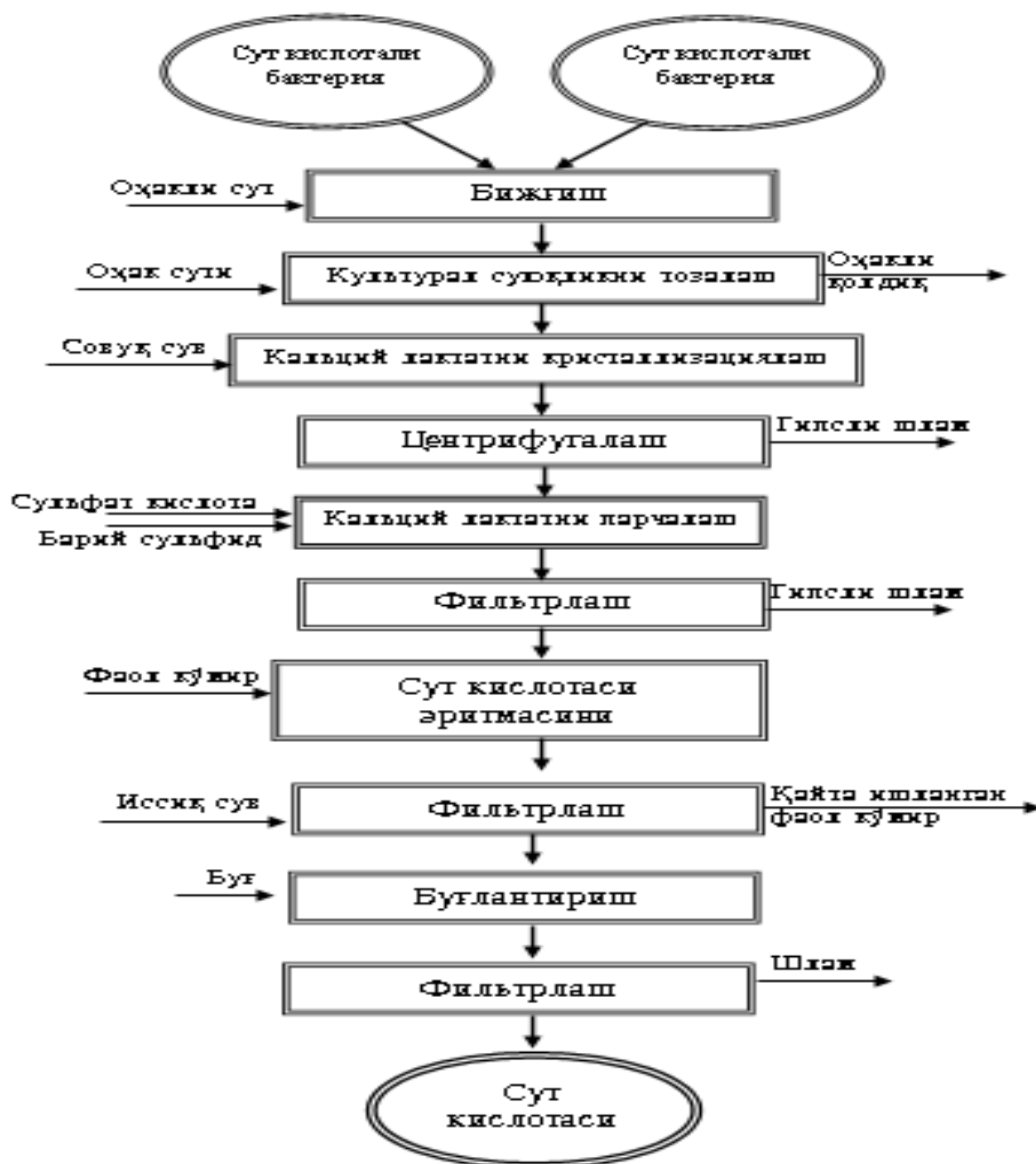
Сут кислота ишлаб чиқариш жараёни қуйидаги асосий босқичлардан иборат:

- ✓ экиш материали тайёрлаш;
- ✓ озиқа муҳити тайёрлаш;
- ✓ сут кислотали бижғиш (ферментация);
- ✓ йиғилган эритмани қайта ишлаш ва филтрлаш;
- ✓ кальций лактатни парчалаш;
- ✓ сут кислотасини буғлантириш (буғлантириш).

46-чизмада сут кислотаси тайёрлашнинг умумий технологик чизмаси келтирилган.

Экиш материалини тайёрлаш

Дастлабки культура пробиркадан олиниб янги озиқа муҳити солинган учта пробиркаларга экиб олинади. Пробиркада ўсган культуралар 500 мл сиғимли колбаларга, ундан 10 л сиғимли шиша идишларга ва ниҳоят улардан культиваторга олиб экилади. Экиш материали миқдори бижғитиш ускунаси ҳажмининг 30% идан кам бўлмаслиги лозим. Биринчи икки босқич солод суслосидан тайёрланган озиқа муҳитида, учинчи босқич сусло ва ишлаб чиқариш учун тайёрланган ўстириш озиқалари аралашмасидан (1:1), охирги босқич эса фақат ишлаб чиқариш учун тайёрланган озиқада амалга оширилади. Ўстириш ҳарорати 48-50°C бўлиб, ўстириш давомийлиги ҳар бир босқичда 20-24 соат давом этади.



46-чизма. Сут кислотаси олишнинг технологик чизмаси

Озиқа қўшимча сифатида стерил бўр сақлаши ва стерил бўлиши лозим.

Асосан заводларда тоза культура ишлаб чиқариш жараёни олдидан тайёрланади. Кейинчалик экиш материали сифатида бижғитиш ускуналардан олинган культурал суюқликдан фойдаланилади.

Сут кислотали бижғиш цилиндр кўринишдаги, сферик тубли, сиғими 25-45 м³ бўлган, алюминий ёки зангламайдиган пўлатдан тайёрланган, иссиқ сувнинг циркуляцияси амалга ошадиган ускуна билан таъминланган қурилмаларда (чангларда) амалга оширилади. Озиқа муҳити бевосита бижғиш қурилмасида тайёрланади. Меласса ва рафинад қиёми қурилмага ўзи оқиб тушувчи труба орқали берилади, шакар – манбаи эса дастлаб

сувда эритилади ва кейин бижғиш курилмасига қуйилади. Бўрли сут алоҳида идишда тайёрланади.

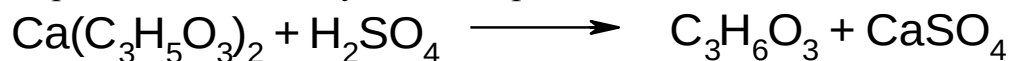
Курилманинг ишчи сифими $\frac{2}{3}$ ҳажмда сув билан тўлдирилиб, унда меласса ва рафинад қиёми эритилади ва эритмада шакар миқдори 3-4% гача бўлгунга қадар олиб борилади. Эритма 70°C гача бўлган ҳароратда қиздирилиб, мана шу ҳароратда 1 соат давомида пастеризация қилинади. Сўнгра эритма 48-50°C гача совутилиб, унга 15% солод қуйқаси (солинган шакар массасига) ва курилма сифимининг 20% ҳажми бароварида экиш материали солинади. Ўстиришдан 6 соатдан сўнг озиқа муҳити ҳавода даврий барботирлаш орқали аралаштирилади. Қачонки, эритмада сут кислота ҳисобига кислоталик 0,5-0,6% ни ташкил этса, ҳар 1,5-2 соатда кўп бўлмаган миқдорда бўрли сут қўшилади. Сут кислотаси нейтрализацияси натижасида кальций лактат ҳосил қилади.

Мўътадил бижғиш жараёнида ҳар суткада 2% гача шакар ўзлаштирилади. Шакар миқдори камайганда бижғиш курилмасига бир нечта усулларда шакарнинг 50% ли эритмаси (рафинад қиёми сақлаши мумкин) қўшилади. Озиқанинг таркибида 3-4% гача шакар сақлаши таъминланади.

Шакар миқдори тажрибалар асосида аниқланиб, бижғиш жараёнининг охирида культурал суюқликнинг таркибидаги кальций лактат миқдори 15% дан, ўзлаштирилмаган шакар миқдори эса 0,2-0,5% дан кўп бўлмаслиги лозим. Бижғиш 6-8 кун давом эттирилади. Бижғиш жараёни тугагач, культурал суюқлик бижғиш ускунасида 70-80°C гача қиздирилади ва кучсиз ишқорий реакциягача оҳакли сут ёрдамида нейтрализацияланади.

Нейтрализация жараёнида оксил моддалари коагуляцияга учрайди, темир чўқади ва шакарнинг жуда кам қолдиқлари парчаланади. Сўнгра культурал суюқлик тиндирилади ва чўкмадан ажратилгандан кейин буғда қиздирилган зич филтрга йўналтирилади. Кальций лактат эритмаси 70-80°C ҳароратда филтрланади. Олинган филтрат 27-30% миқдоргача буғлантирилади. Кейин 25-30°C гача совутилиб кристаллизаторда 36-48 соат ушланади. Кристаллизация дастлабки эритмада кальций лактатнинг миқдори 6% атрофида қолганда тугалланади.

Кристалл кальций лактат центрифугада ажратиб олинади, совуқ сувда ювилади ва қурилади. Сульфат кислота таъсирида кальций лактат парчаланиб, эркин сут кислотага айланади. Бу жараён 60⁰-70⁰C ҳароратда амалга оширилади. Реакция қуйидаги тартибда кечади:



Сут кислота эритмаси таркибидаги темир, натрий сульфат бирикмалари чўкиши учун ГЦФК [гексацианоферрат (II) калий], оғир металллар ва мишьяк чўкиши учун барий сульфит ва ранг берувчи моддаларни йўқотиш учун эса фаоллаштирилган кўмир билан ишлов берилади.

Ишлов берилгандан сўнг аралашма филтрланади. Филтдаги, гипс қолдиқларидаги қолган сут кислотасини ювиб чиқариб ташланади. Натижада 18-20% микдордаги сут кислотаси эритмаси олинади. Эритма микдори 40% гача ошиши учун эритма вакуум-ускунасида буғлантирилади. Сўнгра яна бир марта фаол кўмирда тиндирилади ва ГЦФК билан ишлов берилади. Тиндирилгандан сўнг фаол кўмир зич-филтрда ажратилади, сут кислота эса тайёр маҳсулот йиғичга қуйилади.

Бундан ташқари, сут кислотасини 70% гача олиш мумкин. Бунда вакуум-ускунада иккинчи мартоба буғлантирилади ва зич-филтрда филтрланади. 70% ли сут кислотаси жуда кам микдорда бўр сақловчи қуйилтирилган паста ёки суяқ ҳолатда ишлаб чиқарилади.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Микробиологик синтез усули асосида қандай органик кислоталар олинади?
2. Сирка кислота продуцентлари қандай микроорганизмлар ҳисобланади?
3. Сирка кислота олиш учун нималар углерод манбалари ҳисобланади?
4. Батарея ферментёрларида сирка кислота бактерияларини ўстириш қандай шароитда амалга оширилади?
5. Спирт-лимон кислотаси қаерларда қўлланилади?
6. Қандай микроорганизмлар лимон кислота продуцентлари ҳисобланади?
7. Лимон кислота биосинтези учун қандай хом-ашёлар углерод манбалар ҳисобланади?
8. Лимон кислота биосинтези учун экиш материали ўзида нималарни намоён этади? У қандай ўстирилади ва сақланади?
9. Лимон кислота продуцентларини саноат асосида ўстириш усулларини айтиб беринг.
10. Лимон кислота продуцентларини юза қисмда ўстириш қандай амалга оширилади?
11. Лимон кислота продуцентларини суяқликда ўстириш усули қандай хусусиятларга эга?
12. Лимон кислота продуцентларини суяқ озикада ўстириш давомида углерод манбалари қандай микдорда ва қандай қилиб олинади?
13. Лимон кислотасини культурал суяқликдан ажратиш нимага асосланган?
14. Лимон кислотасини культурал суяқликдан ажратишнинг босқичларининг кетма-кетлигини айтиб беринг.
15. Қандай микроорганизмлар сут кислотаси продуцентлари ҳисобланади?

16. Сут кислотаси биосинтезида углерод манбалари сифатида қандай хом-ашёлар қўлланилади?
17. Сут кислотали бижғиш учун ишлаб чиқариш ферментёрларида озика муҳити қандай тайёрланади?
18. Ишлаб чиқариш қурилмаларида сут кислотали бижғиш қандай ҳарорат ва шакар микдорида олиб борилади?
19. Культурал суюқликдан сут кислотаси қандай ажратиб олинади?
20. Сут кислотаси қандай маҳсулот шаклларда ишлаб чиқарилади?

АДАБИЁТЛАР.

1. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. М.: «Агропромиздат» 1991.- 240с.
2. Скрыбин Г.К., Головлева Л.А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. М.: Наука, 1976.-336с.
3. Шлегель Г. Общая микробиология: перевод с немецкого. - М.: Мир, 1987.-567с.
4. Yi Z. – H., Rehm H. J. European Journal of Applied Mikrobiolgy and Biotechnology.- 1982.- v.5. –p.175-179.
5. Zu Tung Lin, Zu Hua Yi, Kuan Ying Li. Third European Congress in Biotechnology, Miinchen, 1984.- v.II. –p. 71-76.
6. Биотехнология. Отв. Ред. А.А.Баев. М.: Наука, 1984.

17. ОҚСИЛ ПРЕПАРАТЛАРИ ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

17.1. ОЗИҚА ОҚСИЛИ ТАЙЁРЛАШ

Оқсил моддалари ҳаётий зарур вазифаларни бажариб, ҳар қандай тирик организмларнинг ҳужайраларини ташкил этувчи компонентлардан энг зарурийси ҳисобланади. Оқсил моддалар ҳужайраларда католитик бошқариш, транспорт, биоэнергетик, ҳар хил юқумли касалликлардан ва стресс факторлар таъсиридан ҳимояловчи, захира ва бошқа вазифаларни бажаради. Ўсиб турган ўсимликларда оқсил модда 5 дан 15% гача (қурук модда ҳисобидан), бошоқли ўсимликлар донида 8% дан 18% гача, ёғли ўсимликлар уруғида 16% дан 28% гача, дуккакли ўсимликлар уруғида эса 20-40% ни ташкил қилади. Инсон ва ҳайвон тўқималарида одатда оқсил миқдори 20-80% ни ташкил этади.

Айтиб ўтилганлардан кўриниб турибдики, ҳужайраларни ва организм тўқималарини ҳосил бўлиши учун, шунингдек, ҳаётий зарур бўлган функцияларни бир маромда ушлаб туриш учун доимий равишда оқсил синтези амалга ошириб туриши керак. Оқсил молекуласини синтези учун барча тирик организмлар 18 аминокислота ва 2 та аминокислоталарнинг амидини (аспарагин ва глютамин) ишлатадилар. Аммо, синтез бўлганидан кейин оқсил молекулалари ҳар хил ўзгаришларга (модификацияга) учрашлари мумкин, оқибатда оқсил таркибидаги аминокислоталар тури 26 тага етган ҳоллари ҳам учрайди.

Ўсимликлар ва кўпчилик микроорганизмлар ўзлари учун зарур бўлган аминокислоталарни оддий моддалардан карбонат ангидрид, сув ва минерал тузлардан синтез қилаолиш имкониятига эга бўлса, ҳайвонлар ва одамлар организмда баъзи-бир аминокислоталар синтез бўлаолмайдилар, шунинг учун ҳам улар организмга ташқаридан тайёр ҳолда киришлари шарт. Бундай аминокислоталарни алмашинмайдиган аминокислоталар деб юритилади. Булар: валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан ва фенилаланин мана шу аминокислоталардан бирортаси овқат таркибида бўлмаса, инсонни оғир хасталикка олиб келади, ҳайвон озиқасида етишмаган ҳолларда эса, уларни маҳсулдорлигини пасайтириб юборади.

Инсон ва ҳайвонларни алмашинмайдиган аминокислоталар билан таъминлаб туриш шартлигини эътиборга олиб, уларни илмий асосланган суткалик ўртача миқдори ҳисоблаб чиқилган. Шундай қилиб, бир одамни бир суткалик алмашинмайдиган аминокислоталарга бўлган муҳтожлиги қуйидагича (г): валин-5,0; лейцин – 7,0; изолейцин-4,0; лизин –5,5; метионин – 3,5; треонин-4,0; триптофан-1,0; фенилаланин – 5,0.

Инсон алмашинмайдиган аминокислоталарни асосан ҳайвон ёки ўсимлик оқсиллари орқали олса, ҳайвонларни кўпчилиги фақатгина ўсимлик оқсилларидан олишади. Овқат ёки озиқа билан организмга

тушган оксил моддалар ошқозон шираси таркибидаги протеаза ферментлари таъсирида аминокислоталаргача парчаланади, ҳосил бўлган аминокислоталар эса инсон ёки ҳайвон оксили синтези учун ишлатилади. Бунда алмашинмайдиган аминокислоталарни роли бениҳоядир. Уларни етишмаслиги оксил синтезини тўхтатиб қўяди, бу эса организмни ўсиб ривожланишини чегаралаб қўяди.

Шуни ҳам ҳисобга олиш керакки, барча алмашинмайдиган аминокислоталар озиқа оксили таркибида организмни талабидан келиб чиққан ҳолда, маълум нисбатда бўлишлари керак. Агарда улардан бирортаси етишмасдан қолса, қолганлари ҳам оксил синтезида ишлатилмайди, чунки оксилни синтез механизми шуни талаб қилади. Бундай шароитда, оксил моддаларни синтезини давом эттириш овқат ёки озиқа харажатларини ошишига олиб келади. Бундай ходисаларни олдини олиш учун, бир томондан озиқа таркибидаги оксил моддаларни, иккинчи томондан эса оксил таркибидаги алмашинмайдиган аминокислоталар миқдорини назорат қилиб бориш зарур бўлади. Оксил таркибидаги аминокислоталарни баҳолаш учун уларни биологик озиқа бирлигини аниқлаш керак. Алмашинмайдиган аминокислоталарни мўътадил миқдорда сақлайдиган озиқа ёки озиқ-овқат оксиллари биологик сифатли оксил деб юритилади.

Бирлашган миллатлар ташкилоти (БМТ) қошида ташкил этилган озиқ-овқат ва қишлоқ хўжалиги масалалари бўйича халқаро ташкилот (ФАО) жуда кўплаб оксилларни аминокислота таркибини ўрганиб чиқиш орқали бир қатор йўлланмалар ишлаб чиққан. Бу йўлланмаларда озиқ-овқат ва озиқа оксили таркибидаги оксилларда алмашинмайдиган аминокислоталарни меъёрий (мўътадил) миқдори кўрсатилган. Масалан, агар ФАО йўлланмаси асосидаги оксил таркибини 100% деб қабул қилинса, кўпчилик ҳайвонлар оқили 90-95%; дуккакли ўсимликларни вегетатив органларидан олинадиган оксиллар 80-90%; дуккакли ғалла ва ёғли уруғли ўсимликлар уруғидан, картошкани илдиз мевасидан, сабзавотлардан олинадиган оксиллар 75-85%; бошоқли ўсимликлар уруғидан олинадиган оксиллар 60-70%, маккажўхори уруғидан олинадиган оксил эса атиги 52-58% ташкил қилади.

Ҳар бир инсон кунига овқат билан 60 дан 120 гр гача оксил истеъмол қилиши керак. Қишлоқ хўжалик ҳайвонларини яхши боқиш учун уларни озиқалари 100-120 гр яхши ҳазм бўладиган оксил сақлаши зарур. Агар ҳайвонлар озиқасини ташкил этган ўсимлик таркибида оксил миқдори кам бўлса, бундай озиқани сифати оксил концентратлари қўшиш орқали тузатилади (42-жадвал).

Худди шу йўл билан озиқа оксилидаги алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори ҳам назорат қилинади.

Бу жадвалдан кўриниб турибдики, бошқа ўсимликларга қараганда соя ўсимлиги оксили алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори бўйича бир қатор устунликка эга экан. Бу оксилда фақатгина метионин ва триптофан

миқдори бироз пастроқ. Нўхат оқсили ҳам нисбатан яхши биологик баҳога эга, аммо буғдой, маккажўхори, арпа оқсиллари таркиби ФАО талабларидан анчагина узоқда.

42-жадвал.

Ҳар хил оқсиллар таркибидаги алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори (100 г оқсилда г ҳисобида)

Амино-кислоталар	Сигир сути	ФАО эталони	Соя	Шоли	Буғдой	Макка-жўхори	Арпа	Нўхат
Лизин	6,6	4,2	6,6	3,5	2,6	2,5	3,2	6,5
Триптофан	1,4	1,4	1,3	1,3	1,3	0,6	1,2	0,8
Метионин	2,4	2,2	1,4	2,9	1,7	2,1	1,7	1,4
Треонин	4,6	2,8	3,8	3,5	2,6	3,2	3,9	3,8
Валин	6,9	4,2	5,4	6,5	4,6	4,4	5,4	4,5
Лейцин	9,9	4,8	7,9	8,0	6,9	11,2	7,2	6,5
Изолейцин	6,6	4,2	5,3	4,6	3,4	2,7	3,5	5,0
Фенилаланин	4,9	2,8	5,1	5,2	4,3	4,1	5,1	4,8

Соя уруғидан олинадиган оқсилни аминокислота таркиби ФАО талабларига энг яқин бўлганлиги ҳамда соя уруғида оқсил миқдори 35-40% га тенг эканлиги учун бу ўсимлик озиқ-овқат ҳамда озиқа оқсили манбаи сифатида кенг ишлатилади. Дунёда сояни энг кўп экадиган мамлакат АҚШ ҳисобланади. Ўзбекистонда ҳам бу ўсимликни ўстириш зарурлиги муҳокама қилиниб, Андижон вилоятида уни экиш бошлаб юборилган. Аммо, бу ўсимликдан юқори ҳосил олиш учун уни агротехникасини ва бошқа бир қатор муаммоларни ечишга тўғри келади.

Дунёни кўпгина илмий лабораторияларида арпа уруғи оқсиллини ошириш, уни таркибидаги аминокислоталарни балансга келтириш йўлида селекция–генетика ишлари амалга оширилмоқда. Арпани донидан олинадиган оқсил таркибида лизин аминокислотаси кўп бўлган нав билан чатиштириш асосида янги навлар яратилган. Шунингдек, буғдой дони бўйича ҳам шунга ўхшаган ишлар амалга оширилмоқда. Бундай ишлар мамлакатимиз қишлоқ ва сув хўжалигига қарашли бир қатор илмий лабораторияларда ҳам олиб борилмоқда. Биотехнология, молекуляр биология фанлари ютуқларидан фойдаланиб, ген ва ҳужайра муҳандислиги усуллари асосида ўсимликларни қимматбаҳо генотипларини яратишга алоҳида эътибор берилмоқда.

Ҳайвонлар учун озиқа тайёрлашда асосан бошоқли ўсимликлардан фойдаланилади. Шунингдек, бу мақсадда балиқ уни, суяк уни, гўшт ва сут саноати қолдиқларидан ёғ-мой комбинати кунжараларидан ҳам кенг фойдаланилади.

Балиқ ва суяк унлари ҳамда ҳайвонларни бошқа чиқиндилари озиқа оқсили учун ишлатилаётганликлари учун, охириги вақтда уларни ҳар томонлама, тўла қонли алмаштираоладиган янги манбалар топиш йўлида илмий изланишлар тобора кучайиб бормоқда. Ҳар хил организмларни

таққослаб ўрганиш оқибатида, кўпгина микроорганизмлардан фойдаланиш ҳам мумкин эканлиги аниқланди.

Махсус тажрибалар асосида микроб оқсиллини озиқавий ҳамда токсикологик хусусиятлари ўрганиб чиқилди ва натижада баъзи – бир микроорганизмлар оқсиллари биологик хусусиятлари бўйича ҳайвон ёки ўсимликдан олинадиган оқсиллардан паст эмаслиги исботланди (43-жадвал).

43-жадвал.

**Баъзи бир микроорганизмлар оқсилларида алмашинмайдиган
аминокислоталар миқдори (100 г оқсилга ҳисобида)**

Аминокислоталар	Ачиткилар	Бактериялар	Сув ўтлари	Замбуруғлар	Соя кунжараси	ФАО эталони
Лизин	6-8	6-7	5-10	3-7	6,4	4,2
Триптофан	1-1,5	1-1,4	0,3-2,1	1,4-2	1,4	1,4
Метионин	1-3	2-3	1,4-2,5	2-3	1,3	2,9
Треонин	4-6	4-5	3-6	3-6	4,0	2,8
Валин	5-7	4-6	5-7	5-7	5,3	4,2
Лейцин	6-9	5-11	6-10	6-9	7,7	4,8
Изолейцин	4-6	5-7	3,5-7	3-6	5,3	4,2
Фенилаланин	3-5	3-4	3-5	3-6	5,0	2,8

Микроорганизмларни яна бир устуворлик томони бор, у ҳам бўлса тез оқсил масса ҳосил қилиш хусусиятидир. Масалан, 500кг оғирликдаги соя пишиб-етилиш фазасида бир суткада 40 кг гача оқсил тўплай олса, шундай оғирдикдаги буқа атиги 0,5-1,5кг, ачитки замбуруғининг 500кг биомассаси эса 1,5т оқсил тўплаш имкониятига эга. Озиқа оқсили манбаи сифатида кўпроқ ачитки замбуруғлари ва бактериялар, микроскопик замбуруғлар, бир хужайрали сув ўтлари, ўтли ўсимликларни оқсил қисми ишлатилади.

Микроорганизмлар озиқа оқсили манбаи сифатида ўсимлик ҳатто ҳайвон организмларига нисбатан бир қатор устунликга эга эканлиги аниқланган. Энг аввало микроорганизмларда оқсил миқдори жуда ҳам баланд (60% гача қуруқ масса ҳисобида). Оқсил билан бирга микроорганизмлар бир қатор бошқа энг муҳим моддалар, яъни осон сырилувчи карбон сувлар, тўйинмаган ёғ кислоталарини кўпроқ сақловчи ёғ моддалари, витаминлар, синтез қилиш ҳамда микро-, макроэлементлар тўплаш хусусиятига эгадир. Микроорганизмлар асосида унча катта бўлмаган майдонда саноат ишлаб-чиқариш базасини ташкил этиб, катта ҳажмда озиқа концентратлари олиш мумкин. Энг аввало, бундай технология қишлоқ хўжалиги ёки саноат чиқиндилари асосида ташкил қилиниб, фасл ёки об-ҳавога боғлиқлик жойи йўқ.

17.2. ОЗИҚА АЧИТҚИЛАРИ

Ачитки замбуруғлар инсон ва ҳайвонлар учун ишлатиладиган оқсил манбаи сифатида биринчи маротаба Германияда, биринчи жаҳон уруши

даврида ишлатилган. Ўшанда пиво ачитқилари (*Saccharomyces cerevisiae*) ўстиришни саноат технологияси яратилган бўлиб, олинган маҳсулот озиқа маҳсулотлари таркибига киритилган эди. Собиқ иттифокда бу технология 1935 йилда ишга туширилган. Ачитқилар дарахтларни ва бошқа целлюлоза сақловчи моддаларни кислотали гидролизатларида ўстирилган. Иккинчи жаҳон уруши вақтида шундай заводларни бири Янги йўл шаҳри яқинига (ҳозир шаҳарга тутшиб кетган) кўчириб келинган эди. Кислотали гидролиз оқибатида целлюлоза сақловчи полимерлар, майда шакар мономерларгача парчаланадилар, улар эса ўз навбатида ачитқилар учун жуда яхши озиқа муҳити ҳисобланади. Шу мақсадда сомон, пахта шелухаси, кунгабоқар боши, зиғир пояси, маккажўхори пояси, спирт бардаси, ғўзапоядан ва бошқа целлюлоза сақловчи моддалардан фойдаланиш мумкин.

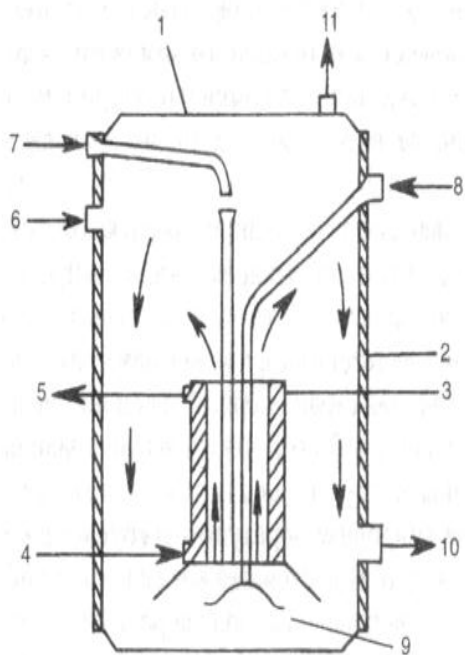
Майдаланган катта миқдорда клетчатка, гемицеллюлозалар, пентозанлар, сақловчи ўсимлик маҳсулотлари юқори ҳарорат ва босимда кислоталар ёрдамида парчаланadi, оқибатда 60-65% полисахаридлар моносакхаридларга айланади. Олинган гидролизат лигниндан ажратилади, гидролиздан ортиб қолган кислота қолдиғи аммиак суви ёки бошқа ишқор ёрдамида нейтраллаштирилади. Бироз тиндирилиб, совутилган гидролизатга минерал тузлар, витаминлар ва бошқа моддалар солинади ва ферментёрлар цехига ўтказилади ва ачитқилар экиб, ўстирилади. Ўсимлик чиқиндилари гидролизатларида ўстириш учун *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces* ачитқилари мос келиб, улар гексоза, пентоза, органик кислоталарда (гидролиз натижасида ҳосил бўлган) яхши ўсиб ривожланадилар. Мўътадил шароитда 1 т. дарахт чиқинсидан 200 кг гача озиқа ачитқиси тайёрлаш мумкин.

Озиқа ачитқи тайёрлаш учун, уларни суюқ муҳитда махсус устқурмаларда (уларни ферментёрлар деб ҳам юритилади) (47-чизма) ўстирилади. Ферментёрларда озиқа муҳитини доимий равишда аралаштириб туриш ҳамда аэрация учун мўътадил шароит яратилган бўлади.

Белгиланган иссиқликни бир меъёрда ушлаб туриш учун ферментёр чизмасида ортиқча иссиқликни чиқариб турадиган жой мўлжалланган. Ачитқиларни ўсиш даври тахминан 20 соат давом этади. Аммо, уларни ярим узлуксиз усулда ўстириш технологияси ҳам яратилган. Бу усулга асосан ҳар 6-8 соатда ферментёрда ўстирилган ачитқини 3/4 қисми қуйиб олинади ва қолганини устига стерилланиб, совутилган озиқа муҳити юборилади ва шу ҳолда бир неча ҳафталаб, ҳаттоки ойлаб ферментёрни тўхтатмасдан маҳсулот олиш мумкин бўлади.

Ферментёрдан чиқариб олинган ачитқи суспензияси махсус насослар орқали флотация (ажратадиган) қиладиган устқурмага юборилади ва у жойда ачитқи биомассаси ўстирувчи муҳитдан ажратилади. Бу жараён давомида ачитқи ҳужайралари кўпик билан бирга тепага кўтарилади ва суюқликдан декантация йўли билан ажратиб олинади. Бироз тиндириб

қўйилгандан кейин ачитқи массаси сепаратор ёрдамида яна ҳам қўйилтирилади. Ачитқиларни ҳайвон организмда яхши сўрилиши учун (ҳазм бўлиши учун), уларга махсус ишлов берилади (механик, ультратовуш, иссиқлик, ферментатив лизис ва ҳ.к) ва ҳужайра қобиғини бир текис ёрилишига олиб келинади. Кейин ачитқи массаси кераклича сувсизлантирилади ва қурилади. Тайёр маҳсулотда намлик 8-10% дан ошмаслиги керак. қуруқ ачитқи массасида 40-60% оксил, 25-30% ҳазм бўладиган карбон сувлар, 3-5% ёғ, 6-7% клетчатка ва кул моддалари, катта миқдорда (50 мг% гача) витаминлар бўлади.



47-чизма. Ачитқи замбуруғини сууқ муҳитда ўстириш учун ферментёр

1-Ферментер корпуси (танаси); 2-совутадиған қават; 3-иссиқлик алмаштирувчи; 4-совуқ сувни иссиқлик алмаштирувчига юборадиған жой; 5-иссиқликни иссиқ алмаштирувчидан чиқадиған жой; 6-экиладиған микроорганизм тушадиған жой; 7-сууқ озуқа муҳитини қуядиған жой; 8-аэрация ва озуқа муҳитини аралаштириш учун ҳаво юбориладиған жой; 9-Ҳаво йўналишини иссиқ алмаштирувчига бошқарадиған идиш; 10-ферментациядан кейин ачитқиларни қуйиб оладиған жой; 11-тозалаш фильтри орқали ҳавони атмосферага чиқадиған жойи.

Ачитқиларга ультрабинафша нурлари таъсир этиш орқали уларда Витамин Д₂ миқдорини ошириш усули яратилған. Д₂ витамини ультрабинафша нурлар таъсирида ачитқиларда кўп миқдорда бор бўлған эргостеринлардан пайдо бўлади. Тайёр маҳсулотни физикавий хусусиятларини яхшилаш мақсадида уларни гранулалар ҳолатида ишлаб чиқилади. Юқоридагиларни хулосаси сифатида ачитқи тайёрлаш технологиясини қўйидагича изоҳлаш мумкин:

Экув материали → ферментёр → флотация → сепарация → ҳужайраларни парчалаш → қуришиш → грануляция қилиш.

Ферментация йўли билан ўсимлик чиқиндилари гидролизатларидан ачитқидан ташқари спирт олиш ҳам мумкин. Бу ҳолатда, биотехнологиянинг ўзига хос томони шундан иборатки, гидролиз жараёнида ҳосил бўлған гексозалар энг аввал спиртли бижғиш йўли билан спиртга айлантирилади. Ҳосил бўлған спиртни ҳайдаб олингандан кейин таркибида пентозалар сақловчи, ишлатилмай қолған субстрат – барда қолади. Мана шу спиртдан кейин қолған барда ачитқи замбуруғлар ўсиб, ривожланиши учун яхши озика муҳити ҳисобланади. Шундай қилиб

ўсимлик қолдиқлари гидролизатларидан бир вақтни ўзида икки хил энг керакли маҳсулот тайёрлаш мумкин.

Россияда ва бошқа бир қатор нефт қазиб олувчи мамлакатларда озиқа ачитқисини н-парафинлар (нефт таркибидаги) дан тайёрлаш технологияси яратилган ва ишлаб-чиқаришга жорий қилинган. Ачитқи хужайралари ўзларини ўсиб, ривожланишлари учун ягона углевод манбаи сифатида таркибида ўндан ўттизтагача углевод сақловчи карбон сувларни ишлатишлари мумкин. Бу моддалар суюқ фракцияда тўпланган бўлиб, уларни қайнаш ҳарорати 200-320⁰С ташкил этади ва нефтдан ҳайдаш орқали ажратиб олинади.

Ачитқи замбуруғлар ўстириш учун ишлатиладиган нефт углеводородларини тозаланган фракцияси уч йўл билан олиниши мумкин: паст ҳароратда кристаллизация қилиш, карбамид ёрдамида парафинсизлаштириш ва молекуляр элакларда адсорбция қилиш.

- Биринчи йўл - *орқали углеводородлар олиш учун юқори ҳароратда қайнайдингган фракцияни органик эритувчиларда эритиб олгандан кейин доимий совитиш орқали кристаллизация қилинади. Кристаллизация қилиш орқали тозаланган фракция ачитқилар учун озиқа муҳити сифатида ишлатилади.*
- Иккинчи йўл - *нефт н-парафинларини карбомид билан мустаҳкам комплекс ҳосил қилишига асосланган бўлиб, бундай комплекс бошқа фракциялардан ажратилгандан кейин, секин қиздирилганда парчаланиб кетади ва қайта ҳайдаш орқали углеводородларни карбомиддан ажратиб олинади.*
- Учинчи йўл - *нефт таркибидаги углеводородларни керакли фракциясини молекуляр элакларга (цеолитларга) адсорбция қилинади ва ундан кейин десорбция қилиш орқали тозаланган н-парафинлар олинади.*

Бу технология нефт нархи билан боғлиқ бўлиб, нефтни нархи қиммат мамлакатларда ишлатилмайди. Россияда бундай завод 1971 йилда қуриб, ишга туширилган.

Микроорганизмларни нефтни н-парафинларида ўстирилганда, озиқа муҳитига микро- макроэлементлар, витаминлар ва аминокислоталар, азот манбаи сифатида эса аммиак суви қўшилади. Ачитқиларни ферментёрларда ўстириш жараёнида ҳароратни ҳамда аэрацияни бир меъёрга ушлаб туриш зарур. Нефт н-парафинларида ўстирилганда энг самарали натижалар берган ачитқилар *Candida guilliermondii* ҳисобланади.

Ачитқи массасини ажратиб олиш, уни қуритиш гидролиз йўли билан олинган ачитқилардан деярли фарқ қилмайди. Қуритилган ачитқи замбуруғини массаси грануляция қилиниб, оксил – витамин концентрати (ОВК) сифатида қишлоқ хўжалик ҳайвонларини озиқлантириш мақсадида ишлатилади. ОВК таркибида 50-60% оксил моддаси сақланади. Препарат таркибида қолган карбон сувларни миқдори 0,1% дан ошмаслиги керак.

Хом-ашёдан тўлароқ фойдланиш, ҳамда тайёр маҳсулот таркибидаги углеводородларни миқдорини камайтириш мақсадида ОВК тайёрлашни мукаммаллашган технологияси ишлаб чиқилган. Бу технология икки босқичли ферментация ва қолган н-парафинларни ачитки массасидан бензин билан экстракция қилиш орқали ажратишдан иборат. Бу технология асосида олинган ОВК таркибидаги оқсил 58-65% гача, қолган н-парафинлар миқдори эса 0,05% дан кам бўлади.

Ачитки замбуруғларини ўстириш учун яхши субстрат бўлиб, сутни қайта ишлаш жараёниларида чиқинди сифатида қоладиган зардоб ҳисобланади. 1 т зардобда ўртача 10 кг гача сифатли оқсил моддаси ва 50 кг лактоза шакари сақланади. Бу моддалар микроорганизмлар томонидан осон истеъмол қилинади. Зардоб таркибидаги оқсилни ажратиб олиш учун самарали ультрафилтрация усули ишлаб чиқарилган. Бу усул мембраналар ёрдамида юқори ҳамда кичик молекуляр оғирликга эга бўлган моддаларни маълум босим остида ажратишга мўлжалланган. Бу усул билан ажратиб олинган оқсил қуруқ сут тайёрлашда ёки қўшимча оқсил озиқаси сифатида ишлатилади. Оқсил ажратиб олингандан кейинги суюқ қолдиқ (пермеат-русча номи), таркибида кўп миқдорда шакар моддаси (лактоза) сақлагани учун ачитки замбуруғлари ўстириш мақсадида ишлатилиб, осонгина юқори концентратияли оқсил сақловчи маҳсулотга айланиши мумкин.

Кўпчилик вақтларда зардобдан оксилни ажратмасдан, тўғридан-тўғри ачитки ўстириш учун ишлатилади. Бундай шароитда ўсиш ва ривожланиши учун оқсилга муҳтож бўлган, кўпроқ биомасса тўплайдиган замбуруғ *Torulopsis* дан фойдаланилади. Зардобда ачитки ўстириш жараёнида уч хил оқсил сақловчи маҳсулотлар олинади:

- *бузоқларни боқилишга мўлжалланган сут ўрнини босувчи маҳсулот;*
- *суюқ оқсил маҳсулоти (бу маҳсулот зардобга қараганда 2,5-3,0 маротаба кўпроқ оқсил сақлайди);*
- *қуруқ ёғсизлантирилган сутни ўрнини босувчи, ачитки замбуруғи оқсиллари билан бойитилган маҳсулот.*

Ачитки замбуруғларни ўстириш ягона углерод манбаи сифатида карбонсувлар ва н-парафинлардан ташқари тубан спиртлар – метанол ва этанол ҳам ишлатилади. Бу спиртларни табиий газдан ёки ўсимликлар чиқиндиларидан олиш мумкин. Спиртда ўстирилиб олинган ачитки массаси, таркибида юқори концентрацияда оқсил (58-62% қуруқ модда ҳисобида) сақлаши билан фарқ қилади. Шунингдек, бу массада н-парафинларда ўстирилганларга нисбатан камроқ зарарли моддалар учрайди.

Ачиткиларнинг озиқали хусусиятларини ўрганиш, уларни ҳайвон организмда яхши ҳазм бўлишини (оқсилларни ҳазм бўлиши 80-90%), алмашинмайдиган аминокислоталарни умумий миқдори ФАО эталонига яқинлигини, оқсил таркибидаги лизин, треонин, валин ва лейцин миқдори бўйича эса ФАО эталонидан ҳам баланд туришини кўрсатди. Ачитки

оқсилнинг камчилиги уни таркибидаги метионин ва умуман олтингурут сақловчи аминокислоталар миқдорини камчилигидадир.

Ўсимлик манбаларидан олинган оқсилларга нисбатан ачитқи замбуруғи оқсили таркибида нуклеин кислоталар кўпроқ (4-6%). Бу миқдорда эса, нуклеин кислоталар организмга салбий таъсир кўрсатади. Маълумки, нуклеин кислоталарни гидролизи натижасида кўп миқдорда пурин асослари пайдо бўлади ва улар кейин сийдик кислотасига айланиб, организмда тузлар-тошлар ҳосил қилади ва остеохондроз ҳамда бошқа касалликларга олиб келади. Шунинг учун ҳам ачитқи массаси қишлоқ хўжалик ҳайвонлари озиқаси таркибида 5-10 % ошмаган миқдорда, ачитқи оқсили эса 10-20% миқдорида ишлатилади, холос (умумий оқсилга нисбатан).

Нефт н-парафинларида ўстирилган ачитқи массаси кўплаб миқдорда Д-аминокислоталар, аномал ёғсимон моддалар, ҳар хил токсинлар, канцероген моддалар сақлайди. Булар эса организм учун зарарлидир. Шунинг учун ҳам ачитқи массасини бензин билан тозалаш тавсия этилган.

Ачитқи озиқасини ишлаб-чиқаришни ташкил этишда, атроф-муҳитни зарарлантирмаслик мақсадида жараён давомида ҳосил бўлаётган газсимон ва суюқ чиқиндилардан тозалашни йўлга қўйиш зарур. Шунинг учун ҳам экологик тоза, чиқиндисиз, сувни ёпиқ ҳалқада ишлатишга мослаштирилган технологиялар яратиш устида изланишлар олиб борилмоқда.

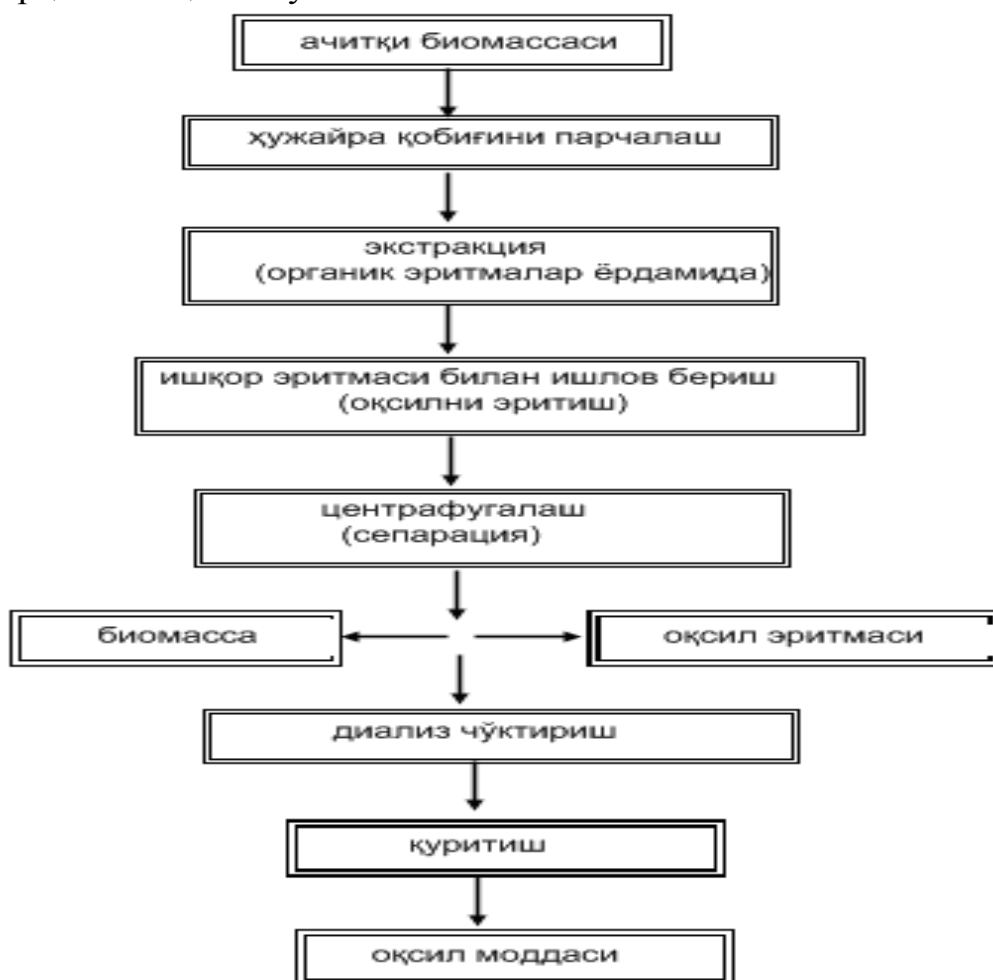
Ишлаб-чиқариш технологиясини мукаммаллаштиришдан ташқари ачитқи замбуруғларини юқори ҳосилдор штаммларини яратиш ҳам катта аҳамиятга эга.

Бундай штамм субстратларда тез ўсиб, ривожланиши, биомассасида кўпроқ оқсил моддаси сақлаши ва юқорида таъкидланган бошқа камчиликлардан мустасно бўлиш керак. Бундай штаммларни яратиш учун оддий селекция ишларидан бошлаб, генмухандислик усулларида ҳам фойдаланилмоқда. Яна бир муаммо, ҳайвон истеъмолига аллақачонлардир кирган бу маҳсулотни инсон учун фойдаланиш йўллари топиш билан боғлиқ. 1930-1940 йилларда баъзи бир мамлакатларда пиво ва бошқа озиқа ачитқиларини (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida arborea*, *Candida utilis*) ўстириш технологиялари яратилиб, олинган маҳсулотлар ҳар хил озиқа маҳсулотларга қўшимча оқсил сифатида ишлатилган.

Озиқ-овқат оқсили олиш учун ачитқи биомассаси астойдил тозаланиши зарур. Бу мақсад учун ачитқиларни хужайра қобиллари ҳар хил йўллар (механика, ишқорий, кислотали ёки ферментлар билан ишлов бериш орқали) билан бузилади ва хужайра ичидаги барча масса органик эритувчилар ёрдамида экстракция қилинади. Органик ва минерал қолдиқлардан тозалангандан кейин ачитқи маҳсулоти таркибидаги оқсилни эритиш мақсадида, унга ишқор эритмаси билан ишлов берилади, кейин оқсил эритмаси қолган ачитқи массасидан ажратилиб, диализга юборилади.

Диализ жараёнида оқсил кичик молекулали қолдиқлардан тозаланади. Кейин оқсил чўктирилади, қуригилади ва олинган оқсил массаси ҳар хил озиқ-овқатга (сосискалар, гўшт ва кондитер маҳсулотлари ва ҳ.к) қўшимча сифатида ишлатилади.

Ачитқилардан инсонлар учун озиқ-овқат оқсили олишни қуйидаги чизма орқали изоҳлаш мумкин:



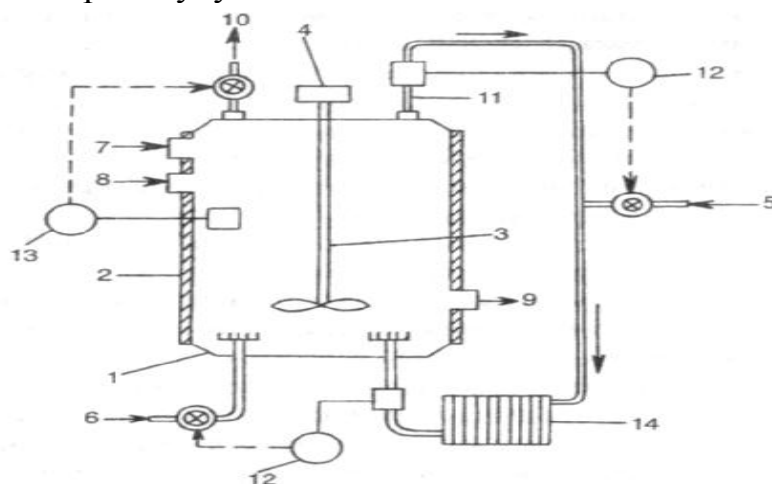
Ачитқи замбуруғларидан олинган оқсил моддалари шунингдек, сунъий гўшт тайёрлашда ҳам ишлатилади. Бунинг учун оқсилга маълум шакл бериш мақсадида уни иситилади ва тез совутилиб, маълум (исталган) шаклдаги тешикчалардан босим остида ўтказилади. Оқсилга таъм бериш мақсадида унга маълум миқдорда полисахаридлар ва бошқа керакли компонентлар қўшилади. Шунингдек, оқсил гидролизатлари тиббиёт учун препаратлар тайёрлаш ҳамда парҳез овқатларга таъм берувчи сифатида ҳам ишлатилади.

17.3. БАКТЕРИЯЛАРДАН ОЛИНАДИГАН ОҚСИЛ КОНЦЕНТРАТЛАРИ

Ачитқилар катори, ҳайвонлар озиқасига қўшиб ишлатиш учун бактериялардан олинадиган оқсил концентратлари ҳам катта аҳамиятга молик. Энг аввало уларни таркибидаги оқсил миқдори 60-80% ни ташкил этишини таъкидлаб ўтмоқ керак.

Тўлақонли озиқа оксили олиш учун манба бўлиб хизмат қилаоладиган 30 дан ортиқ бактериялар маълум. Бактериялар, ачитқиларга нисбатан бир неча баробар тезроқ ва кўпроқ биомасса ҳосил қилиш имкониятига эгалар ва уларни оксилларида олтингугурт сақловчи аминокислоталарни миқдори ҳам анчагина, шу сабабли ҳам бактериялар оксиллари, ачитқи замбуруғлари оксилларига нисбатан кўпроқ биологик баҳога эгалар. Бактериялар ўсиши учун углерод манбаи бўлиб, ҳар хил газсимон моддалар (табiiй газ, газ концентрати ва ҳ.к), тубан спиртлар (метанол, этанол) ва водород хизмат қилишлари мумкин. Субстрат сифатида газсимон маҳсулотлардан фойдаланилганда, асосий компонент бўлиб метан хизмат қилади, шунинг учун ҳам озиқа аралашмалари, босим остида пуркагич типиди ясалган махсус ферментёрларга юборилади (48-чизма).

Субстратни яхшироқ утилизация бўлиши учун бундай ферментёрларга газ аралашмаларини қайта айлантирадиган устқурма (чизмада 11 жой) мўлжалланган. Бактерияларга етарлича кислород етказиб бериш мақсадида махсус тешикчалар (чизмада 6-жой) қилинган. Газли озиқа муҳитида кўпроқ *Methylococcus* авлодига мансуб бактериялар ўстирилади. Бу бактериялар мўътадил шароитда ферментёрга юборилган 85-90 % метанни ҳазм қилиш имкониятига эгалар. Газли озиқа муҳитида бактериялар ўстиришга мўлжалланган устқурмалар муҳит таркибини аниқ назорат қилиш ва мустаҳкам беркитилган, портлашларга хавфсиз қилиб ясалган бўлиши шарт. Ферментация тугагандан кейин бактерия ҳужайралари чўктирилади ва сепараторлар ёрдамида суюқликдан ажратиб олинади. Олинган бактериал массага механик ёки ультра товуш ёрдамида ишлов берилади. Шу йўл билан қобиклари ёрилган масса қуритилиб, озиқа оксил концентратлари тайёрлаш учун ишлатилади.



48-чизма. Газсимон углеводларда микроорганизмлар ўстириш учун ферментёр

1—ферментер корпуси; 2—совутадиған қатлам; 3—аралаштиргич; 4—аралаштиргичнинг бошқарувчиси; 5—газсимон углеводларни узатиш; 6—кислород сақловчи газни узатиш; 7—суюқ озуқа аралашмасини узатиш; 8—экиладиган микроорганизмни узатиш; 9—ферментация тугагандан кейин бактерия суспензиясининг чиқадиган жой; 10—ферментердан газ чиқадиган жой; 11—газлар аралашмасини қайта циркуляция учун чиқадиган жой; 12—бошқарув устқурмасига хабар берадиган газ аниқлагич; 13—ферментер ичидаги босимни бошқарувчиси; 14—карбонат ангидрид газини ўшлаб қолувчи ўсқуна.

Метан ва ҳаводан иборат бўлган газ муҳити ёнғинга ўта хавфли бўлганлиги, ҳамда бактериялар томонидан метанни тўлиғича парчалаш учун жараёни бир неча бор қайтариш зарурлиги сабабли газсимон моддалардан озик-овқат оксили тайёрлаш ўта мураккаб ва қимматбаҳо технология ҳисобланади. Метандан оксидлаш орқали олиш мумкин бўлган метанол асосида оксил тайёрлаш технологияси кўпроқ ишлатилади. Метанол сақловчи озиқа муҳитида ўстириш учун *Methylobacter*, *Pseudomonas*, *Methylobacter* авлодларига кирувчи бактериялар ишлатилади. Бу бактерияларни суяқ озиқа муҳитида, оддий ферментларда ўстирилади.

Метанол асосида озиқа оксили тайёрлашни кенг миқёсидаги технологияси дастлаб Англияда ишлатилган. «Ай-Си-Ай» концерни томонидан «Прутин» номи билан озиқа оксил препарати ишлаб чиқарилади. Россияда эса, метанол асосида «Меприн» номли бактериал оксил массаси ишлаб чиқарилади. Бу препарат таркибида 70-74% оксил, 5% гача ёғсимон моддалар, 10% атрофида минерал моддалар, 10-13% нуклеин кислоталари сақлайди.

Россияда шунингдек, *Acinetobacter* авлодига мансуб бактерияларни этанолли озиқа муҳитида ўстириш орқали «Эприн» номи билан янги препарат ишлаб чиқариш йўлга қўйилмоқда. Келажакда бу препаратни озик-овқат таркибида ҳам ишлатиш мўлжалланмоқда.

Оксил моддаларни синтез қилиш самарадорлиги бўйича водород оксидлайдиган бактерияларга етадигани йўқ. Бу бактерияларни ҳужайраларида 80% гача оксил моддалар сақланади (қуруқ модда ҳисобидан). Бу бактериялар карбонат ангидридни баъзи штаммлари эса ҳаттоки, ҳаводаги азотни утилизация қилиш учун водородни оксидланиш энергиясидан фойдаланадилар. Водород оксидлайдиган бактерияларни ўстириш учун газсимон озиқа, одатда 70-80% водород, 20-30% кислород ва 3-5% карбонат ангидрид сақлайди. Бундай таркибдаги озиқа муҳитида ўстирилганда, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Corenebacterium* ва бошқа авлодга мансуб бактериялар юқори самарадорликга эга бўладилар.

Оксил массаси ишлаб-чиқариш учун керак бўлган водород одатда сувдан, уни электролиз ёки фотохимёвий парчалаш орқали олинади. Карбонат ангидрид қандайдир саноат ишлаб-чиқаришини газсимон чиқиндиларидан ёки ёқилғи газлардан олиниши мумкин, бундай ҳолларда бир йўла газли муҳитни тозалаш муаммоси ҳам ечилади.

Водород оксидловчи бактериялар асосида оксил тайёрлаш технологияси, қўшимча маҳсулот сифатида водород ҳосил қилувчи кимё саноати корхоналарига яқин жойда ташкил этилиши ҳам мумкин.

Одатда озиқа оксили ҳайвон озиқасига 2,5-7,5%, чўчқаларга баъзан 15% гача қўшиб ишлатилади. Улардан кўпроқ миқдорда фойдаланишга тўсқинлик қилиб келаётган муаммо бу оксил препаратлари таркибидаги нуклеин кислотаси миқдорини ўта баландлигидир (10-25% гача). Бундан

ташқари бактериал массада кўплаб фойдали моддалар қатори, қийин сўриладиган ёғсимон моддалар (липидлар) ҳам синтез бўлишидир.

Бактериал оксил препаратларини ажратиш методларини қийинлиги ва уларни баҳоларини баландлиги ҳам бу препаратлардан кенгрок фойдаланишга салбий таъсир кўрсатиб келмоқда.

17.4. СУВ ЎТЛАРИДАН ОЛИНАДИГАН ОЗИҚА ОКСИЛЛАРИ

Дунёни кўплаб мамлакатларида бир хужайрали сув ўтлари: *Chlorella* ва *Scenedesmus* шунингдек, *Spirulina* авлодига мансуб кўк-яшил сув ўтлардан озиқа оксили тайёрлаш йўлга қўйилган. Бу ўсимликлар қуёш нури энергиясидан фойдаланиб, карбонат ангидрид, сув ва минерал моддалардан оксил ва бошқа органик моддалар синтез қиладилар. Уларни ўстириш учун кўп миқдорда сув. Керакли миқдорда ёруғлик ва ҳарорат бўлса кифоя.

Иссиқ, жанубий минтақаларда сув ўтларини очик хавзаларда ўстириш йўлга қўйилган бўлсада, ёпик, яримстерил ҳолатда ўстириш юқори сифатли оксил моддалари ва бошқа органик моддалар ишлаб чиқариш имкониятини яратади.

Хлорелла ва сценедемус авлодларига мансуб сув ўтлар ўзларини ўсишлари учун нейтрал муҳитни талаб қиладилар, уларни хужайра қобиклари мустаҳкам целлюлозадан ташкил топганликлари учун ҳам ҳайвон организмда яхши ҳазм бўлмайди. Уларни яхши сўрилишлари учун махсус ишлов беришни талаб қилинади.

Спирулиналар хужайралари хлореллага нисбатан 100 маротаба каттарок, аммо қалин целлюлоза қобиғи бўлмаганлиги учун улар организмда яхши сўриладилар. Спирулиналар ишқорий муҳитда ўстирилади (рН 10-11), табиатда ҳам ишқорий кўлларда ёки хавзаларда кўпроқ тарқалган.

Сув ўтлари биомасса тўплаш тезлиги бўйича ачитқи замбуруғлари ва бактериялардан пастроқ бўлсада, қишлоқ хўжалик ўсимликларидан анча устунликка эга. Очик типдаги махсус ўстиргичларда ўстирилганда 1 гектар майдондан йилига 70 тонна курук биомасса олиш мумкин. Таққослаш учун қуйидаги сонларга эътибор беринг: 1 гектар майдондан 3-4 тонна ғалла; 5 тонна шоли; 6 тонна – соя; 7 тонна маккажўхори олиш мумкин, холос.

Хлорелла ва сценедесмус хужайраларида оксил миқдори (курук массага нисбатан) 45-55%, спирулинада эса 60-65% ташкил этади. Сув ўтларидаги оксил таркибидаги алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори ҳам баланд, фақат метионин камроқ, холос. Сув ўтларида тўйинмаган ёғ кислоталари ҳам кўпроқ синтез бўлади (баъзи бирлари алмашмайдиган ёғ кислоталари сафига киради). Шунингдек, провитамин А–каротин (150 мг% гача), В гуруҳига кирувчи витаминлар кўплаб синтез қилинади. Сув ўтлари таркибидаги каротин миқдори беда унига нисбатан 7-9 маротаба кўпроқ. Бир хужайрали сув ўтларида нуклеин кислоталар

миқдори (4-6%), бактерияларга нисбатан камроқ бўлсада, ўсимликлардан олинадиган оксил таркибидагидан (уларда 1-2%) кўпроқни ташкил этади.

Сув ўтлари хужайраларидан оксил массаси олиш технологияси қуйидаги босқичлардан иборат: махсус танланган штаммни ўстириш (очиқ ёки ёпиқ типдаги ўстиргичларда); сув ўтларини сувдан ажратиш (сепарация); суспензия ҳолатидаги маҳсулот олиш; пастасимон ёки куруқ кукун ҳолатидаги маҳсулот тайёрлаш. Сув ўтлари хужайраларини сувдан ажратиш, кўп миқдорда энергия талаб қилаётган жараёндир. Чунки, сувни миқдори жуда ҳам кўп, куруқ моддалар миқдори эса жуда ҳам кам.

Сув ўтларини ўстириш ёпиқ ва очиқ усулда амалга оширилади. Ёпиқ усулда ўстириш тўлиқ бошқарилсада, ўстириш технологияси мураккаб ва уни таннархи юқоридир. Очиқ усулда ўстириш ярим бошқарилади ва ўстириш технологияси оддий, таннарихи эса анча арзон.

Дунёни бир қанча мамлакатларида (Япония, Исроил, Болгария, Мексика, Туркманистон, Ўзбекистон ва ҳ.к.) сув ўтларини очиқ усулда ўстириш технологияси яратилган. Улар бир-бирларига ўхшаш бўлганликлари сабабли, Ўзбекистон фанлар академиясининг академиги, профессор Аҳрор Музаффарович Музаффаров томонидан яратилган устқурмага диккатингизни тортишни маъқул кўрдик:

Сув ўтлари ўстириш устқурмасини узунлиги 10 метр, эни 2 метр, чуқурлиги 30 смли охур (лоток) шаклидаги, ўзидан сув ўтказиб юбормайдиган устқурмада 15 см чуқурликда 3 тонна хлорелла суспензияси етиштириш мумкин. Бунинг учун устқурмага 3 тонна сувга 600 г аммонийни сульфатли тузи, 90 г калий дигидрофосфат, 240 г магнийни сульфатли тузи, 300 г натрий гидрокарбонат ва 3-5 хил микро элементлар қўшиб эритилади ва унга 30 л 1—15 кун давомида ўстирилган хлорелла суспензияси қуйилиб, сувни махсус насос ёрдамида аралаштириб турилади.

Ўстириш давомида карбонат ангидрид (CO_2) - махсус балонларда минутига 0,1-0,2 л миқдорда ротометр орқали ўлчаб юбориб турилади. Ўзбекистон шароитида табиий қуёш ёруғлиги етарли бўлиб, ҳарорат 16 дан 39⁰С орасида бўлиши мақсадга мувофиқдир. Орадан 9-10 кун ўтгач (ёз кунлари 6-7 кунда) 1 л озика муҳитида 1,5-3,0 грамгача хлорелла хужайралари сақлаган суспензия етилиб тайёр бўлади. Хлореллани қиш фаслида ҳам ўстириб, фойдаланишга эҳтиёж бўлганда, дастгоҳни устини ойна ёки полиэтилен пленкаси билан ёпиш kifоя.

Тайёр суспензиядан бузоқларни озиклантиришда фойдаланиш мумкин. Битта бузоққа бир суткада 3-6 л, катта ёшли ҳайвонларга эса 8-10л суспензия бериш тавсия этилган. Ковуш қайтарадиган ҳайвонларда 50% ўсимлик оксилани хлорелла оксилани билан алмаштириш мумкинлиги исботланган.

Сув ўтларини оқава сувларда ўстириш катта аҳамиятга эга. Масалан, сценедесмус ёки хлореллани чорвачилик комплекси оқава сувларда ўстирилганда 15 кун давомида, ифлос оқава сувларни органик моддалардан

бутунлай тозалаш мумкин, бунда сувни ранги ўзгариб, ҳиди йўқолади. Сув ўтларини саноат оқава сувларида ёки иссиқлик берувчи станцияларни оқава сувларида ўстирилганда ортиб қолган иссиқлик ҳамда технологик жараёнда ёки ҳар хил чиқиндиларни ёкишдан пайдо бўлган карбонат ангидриди ишлатилади, оқибатда эса қўшимча биомасса олинади.

Хлорелла ўстириш бўйича энг йирик компания – «Хлорелла Сан Компани» Японияда ташкил этилган. Болгарияни иссиқ сув табиий манбаларида хлорелла ва сценедесмус ўстириш усуллари яратилган. Шу мамлакат олимлари томонидан қобиғида целлюлоза сақламайдиган хлорелла штаммлари яратилган, бу эса олинган биомассани ҳайвон организмда тез ҳазм бўлишини таъминлайди.

Спирулина марказий Африка ва Мексикани ишқорий табиатли сув сақлаган кўлларида кўплаб экилиб, биомасса тўплайди. Спирулина биомассасидан оксил ва бошқа маҳсулотлар ишлаб чиқарадиган энг йирик компания Мексикани «Соса Текскоко» фирмасидир. Италияда денгиз сувларида спирулина экиб, ўстириш ҳамда ёпиқ типдаги ўстиргичларда биомасса олиш устида илмий изланишлар давом эттирилмоқда.

Спирулина сув ўтининг биомассаси ошқозон ферментлари томонидан яхши парчаланиши ҳамда ундаги оксил миқдори жуда ҳам баланд бўлиб (70% гача), организм учун зарур бўлган аминокислоталарга бой бўлганлиги сабабли, у оксилга бой бўлган кондитер таомлар тайёрлаш учун ишлатилади. Спирулина сервитамин ва ноёб ёғ кислоталар манбаи сифатида, таблетка ҳолатида тиббиётда ҳам ишлатилиб келинмоқда.

Саноат шароитида ишлатиладиган сув ўтларини қўшимча оксил манбаи сифатида чорвачиликда ҳамда одамлар овқатланишида мувоффақиятли ишлатилиши дунё олимлари олдида ҳар хил йўналишда яъни: селекция, генетика, биокимё ва бошқа соҳаларда изланишлар олиб боришни бош масалалардан бири қилиб қўйди.

Мақсад янада ҳосилдорроқ, фотосинтезни жадалроқ олиб борадиган, алмашинмайдиган аминокислоталарга бой, совуқроқ шароитда ҳам яхши ўсиб ривожлана оладиган, организмда яхши сўриладиган, витаминларга бой штаммлар яратишдир. Бундай мақсадга албатта ген муҳандислиги усулларсиз етиштиш амру маҳалдир.

Ўзбекистонда сув ўтларидан унумли фойдаланиш бўйича бир қатор ишлар амалга оширилган. Юқорида келтириб ўтилганидек, бу ишларга академик А.М.Музаффаров бошчилик қилганлар. Бугунги кунда домланинг шогирдлари б.ф.д., профессор Х.А.Бердиқулов, б.ф.д., профессор Р.Ш.Шоякубов, б.ф.д., профессор Ж.Қ.Қутлиев ва бошқалар сув ўтлари асосида янги, замонавий биотехнологиялар яратиш йўлида самарали меҳнат қилмоқдалар.

17.5. МИКРОСКОПИК ЗАМБУРУҒЛАРДАН ОЛИНАДИГАН ОЗИҚА ОҚСИЛЛАРИ

Микроскопик замбуруғларни мицелийлари оксил ва алмашинмайдиган аминокислоталарга бой манба ҳисобланадилар. Ўзларини озиқавий хусусиятлари бўйича мицелиал замбуруғлардан олинадиган оксил моддалари, соя ва гўшт оксидига яқин туради, шунинг учун ҳам нафақат чорвачиликда, балки инсон таомларига қўшимча моддалар сифатида хизмат қилаоладилар. Мицелиал замбуруғларни саноат шароитида ўстириш учун озиқа манбаи сифатида одатда лигнин, гемицеллюлоза, клетчатка сақловчи ўсимликлар чиқиндилари ишлатилади.

Бунда бир йўла оксил массасини тайёрлаш ҳамда атроф-муҳитни ифлослаштириш манбаи бўлиб, хизмат қилиши мумкин бўлган ўсимликшунослик ҳамда ёғочга ишлов бериш ва целлюлоза - қоғоз саноати чиқиндиларини утилизация қилишдек икки йирик муаммо ўз ечимини топади.

Айниқса, микрофлора таъсирига чидамли бўлган лигнин молекуласини утилизация қилиш имкониятига эга бўлган фаол штаммлар яратиш катта аҳамиятга эгадир. Табиатда лигнин фақатгина қўнғир ва оқ рангли чиришни амалга оширувчи *Stropharia*, *Pleurotus*, *Abortiporus*, *Coriolus*, *Sterium* ва бошқа авлодларга мансуб бўлган замбуруғлар иштирокида парчаланади холос. Ҳозирги вақтда чуқур изланишлар оқибатида токсин сақламайдиган, захарсиз, тез ўсувчи мезо ва термофил замбуруғларни штаммлари яратилган ва ишлаб-чиқаришга тадбиқ этилган. Бундай штаммлар *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* авлодларига мансуб штаммлардир. Бу замбуруғларни хужайра қобиқлари юпқа бўлиб, ҳайвонларни ошқозон-ичак йўлида осон ва тез парчаланади. Уларни таркибида ўзига ҳос ҳид ва маза берадиган ароматик моддалар, витаминлар ва ёғлар бор.

Ачитқи замбуруғларига қараганда мицелиал замбуруғлар оксиллари олтингугурт сақловчи аминокислоталарга бой, ва яхши ҳазм бўлади. Уларни таркибидаги нуклеин кислоталар миқдори (1-4%) ўсимликларникига яқин. Шунинг билан бирга мицелиал замбуруғлар хужайраларида оксил камроқ синтез бўлади (20-60% қуруқ массада), улар ачитқи замбуруғларига нисбатан секин ривожланадилар ва биомасса ҳосил қиладилар (биомассани икки мартаба кўпайиш даври 4-16 соат, ачитқи замбуруғларида эса 2-3 соат).

Целлюлоза ва лигноцеллюлоза сақловчи чиқиндиларда ўстирилган тубан мицелиал замбуруғларнинг гидролитик ферментлар синтез қилиш хусусияти туфайли лигнин ва целлюлозани оддий моддаларгача парчалаб ташлайдилар ва улардан аминокислоталар ҳамда оксил моддалари ҳосил бўлади. Мицелиал замбуруғларни ўсишини тезлаштириш учун ўсимлик чиқиндиларига дастлабки ишлов бериш (ювиш, иситиш, майдалаш ва ҳ.к) фойдалидир. Кўпроқ ишқорий, кислотали ишлов бериш, юқори босимда

пар билан ишлов бериш, аммиак ёки каустик сода билан ишлов бериш усулларидан фойдаланилади.

Мана шундай ишлов беришлар оқибатида лигнин ва бошқа қийин гидролизланувчи полисахаридлар қисман парчаланадилар, бу эса замбуруғ массасини тезроқ ўсиб, ривожланишини (7-8 сутка) таъминлайди. Ўсимлик маҳсулотларини тайёрланганлигига қараб, микроскопик замбуруғларни ўстиришни тегишли усуллари танланади. Замбуруғларни қаттиқ озиқа муҳитида ўстириш учун қаттиқ фазада ферментация қилиш усули ишлаб чиқилган. Бу усул ўсимлик маҳсулотларини майдалаш, уларга иссиқ пар ёки аммиак суви билан ишлов бериш, уларни минерал моддалар билан тўйинтириш, замбуруғларни экиш ва уларни олдиндан аэрация режимида ва мўътадил ҳароратда ўстириш жараёнларини ўз ичига олади. Аммо, замбуруғларни бундай технология асосида ўстиришда, ўсимлик маҳсулотларини ишлатиш коэффициенти жуда паст бўлганлиги сабабли ҳосил бўладиган оқсил миқдори ҳам унчалик юқори бўлмаслигини олдиндан билса бўлади. Бу технология асосида етиштирилган замбуруғ массасида оқсил 20-30% ни ташкил этади ҳолос. Масалан, тубан мицелиал замбуруғларни тўғридан-тўғри сомонда ёки бошқа ўсимлик чиқиндиларида ўстирилиши ушбу манбалардаги углеродни 17-25% ини замбуруғ мицелийсини органик моддаларига ўтишини таъминлайди ҳолос.

Ўсимлик маҳсулотини ишлатилиш коэффициенти одатда замбуруғларни ҳар хил гидролизатларда ўстирилганда ошади. Маълумки, бунинг учун замбуруғлар суюқ муҳитда махсус ферментёрларда ўстирилади. Бундай шароитда ўстирилган замбуруғ мицелийсида оқсил миқдори 50-60% гача етади. Озиқа муҳитни кўпроқ ишлатиш мақсадида замбуруғлар билан бактерияларни қўшиб ўстириш мумкин.

Ўсимлик чиқиндиларидан ташқари, торф, гўнг ва бошқа ҳайвон чиқиндиларини оқсилга айлантириш усуллари ҳам яратилган. Замбуруғлардан олинадиган оқсил моддаларини ҳайвон организмида енгил сўрилиши, ҳамда уларни таркибига нуклеин кислоталарини нисбатан камлиги, булардан ачитқи оқсиларига нисбатан кўпроқ миқдорда ишлатиш имконини яратади. Одатда ҳайвон болаларини озиқлантиришда озиқа рационига 15-20% замбуруғ оқсили қўшиш тавсия этилган. Ёши катта ҳайвонлар рационига эса 50% гача замбуруғ оқсили қўшиш мумкин.

17.6. ЎСИМЛИКЛАРДАН ОЛИНАДИГАН ОҚСИЛ КОНЦЕНТРАТЛАРИ

Сифатли озиқа ва озиқ-овқат оқсилнинг манбаини топиш мақсадида олимлар азал-азаллардан фақатгина табиий ўсимликлардан овқатланиб келаётган ёввойи ҳайвонларни ҳаётини, уларни овқатланиши ва ривожланишини синчиклаб ўрганиб келганлар. Энг қизиғи шундаки, улар (ёввойи ҳайвонлар) ўз ҳаётлари учун ягона, ҳар йили қайтадан ўсиб чиқадиган ўтлардан фойдаланадилар-у аммо ҳеч қандай алмашинмайдиган

аминокислоталар, ёғ кислоталари ёки витаминларга муҳтожлик сезмайдилар.

Буларнинг барчаси мана шу гиёҳларда-ю, ёввойи ҳайвонлар истеъмол қилаётган ўсимликларда, тирик организмни яхши ривожланиши учун керак моддаларни барчаси муҳайё (оҳуларни тез ҳаракатчанлиги, маймунларни дарахтлардан- дарахтларга сакраши, қолаверса чўлда ялтираб ривожланиб юрган қўй тўдаларни кўз олдингизга келтиринг) эканлигидан дарак беради. Тадқиқотлар ўтларнинг таркибидаги оксил моддаларни синтез тезлиги бир-бирларидан фарқ қилсада, ана шу оксиллар таркибидаги алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори барча ёввойи ўтларда бир-бирига яқин эканлигини кўрсатди (44-жадвал).

44-жадвал.

**Ўтли ўсимликларни вегетатив массасидаги оксилардаги
алмашинмайдиган аминокислоталарни миқдори
(100 г оксил таркибида г ҳисобида)**

Аминокислоталар	ўтли ўсимликлар	ФАО эталони
Валин	5,9 - 6,9	4,2
Изолейцин	4,5 - 5,5	4,2
Лейцин	8,8 - 10,2	4,8
Лизин	5,6 - 7,3	4,2
Метионин	1,6 - 2,6	2,2
Треонин	4,7 - 5,3	2,8
Триптофан	1,2 - 2,3	1,2
Фенилаланин	5,5 - 6,8	2,8

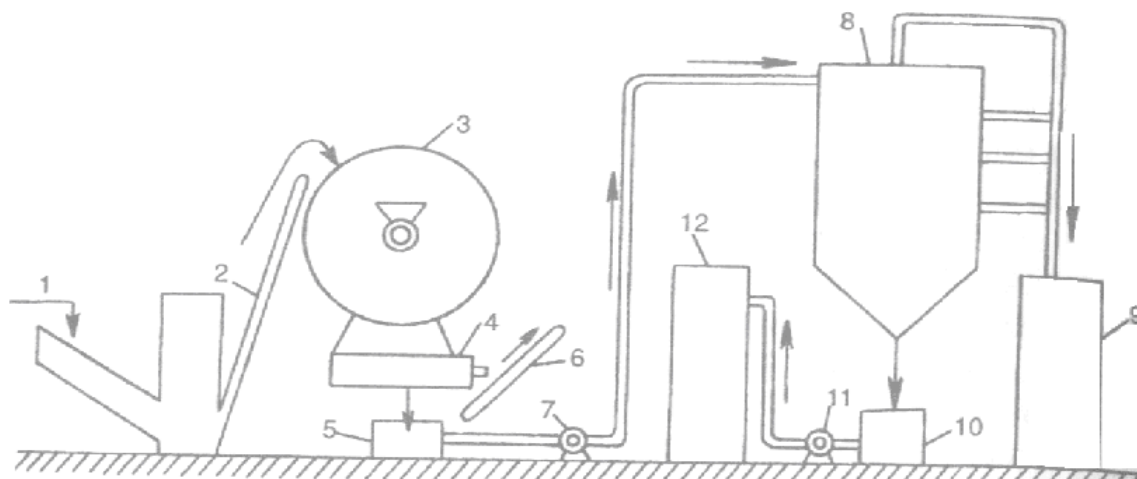
44-жадвалдан кўриниб турибдики, ўтли ўсимликлар таркибидаги аминокислоталар миқдори бўйича ФАО эталонидан ҳам баландроқ бўлиб, фақатгина метионин миқдори биров камроқ экан. Илмий тажрибалар, барча хилма- хил ўтлар орасида дуккакли ўсимликларни яшил озиқа қисми, ўзларини биологик хусусиятлари бўйича бошқалардан устун туришлигини кўрсатди (80-90%). Бу ўсимликларни яшил қисмида ҳам оксил миқдори бошқаларга нисбатан кўпроқ (15-25% куруқ модда ҳисобидан). Энг кўп оксил беда ўтида экан.

Ўтларни вегетатив массасининг оксиллари таркибидаги аминокислоталарни етарлилиги, бу ўсимликларни баргларида ҳам оксил синтези жадал амалга оширилиши ва ниҳоят уларни таркибидаги оксил миқдорини нисбатан баландлиги, яшил ўсимликларни вегетатив массасидан оксил ажратиб олишни самарали технологиясини яратишни тақазо қилади. Дастлаб мана шундай экспериментлар 1773 йилда ўтказилган. Бу тажрибаларда оксил, яшил ўсимликлардан сиқиш (пресслаш) орқали чиқариб олинган. Аммо, кейинроқ ўсимлик шарбатида оксилдан ташқари бир қатор зарарли моддалар: феноллар, оғир металлар, трипсинни ингибитори (трипсин ҳайвон ва инсон ошқозони сокидаги оксил парчаланишида фаол иштирок этувчи фермент), нуклеин кислоталар, алкалоидлар, хлорофилл парчаланишида ҳосил бўладиган моддалар ва ҳ. к. борлигини кўрсатди. Юқорида келтириб ўтилган

моддалар кўпроқ ядрога, хлоропластларда, митохондрияда учраса, цитоплазмада уларни миқдори камроқ. Мана шу натижалардан келиб чиққан холда озиқа ёки озиқ-овқат оксилини цитоплазмадан ажратиш мақсадга мувофиқлиги аён бўлди.

Собиқ иттифокда ўсимлик шарбатидан оксил ажратишни саноат технологияси 1942 йилда ташкил этилган эди. Катта миқдорда провитамин А-каротин сақловчи оксил концентратлари ярадорларни даволашда ишлатилар эди. 1960 йилларни бошларида ўсимлик оксили олиш технологияси яратилиб, ишлаб чиқарилган маҳсулот чорвачиликда қўлланилиш учун тавсия этилган эди.

Бундай устқурмаларни чорвачилиги ривожланган, чорва моллари учун махсус экув майдонига эга бўлган ҳар бир хўжаликда ташкил қилиш мумкин. Оксил концентрацияси тайёрлаш технологияси ўсимлик массасини майдалаш, шарбатини сиқиб чиқариш, шарбатни коагуляция қилиш, коагулятни творогсимон яшил масса ва қўнғир рангли шарбатга ажратиш, оксил витамин пастасини консервация қилишни ўз ичига олади. Шундай устқурмалардан бирини чизмаси 49-чизмада келтирилган.



49-чизма. Ўсимликларни вегетатив массасидан озиқа учун оксил концентрациялари олиш технологиясининг чизмаси

1-яшил масса қабул қилиш жойи; 2-яшил массани майдалашга узатиб берувчи ускуна (транспартор); 3-майдалагич; 4-ўсимлик шарбатини чиқарувчи пресс; 5-шарбат йиғиладиган идиш; 6-жомни чиқариб ташловчи устқурма (транспортёр); 7-шарбатни ферментёрга узатувчи насос; 8-ферментёр коагулятор; 9-ферментёрдан чиққан шарбатни йиғувчи идиш; 10-коагулятни йиғувчи идиш; 11-коагулятни узатувчи насос; 12-коагулятни йиғувчи идиш.

Шундай қилиб, ўсимлик массасига ишлов бериш орқали уч хил озиқа тайёрлаш мумкин: оксил коагулянти (чўкмаси), бундан оксил витамин концентрати тайёрланади: шарбат сиқиб олингандан кейин қолган ўсимлик маҳсулотлари (жом ҳолатида).

Оксил коагулянти - қуруқ масса ҳисобидан 15-22% оксил сақлайди. Одатда бу маҳсулотдан қиш фаслида ҳайвонларни озиқлантириш учун фойдаланилади. Паст ҳароратда, консервантлар қўшилганда бир ой давомида сақланиши мумкин. Ковуш қайтарувчи ҳайвонларга

умумий рациондаги оқсил миқдоридан 50 % миқдорида бу маҳсулотдан бериш тавсия этилган.

Ферментланган қўнғир рангли шарбат – 7-12% қуруқ модда; 1-3% оқсил; 1,0-1,5% органик кислоталар ; 4-5% азот сақламайдиган тез эрувчан моддалар (одатда яхши сўриладиган карбон сувлар йиғиндиси); 1-2% кул моддалари; 40-50 мг% каротин сақлайди. Бу маҳсулот қишлоқ хўжалик ҳайвонларини умумий озиқасига қўшиб берилади. Масалан, чўчқаларни ҳар бирига суткасига 1,5 л дан бериш тавсия этилган. Бундан ташқари бу шарбат асосида ачитқи замбуруғлари оқсили тайёрлаш ҳам мумкин.

Жом – ҳам ҳайвонларни озиқлантириш мақсадида ишлатилиши мумкин. Уни таркибида 12-17% оқсил моддалари; 3-4% ёғ ва ёғсимон моддалар; 8-9% кул моддалари; 35 % клетчатка бор.

Одатда оқсил витамин пастасини тайёрлаш учун беда, йўнғичқа, қанд лавлагиси баргларида фойдаланилади. Қанд лавлагиси баргидан тайёрланган оқсил-витамин пастасини махсус усуллар орқали тозалаб озиқ-овқат учун ҳам ишлатиш мумкинлиги кўрсатиб ўтилган. Ҳозирча ўсимлик массасидан оқсил-ватамин концентратлари тайёрлаш технологияси кўп энергия талаб қилиши ҳамда рентабиллиги пастлиги сабабли кенг қўлланилмасдан турибди.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ.

1. Озуқа оқсили деганда нимани тушунасиз?
2. Ачитқи замбуруғи асосида оқсил олиш технологиясини изоҳлаб беринг?
3. Бактериялардан олинадиган оқсил моддаларини афзаллиги нимада?
4. Сув ўтларидан оқсил тайёрлаш технологиясига ким раҳбарлик қилган?

АДАБИЁТЛАР.

1. Биотехнология: Принципы и применения – перевод с английского. М.: Мир 1988.- 350с.
2. Давранов К. Умумий ва техник микробиология. Тошкент. ТошДАУ босмахонаси – 2004 й. -273с.
3. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. М. Агропромиздат 1991.- 238с.
4. Биотехнология. Отв. Ред. А.А.Баев. М.: Наука, 1984.

18.ТУРЛИ ТАРКИБЛИ ОЗИҚА ПРЕПАРАТЛАРИ ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

18.1. ОҚСИЛ-ВИТАМИНЛИ ПРЕПАРАТЛАР ИШЛАБ ЧИҚАРИШ

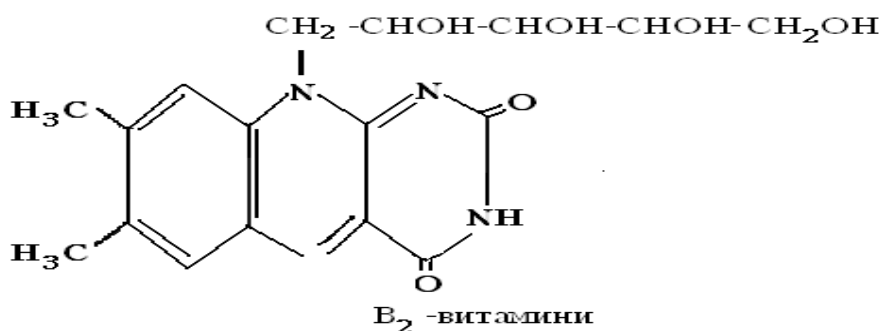
Озиқа маҳсулотларини сифатини, уларни биологик хусусиятларини кўтариш учун муҳим омиллардан бири бўлиб, уларни таркибидаги витаминларни миқдори ва хилма-хиллиги хизмат қилади. Витаминлар турли хил кимёвий тузилишга эга бўлиб, организмни ҳаётий фаолиятини фаол ушлаб туришга хизмат қилади. Витаминларни биологик фаоллиги, уларни фаол гуруҳ сифатида ферментларни катализ марказлари таркибига кириши билан боғлиқ. Шунинг учун ҳам витаминлар миқдори камайганда, тегишли ферментларни фаоллиги пасаяди, оқибатда биокимёвий жараёнлар сусайиб, ишдан чиқа бошлайди. Бу эса витаминлар етишмаслиги билан боғлиқ бўлган ҳар хил касалликларга олиб келади.

Маълумки, инсон ва ҳайвон организми ўзларига керакли бўлган витаминларни синтез қилаолмайдилар, аммо ўсимликлар эса бундай ноёб хусусият эгасидирлар. Улар табиатда топилган барча витаминларни (витамин В₁₂ дан ташқари) синтез қилиш хусусиятига эгадирлар. Микроорганизмлар ҳам кўпгина витаминларни синтез қилаоладилар. Кўриниб турибдики, ўсимлик ва микроб маҳсулотлари инсон ва ҳайвон учун алмаштириб бўлмайдиган витамин манбаи бўлиб хизмат қилар экан.

Организмни витаминга бўлган муҳтожлиги икки йўл билан қондирилади: овқат ва организмдаги микроорганизмларни витамин синтез қилиш хусусиятлари орқали. Бир бўлмали ошқозонли организмлар учун, витаминлар билан таъминлашни асосий йўли озиқ-овқат таркибида истеъмол қилиш ёки соф ҳолдаги витаминларни ёки уларни олд маҳсулотларини (организмда витаминга айланадиган моддалар) қабул қилишдир. Чунки бундай организмларда микрофлора унчалик ривожланмаган бўлади, шу туфайли витаминлар синтези деярли амалга ошмайди. Ковуш қайтарадиган ҳайвонларни ошқозон олди қисмида микрофлорага бой бўлганлиги учун витаминларга бўлган муҳтожликни улар орқали қондириб туради. Қишлоқ хўжалик ҳайвонларини озиқаси асосан ўсимликлардан тайёрланиши, уларни таркибидаги витаминлар (В₁₂) ўсимликларда синтез бўлмаганлигини эътиборга олиб, ҳайвон озиқасига қўшимча қилиб, микроорганизмлардан ажратилган сервитамин маҳсулотлар аралаштириб турилади.

18.2. ВИТАМИН В₂-САҚЛОВЧИ ОЗИҚА ПРЕПАРАТЛАРИ

Витамин В₂—рибофлавин кимёвий табиатига кўра азот асосли 6,7–диметилизааллоксазин, D-рибит спирти қолдиғи сақловчи бирикмадир. Унинг кимёвий тузилиши қуйидагича:



Бу витамин оксидланиш-қайтарилиш ферментлари фаол гуруҳлари флавиномоно-нуклеотид (ФМН) таркибига киради. Шунинг учун ҳам, организмда бу витамин етишмаганда оксидланиш-қайтарилиш жараёнлари сусайиб кетади. Бу витаминни чўчқаларга бериш меъёри 2–7 мг, ҳар бир килограмм қуруқ озиқага қўшиб берилади. Ҳайвонларга озиқа сифатида ишлатилиб келинаётган ўсимлик маҳсулотларида В₂ витаминни миқдори жуда ҳам кам. В₂ витаминини ҳар хил таксомик гуруҳга кирувчи микроорганизмлар – бактериялар, ачитки замбуруғлар, актиномицетлар синтез қиладилар, баъзи- бир штаммлар 1 л культурал суюқликда 1 мг гача В₂ витамини синтез қила олади.

Озиқа рибофлавинни продуценти *Eremothecium ashbyii* ачитки замбуруғини селекция қилиб тайёрланган штамми ҳисобланади. Рибофлавин ачитки хужайраларини вакуолаларида тўплиниб, микроорганизмга ўзига хос бўлган сариқ ранг беради. Катта ҳажмда ишлаб-чиқариш учун алоҳида таркибга эга бўлган суюқ озиқа муҳити тайёрланади, экув материаллари эса махсус ускуналарда (кичикрок ферментёрларда) ўстирилади.

Озиқа муҳити таркибига керакли миқдорда соя уни, маккажўхори экстракти, бўр (СаСО₃), гидрол, шакар, К₂НРО₄, NaCl, ва бошқа макро-, микроэлементлар қўшилади. Ферментёрга юборилишдан олдин озиқа муҳити стерилизация қилинади. Экув материали сифатида *Eremothecium ashbyii* ни пшенода ўстирилган споралари ишлатилади.

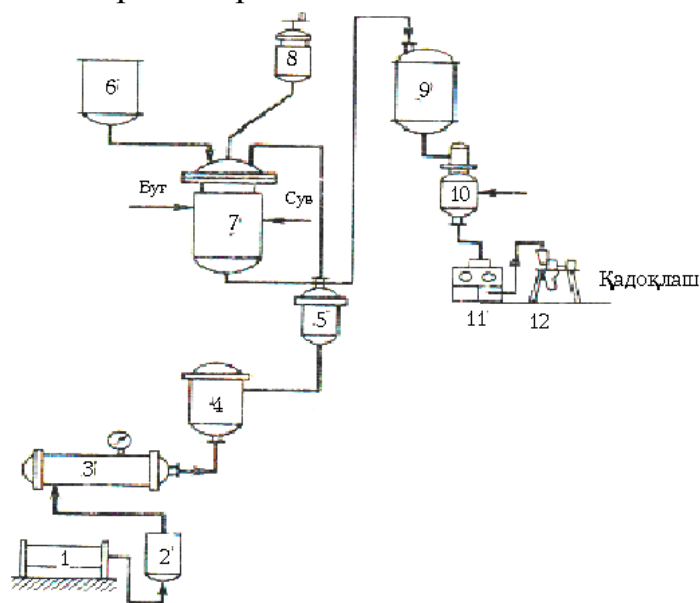
Ювилган пшено бўкиш учун 30-35 минут давомида сут зардобиди ушлаб турилади, кейин қуритилиб, 50-60 граммдан стерилизация қилинган флаконларга солинади. Флаконда пшено уч мартаба стерилизация қилинади ва ундан кейин ачитки замбуруғи сувдаги суспензияси билан экилади ва 7-8 кун давомида 29-30°С инкубацияга қўйилади. Кўрсатилган вақт ошгандан кейин вакуум-қурутгичда секин қуритилиб, суюқ экув материаллари тайёрлашга юборилади.

Рибофлавин олиш учун продуцент 28-30°С да 72 соат давомида ўстирилади. Ҳар 8 соатда микроб хужайраларини, озиқа муҳити таркибини ва ҳосил бўлган витаминни назорат қилиб борилади.

Тайёр культурал суюқлик ферментация охирида, 5% қуруқ модда ва 14 мг/мл рибофлавин сақлаши керак.

Қуритиш жараёнида бу витаминни мўътадиллаштириш мақсадида культурал суюқлик хлорид кислотаси билан рН 4,5-5,0 гача

нордонлаштирилади, ундан кейин вакуум-буғлатгич ускунасида концентрлаштирилади.



50-чизма. *Eremothecium ashbyii* ёрдамида озук олишнинг чизмаси

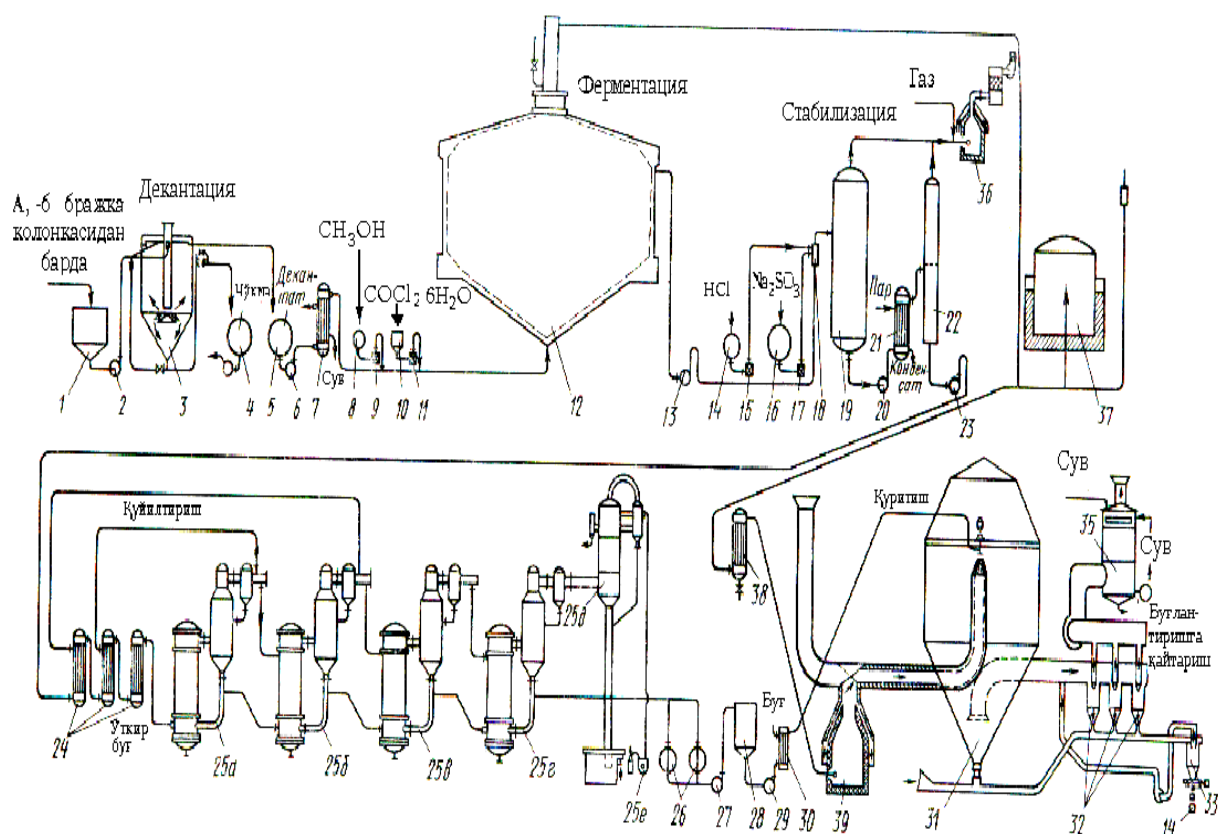
1-ҳаво компрессори; 2-ёғ ажратгич; 3-ресивер; 4-бош фильтр; 5-инокулятор; 6-аралаштиргич; 7-ферментёр; 8-инокулятор; 9-культурал суюқлик йиғиладиган мослама; 10-буғлантириш ускунаси; 11-куритиш ускунаси; 12-майдалагич.

Олинган концентрат одатда, 5,6 мг/мл витамин В₂ ва 20% куруқ модда сақлаган бўлади. Куюлтирилган витамин концентрати пуркаб курутгич ускунасида, намлиги 5-10% қолгунга қадар куритилади. Кейин кепак ва маккажўхори билан аралаштирилиб, 20 граммдан полиэтилен пакетчаларга солиб чиқилади ва бу пакетчаларга қоғоз қопча солиб, тегишли этикеткалар билан жиҳозлантирилади. Тайёр маҳсулотда витаминни миқдори 1% дан кам бўлмаслиги керак. Тайёр маҳсулотни сақлаш даври 1 йил (50-чизма).

18.3. ВИТАМИН В₁₂ САҚЛОВЧИ ОЗИҚА ПРЕПАРАТЛАРИ

В₁₂ витамин таркибида 3 валентли кобальт ва бошқа радикаллар билан алмашаоладиган амин ҳамда циан группаларини сақлайди. Бу витамин қонни яхшилади, аминокислоталар ва азот бирикмалари синтезида қатнашади. Бу витамин ўсимликларда учрамайди ва уни инсон ва ҳайвонга етказиб берадиган ягона манба-бу микроорганизмлардир. Бу витаминни саноат миқёсида ишлаб-чиқариш учун микроорганизмларни махсус танланган биоценози ўстирилади. Бу биоценоз иссиқ метанли бижғиш реакциясини амалга ошириб, таркибида целлюлозани парчаловчи, аммонификация қилувчи, карбонсувларни бижғитувчи, сульфит қайтарувчи ва метан ҳосил қилувчи бактериялар бор. Бу микроорганизмларни ферментациясини биринчи босқичида (10-12 кун давомида) термофил аммонификаторларни ва карбонсувларни бижитувчи микроорганизмларни жадал ривожланиши кузатилади, бу жараён паст нордон шароитда (рН 5,0-7,0) ўтади. Бу биоценозни бошқа гуруҳ қатнашчилари бижғиш ишқорий шароитда (рН 7,0-8,5) ўтганда ривожланади. Бу даврда метан ҳосил қилувчи бактериялар кўпроқ

кузатилади. Улар биоценозни бошқа иштирокчиларига қараганда В₁₂ витаминини 4-5 маротаба кўпроқ синтез қиладилар.



51-чизма. В₁₂-витамини концентратини метан ҳосил қилувчи аралаш культуралар ёрдамида олишнинг технологик чизмаси:

1-барда йиғгич; 2-барда учун насос; 3-барда декантатори; 4-қуйилтирилган бардани йиғгич; 5-барда декантаторини йиғгич; 6-барда декантатори учун насос; 7-барда декантаторини совутиш учун музлатгич; 8-метанолни йиғиш учун улчамли идиш; 9-метанолни меъёрловчи насос; 10-кобальт хлорид эритмасини ўлчовли йиғгич; 11- кобальт хлорид эритмасини меъёрловчи насос; 12-метанли бижғиш учун ферментатор; 13-метанли бражка учун насос; 14-хлорид кислота учун ўлчовли йиғгич; 15-хлорид кислота учун меъёрловчи насос; 16-натрий сульфид эритмаси учун ўлчовли йиғгич; 17-натрий сульфид учун меъёрловчи насос; 18-метанли бражка, хлорид кислота ва натрий сульфидни аралаштиргич; 19-метанли бижғиш шароитида В₁₂ витаминини муътадиллаштириш учун ишлатиладиган реактор; 20-насос; 21-муътадилаштирилган метанли бижғишда пайдо бўлган аралашмани иситгич; 22-метанли бижғишдан чиқадиган газларни ҳайдовчи сепаратор; 23-метанли бижғишдан чиққан аралашмани парлатувчи аппаратга ҳайдовчи насос; 24- метанли бижғишдаги аралашмани иситгич; 25-парлатив қуюлтирувчи; 26-қуйилтирилган аралашмани сақловчи идиш; 27-насос; 28-қуйилтирилган аралашмани сақловчи идиш; 29-насос; 30-иситгич; 31-пуркаб қуритгич; 32-пуркаб қуритувчини ҳалқаонлари; 33-қуруқ концентратлар сақловчи бункер; 34-копларга қадаклаш; 35-газларни витамин порошогдан тозалагич; 36-газларни ёқувчи ускурма; 37-газгльдер (бижғишдан чиқадиган газларни тўпловчи идиш); 38-сувни газдан ажратувчи совутгич; 39-пуркаб қуритгични газ печкаси;

Метан ҳосил қилувчи бактерияларни жадал ривожини учун асосий субстрат бўлиб ёғ кислоталари ва тубан спиртлар ҳисобланади, шунинг учун ҳам бу моддаларни озика муҳити таркибига киритилиши, витамин синтезини кучайтиради.

Озика муҳити тайёрлаш учун одатда ацетон-бутанол ишлаб чиқаришидан қолган бардадан фойдаланилади. Барда тозаланиб, унга кобальт хлорид (4г/м^3) ва 0,5% метанол қўшилади. pH -6,5 гача нордонлаштирилади ва унга 0,20-0,25% сульфит натрий солинади.

Бактерияларни саноат шароитида ўстириш учун дастлаб экув материаллари (250м^3 ҳажмли аппаратларда) тайёрлаб олинади (15-20 кун мобайнида), кейин экув материаллари темир бетондан ясалган ҳажми 4200м^3 бўлган ферментёрларга юборилади, мана шу жойда метанли бижғиш жараёни ўтади. Янги тайёр бўлган барда ферментёр ҳажмидан 25-30% лик миқдорда ҳар куни ферментёрни тагига юбориб турилади. B_{12} витамини сақлаган суспензия ферментёрни тепа қисмидан олиб турилади. Ишчи ҳалқа давомида ферментёрдаги pH , учувчан ёғ кислоталарини миқдори, аммонийли азотни миқдори назорат қилиб турилади ва доимий равишда ҳарорат $55-57^\circ\text{C}$ оралиғида ушлаб турилади. Бижғиш жараёнида 65% метан ва 30% CO_2 дан иборат бўлган газ аралашмаси ҳосил бўлади ва у иссиқлик манбаи сифатида ишлатилиши мумкин.

Ферментация маҳсулоти сифатида ҳосил бўлган тайёр культурал суюқлик, одатда 2,0-2,5% қуруқ модда ва 1,1–1,7 мг/л B_{12} витамини сақлайди. Қуритиш жараёнида витамин парчаланиб кетмаслиги учун культурал суюқлик хлорид ёки фосфор кислотаси ёрдамида вакуумда олиб борилади. Шундай қилиб, тайёрланган культурал суюқлик, газсизлантирилади, вакуум-буғлантиргич устқурмасида қуюлтирилиб, пуркагич - қуритгичлар ёрдамида, 5-10% намлик қолгунча қуритилади (52-чизма).



52-чизма. Озиқа концентрати В₁₂- витаминини ишлаб чиқаришнинг технологик чизмасы

Тайёр маҳсулотни физикавий хусусиятларини яхшилаш мақсадида, кепак ёки маккажўхори уни қўшиб аралаштирилади. 25-30 кг дан полиэтилен қопларга солиб қопланади ва қоғоз қопга солинади. Тайёр озиқа препаратида В₁₂ витамини энг камида 2,5 мг % бўлиши керак, препарат 1 йил мобайнида қуруқ ва салқин жойда сақланади. Россияда чиқадиган препарат КМБ–12 деб юритилади. Бу препаратда шунингдек, В гуруҳига кирувчи бошқа витаминлар ва алмашинмайдиган аминокислоталар ҳам мавжуд.

18.4. ОЗИҚА ЛИПИДЛАРИ

Оқсил, карбонсув ва витаминлардан ташқари қишлоқ хўжалиги ҳайвонлари озиқаларининг ажралмас қисми липидлар ҳисобланади. Липидлар таркибига тўйинмаган ёғ кислоталари кириб улар ҳайвон организмида синтез бўлаолмайдилар, шундай экан организмни меъёрида ўсиб, ривожланишида фаол иштирок этувчи бу моддалар озиқа таркибида бўлишлари керак. Тўйинмаган ёғ кислоталар ҳужайра мембранасини ҳосил бўлишида иштирок этадилар. Улар етишмаганда ҳайвонларни етилиш тезлиги сусаяди, уларни репродуктив хусусияти тўхтайди, организмни инфекцияга бўлган қаршилиги пасаяди.

Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари учун алмашмайдиган ёғ кислоталарини асосий манбаи бўлиб ўсимлик маҳсулотлари хизмат қиладилар. Аммо, ўсимликлардан тайёрланган озиқалар таркибида ёғларни миқдори жуда ҳам кам бўлади, бўлганда ҳам уларни ёғ кислота таркиби номувофиқ бўлиб, озиқани озиқабоплик баҳосини тушуради. Озиқадаги мана шу камчиликларни бартараф қилиш учун алмашмайдиган ёғ кислоталар синтез қилувчи янги манбалар ахтариб топиш, уларни асосида ёғ кислоталари концентратларини тайёрлаш ва ишлатиш биотехнологиянинг асосий вазифалари жумласига киради.

Тажрибалар шуни кўрсатадики, бундай манбалар вазифасини ачитқи ва микроскопик замбуруғлар бажара олар экан. Бундай микроорганизмлар одатда ҳужайра ичида липид сақласаларда, уларни орасида синтез бўлган липид моддаларини ҳужайра атрофига-озиқа муҳитига секреция қилганлари ҳам учраб туради. Микроорганизмларни баъзи-бир штаммларининг ҳужайраларида липидлар миқдори 25% дан 70% гача (қуруқ масса ҳисобидан) боради. Уларнинг 40-90% триацилглицеринлар (ёғлар) бўлса, 5-50% эса фосфолипидлар ташкил этади. Бундан ташқари липидлар таркибида асосан эргостериндан иборат стероид моддалар (1,0-1,5% қуруқ массадан), ҳам сақланади, улар эса ҳайвон организмида D₂ витаминига айланадилар.

Ачитқи ва мицелиал замбуруғларнинг липид компоентларини ёғ кислота таркиби асосан мувофиқ бўлиб, улардан кўпроғини олеин кислотаси (олий ёғ кислоталарни 20-50%), линол (50% гача), линолен (17-19%) кислоталари ҳамда ҳайвон организмида қийин сўриладиган кислоталар (оксикислоталар, тоқ сонли углерод атоми сақлайдиган кислоталар ёки тарқалган занжирли кислоталар) ташкил этади 40-жадвал).

Ачитқи замбуруғларни *Rhodotorula*, *Lipomyces*, *Cryptococcus* авлодига мансуб штаммлари кўп-роқ миқдорда (қуруқ массадан 50-60%) липид сақлайдилар. *Candida* авлодига мансуб микроорганизмлар озроқ (20-40 %) липид сақласаларда, тез ўсиб, ривожланишлари билан ажралиб турадилар. Микроскопик замбуруғлар 40-50% гача олий навли липид синтез қилишлари мумкин. Бу липидларни ёғ кислота таркиби ўсимлик ёғиникига ўхшаб кетади.

**Баъзи бир ўсимлик ёғлари ва микроорганизмлар липидларининг ёғ
кислота таркиби (суммадан % ҳисобида)**

Ёғ манбаи	Кислоталар						
	Мири- стин	Пальми- тин	Пальмито- олеин	Стеарин	Олеи н	Линол	Лино- лен
Олив ёғи	-	10	-	1,0	82	7,0	-
Соя ёғи	0,5	11	-	4,5	22	53	8,0
Кунгабоқар ёғи	0,5	6,5	-	3,5	23	65	0,5
Зиғир ёғи	-	7,0	-	14	18	14	47
<i>Candida Sake</i>	-	2-11	0,3-4	1-4	21-92	4-23	1-17
<i>Candida Scotti</i>	-	0,1-10	0,1-1	1-4	31-49	20-39	0,1-5
<i>Candida lipolitica</i>	-	11-16	6-15	1-6	24-35	31-51	0,1-5
<i>Rhodotorula glutinus</i>	-	10-22	1-4	3-90	25-48	21-49	3-17
<i>Lipomyces lipoterus</i>	-	13-23	1-2	2-3	25-35	39-51	2-3
<i>Blakeslea trispota</i>	0,1-1	16-25	0,1-1	4-13	36-43	11-19	11-12
<i>Rhizopus cohnii</i>	0,1-2	15-33	0,1-3	5-13	34-46	15-22	3-19
<i>Trichoderma harzianum</i>	0,2-7	8-30	0,1-1	3-7	18-37	29-52	0,1-4

Микроорганизмлар ўта фаол гидролитик ферментлар синтез қилганликлари учун, улар углерод манбаи сифатида хилма-хил субстратлардан ўсимлик чиқиндиларини гидролизатлари, спирт саноатини чиқиндиси бўлган барда, сут зардоби, меласса, ғаллани қайта ишлаш муассасаларини чиқиндилари, нефт углеводородлари, паст молекулали спиртлар (метанол, этанол) ва ҳ.к. фойдалана оладилар.

Азот манбаи сифатида эса, озиқа муҳити таркибига ачитқи ёки маккажўхори экстракти, аммоний тузлари, мочевинадан фойдаланадилар ҳамда азот ва углерод муносабатларини ўзлари назорат қилаоладилар, чунки озиқа таркибида азот миқдори кўпайиб кетса, микроорганизм ҳужайраларида липидлар синтези сусаяди ($C:N = 320-400$).

Азот ва углерод мамбаларидан ташқари озиқа муҳити таркибига Р, К, Mg, Zn, Fe, Mn, В гуруҳи витаминлари, токоферол ва бошқалар қўшиладилар. Микроорганизмларни озиқа муҳитида ўстириш жараёнида дастлаб уларни жадал ўсиб, ривожланиши кузатилади ва нисбатан кўп бўлмаган миқдорда липидлар синтез бўлади.

Липидларни синтези микроорганизмлар ўсишининг стационар фазасида кузатилади. Озиқа липиди продуцентларини ўстирилганда паст

ҳароратда липидлар синтези пасаяди. Липидлар таркибида эса тўйинмаган ёғ кислоталар миқдори камайиб кетади.

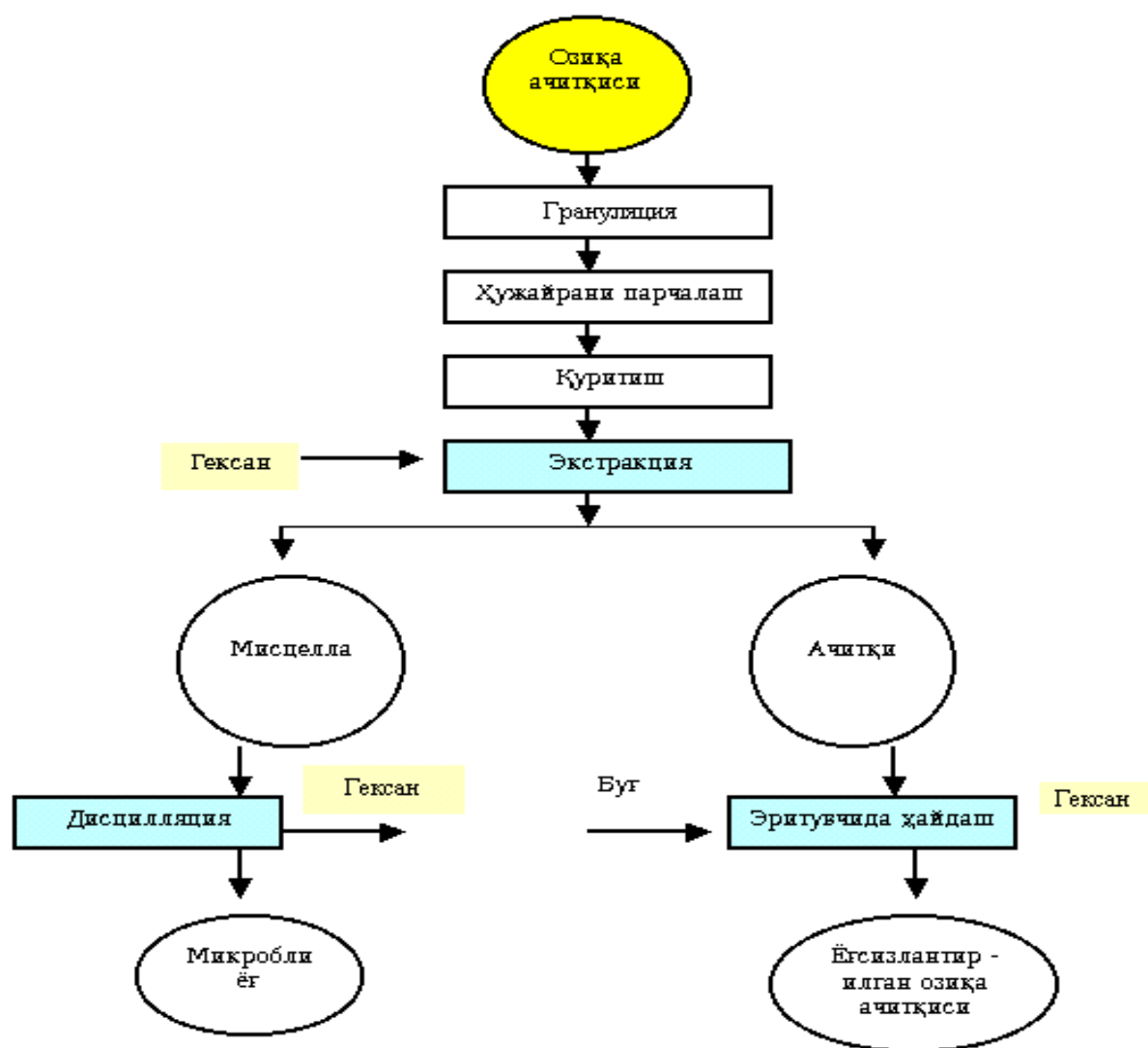
Ферментация жараёнида яхшироқ аэрация бериш тавсия этилади, чунки углеродли субстратларни оксидланиши учун кўпроқ кислород керак бўлади.

Шунингдек, кислород тўйинмаган ёғ кислоталари синтези учун ҳам зарур, шунинг учун ҳам аэрацияни жадал туриши алмашмайдиган ёғ кислоталарини синтезини кучайтиради.

Ферментация тугаганидан кейин, микроб массаси қолган субстратлардан ажратилади ва озиқа ачитқиси тайёрлаш технологиясига ўхшаган шароитда қурилади. Маҳсулотни физикавий хусусиятларини яхшилаш учун унга кепак ёки маккажўхори уни қўшиб аралаштирилади.

Озиқа липиди ишлаб чиқариш билан бир қаторда, микроорганизмларни ферментация қилиш асосида микроб препаратларини комплексини тайёрлаш технологияси ҳам яратилган. Бу технологияга асосан бир вақтни ўзида оқсил, липид, каротиноидлар ва бошқа озиқа моддаларига бой бўлган маҳсулот тайёрланади ва ҳайвонларни асосий озиқасига қўшимча сифатида ишлатилади.

Масалан, паррандаларнинг озиқа рационига *Lipomyces lipoterus* номли ачитқи замбуруғидан олинган, таркибида 18-20% оқсил ва 27-29% липид сақлаган маҳсулотни ҳамда *Blakeslea trispora* замбуруғи биомассасини (таркибида 30% оқсил ва 28% липид сақлаган) қўшиб ишлатилганда жуда катта самара олинган.



53-чизма. Липид олиш технологиясининг чизмаси

Шуни ҳам айтиб ўтиш керакки, микроорганизмлар липидлари нафақат ҳайвон озиқаси сифатида балки ўсимлик ёғларини алмаштирувчи сифатида техник эҳтиёжлар учун (лак-бўёқ, кимё саноати, микробиология саноатида) ҳам ишлатилиши мумкин. Чунки дунёда ишлаб чиқариладиган ўсимлик ёғини қарайиб 20% техник эҳтиёжлар учун сарф бўлади.

Саноат шароитида липид тайёрлашнинг технологик чизмаси 53-чизмада акс эттирилган.

18.5. ФЕРМЕНТЛИ ОЗИҚА ПРЕПАРАТЛАРИ

Замонавий биотехнологиянинг йўналишларидан бири-микроорганизмларни ўстириш асосида фермент препаратлари ишлаб чиқаришдир. Чунки улар қишлоқ хўжалигида ҳайвонларга озиқалар тайёрлашда, озиқаларга қўшимчалар сифатида ва ҳайвонларни баъзи-бир хасталиклардан даволашда ҳам ишлатилиши мумкин (ошқозон-ичак ва паразитар касалликларни олдини олиш ва даволаш мақсадида ферментлардан фойдаланилади).

Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари озиқасини асоси ўсимлик маҳсулотлари, (дон, силос, ҳашак, сомон ва ҳ.к) жуда кўп миқдорда қийин ҳазм бўладиган моддалар – клетчатка, лигнин, гемицеллюлоза сақлайдилар. Ҳатто кавш қайтарувчи ҳайвонларни ошқозон олди қисмида фаол целлюлоза парчалайдиган микроорганизмлар тўпланган бўлишига қарамасдан, клетчаткани 40-65% парчаланаяди холос. Ўсимлик оксиллари ҳам тўлиғича парчаланмайди (60-80%), липидлар (60-70%), крахмал ва полифруктозидлар (70-80%), пектин моддалар ҳам кам миқдорда парчаланаядилар, холос.

Ўсимликлардан тайёрланган озиқани организмда сўрилишини ва ишлатиш самарадорлигини ошириш мақсадида, қишлоқ хўжалик ҳайвонлари озиқа рационларига 0,1-1,5% ҳисобидан микроорганизмлардан олинган гидролитик ферментлар препаратлари аралаштириб ишлатилади. Микроб фермент препаратлари одатда бактериялардан ёки микроскопик замбуруғлардан олинади. Бактерияларни баъзи бир турлари (масалан, *Bac.subtillis*) гидролитик ферментларни озиқа муҳитига чиқарадилар (секреция), шунинг учун ҳам уларни ферментларини культурал суюқликни қуюлтириш ва махсус ускуналарда қуритиш орқали тайёрланади. Агар фермент манбаи бўлиб микроскопик замбуруғлар (*Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*) хизмат қилса, уларни қуруқ озиқа муҳитида юзаки экилиб, фермент препаратлари ўсиб чиққан микроорганизмни йиғиб олиб қуритиш орқали тайёрланади. Тозаланган ферментлар эса микроорганизмлар ҳужайраларидан экстракция қилиб олиш ва этанол ёки бошқа органик эритувчилар (изопропанол, ацетон ва ҳ.к.) ёрдамида чўктириб, қуритиш орқали тайёрланади.

Йирик шохли ҳайвонларнинг озиқа рационидида кўпроқ клетчатка, пентозанлар, пектин моддаларига бой бўлган маҳсулотлар ишлатилади. Улар молларни халқумидаги микроорганизмлар ёрдамида секин парчаланаядилар ва бошқа озиқа моддаларини организмга сўрилишини пасайтирадилар. Бу моддаларни сўрилиши озиқа рационига тегишли фермент препаратларини қўшиб ишлатилганда тезлашади.

Бундай ҳолларда нафақат ҳайвонларни умумий маҳсулдорлиги ошади, шунинг билан бирга ҳайвон маҳсулотларини битта бирлиги учун сарф бўладиган озиқа миқдори ҳам 8-10% га камаяди.

Фермент препаратларидан фойдаланиш айниқса қишлоқ-хўжалик ҳайвонларини болаларини озиқлантиришда ишлатилганда катта самара беради. Маълумки, бузоқларда халқум 2-3 ойликда пайдо бўлади, шунинг учун ҳам ёшроқ бузоқлар қаттиқ озиқа маҳсулотларини (сомон, тикон, ўтлар) ҳазм қилишга қийналадилар. Шунинг учун ҳам сутни ўсимлик озиқаси билан алмаштирилганда бузоқларни рационига пектофоетидин П10х ёки ГЗх (пектин парчалайдиган фермент), амилосубтилин ГЗх (крахмал парчаловчи ферменти), протосубтиллин ГЗх (оқсил парчаловчи фермент) қўшиб ишлатилганда бузоқлар соғлом ўсиб, тез етилади.

Чўчка болаларида (сут эмадиганларида), ошқозон ичак йўллариини фермент тизими, улар 3-4 ойлик бўлгандагина меъёрида ишлай бошлайди, шунинг учун ҳам ёш чўчка болалари рационига фермент препаратлари аралаштириб ишлатиш тавсия этилади. Кўпроқ протезим ГЗх препарати ишлатилади. Қўзиларни озиқланиши яхши бўлиши учун уларни озиқа рационига глюкаваморин Пх ва амилоризин Пх қўшиб ишлатиш тавсия этилган ва бунда қўзиларни оғирлиги 11-15% га ошганлиги кузатилган.

Паррандаларни озиқлантирувчи безлари, клетчатка ва пектин моддаларини парчаловчи ферментлар ишлаб чиқармайдилар, уларни ичагидаги микрофлора эса унчалик кўп эмас, шунинг учун ҳам уларни озиқа рационига пектин, оқсил, целлюлоза–клетчаткаларни парчалайдиган ферментларни қўшиб ишлатиш тавсия этилган. Фермент ишлатилган товуқ фермаларида тухум қўйиш 5% га, бройлерларни семириши 7-15% га ошганлиги ва маҳсулот бирлигини ҳисобга олганда озиқа миқдори 4-7% га камайганлиги кузатилган.

Фермент препаратлари балиқ боқишга ҳам қўл келади. Балиқларни озиқа рационига протосубтиллин ГЗх, амилосубтиллин ГЗх, пектаваморин Пх препаратларидан 0,1-0,15% миқдорда қўшиб ишлатилганда, оқсил моддаларни ва озиқа таркибидаги бошқа биополимерларни сўрилиши яхшиланади.

Шунингдек, фермент препаратлари озиқа ишлаб-чиқаришда, кўпроқ маккажўхори, сомон, ёнтоқ ва бошқа ўсимликлардан силос тайёрлашда ҳам кенг ишлатилади. Ферментлар қўшилиб тайёрланган силосни озиқа бирлиги 15-18% ошганлиги кузатилган.

Сомон таркибида катта миқдорда қийин сўриладиган моддалар (целлюлоза, ксилан, лигнин) ва жуда ҳам кам миқдорда оқсил бўлади. Сомонда сут ачитувчи бактерияларни ривожланиши учун зарур бўлган эрувчан карбонсувлар деярли йўқ. Шунинг учун ҳам сомондан силос тайёрлашда целловиридин ГЗх, целлолигнорин Пх, целлокандин ГЗх, пектаваморин Пх ишлатиш тавсия этилади. Бу ферментларни таъсирида силосланадиган массада карбон сувларни миқдори кўпаяди, уларни истеъмол қилиб, ривожланган микроорганизмлар ҳисобидан оқсил миқдори 50% гача ортади.

Сомон концентратлари тайёрлаш учун Россияда икки хил фермент препаратлари: пектофоетидин ГЗх ва глюкаваморин Пх нинг

аралашмаларидан фойдаланилади. Бу ферментлар полисахаридларни парчаланишини таъминлаб берадилар. Кейин парчаланган маҳсулотда ачитки замбуруғлари ўстирилади. Ачитки замбуруғларини яхши ўсиб, ривожланишини таъминлаш учун концентратга меласса, мочеви́на, кальций монофосфат, ош тузи ҳамда керакли микдорда сув қўшилади. Мана шундай усулда тайёрланган озиқа силосга ўхшасада, озиқа баҳоси бўйича яхши бедадан кам бўлмайди.

Сомон концентратлари гранула ҳолида олиниши мумкин ва озиқа хусусиятини бир йил мобайнида бузилмасдан сақлаб тураолади. Бундай озиқадаги клетчаткани сўрилиши 75-80% ошиб, ундаги оксил микдори қуруқ массага нисбатан 10-12% ни ташкил этади.

Фермент препаратлари бузоқлар учун табиий сутни ўрнини босадиган маҳсулот тайёрлашда ҳам ишлатилади. Бунинг учун озиқа ачитқиси ферментатив гидролиз қилинади, бунда ачитқининг ҳужайра қобиғи ёрилиб, микроб биомассаси осон сўриладиган шаклга ўтади, эрувчан карбонсувларни, алмашинмайдиган аминокислоталар ва ёғ кислоталарини микдори ошади.

Бу технологияда пектофоетидин ГЗх, дрожжелитин ГЗх, лизосубтиллин Г10х лардан фойдаланилади.

Микроб ферментлари ветеринарияда, қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандаларни баъзи бир касалликларини даволаш ва диагностика қилиш учун ҳам ишлатилади. Масалан, ҳужайра қобиғини бузаоладиган ва лизис қилиш имкониятларига эга бўлган фермент препаратлари ҳайвонларнинг бактериал ва бошқа касалликларини, паррандаларда (сольмонелёз ва популоро, қорамолларда эндо метритлар ва ҳ.к.) даволашда ишлатилади. Бу мақсад учун саноатда ишлаб чиқариладиган ферментлар: лизоцим ГЗх, гликозидаза ГЗх, лизосубтиллин Г10х, мальтаваморин Г10х, дрожжелитин ГЗх лар ишлатилади.

Амилосубтиллин ГЗх ва протосубтиллин ГЗх ҳайвонларни ошқозон – ичак йўлидаги бактерияларни редукцион хусусиятларига, инфузорийларни сонига ва уларни ҳаракатланишига, целлюлоза ва бошқа қийин парчаланадиган карбонсувларни сўрилишига таъсир кўрсатишини эътиборга олиб, уларни ҳайвонларни ошқозон – ичак касалликларини даволаш ва бу касалликларни олдини олиш учун ишлатилади. Бу фермент препаратлари, шунингдек, гельминтларни уруғини қобиғини парчалаш хусусиятига ҳам эгадирлар. 46-жадвалда Россияда ишлаб чиқариладиган ва қишлоқ хўжалигида ишлатиладиган ферментларнинг энг муҳимлари ва уларни ишлатиш соҳалари акс эттирилган.

**Қишлоқ хўжалигида ишлатиладиган
энг муҳим фермент препаратлар**

Номи	Ишлатилиш соҳаси
Амилосубтилин ГЗх	Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандалар озиқа рационига қўшимча, ферментатив гидролизатлар тайёрлаш; ошқозон ва паразитар касалликларни олдини олиш ва даволаш
Протосубтилин ГЗх	Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари, паррандалар, балиқлар рационига қўшимча; ферментатив гидролизатлар тайёрлаш; ошқозон ва паразитар касалликларни олдини олиш ва даволаш
Глюковаморин Пх	Бузоқлар, қўзилар, чўчка болалари озиқасига қўшимча, картошка, дуккакли ўсимликлар, сомон ва бошқа ўсимликларни силослаш
Глюковаморин П10х	Йирик шохли ҳайвонлар ва чўчка болаларини озиқа рационига қўшимча
Пектофоетидин ГЗх	Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандаларни озиқа рационига қўшимча, ўсимликлардан силос тайёрлаш.
Пектофоетидин П10х	Ачитқи замбуруғларини гидролизлаш
Амилоризин ПЗх	Бузоқлар ва чўчка болаларини озиқа рационига қўшимча; картошкадан силос тайёрлаш
Дрожелитин ГЗх	Фермент гидролизати тайёрлаш
Целловиридин ГЗх	Йирик шохли ҳайвонлар ва паррандалар озиқа рационига қўшимча; ўсимлик чиқиндилари гидролизи. ўсимликлардан силос тайёрлаш
Гликозидаза ГЗх	Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандалар озиқа рационига қўшимча; фермент гидролизатлари тайёрлаш
Лизосубтилин Г10х	Фермент гидролизатлари тайёрлаш; йирик шохли ҳайвонларни паразитар касалликларини олдини олиш ва даволаш
Протезим ГЗх	Чўчкалар ва паррандалар рационига қўшимча
Лизоцеллюлозин Г10х	Ачитқи замбуруғлари биомассини ва ўсимлик маҳсулотларни гидролиз қилиш; паррандалар озиқа рационига қўшимча
Лизогризеин Г10х	Ачитқи замбуруғларива ўсимлик чиқиндиларни гидролиз қилиш
Мальтаваморин Г10х	Ўсимлик чиқиндиларини гидролиз қилиш
Целлолигнорин Пх	Ўсимлик чиқиндиларини гидролиз қилиш; сомон ва дуккакли ўсимликлар ўтларидан силос тайёрлаш
Целлокандин ГЗх	Ўсимлик чиқиндиларини гидролиз қилиш; сомон ва дуккакли ўсимликларни
Лизоцим ГЗх	Қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандалар озиқа рационига қўшимча; паразитар касалликларни олдини олиш ва даволаш

Изоҳ: П-юзаки, куруқ озиқа муҳитида экилиб, олинган ферментлар (П-юза қисмда); Г-суюқ озиқа муҳитида, ферментёрларда экиб олинган ферментлар. 3 ёки 10-рақамлари ферментларни тозалик коэффициент (3-куруқ фермент препарати; 10-тозаланган фермент препарати) лари.

Микроб фермент препаратларини ишлаб-чиқаришдан ташқари ошқозон – ичак йўлидаги симбиозда яшовчи тирик микроорганизмлар асосида биопрепаратлар тайёрлаш технологияси ҳам яратилган. Бу микроорганизмлар ўзларидан ҳар хил витаминлар, алмашинмайдиган аминокислоталар, антибиотиклар, гормонал хусусиятга эга бўлган моддалар синтез қилиб чиқарадилар ва шу орқали овқат ҳазм бўлиш, ҳайвонлар хужайраларида синтез бўлаолмайдиган моддалар синтези жараёнларига ижобий таъсир кўрсатиб, ҳайвонларни юқумли микроблардан ҳимоя қиладилар. Чорвачиликда кенг ишлатиладиган мана шундай препаратлардан пропиовит (пропион ачитувчи бактериялар) ва пропиацид (ацидофил бактериялар) ҳамда азотцид (азотобактерлар) ларни мисол қилиб кўрсатиш мумкин.

Пропиовит - кумрангли кукун, 1г препарат 4-6 млрд. бактерия ва 80-100 мкг В₁₂ витамини сақлайди. Бузоқларда, чўчка болалари ва жўжаларда ошқозон – ичак касалликларини даволашда ишлатилади. Пропиовитдан фойдаланганда ҳайвонларни ривожланиши меъёрига тушиб, уларни юқумли касалликларга чидамлилиги ошади.

Пропицид ва азотоцид – ҳайвонларни ошқозон – ичак йўлида керакли биоценоз ҳосил бўлишига хизмат қиладди, айниқса дисбактериоз касалликларига қарши самарали биопрепаратлардир.

Бактериялар чақирадиган ошқозон–ичак касалликларига қарши ишлатиладиган бактериал препаратлар қуйидагилар асосида тайёрланади: *Bac.subtillis*, *licheniformis*, *mucilaginosus*. Бу турга мансуб бактериялар ферментлар, витаминлар, антибиотиклар ва гормонлар синтез қилиш имкониятига эгадирлар.

Биотехнология соҳасида фаолият кўрсатадиган олимлар ва мутахассислар олдиларига қўйилган муҳим вазифалардан бири – ҳайвонларни ошқозон – ичак йўлининг экотизимида яшай оладиган, целлюлоза ва бошқа ўсимлик полимерларини парчалай оладиган, алмашинмайдиган аминокислоталар ва витаминларни юқори даражада синтез қилаоладиган микроорганизмларни ҳосилдор штаммларини яратиш ва уларни чорвачилик амалиётига тадбиқ этишидир.

Шунингдек, ковуш қайтарадиган ҳайвонларни халқумидаги микрофлорани чуқурроқ ўрганиш (халқумда–озика 70-80% гача парчаланadi) бу микрофлорани ҳайвон организмига фойда келтирадиган йўналишда кенгайтириш, уларни фаоллигини бир меъёрда ушлаб туриш жараёнларини бошқаришдан иборатдир.

Халқум – бу анаэроб микроорганизмларни тўхтовсиз ўстиришнинг табиий ва юқори фаолликга эга бўлган тизимидир. Халқумда бактериялардан – *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Clostridium*, *Eubacterium* ва бошқалар; шунингдек, энг содда ҳайвонлардан – *Diplodinium*, *Entodinium*, *Ophryoscolex*, *Isotricha* ва бошқалар учрайдилар. Халқумни шилимшиқ қавати ўзининг ферментини ҳосил қилмайди,

шунинг учун ҳам овқат ҳазм бўлиш тўлиғича микроорганизмлар ферментлари томонидан амалга оширилади.

Мана шу микроорганизмларнинг ҳаёт фаолияти туфайли, ковуш қайтарувчи ҳайвонларни озиқасида бўлган деярли барча биополимерлар (мураккаб карбон сувлар крахмал, пектин моддалари, гемицеллюлозалар, клетчатка, дисахаридлар), оксил ва липидлар парчаланадилар, моносахаридлар эса (глюкоза, фруктоза, манноза) бижғийдилар. Мураккаб моддаларни гидролизидида пайдо бўлган моносахаридлар, аминокислоталар, ва ёғ кислоталар ҳайвонлар томонидан энергия манбаи сифатида ва биосинтез жараёнларида сарфланади. Микроорганизмларни ўзлари ҳам, нобуд бўлганларидан кейин халқумда қайта ишланади ва ҳайвонлар учун сифатли оксил, алмашинмайдиган аминокислоталар, тўйинмаган ёғ кислоталари, витаминлар манбаи бўлиб хизмат қиладилар.

Микроорганизмларни ҳосилдор штаммларини ва ҳайвонларни ошқозон – ичак йўли экотизимини яратишда одатдаги селекция ҳамда замонавий ген муҳандислиги ва ҳужайра биотехнологияси усулларида, мутагенез, клонлаш усулларида кенг фойдаланилмоқда. Бу усуллардан фойдаланиш ҳайвонлар ошқозон–ичак йўли экотизимини мақсадга йўналтирилган ҳолатда ўзгартириш, озиқа моддаларни сўрилишини яхшилаш, фойдали моддалар синтезини кучайтириш, патоген микроорганизмларни ўсиб, кўпайишини олдини олиш имкониятларини яратади.

18.6. ОЗИҚ-ОВҚАТ САНОАТИДА БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ ИШЛАТИЛИШ ЧЕГАРАЛАРИ

Микроорганизмлар ёрдамида олинадиган озиқа маҳсулотларининг доираси жуда кенг: қадим замонлардан бери ишлатилиб келинаётган, бижғиш жараёнининг маҳсули бўлган нон, қатик, вино ва пиводан бошлаб, то озиқ-овқат саноатининг энг янги маҳсулоти – замбуруғ оқсили микопроотеинларгача.

Бу соҳада микроорганизмларнинг роли хилма-хил: улар синтез қиладиган ферментлар ёки бошқа метаболитлардан фойдаланиш; микроорганизмлар ёрдамида озиқа маҳсулотларини бижғитиш; ҳаттоки, баъзи бир микроорганизмларни истеъмол учун ўстириш.

Озиқ-овқат саноатида биотехнологик жараёнларни амалга ошириш учун микроорганизмларнинг тозаланган штаммлари қатори, маҳсулотнинг ўзида бўлган ёввойи турлари ҳам маълум шароитга тушганларида (озиқа муҳити, ўсиб-кўпайиш шароитлари ва ҳ.к.) тез ўсиб кўпаядилар. Бу усулдан айниқса, қадимдан маълум бўлган, анъанавий биотехнологик жараёнларни амалга ошириш учун кенг фойдаланилади. Саноат шароитида маҳсулот ишлаб чиқаришда бу жараёнлар қаттиқ назорат остида олиб борилади.

Яқинларгача биотехнология, озиқ-овқат саноатида яратилган жараёнларни яхшилаш, маҳсулот сифатини кўтариш мақсадида микроорганизмлардан оқилона фойдаланиш учунгина ишлатилиб келинган. Аммо, келажак генетик усуллардан фойдаланиб, мақсадга тўла жавоб бераоладиган микроорганизмларнинг махсус штаммларини яратиш билан боғлиқ.

Бижғиш жараёнининг янги усуллари ва технологияларини ҳаётга тадбиқ этиш, витаминлар, аминокислоталар, тўйинмаган ёғ кислоталари, простогландинлар ва инсон саломатлиги йўлида хизмат қиладиган бошқа бирикмаларни ҳам синтез қила оладиган микроорганизмларнинг трансген шакллари яратиш, замонавий биотехнологиянинг асосий вазифаларидан ҳисобланади.

Мана шу йўл орқали ишлаб чиқаришдаги маҳсулотларнинг сифатини яхшилаш, уларнинг чиқими камайтириш, янги ва хилма хил ишлаб чиқариш соҳаларининг яратилишига ҳам эришилди.

Мутахассисларнинг фикрларига кўра, озиқ-овқат саноатида ишлатиладиган маҳсулотларнинг 75% дан кўпроғи биотехнология асосида ишлаб чиқариладиган бўлсада, унинг таъсири 25-30 йил муқаддам эришилган даражадан кўтарилгани йўқ. Бунга сабаб нима - деган ҳақли савол туғилади.

Биринчидан – ҳозиргача озиқ-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқариш оғир, қўл кучини кўп талаб қилувчи, технологик даражаси паст бўлган соҳалигича қолиб келмоқда. Кўпчилик ишлаб чиқариш

жараёнлари, кулинария усуллари нусхаларини кўпайтиришдан бошқа нарсас эмас. Бу соҳани асосларини ўрганувчи фаннинг ривожига мақсадга жавоб берадиган ҳолатда эмас, шу сабабли жараёнларнинг моҳияти охиригача ўрганилмаган.

Иккинчидан – *озик-овқат маҳсулотларини катта миқдорда ишлаб чиқаришда биотехнологиядан фойдаланиш иқтисодий кам самара берадиган соҳа. Шунинг учун ҳам, ишлаб чиқаришни кенгайтириш, маҳсулотлар хавфсизлигини аниқлаш усуллари ва бошқа биотехнологик жараёнларни ва маҳсулотларнинг рақобат бардошлилигини оширишга маблағ ажратишга имкон бераолмайди.*

Учинчидан – *озик-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқаришни модернизация қилиш (замонавийлаштириш) йўлидаги бош низом иккинчи даражали биологик фаол моддалар чақирадиган кераксиз ўзгаришларни камайтириш ёки бутунлай йўқотиш билан боғлиқ.*

Бугунги кунда бундай жараёнларни ёритиш учун “*салбий биотехнология*” деган атама ишлатилади.

Мутахассисларнинг фикрларига кўра, яқин келажакда озик-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқаришнинг янги технологияларини яратилишида, албатта зарарсизлигини аниқлаш масалалари кўшилади.

Бундан ташқари, маҳсулотни ишончли манбаи бўлмоғи ва унинг нархи имкониятлар даражасида бўлмоғи лозим.

Россиялик олимлар профессор Н.С.Егоров, А.В.Олескин ва В.Д.Самуиловларнинг фикрича озик-овқат саноатида ишлатиладиган биотехнологик маҳсулотлар қуйидагилардан иборат (47-жадвал):

**Биотехнологик маҳсулотларнинг озиқ-овқат саноатида ишлатилиш
истиқболлари**

Маҳсулот	Ишлатилиш соҳалари
Аминокислоталар	
Цистеин, метионин, лизин	Оксилларни, жумладан бир хужайрали микроорганизмлардан олинадиган оксилларнинг озиқа бирлигини ошириш
Глутамат	Гўшт, балиқ ва бошқа маҳсулотларнинг хушбўйлигини ошириш
Глицин, аспарат	Қандолатчилик маҳсулотлари ва ичимликларга нордон-ширин таъм бериш
Олигопептидлар	
Аспартам, тауматин, мовеллин	Паст коллорияли ўта ширин моддалар тайёрлаш
Ферментлар	
Амилаза	Спирт, вино, нон, пиво, қандолат маҳсулотлари ва болалар озиқалари тайёрлаш
Глюкоамилаза	Глюкоза ишлаб чиқариш, пиво таркибидаги декстринларни йўқотиш
Инвертаза	Қандолат маҳсулотлари тайёрлаш
Инулиназа	Крахмалдан мальтоза-фруктоза ёки глюконлик (глюкоамилаза билан) шарбатларни тайёрлаш
β-галактозидаза	Сут зардобини лактозадан тозалаш, музқаймоқ тайёрлаш ва ҳ.к.
Целлюлаза	Эрувчан кофе, сабзи шарбати тайёрлаш, замбуруғларнинг, меваларнинг сифатини яхшилаш, цитрус ўсимликларнинг меваларига ишлов бериш
Микроб протеазаси	Пишлоқ пишириш, хамирни етилтириш, гўштни сифатини ошириш
Пепсин, папаин	Пиво ва винони тиндириш
Фицин, трипсин, брамелаин	Гўштни суяклардан ажратиш, балиқ гўштини юмшатиш
Липазалар	Пишлоқ, шоколад, сут маҳсулотларига хушбўй ҳид бериш, тухум оксиллини кўпиртирилганда, унинг сифатини яхшилаш
Глюкооксидаза, каталаза	Қуритилган сут, кофе, пиво, мойонезлар ва мева шарбатларидан кислородни ҳайдаш, уларнинг сифатини яхшилаш ва сақлаш муддатини узайтириш
Витаминлар	
A ₁ , B ₁ , B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , C, D, E, PP	Маҳсулотнинг озиқа бирлигини ошириш
C, E	Антиоксидантлар
Терпенлар ва ўхшаш бирикмалар	
Гераннол, нерол	Хушбўй ҳид берувчилар
Органик кислоталар	
Сирка, бензол, сут, глюкон, лимон, олма	Хушбўй ҳид берувчилар ва консервантлар
Полисахаридлар	
Ксантанлар	Шинни ва шарбатларни мўътадиллаштирувчи моддалар

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Қишлоқ хўжалик ҳайвонларини озиқа рационини сифатли бўлиши учун нималарга эътибор бериш керак?
2. Ачитқи замбуруғларидан оксил олишни қандай технологияларини биласиз?
3. Бактериялардан оксил концентратлари тайёрлашни қандай ўзига хос томонлари бор?
4. Озиқа оксилни мицеллиал замбуруғлардан ва сув ўтларидан олиш технологияларини тушунтириб беринг.
5. Ўсимликларни вегетация массаларидан оксил олишни қандай технологиялари бор?
6. Бактериялар, микроскопик ва ачитқи замбуруғлар ҳамда ўсимликлардан олинган оксил концентратларини хусусиятлари ва улардан фойдаланишни ўзига хослиги нималардан иборат?
7. Алмашинмайдиган аминокислоталар ва витаминларни микробиологик йўл билан ишлаб-чиқаришни кимёвий синтездан қандай устунлик томонлари бор?
8. Лизин ва триптофан тайёрлаш технологиясини ёритиб беринг.
9. В₂ ва В₁₂ витаминларига бой бўлган озиқа препаратлари олишда қандай биотехнологик принциплардан фойдаланилади?
10. Озиқа маҳсулотларини сифатли липидлар билан бойитиш учун нималар қилиш керак?
11. Озиқа липид маҳсулотлари ишлаб чиқаришни биотехнологик асослари нимада?
12. Ҳайвонлар озиқасини ҳазм бўлишини яхшилаш учун қандай фермент препаратларидан фойдаланилади?
13. Озиқ-овқат саноатида ишлатиладиган биотехнологиялар ҳақида нималарни биласиз?
14. Амилаза, глюкоамилаза, протеаза ва бошқа ферментлар озиқ-овқат саноатининг қайси соҳаларида ишлатилади?

АДАБИЁТЛАР.

1. Букин В.Н. Микробиологический синтез витаминов. М.: Высш. Шк. 1972.-379с.
2. Биотехнология принципы и применения. Перевод с английского М., Мир. 1988.-480с.
3. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. – М.: Агропромиздат, 1991.-238с.
4. Macrae A.R.J. American of Oil Chemical Society. – 1983.- v.60-243A-246A.
5. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов М., 1975.
6. Ферментация и технология ферментов. Перевод с английского М.: «легкая и пищевая промышленность» 1983.-336с.

19. БИОТЕХНОЛОГИК ЖАРАЁНЛАРНИНГ ЭНГ МУҲИМ БИОКИМЁВИЙ АСОСЛАРИ

19.1. БИЖҒИШ

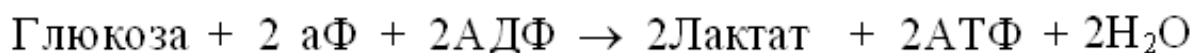
Бижғиш ҳодисаси жуда ҳам қадимдан маълум бўлсада, унинг ҳақиқий табиати ва умумий механизми машҳур француз олими *Луи Пастер* тадқиқотлари асосида аниқланди. 1861 йили Л.Пастер глюкозадан этил спирти ва углерод (IV)- оксидининг (карбонат ангидриди) ҳосил бўлиши атмосфера кислороди иштирокисиз содир бўлишини кузатди.

Ферментация деб аталадиган бу жараён, тирик организмларнинг кислород бўлмаган шароитда, глюкозадан озика ва энергия олиш қобилятининг ифодаси деган таърифи, илму-фан тарихида буюк аҳамиятга эга бўлди. Аммо бу жараённи Л.Пастер фақат тирик организмлар (ачитки замбуруғлари ва бошқа микроорганизмларлар) ҳаёт фаолиятигагина боғлаб, бу организмларсиз бижғиш юз бермаслигини таъкидлаган эди.

Кейинчалик бу жараённи амалга оширадиган ферментларни батафсилроқ ўрганишга муваффақ бўлинди. 1897 йили Бюхнер ҳужайрасиз ачитки ширасини (зимазани), А.Н.Лебедев эса ачитки замбуруғларидан шира (мацерация) маҳсулоти ажратиб олишга эришдилар. Бижғиш (ачиш) жараёнида иштирок этувчи ферментлар ва уларнинг субстратлари бир қатор машҳур олимлар томонидан батафсил ўрганилиб чиқилди ва ачитки шираси мураккаб фермент ва коферментлар тизимидан иборат эканлиги тасдиқланди.

Ҳайвон тўқималаридаги сингари баъзи бактерияларда ҳам ачиш жараёни натижасида сут кислотанинг ҳосил бўлиш жараёни билан бирга ачитки ҳужайралари, мускул ва жигарда руй берадиган ачиш жараёнининг реакциялари асосан бир хил эканлиги аниқланди. Спирт ва лактат кислота ачишининг кимёвий асосини ўрганиш жараёнида А.А.Иванов, Гарден ва Йонглар томонидан ҳужайрасиз ачитки ширасида, ачиш учун зарур бўлган фосфат кислота лозим эканлиги кўрсатилган ва биринчи фосфат эфири - фруктоза -1,6 - дифосфатнинг ажратиб олиниши, деярли бир вақтда бошланган.

Шундай қилиб, бижғиш анаэроб шароитда содир бўладиган оксидланиш-қайтарилиш жараёнида органик моддаларнинг ўзгариши (парчаланиши) бўлиб, унинг натижасида организм ўзининг ҳаёти учун зарур бўлган энергия олади. Бунда, АДФ ва анорганик Ф дан АТФ синтезланади:



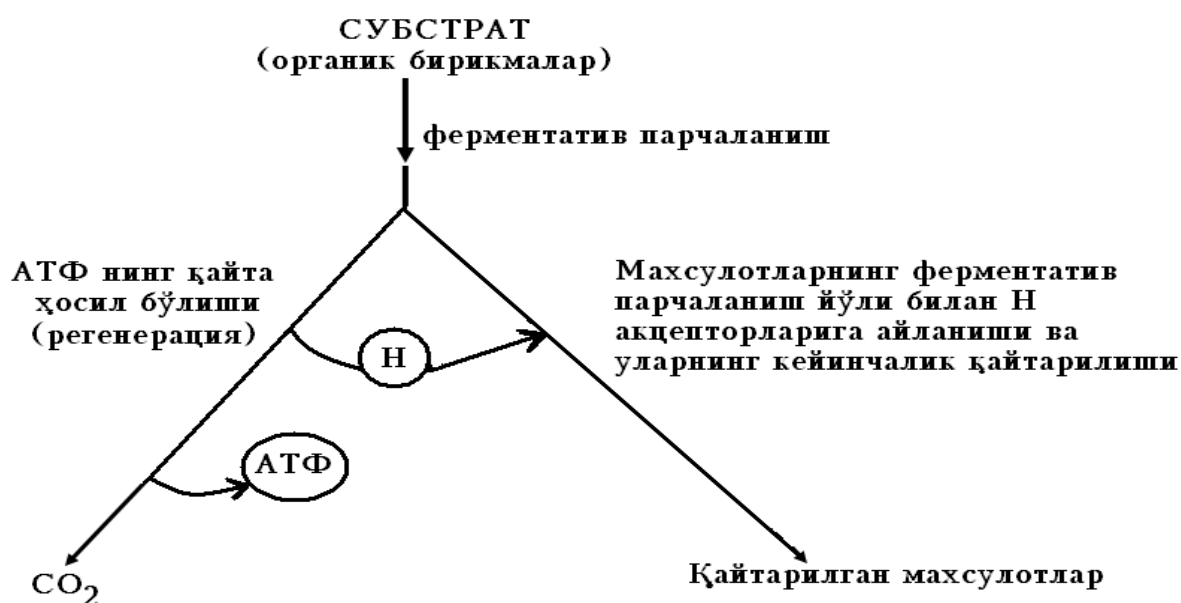
АДФ ни фосфорлашга олиб келадиган реакция, оксидланиш реакцияси ҳисобланади. Бижғиш вақтида энергия тикланишидан ташқари водород атоми бир органик бирикмадан иккинчисига ўтиши содир бўлади.

Органик бирикмалар бижғишни ҳар хил босқичларида донор ёки акцептор вазифасини бажаради. Бижғитишни оралик босқичларида сувсизланиш реакцияларида водороднинг акцептори вазифасини НАД⁺ бажаради. Реакция натижасида ҳосил бўлган НАДН кейинчалик оксидланиб НАД⁺ га айланади, водород атомлари эса субстратни оралик маҳсулоти метаболизмига ўтади.

“Бижғиш” атамаси биологик жараёнларда умумлашган маънода ишлатилиб, у тирик организмлар томонидан кислородсиз шароитда, энергия олиш учун органик бирикмаларни тўла бўлмаган парчаланиши маъносини беради.

Мана шундан келиб чиққан ҳолда, ерда дастлабки организмлар атмосферада кислород бўлмаган шароитда пайдо бўлган деб ҳисобланади. Бижғишни органик субстратлардан энергия ажратиб чиқарувчи биринчи биологик жараён деб қараш мумкин.

Ҳар қандай типдаги бижғиш жараёни қўйидаги келтирилган чизма асосида амалга ошади (54-чизма).



54-чизма. Бижғиш даврида ўтадиган жараёнларнинг умумий чизмаси

Амалда у ёки бу типдаги бижғиш жараёни, ўша мураккаб ва кўп босқичли ферментатив реакциялар натижасида ҳосил бўлувчи охириги маҳсулот билан аниқланади.

Бижғиш жараёни ҳар хил таксономик гуруҳларга мансуб бўлган микроорганизмлар томонидан амалга оширилади.

Фундаментал фанларни ривожлантириш доимий равишда биотехнологиядан фойдаланиш даврасини янада кенгайтириб боргани

сари, биотехнологиянинг ўзи фундаментал фанлар олдига янгидан янги вазифалар қўйиб боради.

Биотехнологиянинг асосий вазифаларидан бири тирик микроорганизмларга хос бўлган очик ёки ёпиқ тизимдаги биотехнологик жараёнлардан саноат шароитида фойдаланишдан иборатдир. Бу биринчи навбатда, микроорганизмларга хос бўлган ферментатив реакцияларнинг бекиёс имкониятларидан фойдаланиш ва микроорганизмлар штаммларини генетик модификация қилиш орқали бу имкониятларни янада кучайтиришдан иборат.

19.1.1. Спиртли бижғиш

У ёки бу маҳсулотни қайта ишлашни биотехнологик жараёнларни бошқариш, мана шу жараёнлар асосида ётган кимёвий ўзгаришларни чуқур ўрганишни талаб қилади. Бу эса, хужайрада содир бўладиган модда алмашинувини энергетикаси билан чамбарчас боғлиқдир. XIX асрнинг ўрталарида Л.Пастер спиртли бижғишни ачитқи замбуруғларининг фаолияти билан боғлиқлигини аниқлагандан кейин, бу жараён (спиртли бижғиш) биологик жараён сифатида қараладиган бўлди.

Бюхнер ва Хан томонидан спиртли бижғиш жараёнини хужайра экстракти таркибидаги оксидловчи ва қайтарувчи ферментлар ёрдамида бошқариш мумкинлигини кўрсатиб берилиши бижғиш жараёнининг табиати ҳақида замонавий тасаввурни пайдо бўлишига олиб келди.

“*Бижғиш*” ёки “*ачиш*” деган иборалар ҳар хил даврларда жараённинг моҳиятини ҳар хил кўрсатган, дастлаб бижғиётган муҳитнинг типини кўрсатувчи маъно берган бўлса, кейинроқ – ҳаётнинг анаэроб шакли сифатида қаралган.

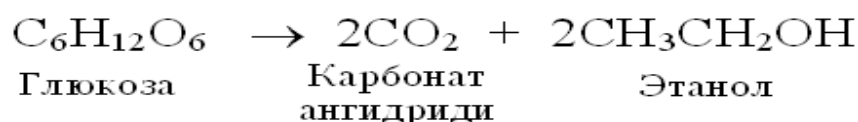
Замонавий тасаввурга биноан спиртли бижғиш биокимёвий реакцияларнинг бирин-кетин келадиган жараёни бўлиб, бунда ачитқи замбуруғи хужайралари органик бирикмаларнинг энергиясини тўлиқ ишлата олмайди. Ҳар бир ачитқи замбуруғининг хужайраси ўзини оғирлигидан 30 ва ундан кўпроқ маротаба миқдордаги шакарни парчалай олиши ҳисоблаб чиқилган. Натижада, хужайранинг энергетик потенциали ошади ва бу АТФ нинг ажралиб чиқиши кўринишида намоён бўлади. Бу энергияни хужайра захира моддалари – гликоген, карбон сувлар (трегалозалар), ёғлар ва бошқа бирикмалар синтези учун ишлатади.

Шунинг учун спиртли бижғишни, шакарни – тўлиқ бўлмаган аммо, кўп босқичли анаэроб, ферментатив парчаланиши деб қаралмоғи лозим. Бу жараён оқибатида бижғишни асосий маҳсулотлари – этанол ва карбонат ангидрид гази ҳосил бўлади.

Спиртли бижғиш жараёнини амалга ошириш учун кўпроқ *Saccharomyces* авлодига мансуб ачитқи замбуруғлари (*S.cerevisiae*, *S.elipsoidus*, *S.vini* ва ҳ.к.) ишлатилади.

Ачитқи замбуруғларидаги спиртли бижғиш жараёни юксак организмлардаги гликолиз жараёнидан фақатгина охирги босқичи билан фарқ қилади. Бунга асосий сабаб, ачитқи замбуруғларидаги пируватдекарбоксилаза ферменти ҳисобланади. Бу фермент пируватни ацетальдегидга айлантириб беради, ҳосил бўлган ацетальдегид эса этанолгача қайтарилади.

Гей-Люссак спиртли бижғиш жараёнини қуйидагича изоҳлаган эди:



Бу тенгламани содда қилиб, шакарнинг карбонат ангидрид гази ва этил спиртигача парчаланиши деб қаралса ҳам бўлади.

Замонавий нуктаи назарга асосан, бу жараён цитозолда амалга ошади. Буни шартли икки босқичга бўлиш мумкин.

Биринчи босқичда - глюкозадан фруктоза -1,6-бифосфат ҳосил бўлади. Кейин у 2 молекула триоза ҳосил қилади.

Иккинчи босқичда – 2 молекула триозадан 2 молекула пируват ҳосил бўлади.

Бу реакциянинг умумий кўриниши қуйидагича:



Олтита углерод молекуласига эга бўлган глюкозанинг иккита уч углеродли пируватга парчаланиши бирин-кетин амалга ошувчи 10 та ферментатив реакциялар ёрдамида амалга ошади.

Дастлабки, беш реакция глюкозани парчалаш учун тайёргарлик босқичи ҳисобланади. Бу реакцияларда глюкоза С6 ҳолатида АТФ ҳисобидан фосфорилланади, кейин изомерланиш оқибатида фруктоза-6-фосфатга айланади, у эса С1 ҳолатида фосфорилланади ва фруктоза-1,6-бифосфат ҳосил бўлади. Бу молекуланинг парчаланиши оқибатида икки молекула глицериальдегид-3-фосфат ҳосил бўлади. Бу жараёнларни чизма кўринишида қуйидагича изоҳлаш мумкин:



Иккинчи босқич ҳам бирин-кетин келадиган 5 та ферментатив реакциядан иборат бўлиб, пируват ҳосил бўлиши билан тугалланади.

1-реакция. Глюкозанинг 1-реакциясида D-глюкозани АТФ энергияси ҳисобидан фосфорилланиш содир бўлади. Шунинг ҳам алоҳида таъкидлаш лозимки, ҳужайрадаги озод D-глюкозанинг миқдори кўп эмас, бунинг ҳам кўпроқ қисми фосфорилланган шаклда бўлади. Бу реакция қайтмас бўлиб, гексокиназа ферменти ёрдамида амалга ошади. Гексокиназа ферменти деярли барча ўсимлик ва микроорганизмлар ҳужайраларида учрайди. Бу фермент нафақат D-глюкозани, балки бошқа гексозаларни хусусан, D-фруктоза ва D-маннозаларни ҳам фосфорлаш хусусиятига эга. Гексозалар фаоллигини намоён қилишлари учун Mg^{+2} иони зарур, чунки бу ферментнинг ҳақиқий субстрати бўлиб, АТФ эмас, балки АТФ ва магний комплекси ҳисобланади.

2-реакция. Глюкозофосфатизомераза ферменти таъсирида глюкоза-6-фосфат, фруктоза-6-фосфатга изомерланади. Бизнинг жараёнида фруктоза-6-фосфат ҳосил бўлса ҳам, бу реакция қайтмас ҳисобланади.

3-реакция. АТФ ҳисобидан D-фруктоза-6-фосфат C_1 ҳолатида фосфорилланади. Бу реакция фосфофруктокиназа ферменти томонидан катализланади. Бу ферментни фаоллашуви учун ҳам Mg^{+2} иони зарур. Субстрат ҳам, ундан ҳосил бўлган маҳсулот ҳам тезгина гликолизнинг кейинги маҳсулотларига айланадилар. Гексокиназага ўхшаб, фосфофруктокиназа ҳам гликолиз жараёнини бошқарувчи фермент ҳисобланади.

Хужайраларда захирадаги АТФ миқдори камайиб, АДФ (аденозин дифосфат) ва АМФ (аденозин монофосфат) миқдори ошиб кетганда, тезда фосфофруктокиназа ферменти фаоллиги кўтарилади ва бунга тескари ўлароқ, хужайрада АТФ миқдори ошганда ёки лимон кислотаси ҳалқаси (цитрат, ёғ кислоталари) учун энергетик куч берувчи бирикмалар миқдори кўтарилганда, фосфофруктокиназа ферментининг фаоллиги пасаяди. Фосфофруктокиназа аллостерик фермент ҳисобланади ва шу типга кирувчи бошқа ферментлар сингари унинг молекуляр массаси катта (300 kDa).

4-реакция. Бу реакция давомида фруктоза-1,6-бифосфатнинг молекуласи иккита триоза молекуласига парчаланади: глицеральдегид-3-фосфат (альдозалар) ва дигироацетон-3-фосфат (кетозалар). Ачитқи замбуруғларида синтез бўлган альдаза ферментининг молекуляр массаси – 65 kDa га тенгдир. Бу ферментнинг таъсир этиши учун икки валентли металллар Zn^{2+} , Ca^{2+} ёки Fe^{2+} ионлари зарур бўлади.

5-реакция. Ҳосил бўлган икки тризофосфатлардан биттаси – глицеральдегид-3-фосфат кейинроқ ўзгаришга учрайди. Аммо, гидрооксиацетон-3-фосфат триазофосфатизомераза ферменти таъсирида изомерланиб, глицеральдегид-3-фосфатга айланади ва шу тарзда унинг кейинги ўзгаришлари содир бўлади. Ушбу реакция билан гликолизнинг дастлабки, тайёрланиш босқичи тугайди. Юқорида таъкидланганидек, бу босқичда глюкоза фосфорилланади, кейин иккига бўлиниб, икки молекула триозани ҳосил қилади ва охирида икки молекула глицеральдегид-3-фосфат ҳосил бўлади. Гликолизнинг иккинчи босқичида ўтадиган реакцияларда глюкозанинг қисман энергияси ажралиб чиқиб, АТФ кўринишида тўпланади. Икки молекула глицеральдегид-3-фосфатни икки молекула пируватга айланишида тўртта молекула АТФ ҳосил бўлади, оқибатда, гликолизнинг умумий энергетик самарасини икки молекула АТФ ҳосил қилади. Чунки АТФ нинг қолган икки молекуласи фосфорилланиш реакцияларида сарфланади.

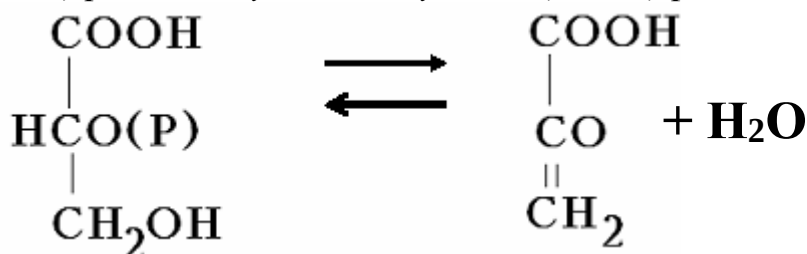
6-реакция. Бу реакцияда глицеральдегид-3-фосфатнинг –СОН-гуруҳи оксидланиб, натижада 3-фосфоглицерин ва фосфор кислотасининг -3-фосфоглицероилфосфат (1,3-бифосфатглицерат) ларнинг ангидридларини аралашмаси ҳосил бўлади. Бу жараён глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа ферменти ёрдамида ўтади. Реакциянинг маҳсулоти – 1,3-бифосфатглицерат юқори энергияли фосфорилланган бирикма ҳисобланади. Чунки унинг

гидролизини $\Delta G^\circ -11,8$ ккал/моль га тенг бўлиб, АТФ ни ΔG° сидан (7,3 ккал/моль) баланд туради.

7-реакция. 3-фосфоглицераткиназа ферменти юқори энергиялик фосфор гуруҳини 3-фосфоглицералфосфатнинг карбоксил гуруҳидан АДФ га ўтказди ва АТФ ҳамда 3-фосфоглицерат ҳосил қилади. Бу икки реакциянинг натижасида альдегид гуруҳининг оксидланиши ҳисобидан АТФ ҳолатида энергия тўпланади.

8-реакция. 3-фосфоглицерат молекуласидаги фосфорил гуруҳи иккинчи углеродга ўтади. Бу жараён 2-фосфоглицератмутаза ферменти томонидан катализ қилиниб, у қайтмасдир. Бу реакцияни содир бўлиши учун Mg^{+2} иони зарур.

9-реакция. Бу гликолиздаги макроэнергетик боғлар сақловчи бирикмалар ҳосил қилган иккинчи реакция ҳисобланади. Енолаза ферменти фосфоглицерат молекуласидан сувни сиқиб чиқаради:

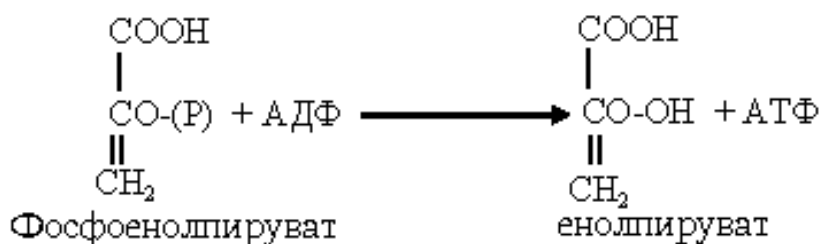


2-фосфоглицерат

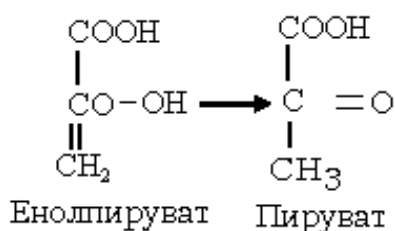
фосфоенолпируват

Бу реакция ўтиши учун ҳам Mg^{+2} иони керак бўлади.

10-реакция. Гликолизнинг охириги босқичи – фосфоенолпируватдан юқори энергияли фосфат гуруҳининг АТФ га ўтишидир. Бу реакция пируваткиназа ферменти томонидан катализ қилиниб, қуйидагича ўтади:



Пируваткиназа – жараёни бошқарувчи фермент ҳисобланади. Ҳосил бўлган пируватни енол шакли, тезда ферментатив бўлмаган йўл билан кеташаклга ўтади:

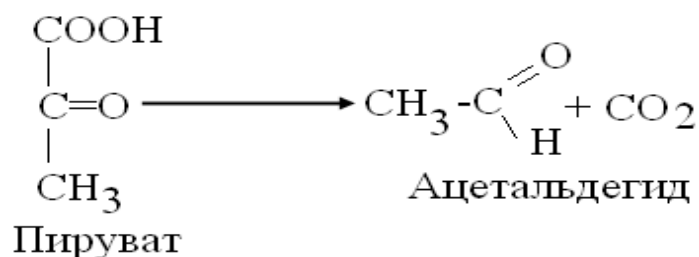


Шундай қилиб, гликолиз кўп босқичли мураккаб, ферментатив, оксидланиш-қайтарилиш жараёнидир. Бундай фикрни глюкозадаги ҳамда охирги маҳсулот бўлган пируватдаги углерод атомларининг жойлашиши ҳам кўрсатиб турибди. Глюкозанинг биринчи ва олтинчи углерод атомлари икки молекула пируватда $-\text{CH}_3$ кўринишида, яъни глюкозага нисбатан қайтарилган ҳолатдадир. Шунинг билан бирга, пируватнинг бошқа углерод атомлари глюкозага нисбатан оксидланганроқ ҳолатдадир (юқоридаги реакцияга қаранг).

Глюкозанинг биологик назорати, ҳамда юқорида кўрсатилган реакцияларни бирин-кетинлигини бошқариш ва пируватни глюкоза-6-фосфатдан ҳосил бўлиш тезлиги асосан ферментлар томонидан: фосфофруктозакиназалар ва пируваткиназалар даражасида амалга оширилади.

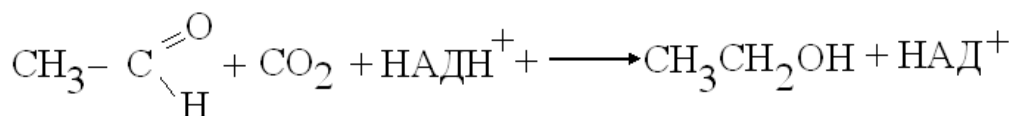
Шунинг билан бирга НАД (никотин амид аденин динуклеотид) ни регенерацияси ҳам катта аҳамиятга эга. Чунки, НАД гликолиз жараёнида фаол иштирок этади ва у кўп микдорда сарфланади, НАД нинг тугаб қолиши гликолиз жараёнини тез тўхташига олиб келади. Пируватни кейинги ўзгариши худди мана шу НАД ни регенерациясини ҳар хил йўлларига боғлиқ бўлиб, ҳар қандай организм учун характерли бўлган углеводларни оксидланишини қанчалик чуқур оксидланиши (гликолиз, сут кислотали бижғиш, спиртли бижғиш, аэроб нафас олиш ва ҳ.к.) га олиб келади.

Спиртли бижғиш жараёнида пируватдан этил спирти ҳосил бўлади. Дастлаб, пируваткарбоксилаза ферменти таъсирида пируватни декарбоксилланиши содир бўлади. Натижада ацетальдегид ҳосил бўлади. Бу реакцияни тезлиги ҳам Mg^{+2} ионига боғлиқ:



Спиртли бижғишнинг энг муҳим реакцияси ацетальдегиднинг спиртга айланишидир. Бу жараён глицеральдегидфосфат дегидрогеназа реакциясида сарф қилинган НАД ни регенерацияси билан бирга амалга ошади.

Бу реакция алькаголдегидрогеназа ферменти томонидан қуйидаги механизм бўйича амалга ошади:



Спиртли бижғишнинг бу классик йўли ачитқи замбуруғлари учун характерлидир. D-глюкозадан икки молекула этанол ва карбонат

ангидриди ҳосил бўладиган жараёнда углерод ва водород атомларини йиғма нисбати ўзгармайди ($H:C=12:6=2:1$). Аммо, глюкозада бор бўлган энергияни қисман ажралиши ва ажралиб чиққан энергияни сарфланиши кузатилади.

Бижғиш жараёнида глюкозани тахминан 7% энергияси ажралади, 93% эса икки молекула этил спиртига қолади. Ажралиб чиққан 52 ккал дан фақатгина 14,6 ккал АТФ шаклида сақланиб қолади. Шунинг учун ҳам спиртли бижғишни энергетик салмоғи ҳам жуда паст.

Юқори концентрацияли глюкозали муҳитда аэроб нафас олишнинг пасайиши Кребтр самараси (эффекти) деб аталади ва ўз моҳияти билан катаболик репрессия механизмининг ўзидир.

19.1.2. Сут кислотали бижғиш

Сут кислотали бижғиш жараёнини қуйидаги авлодларга мансуб бўлган бактериялар амалга оширадилар: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*. Уларни морфологик тузилиши хилма хилдир: таёқчасимон ва шарсимонлари учрайди; улар ҳаракатсиз, споралар ҳосил қилмайдиганлар, граммусбат, пигментсиз; кўпчилигида каталаза ва цитохром тизими йўқ, аммо булардан истиснолари ҳам учраб туради: баъзи бир культуралар споралар ҳосил қиладилар ва каталазалар фаолликларига ҳам эга. Сут ачитувчи бактериялар ўстирувчи моддаларга, аминокислотларга, витаминларга бўлган эҳтиёжлари билан фарқ қиладилар ва шунинг учун ҳам бу гуруҳ бактерияларни алоҳида вакиллари индикаторли бактериялар сифатида ишлатиладилар. Бу бактерияларни бирлаштириб турувчи асосий хусусиятлари, уларни бижғиш бош маҳсулоти сифатида сут кислотаси ҳосил қилишидир.

Гомоферментатив ва гетероферментатив бижғиш жараёнлари маълум. Бундай ажратиш углеводларни парчаланишда тубдан фарқ қилувчи йўллар борлигини кўрсатади.

19.1.3. Гомоферментатив бижғиш

Бу жараёнда бижғишни яккаю-ягона маҳсулоти сифатида сут кислотаси ҳосил бўлиши билан характерланади. Бу реакциянинг умумий кўриниши қуйидагича:

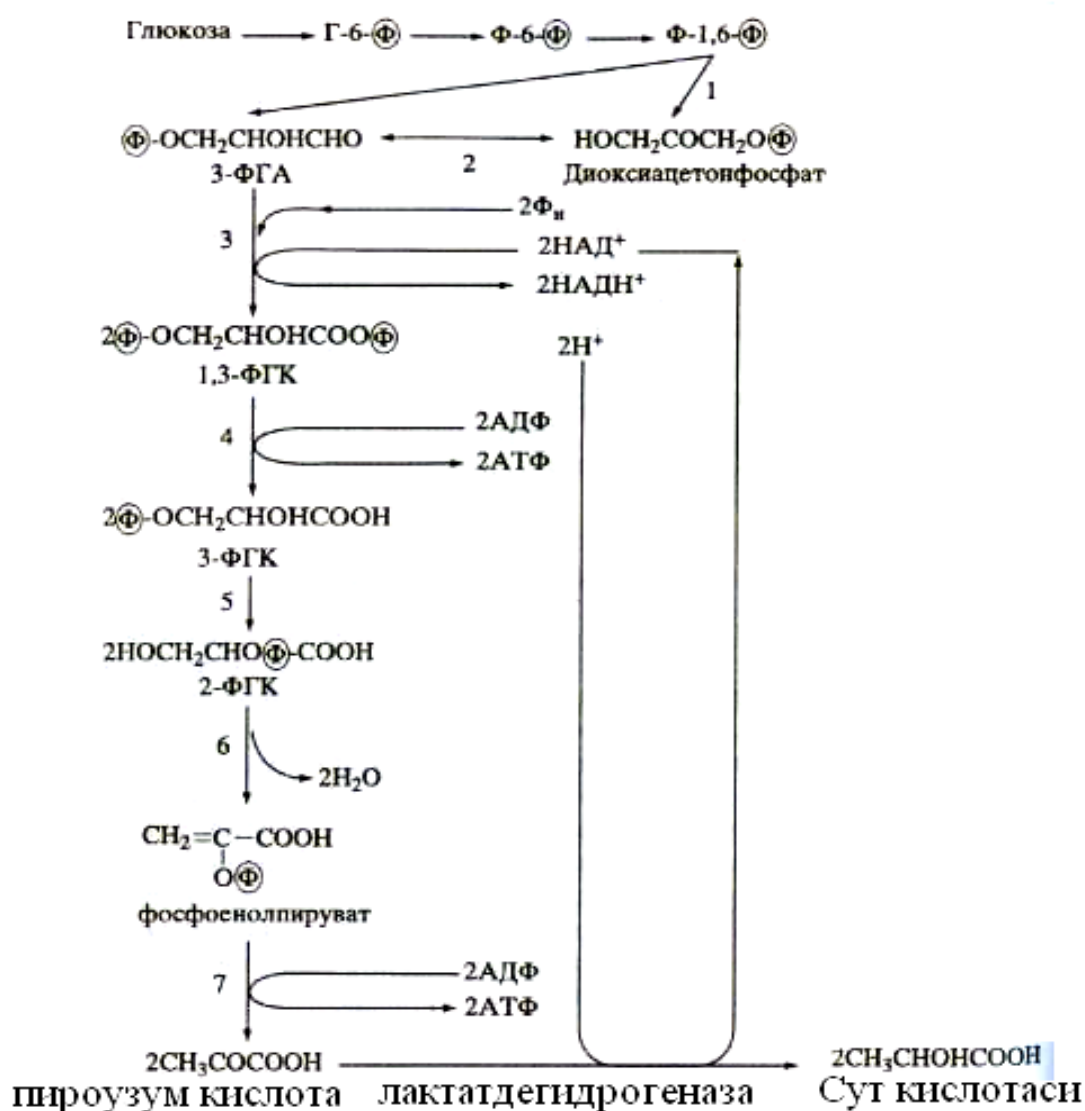


Бунда маҳсулотнинг ҳосил бўлиши 98% гача етади. Бундай юқори кўрсаткич, карбон сувларни бижғиш жараёни модда алмашинуви жараёни билан деярли боғлиқ эмаслигидан далолат беради. Карбон сувлар конструктив алмашувда жуда ҳам кам миқдорда ишлатилади ёки бутунлай ишлатилмайди.

Маълумки, конструктив алмашинув жараёнларида субстратларни тайёр аминокислоталари ишлатилади. Шундай қилиб, сут ачитувчи

гомоферментатив шароитларида бижғишни кўпчилик бошқа турларидан фаркли ўлароқ, конструктив ва энергия алмашинуви бир-бирларидан кўпроқ ажратилган. Бижғишнинг ушбу типиди глюкоза метаболизмига гликолизни анъанавий (классик) йўл билан, *Эмбден-Мейергоф* чизмаси асосида кириб боради (55-чизма). Куйидаги чизмада ушбу жараённинг сут кислотаси ҳосил бўлишига тўғридан тўғри алоқадор бўлган бир қисмигина батафсил келтирилган (фруктоза-1,6-дифосфатдан).

Ушбу тизимни фаолият кўрсатувчи реакциялардан бири фосфоглицерин альдегидининг оксидланиш реакциясидир. Бу реакция натижасида пирозум кислотасини сут кислотасига айланиш реакциясида қатнашувчи кофермент НАДН ҳосил бўлади. Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, пирозум кислотасини сут кислотасига айланиш реакциясини лактатдегидрогеназа ферменти бошқаради.



55-чизма. Сут кислотали бижғишнинг гомоферментатив чизмаси.

(Ф-фруктоза; Ф - фосфат.)

Изоҳлар: 3-ФГА- 3-фосфоглицерин альдегиди;

1,3-ФГА - 1,3-фосфоглицерин альдегиди;

2-ФГК – 2-фосфоглицерин кислотаси;

3-ФГК – 3-фосфоглицерин кислотаси;

Ферментлар: 1-фруктозобисфосфатаьдолаза;

2-триозофосфатизомераза;

3- 3-фосфоглицерин альдегид дегидрогеназаси;

4- 3-фосфоглицераткиназа;

5- фосфоглицеромутаза; 6- енолаза; 7-пируваткиназа.

Қандай маҳсулот ҳосил бўлиши, (–D(–), L(+)) ёки DL-сут кислотасими) лактатдегидрогеназа ферментини қандай стереоспецификликка эга эканлигига ва лактатацемаза ферментини борлигига боғлиқ бўлади.

19.1.4. Гетероферментатив бижғиш

Гетероферментатив бижғиш жараёнида нафақат сут кислотаси балки пироузум кислотасига биогенетик аълоқадор бўлган, бошқа, бир бирларига яқин бирикмалар: сирка кислотаси, этанол ва ҳ.к. ҳосил бўлади.

Гетероферментатив бижғиш жараёнини олиб борувчи бактериялар глюкозани парчалашни дастлабки босқичини пентозофосфорли йўл орқали амалга оширади. Уларда фруктозобисфосфатаьдолаза ва триозофосфатизомераза ферментлари йўқ. Реакцияни кетиш йўлларини аниқловчи моддалардан бири пентозафосфат йўлини маҳсулоти бўлган рибулоза-5-фосфатдир. Бу бирикма эпимераза ферменти таъсирида ксилулоза-5-фосфатга айланади, ҳосил бўлган бу модда эса пентозафосфат кетолаза ферменти таъсирида, 3-фосфоглицерин альдегид ва ацетилфосфатга парчаланади. 3-фосфоглицерин альдегидининг кейинги ўзгаришлари худди сут кислотали бижғишнинг гомоферментатив йўлидагидек амалга ошади.

Кўпчилик бактерияларда ацетилфосфат ацетил-КоА орқали этанолгача қайтарилади. Худди шу реакция *Leuconostoc mesenteroides* бактериясида ҳам кузатилган. АДФ га юқори энергияли фосфат боғини ўтказиш билан боғлиқ бўлган бошқа бир йўл орқали сирка кислотаси ва АТФ ҳосил бўлади.

Гомоферментатив бижғиш жараёнида 1 моль бижғиган глюкозадан икки моль АТФ ҳосил бўлса, гетероферментатив йўл орқали -1 моль АТФ ҳосил бўлади. Бу жараённинг чизмаси қуйидагича: (55а чизма).

Карамни кислородсиз шароитда ачитилганда, сут кислотали бактериялар тез ривожланиб кетадилар, дастлаб *Leuconastoc*, кейин эса *Lactobacillus plantarum* ривожланадилар.

19.1.5. Пропион кислотали бижғиш

Пропион кислотали бижғиш *Propionobacterium* авлодига мансуб бактериялар томонидан амалга оширилади. Бу бактериялар граммусбат, ҳаракатсиз, таёқчасимон бўлиб, спора ҳосил қилмайдилар ва анаэроб микроорганизмлар сафига кирсада, кислородли, паст босимда ҳам ривожланиб, кўпая оладилар. Улар учун энергия манбаи бўлиб карбонсувлар, органик кислоталар, спиртлар ва бошқа метаболитлар хизмат қиладилар.

Бу бактериялардан ташқари пропион кислотасини шунингдек, *Selenomonas* ва *Micromonospora* ва бошқа авлодга мансуб бактериялар ҳам синтез қила оладилар. Шулардан бири *Micrococcus lactilyticus* бактериясидир. Улар анаэроб шароитда глюкозани, сахарозани, лактозани ва пентозаларни, ҳамда лактат, малат, глицерол ва бошқа субстратларни бижғитиб пропион кислота ҳосил қилаоладилар.

Пропион бактериялар иштирокида шакарларни парчалашни пироузум кислотасигача бўлган босқичи *Эмбден-Мейергоф* схемаси асосида ўтади. Бижғишни бошланғич маҳсулоти бўлиб, сут кислотаси ҳам бўлиши мумкин. Бу ҳолатда реакция лактатдегидрогеназа ферменти иштирокида амалга ошади ва натижада пироузум кислотаси ҳосил бўлади. Кейин пируват биотин- CO_2 комплекси иштирокида метилмалонил-КоА-карбокситрансфераза ферменти ёрдамида карбоксилланади ва аксалоацетатга айланади, кейин малат ва фумарат орқали сукцинатгача қайтарилади.

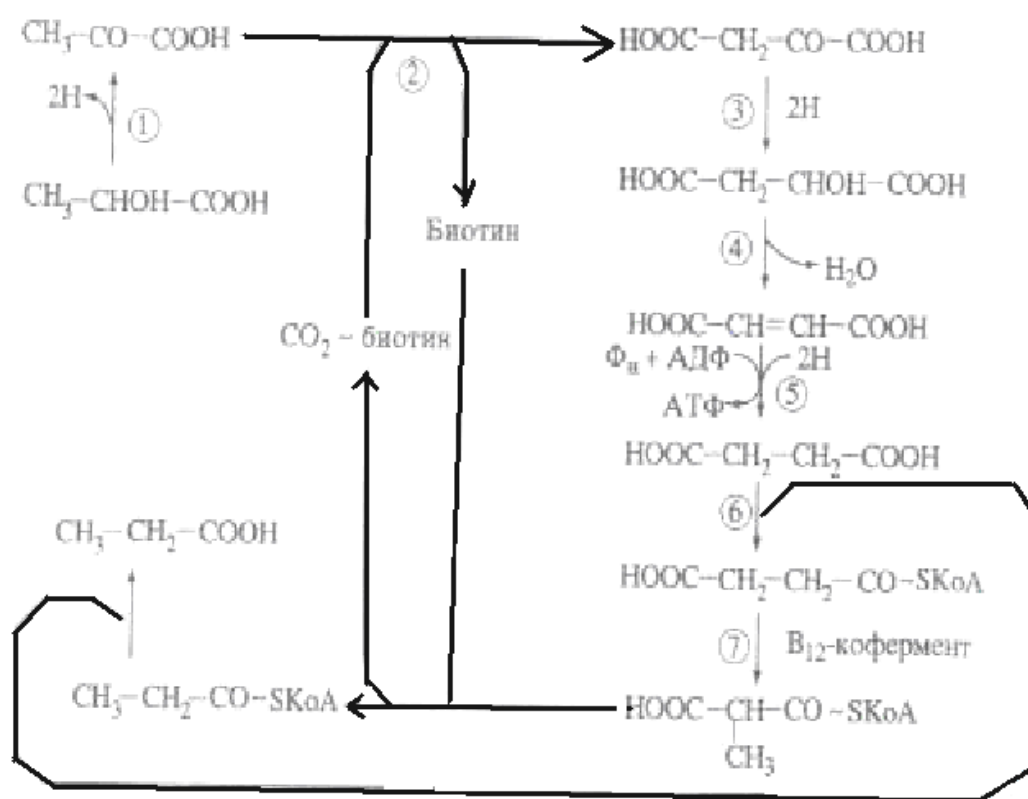
Бунда фумаратредуктаза ферменти АТФ ни регенерациясида иштирок этади. Ундан кейин сукцинат сукцинил-КоА-трансфераза ферменти иштирокида КоА га боғланади, оқибатда сукцинатнинг фаоллашуви бўлади. Сукцинил-КоА метилмалонил-КоА-мутаза ферменти таъсирида ва кофермент B_{12} иштирокида метилмалонил—КоА га айланади. Мана шу оралиқ маҳсулотдан CO_2 ажралиб чиқади. Натижада пропионил-КоА ҳосил бўлади, CO_2 эса жараённинг дастлабки босқичида фаолият кўрсатаётган метилмалонил-КоА-карбокситрансфераза ферментига боғланади. Пропионил-КоА дан КоА-трансфераза ферменти КоА ни сукцинатга ўтказганлиги оқибатида пропионат ҳосил бўлади.

Реакция муҳитида пропион кислотаси билан бир вақтда сирка кислотаси (у пируватдан ҳосил бўлади) ҳам тўпланади. Бижғиш жараёни мўътадил ҳолатда ўтганда пропион кислотасининг сирка кислотасига нисбати: 9:1 ни ташкил этади.

Пропион кислотали бактерияларга хос бўлган биокимёвий хусусиятлардан бири уларнинг тиамин, биотин ва пантотен кислотасини

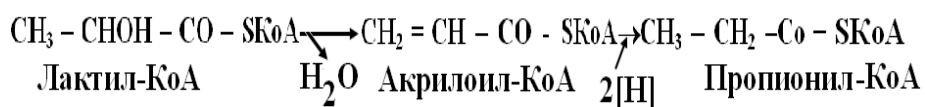
синтез қила олмасликларидир. Маълумки, бу моддалар бижғиш жараёнини таъминловчи фермент тизимининг фаолият кўрсатиши учун энг керакли моддалар ҳисобланади. Бактериялар учкарбон кислотаси ҳалқасиги кирувчи барча ферментларни ҳамда электрон-транспорт занжирига кирувчи компонентларни (дегидрогеназалар, ногеминли темир, метахинон ва цитохромларни) сақлайдилар. Шунинг учун ҳам субстратни фосфорлашдан ташқари бактериялар цитохромдан электронларни кўчириб фумаратга ўтказувчи ва фумарат ҳосил қилувчи оксидланиб фосфорлантириш хусусиятига ҳам эга.

Пропион кислотали бактериялардан ташқари бундай йўл билан бижғиш жараёнини *Veilonella alcalescens* ва *Selenomonas ruminantium* ҳам амалга ошириши мумкинлиги кузатилган (56-чизма).



56-чизма. Приопион кислотали бижғишнинг биокимёвий жараёнлари
(реакциялар кетма-кетлиги рақамлар билан кўрсатилган)

Пропион кислотаси синтезининг бошқа йўли КоА иштирокида акрил кислотасининг ҳосиласи – акрилоил-КоА кўринишида ўтади:



Биосинтезнинг бу йўли *Clostridium propionicum*, *Bacteroides ruminicola*, *Magasphaera elsdenii* каби бактерияларга хосдир.

19.1.6. Ёғ кислотали ва ацетон бутилли бижғиш (*Clostridium* авлодига мансуб бактериялар чақирувчи бижғиш жараёнлари)

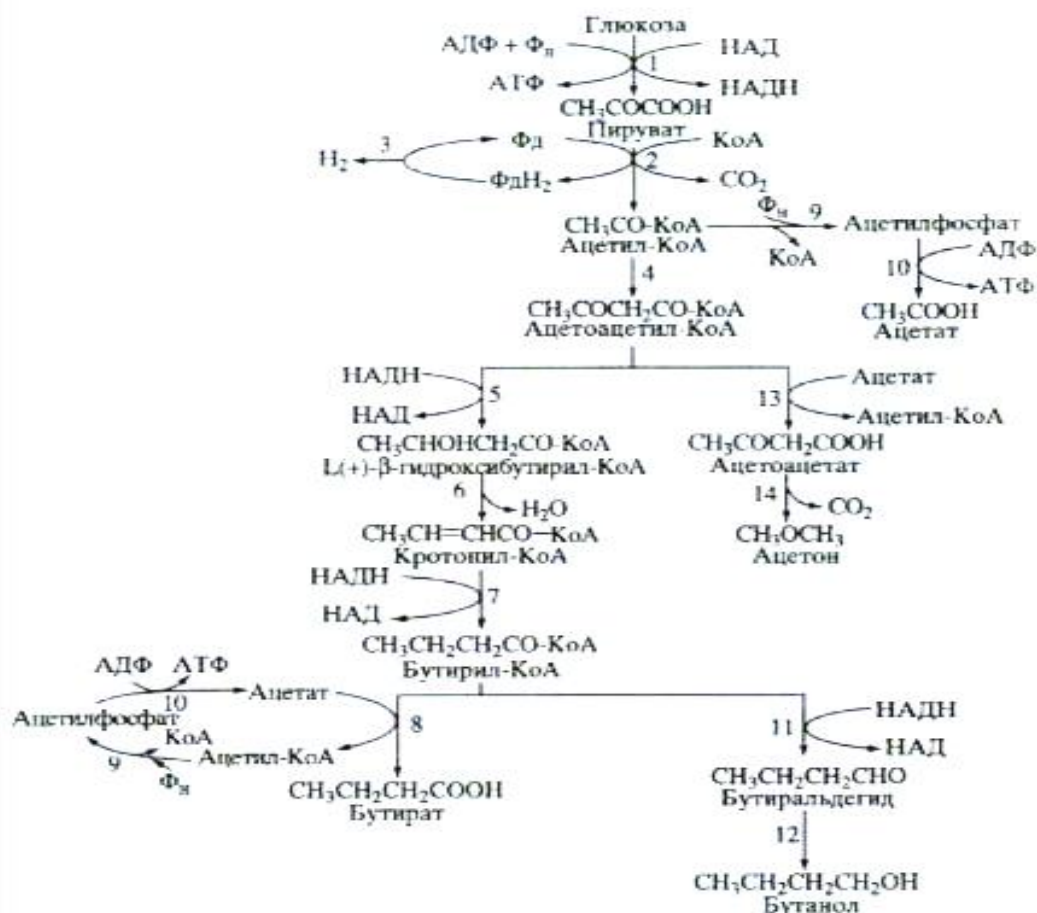
Clostridium авлодига мансуб, спора ҳосил қилувчи бактериялар ҳар хил бижғиш жараёнларини амалга оширадилар. Уларнинг барчаси анаэроб шароитда амалга ошади. Кислородли муҳитда (баъзи бир ҳолатлардан ташқари) бу бактериялар ўсмайдилар. Кислороднинг заҳарли таъсири бу бактерияларда цитохромларни ва каталазани йўқлиги ҳамда флавинли ферментнинг кўплиги билан тушинтирилади. Маълумки, флавинли ферментлар субстратдан водородни кислородга ташиб ўтказадилар ва перекис ҳосил қиладилар. Улар эса заҳарли микдорда тўпланадилар. Бактерияларнинг турларига қараб бижғишнинг ҳар хил маҳсулотлари тўпланади:

- ✓ *Clostridium butyricum*, *C.pasterianum*, *C.pectinovarum* бактериялари бижғиш жараёнида бутират, ацетат ва карбонат ангидрид гази ҳосил қиладилар;
- ✓ *Clostridium acetobutylicum*, *Clostridium butyricum* эса асосан бутират, ацетат, ацетон, бутанол, водород ва карбонат ангидриди;
- ✓ *Clostridium kluyveri* – капронат, бутират ва водород;
- ✓ *Clostridium tetanomorphum* – бутират, ацетат, аммиак, карбонат ангидриди ва водород;
- ✓ *Clostridium acidurici* – ацетат, формиат ва карбонат ангидриди ҳосил қилади ва ҳ.к.

Маҳсулотларни микдори, кўпроқ бижғиш жараёни кечадиган шароитга боғлиқ бўлади.

Бижғиш жараёнида маҳсулотларни ҳосил бўлишига муҳитни рН кўрсаткичи катта роль ўйнайди: Муҳитни рН кўрсаткичи нордон томонга ўзгарганда, н-бутанол ва ацетон ҳосил бўлиши кучайса, ишқорий шароитда сирка ва мой кислотасини ҳосил бўлиши кучаяди.

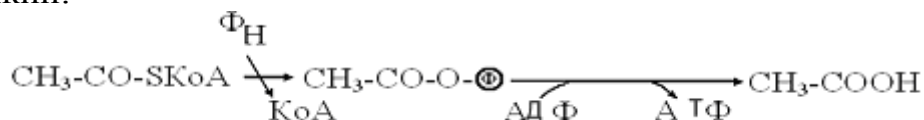
Бу ҳодиса, нордон шароитда ацетон ва н-бутанол синтезига жавобгар бўлган ацетатдекарбоксилаза ва бутанолдегидрогеназа ферментларини фаоллигини ошириши билан тушинтирилади. Бижғиш жараёни ишқорий муҳитда содир бўлганда, масалан, муҳитга CaCO_3 қўшилганда маҳсулотларни бир-бирларига бўлган нисбати ўзгаради. Клостридийлар томонидан амалга ошириладиган ҳар хил бижғиш жараёнларининг умумлаштирилган чизмаси 57-чизмада акс эттирилган.



57-чизма. Ацетон-бутил бижғишни умумлаштирилган чизмаси

Бижғишни дастлабки босқичларида глюкозани ассимиляцияси глюколитик йўл билан ўтади. Ацетил КоА дан бошлаб, бижғиш типига қараб, метаболизм йўллари ажралади. Мой кислота ҳосил бўлганда, ацетил-КоА ни икки молекуласини конденсацияси (қўшилиши) содир бўлади ва бу жараён ацетоацетилтрансфераза ферменти иштирокида ацетоацетил-КоА ҳосил бўлишига олиб келади. Ацетоацетил-КоА НАД Н ҳисобидан қайтарилади. Бу реакцияни β-гидрооксибутирил-КоА-дегидрогеназа ферменти амалга оширади ва натижада β-гидрооксибутирил-КоА- ҳосил бўлади ва ундан кротоназа ферменти ёрдамида сув ажралиб чиқади. Кротонил-КоА бутирил-КоА-дегидрогеназа ферменти таъсирида бутирил-КоА гача қайтарилади. Бутирил-КоА дан КоА-трансфераза ферменти ёрдамида КоА ацетатга ўтиши мумкин. Шундай бўлган шароитда мой кислотаси ажралиб чиқади.

Ацетил-КоА дан фосфотрансацетилаза ва ацетаткиназа ферментлари иштирокида бўш ҳолда ацетат олиниши мумкин, бу эса АДФ дан АТФ синтез бўлиши билан бирга кузатилади. Бу реакцияни қуйидагича изоҳлаш мумкин:



Тоза мой кислотали бижғиш жараёнида пируватни оксидланишида ҳосил бўладиган водород газсимон кўринишда ажралади. Бундай глюкоза қуйидаги тенглама асосида бижғийди:



Ўтган асрда ацетон ва н-бутанолни бижғиш йўли билан саноат миқёсида тайёрлаш жуда катта аҳамиятга эга бўлган. Юқорида кўрсатиб ўтилганидек, бу икки маҳсулотни метаболик йўли бир-бирига жуда ҳам яқиндир. Ацетоацетатни декарбоксиллаш натижасида ацетон ҳосил бўлади, бунда бутиратга қайтарилиш жараёнида икки мартаба $2[\text{H}]$ қўшилиш имкониятига эга бўлган водородни потенциал акцептори йўқолади. Бундай ҳолатда водородни акцептори бўлиб, бутират хизмат қилади.

Бутанолга қайтарилиши учун бутират даставвал бутират-КоА га айланиш йўли орқали фаоллашуви керак.

Клостридийлар бижғиш жараёнида углерод манбаи сифатида ҳар хил субстратлардан фойдаланишлари мумкин. Шу мақсадда ишлатиладиган деярли барча штаммлар учун энг яхши субстрат бўлиб, моносахаридлар (пентозалар ва гексозалар), дисахаридлар ва сувда эрувчи олигосахаридлар ҳисобланадилар.

Кўпчилик клостридийлар полисахаридларни (целлюлоза, гемицеллюлоза, крахмал, пектин) ҳам фаол парчалаш қобилиятига эгадирлар. Баъзи бир клостридийлар углерод манбаи сифатида нуклеин кислоталарини ва оксилларни ҳам ишлата оладилар (фақатгина улар ферментатив парчаланганидан кейин). Шунини ҳам таъкидлаш лозимки, клостридийлар ҳар хил кимёвий табиатга эга бўлган моддаларни, айнан этанол, глицерин, аминокислоталар, пурин ва пиримидин асослари, мочевина, ксантин ва бошқаларни бижғитишлари ҳам мумкин.

Клостридийларни баъзи бир вакиллари фаол азотфиксация қилиш хусусиятига ҳам эгадир. Шулардан бири – *Clostridium pasterianum* дир.

Клостридийлар парчалайдиган субстратларнинг хилма хиллиги, уларни оксидловчи ва гидролитик ферментларга бой эканлигидан гувоҳлик беради. Илмий манбаларда целлюлоза ферменти синтез қилувчи клостридийлар ҳам мавжудлиги ҳақида маълумотлар чоп этилган.

19.1.7. Чумоли кислотали бижғиш

Ичак микрофлорасининг баъзи бир намоёндалари чумоли кислотали бижғиш жараёнини амалга оширишлари ҳам мумкин. Баъзи ҳолларда бу жараённи *аралашган бижғиш* ҳам деб юритилади, Чунки, бунда чумоли кислотасидан ташқари бошқа моддалар, чунончи, органик кислоталар, спиртлар ҳосил бўлишлари мумкин. Бу жараённи амалга оширувчи бактериялар *Enterobacteriaceae* оиласига бирлашган бўлиб, улар грамманфий, факультатив анаэроблардир. Энтеробактериялар орасида

яхши ўрганилганлари куйидагилардир: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Aerobacter (Eutrobacter) aerogenus* ва *Salmonella*.

Бу бактериялар ичакдан ташқари, тупроқда ва сувда ҳам учрайдилар. Маълум шароитда уларни деярли барчаси патологик таъсирга эғаликлари билан характерланади.

Чумоли кислотали бижғиш жараёнида карбон сувларни метаболизми асосан фруктозабисфосфат йўли орқали амалга ошсади, карбон сувларни унчалик кўп бўлмаган қисми пентозафосфат йўли орқали ўзгаради. Чумоли кислотали бижғиш натижасида чумоли, сут, сирка, янтар кислоталари, этанол, глицерин, ацетон, 2,3-бутиленгликоль, карбонат ангидрид гази ва водород ҳосил бўлади.

Юқорида кўрсатиб ўтилган барча культуралар ўзига хос бўлган метаболик асосларга эга.

19.1.8. Гомоацетатли бижғиш

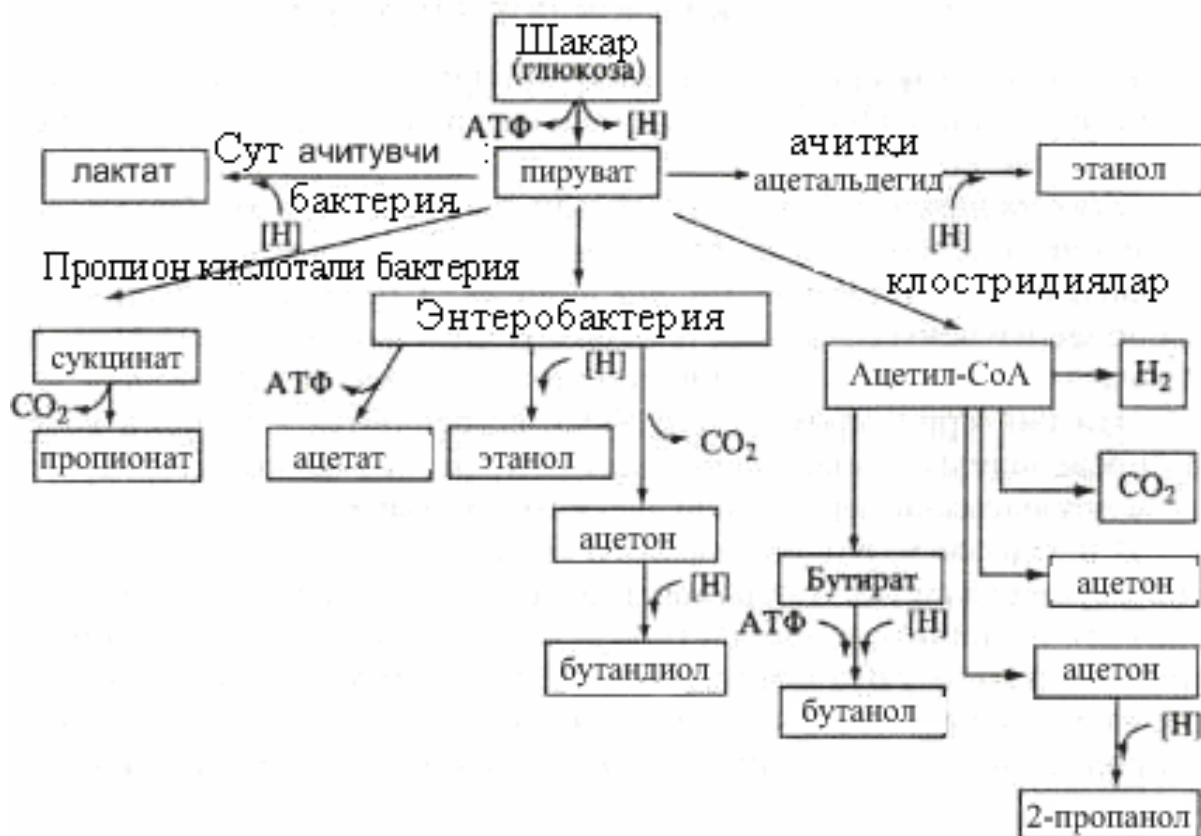
Клостридийлар (*Clostridium thermoaceticum*, *C. formicoaceticum*, *C. acidurici*) ва баъзи бир бошқа культуралар оксидланишни дастлабки боскичларида CO_2 тегишли субстратлардан ажралган водород билан куйидагича боғланади:



Клостридийлар шакарни ацетатгача фруктозабисфосфат йўли орқали оксидлайди ва шундай қилиб, 1 моль гексозадан 3 моль ацетат синтез бўлади. Пируватни парчаланиши ҳисобидан ажралиб чиққан карбонат ангидрид газининг катта бир қисми водородни акцептори ролини ўйнайди, натижада у ацетатгача қайтарилади.

Гексозалар клостридийларга хос бўлган фруктозабисфосфат йўли билан пируватгача оксидланади. Кейин эса пируват ферментатив йўл билан (пируват ферредоксин-оксидоредуктаза, фосфотрансацетилаза ва ацетаткиназа ферментлари ёрдамида) ацетатга ва карбонат ангидрид газига парчланади. Карбонат ангидриди водород акцептори сифатида ишлатилади ва қисман формиатга қайтарилади.

Ҳар хил кўринишдаги бижғишлар орасидаги ўзаро боғлиқлик 58—чизмада тасвирланган.



58-чизма. Ҳар хил типдаги бижғиш жараёнларини метаболик ўзаро алоқалари чизмаси

Бижғишни алоҳида типини олиб борувчи микроорганизмларни танлаш анъанавий селекциянинг асосий усули бўлган: “*керакли метаболитни кўпроқ синтез қилувчи микроорганизм танлаш*” асосида олиб борилади.

Бундай микроорганизмларни ген-муҳандислик асосида модификация қилиш бўйича ҳозирча янги стратегиялар ишлаб чиқилгани йўқ. Бунга бир неча сабаблар мавжуд:

- ✓ биринчидан - ҳар қандай типдаги бижғиш жараёни химизми қайси ферментларни етишмовчилигини тўлдириши даражасида чуқур ўрганилмаган;
- ✓ иккинчидан – анаэроб культуралар ҳосил қилувчи ферментлар спектри тўлиқ ўрганиб чиқилмаган;
- ✓ учинчидан - баъзи бир типга кирувчи бижғиш жараёнларида қатнашувчи микроорганизмларни ўсиш шароитини чуқурроқ ўрганишни талаб қилади ва ҳ.к.

Шундай қилиб, назарий ва амалий жиҳатлардан жуда ҳам муҳим бўлган масала – ҳар хил типдаги бижғиш жараёнини олиб борувчи микроорганизмларни генетик модификация қилиш масаласи ҳозирча ўрганиш босқичида турибди. Ҳеч шубҳа йўқки, бижғиш жараёнини олиб борувчи штаммларни катта коммерциал аҳамиятга эга эканлиги, бу йўналишни жадал олиб борилишига асос бўлиб хизмат қилади.

19.1.9. Метанли бижғиш

Барча турдаги бижғиш жараёнлари органик моддаларни ҳар хил токсонимик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизмлар томонидан ўзига хос бўлган ўзгаришларга учратиш сифатида намоён бўлади. Юқорида келтириб ўтилганлардан ташқари, табиатда ўзининг миқдори, доираси, унда катнашадиган микроорганизмларнинг хилма хиллиги билан бошқалардан тубдан фарқ қиладиган яна бир жараён борки, у ҳам бўлса метанли бижғиш жараёнидир.

Метанли бижғиш – *ҳар хил микроблар тўпламини (ассоциациясини) таъсири натижасидир. Бу жараёнда органик материал (лигнин бундан мустасно) чуқур ўзгаришга учрайди ва оқибатда метан, карбонат ангидриди ва бошқа микроб маҳсулотлари ҳосил бўлади. Шароитга қараб (термофил, мезофил, психрофил) – бу жуда узоқ давом этадиган жараёндир. Бунда тирик бўлмаган органик субстанциялар (ўсимлик ва ҳайвон биомассалари) оддий компонентларга парчаланадилар.*

Метан ҳосил қилувчи архебактериялар учун бижғувчи материаллар тайёрлаш дастлабки маҳсулотларга яхшилаб ишлов беришни таққазо қилади. Аэроб ва анаэроб микроорганизмлар иштирокида кечадиган бу жараён шунчалик мураккаб, кўп босқичли ва кўп компонентлики, уни бошқариш мумкин эмас. 1960–йиллардан бошлаб, органик бирикмалардан анаэроб шаротида микроорганизмлар ёрдамида биогаз ишлаб чиқаришга алоҳида эътибор берилиб келинмоқда.

Метанли бижғиш натижасида органик бирикмаларнинг трансформацияси содир бўлиб, улардан метан ва карбонат ангидрид гази пайдо бўлади. Оқибатда, органик бирикмаларнинг молекулалари кимёвий боғларида йиғилган энергия, метан молекуласининг кимёвий боғларида тўпланади. Бу жараён *метаногенез* деб аталиб, анаэроб архебактериялар (метаногенлар) томонидан амалга оширилади. Ҳосил бўладиган газдаги метаннинг солиштирма миқдори 70-80% ни ташкил этади, ундаги карбонат ангидрид эса 20-30% га тенг. Газларнинг аралашмаси, 1% атрофида H_2S (олтингугурт кислотаси) ва жуда кам миқдорда аммиак ҳам сақлайди. Метаногенезнинг сувда эримайдиган қисми, кўплаб бактериялар ассоциацияси ҳосил қилган биомассадир. Биомасса органик азотга бой бўлганлиги учун ҳам юқори сифатли ўғит сифатида ишлатилади.

Метанли бижғиш бошқа бижғиш турларига нисбатан кенг тарқалган табиий жараёндир. Бунга сабаб жараённи *аэроб* шароитда ҳам ўтишидир.

Бу қуйидагича ўтади: *кўпгина органик бирикмаларни юзаларида юпқа қобиқ ҳосил бўлади, ичида эса метанли бижғиш жараёни учун зарур бўлган анаэроб шароит ташкил бўлади. Бундай субстратларга барча хилдаги ўсимлик материаллари, жумладан қариган ва чириётган кўп йиллик ва бир йиллик ўсимликлар, ҳайвон биомассалари ҳам киради.*

Метанли бижғиш учун истиқболли маҳсулотларга айниқса, қишлоқ хўжалик чиқиндилари, хусусан, ўсимлик, микробиология саноати

чиқиндилари, сув ўтларининг биомассалари ва озиқ-овқат ҳамда енгил саноат чиқиндилари ва бошқалар киради. Мана шулардан келиб чиққан ҳолда метаногенезнинг аҳамияти нафақат ноанъанавий энергия ишлаб чиқаришни, балки санитария-экология муаммоларини ҳал қилиш билан ҳам боғлиқдир.

Аммо, метанли бижғиш жараёнини фойдаси шулар билан чегараланмайди. Бижғиган биомасса (метан сақламаган) юқори сифатли биоўғит ҳам бўлиб хизмат қилади. Масалан, гўнгни аэроб шароитда парчаланганда унинг таркибидаги 50% азот йўқолади (иссиқлик чиқиши билан бирга), аммо ўша гўнгни метаногенез орқали парчаланганда (анаэроб шароитда) унинг таркибидаги барча азот биомассада тўпланиб, ўсимлик учун енгил сингдириладиган ҳолатга ўтади. Бундан ташқари анаэроб шароитда йиғилган биомасса тупроқнинг унумдорлигини тикловчи гумус моддасига ҳам бойдир. Метаногенез маҳсулотларидан комплекс фойдаланиш нафақат самарали, балки юқори рентабелли ҳисобланади.

Органик моддаларни анаэроб шароитда ўзгартирилганда уларни стерилизацияси ва бижғийдиган массани детоксикацияси амалга ошади, патоген микроблар, гельментларни тухумлари йўқолади, токсик хусусиятга эга бўлган моддалар метаногенез метаболитларига айланади.

Метаногенезнинг:

биринчи босқичда, *хужайрадан ташқаридаги гидролитик ферментларни таъсири ҳисобидан, бижғувчи массанинг деярли барчаси (лигниндан ташқари) қисман парчаланади. Метанли бижғишни бу босқичда унчалик кўп бўлмаган миқдорда кислород иштирок этишига ҳам рухсат этилади.*

Иккинчи босқичда, *ферментация фазасида паст молекулали шаклар, асосан мономерлар ва бошқа органик бирикмалар (полимер субстратларни ферментатив гидролизидан ҳосил бўлган моддалар), n-бутанолга, пропанолга, этанолга, ацетон ва бошқа бирикмаларга айланадилар. Бу босқичда кислород жараёни бўғиб қўяди, демак унинг иштироки бутунлай мумкин эмас.*

Учинчи босқич, *ацетоген фаза ҳисобланади ва унда шу пайтга келиб ривожланган микрофлора – сирка, чумоли ва сут кислоталарини ҳосил қилади. Бу жараён кислородсиз фаза бўлиб, унда фақат облигат (шарт бўлмаган) анаэроблар фаолият кўрсатадилар.*

Охириги босқич, *метаноген фазада, метан ҳосил бўлади. Метанли бижғиш технология нуқтаи назаридан икки фазага бўлинади: метанли биоценознинг этилиши ва ферментация.*

Охириги босқичда азот сақловчи органик бирикмалар ҳам жадал ўзгарадилар. Бижғийдиган муҳитни ишқорланиши билан ($\text{pH} \sim 8,0$) олтингугуртни қайтарувчи анаэроб бактерияларнинг таъсири ҳисобидан учувчан органик бирикмалар: чумоли, сирка, пропион, мой, сут, янтарь (қахрабо) кислотлари ва шунингдек, спиртлар ва газлар ҳосил бўлади.

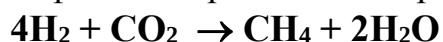
Бу бирикмалар анаэроб метаноген организмлар учун субстрат бўлиб хизмат қилади.

Метаноген бижғиш 3⁰С дан 60⁰С гача бўлган ҳарорат оралиғида амалга ошади. Жараённинг жадаллашиши ҳарорат кўтарилиши билан ошиб боради ва термофил шароитда 2-3 маротабага ошади. Метаноген бактерияларнинг ривожланиши учун бижғийдиган муҳит чумоли ва сирка кислоталари, водород, карбонат ангидриди ҳамда олтингугурт ва азот манбалари, H₂S ва аммиак сақлаши керак.

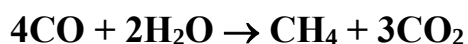
Ҳозиргача 25 дан ортиқ метан ҳосил қилувчи бактериялар аниқланган бўлиб, улар бир-бирларидан морфологиялари (думалоқ, спиралсимон, ипсимон ва ҳ.к.) билан фарқ қиладилар.

Анаэроб шароитдан ташқари жараён кетиши учун қоронғулик, нейтрал ёки жуда ҳам кам бўлган ишқорий муҳит (рН-8,0) бўлиши шарт. Барча, шу кунгача аниқланган метаноген бактериялар керакли энергияни водороднинг оксидланиши ҳисобидан оладилар.

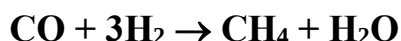
Водород акцептори вазифасини карбонат ангидрид бажаради:



Метаноген бактерияларнинг баъзилари водород акцептори сифатида СО дан фойдаланадилар:



ёки



Юқорида кўрсатилган реакцияларнинг барчасида энергия чиқарилади. Ҳар хил бирикмалардан метан ҳосил бўлиши турли хил тезликда амалга ошади. Охирги даврларда метаноген бактериялар жуда яхши ва ҳар томонлама чуқур ўрганилмоқда. Биринчи навбатда бу уларни табиий газлар генезисида ҳал қилувчи роли борлиги билан тушинтирилади.

1990 йилдаги хабарга кўра Европада йирик (1000 м³ ва ундан кўпроқ) биогаз устқурмалари хусусий корхоналарда ва давлат секторларида 500 дан кўпроқ бўлган бўлса, АҚШ да ўша даврда ундан икки баробар кўпроқ бўлган. Бундай устқурмаларда асосан ҳар хил чиқиндилар (қишлоқ хўжалиги ва маиший хизмат чиқиндилари) қайта ишланган.

1985 йилда АҚШ да фақатгина ҳайвон чиқиндилари 250 млн. тонна бўлиб, унинг анаэроб метаногенези оқибатида 120 млрд.м³ метан тайёрлаш мумкин бўлган.

Биогаз устқурмалари тайёрлаш билан ҳозирги даврда дунёнинг жуда кўплаб компаниялари шуғилланадилар. Саноат устқурмаларининг ҳажми 10-1500 м³ оралиғида. Устқурмаларнинг конструкцияси унчалик мураккаб эмас. Улар икки қисмдан иборат:

биринчи- *герметик мустаҳкам, термобошқариладиган ферментёр, аралаштиргич, биомассани автоматик равишда киритиш ва чиқариб ташлаш учун мўлжалланган асбоблар билан жиҳозланган;*

иккинчи – *ушлагич, биогазни ушлаб қолувчи – газгольдер.*

Осиёнинг баъзи мамлакатларида (Хитой, Ҳиндистон, Непал ва ҳ.к.) электроэнергия етишмаганлиги учун биогаздан кенг фойдаланилади ва у жуда ҳам содда ускуналарда тайёрланади:

- ✓ чуқур қазилиб, унда анаэроб жараён кетиши учун шароит яратилади;
- ✓ ажралиб чиққан биогаз кичик бочкаларда сақланади ёки тўғридан-тўғри ишлатилади.

Хитойда бундай устқурмалар сони 50 млн. дан кўпроқ бўлиб, йилдан-йилга уларнинг сони ошиб бормоқда. Ҳиндистонда эса бундай устқурмалар бир неча миллиондан кўпроқни ташкил этади.

Биогаз ва биоўғит ишлаб чиқарадиган устқурмаларнинг унчалик катта бўлмаганлари, фермер хўжаликлари, чўпонлар ва чўлда ишловчилар учун жуда фойдалидир.

19.2. ФОТОСИНТЕЗ

Қуёш битмас, тугамас, энергия манбаи, унинг ергача етиб келадиган энергияси йилига 3×10^{24} кДж. ни ташкил этади. Шуни ҳам эслаб қолмоқ зарурки, шунча вақт мобайнида, қайта тикланмайдиган энергия манбаларидан (нефт, газ, тошкўмир) олинadиган энергия миқдори $2,5 \times 10^{22}$ кДж. ни ташкил этади.

Иссиқликдан ташқари қуёш энергияси ёрдамида фотосинтез каби ҳаётий зарур жараён амалга ошади. Инсон ҳаёти икки энергия манбаи билан: фотосинтез натижасида ҳосил бўлган ўсимлик биомассаси ва узок ўтмишда фотосинтез маҳсулоти бўлган иссиқлик энергияси ташувчилари муҳофаза қилиниб турилади. Бутун сайёрамиз миқёсида фотосинтезни маҳсулдорлиги ҳар хил ҳисоб китобларга қараганда, тахминан, йилига 120 дан 150 млрд. тонна ҳосил бўлган углеродга тенг бўлиб, улардан 6-8% озикланиш, иссиқлик ва қурилиш маҳсулотлари сифатида ишлатилади.

Кимёвий нуқтаи назардан фотосинтезни электронларнинг тўлқинланиши натижасида ҳосил бўлган энергия кўчиши ва ҳужайранинг фотосинтетик аппаратида ўзгаришига олиб келувчи оксидланиш-қайтарилиш реакцияларининг мураккаб бирин-кетинлиги оқибатида содир бўладиган жараён сифатида фараз қилиш мумкин.

Асл маънода фотосинтез - карбонат ангидриди ва сувдан ёруғлик энергияси ёрдамида органик бирикмаларнинг синтез бўлиши ва молекуляр кислороднинг ажралиб чиқиш жараёнидир.

Шундай қилиб, фотосинтезнинг асосий жараёни ноорганик моддаларнинг органик моддаларга айланишидир.

Содда қилиб, фотосинтез жараёнини қуйидагича белгилаш мумкин:



Фотосинтетик хусусиятига қараб, бутун мавжуд бўлган организмлар икки гуруҳга бўлинадилар:

1. Автотроф организмлар – ягона углерод манбаи сифатида углерод икки оксидини (карбонат ангидридни) ишлатадилар ва ундан, углерод сақловчи ҳужайра компонентлари “қурадилар”.
2. Гетеротроф организмлар – углерод ва энергия манбаи сифатида экзоген (ташқаридан олинadиган) органик бирикмалардан фойдаланадилар. Гетеротрофлар автотрофларга нисбатан кўпроқни ташкил этади. Тубан гетеротрофларнинг баъзи бирлари углерод икки оксидини ассимиляция қилиш хусусиятига ҳам эгалар. Аммо, уларни биомасса ҳосил қилишдаги роли унчалик катта эмас ва углеродга ҳисоблаганда 10% дан ошмайди.

Тирик организмларни классификация қилишни бошқа принципи – бу уларнинг энергия манбаларига бўлган муносабатларидир (48-жадвал).

48-жадвал.

Организмларнинг углерод ва энергия манбаларини ишлатишлари бўйича классификацияси

Организмлар	Углерод манбаи	Энергия манбаи	Электронлар донори	Мисоллар
Фото-литотрофлар	CO ₂	Ёруғлик	Ноорганик бирикмалар (H ₂ O, H ₂ S, S)	Юксак яшил ўсимликлар, сув ўтлари, фотосинтез қилувчи бактериялар
Фото-органотрофлар	Органик бирикмалар ва CO ₂	Ёруғлик	Ноорганик бирикмалар (H ₂ O, H ₂ S, S)	Олтингугурт сақламайдиган бактериялар ва тўқ қизил (пурпур) бактериялар
Хемо-литотрофлар	CO ₂	Оксидланиш-қайтарилиш реакциялари	Ноорганик бирикмалар (H ₂ O, H ₂ S, S)	Денитрификация қилувчи бактериялар
Хемо-органотрофлар	Органик бирикмалар	Оксидланиш-қайтарилиш реакциялари	Органик бирикмалар	Барча ҳайвон организмлари, баъзи бир микроорганизмлар

Кўпчилик организмлар фотолитотроф ва хемоорганотроф типига кирадилар. Қолганлари эса, уларнинг баъзи бир муҳим биологик жараёнларда (масалан, молекуляр азотни ютиш) қатнашишларига қарамасдан, кам тарқалган ҳаёт шакллари вакиллари ҳисобланадилар.

Хемоорганотрофлар аэроб ва анаэроб организмларга бўлинадилар. Аэроб организмларда электронларни атомал акцепторлари бўлиб, молекуляр кислород, анаэробларда эса – органик бирикмалар хизмат қиладилар.

Анаэроб организмлар факультатив (ихтиёрий) ва облигатларга (шарт бўлмаган) бўлинадилар. Шунинг ҳам эслаб қолиш зарурки, барча организмлар ҳам у ёки бу гуруҳага таълуқли бўлиб қолавермайдилар.

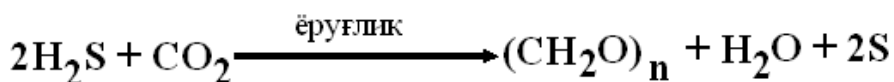
Бу фикрга яхши мисол бўлиб, юксак ўсимликларни киритиш мумкин, уларда фотосинтез ҳисобидан яшовчи хлорофил сақловчи ҳужайралар – автотроф, илдиз ҳужайралари эса гетеротроф ҳисобланадилар.

Эукариот организмлар сингари прокариотлар ҳам фотосинтезни амалга ошириш имкониятларига эга. Албатта, бундай ажойиб хусусият юксак ўсимликларга хосдир. Шунингдек, тубан эукариотлар – яшил, қизил ва бир ҳужайрали эвлена сув ўтларида ҳам фотосинтез қилиш хусусияти юқоридир. Прокариотлар орасида икки гуруҳ – яшил ва тўқ қизил (пурпур) ҳамда кўк-яшил сув ўтлари фотосинтезловчиларга кирадилар. Кейингилари ягона углерод манбаси сифатида CO_2 дан фойдаланадилар. Шунини алоҳида таъкидлаш лозимки, баъзи-бир микроорганизмлар ва кўк-яшил сув ўтларида фотосинтезни амалга ошириш тезлиги, юксак ўсимликларникидан қолишмайди.

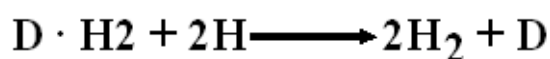
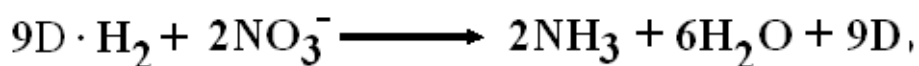
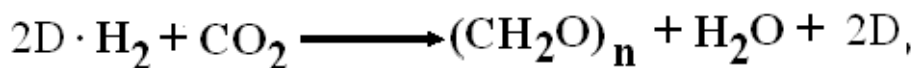
Бактериялардан ташқари, кўпчилик фотосинтез қилувчи организмлар водород атомлари ва электронлар донорлари сифатида сувдан фойдаланадилар. Бу гуруҳ организмларда фотосинтез қуйидаги тенглама асосида белгиланади:



Фотосинтез қилувчи бактерияларнинг катта қисми облигат анаэроблар ҳисобланадилар. Шунинг учун ҳам уларни кислород билан боғланиши (контакти) фотосинтез жараёнини тўсиб қўяди. Бактериялар донор сифатида ноорганик бирикмаларни ишлатадилар, жуда ҳам кам ҳолатларда органик бирикмалар: изопропил спирти, сут кислотаси ва бошқалардан фойдаланиш мумкин. Масалан, олтингугуртли яшил бактериялар шакарни H_2S ва CO_2 дан қуйидаги реакция асосида синтез қиладилар:



Электронлар акцепторлари сифатида CO_2 дан ташқари бошқа бирикмалар ҳам ишлатишлари мумкин. Масалан, нитрат ва водород ионлари. Фотосинтез қилувчи азотфиксаторлар электронлар акцепторлари сифатида карбонат ангидриди ёки молекуляр азотни ишлатадилар. Қуйида ҳар хил электронларнинг акцепторлари иштирокида ўтадиган фотосинтез жараёнини қўшма тенгламаси келтирилган:

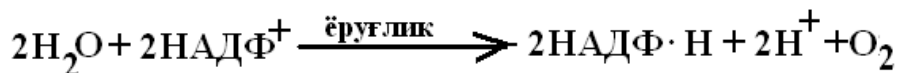


Фотосинтез қилувчи хужайраларнинг хлоропластлари сунъий акцепторлар иштирокида (масалан, феррицианидлар иштирокида) кислород ажратиб чиқарадилар, у эса акцепторларни қуйидаги реакция типига қайтарилишига олиб келади:



бу ерда: А-водород атомининг (ёки электронларнинг) акцептори ҳисобланади; $\text{A} \cdot \text{H}_2$ —унинг қайтарилган шакли.

Сунъий акцептор ўрнига, шу мақсадда НАДФ ишлатилиши мумкин, у ҳам ёруғликда қайтарилиб, кислород ажралиб чиқишига олиб келади:



Фотосинтезни ёруғлик ва қоронғулик даври борлиги катта аҳамиятга эга. Ёруғлик энергияси ҳисобидан нафақат НАДФ қайтарилади, балки АДФ ни фосфорланиб АТФ ҳосил бўлади. Шундай қилиб ёруғлик энергияси кимёвий энергияга айланади ва НАДФ-н ва АТФ молекулаларида тўпланади. Бу энергия карбонат ангидрид газини қайтарилиш реакцияларида ишлатилади.

Фотосинтез жараёнини замонавий кўринишига асос бўлиб, *Кальвиннинг* фотосинтезловчи организмлар хужайраларида углерод ассимиляциясини аниқлаш бўйича олиб борган изланишлари хизмат қилади.

Бу эса ўта мураккаб биокимёвий реакциялар асосида ассимиляция дастлабки маҳсулотлари — карбон сувларни ҳосил бўлишини тушинтириб беради.

CO_2 ва сувдан ташқари ҳалқаси биоэнергетик жараёнларни иштирокчилари бўлиб, ўсимликларда ва сув ўтларида пиридиннуклеотидларни, АДФ ни қайтарилиши, бактерияларда эса НАД ва АТФ хизмат қилади.

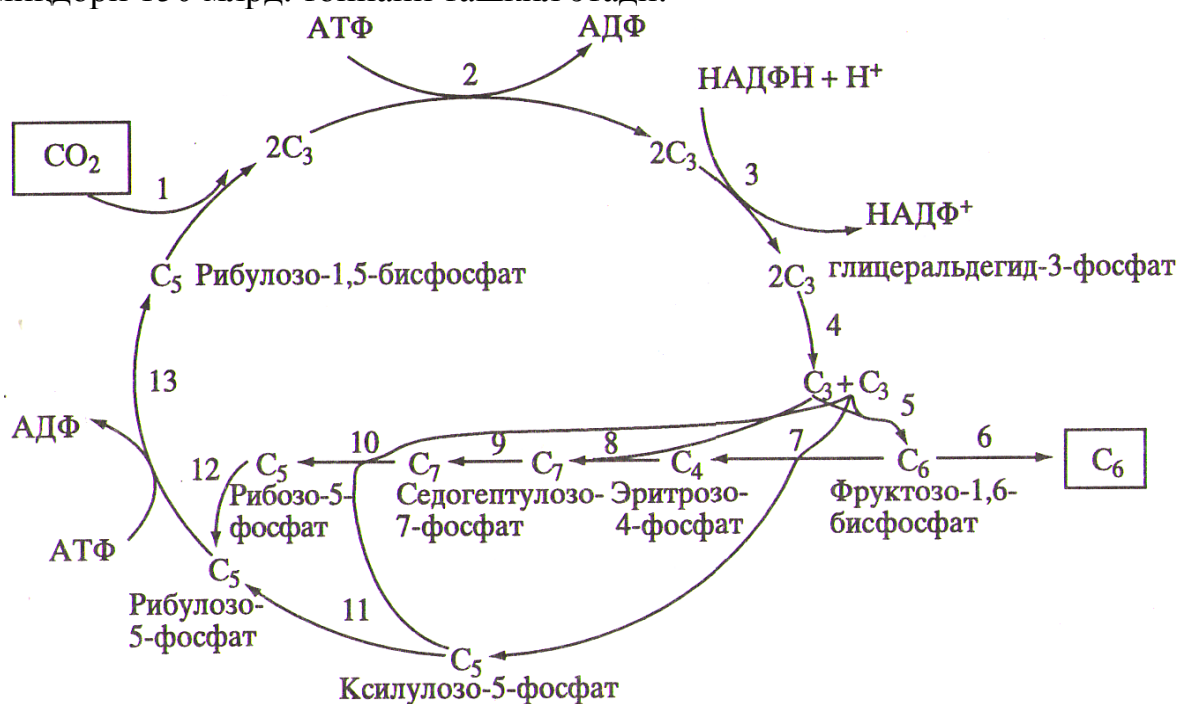
Шартли равишда *Кальвин* ҳалқаси *Кребс* ҳалқасига мурожаат сифатида қаралиши мумкин. Агар *Кребс* ҳалқасида карбонсувлар ва бошқа энергияга бой бўлган углерод манбаларини оксидланишидан ҳосил бўлган энергия кимёвий потенциал сифатида, қайтарилган пиридиннуклеотидлар ва АТФ кўринишида тўпланадиган бўлса, *Кальвин* ҳалқасида мана шу бирикмаларни оксидлаши даврида ажралган энергия карбонсувларни молекулалари ичида энергияга айланадилар.

Фотосинтез реакцияси яхши ўрганилган. Бу реакциялар хлоропластларда, карбонат ангидриди ютилиши билан ўтиши маълум. Охирги йилларда фотосинтез жараёнига нисбатан биокимёгарларнинг тасавури электронларни ташқарида яхши таниш бўлган, қатор фотохимёвий реакциялардан ташкил топган *Z* —чизма қиёфасида намоён бўлди.

Карбон сувларнинг карбонат ангидриди газини қайтарилиши кўпчилик эукариот организмлар учун кўп босқичли ферментатив жараён ҳисобланади. Углероднинг бу йўли қайтарилувчи пентозафосфат ҳалқаси, *Кальвин-Бенсон-Басем* ёки углеродни фотосинтетик ассимиляциясининг C_3 -йўли деб аталади. Бу ҳалқада иштирок этувчи бирикмалар ва реакцияни кетма-кетлиги аниқланган. Шунингдек, барча оралиқ маҳсулотлар ва бу жараёнда иштирок этувчи ферментлар ҳам аниқланган.

Жараён ҳалқа табиатли ўтиши ҳам аниқ. Бу жараёнга хос бўлган реакциялар 59-чизмада акс эттирилган. Углеродни фотосинтетик ассимиляциясининг бошқа йўли ҳам маълум, унда карбонат ангидриди газининг бирламчи акцептори бўлиб тўрт углерод атомига эга бўлган органик кислоталар хизмат қилади. Шунинг учун ҳам бу йўл C_4 -фотосинтез деб ҳам юритилади.

Цитокимёвий текшириклар асосида C_3 ва C_4 фотосинтез йўлларига эга бўлган ўсимликларни фотосинтезни молекуляр механизми асосида классификация қилишга асос бўлди. Фотосинтез ҳисобидан организмни углерод ва энергия билан таъминлаб турилишини ва унда кислород ажралиб чиқишини йўналтирилиши жуда катта воқеа бўлди. Юқорида таъкидланганидек, фотосинтез орқали тўпланадиган углеродни йиллик миқдори 150 млрд. тоннани ташкил этади.



59-чизма. Карбонат ангидриди газининг фотосинтетик ассимиляциясини чизмаси (Кальвин бўйича)

Кальвин ҳалқаси ферментлари: 1-рибулозафосфаткарбоксилаза; 2-фосфоглицераткиназа; 3-триозофосфатдегидрогеназа; 4-триозофосфатизомераза; 5-фруктозобисфосфатальдолоза; 6-фруктозобисфосфатаза; 7-транскетолаза; 8-трансальдолаза; 9-седогептулозобисфосфатаза; 10-транскетолаза; 11-рибулозофосфатэпимераза; 12-рибулозофосфатизо-мераза; 13-фосфорибулокиназа.

Ер юзига куёш томонидан ерга йўналтирилган радиацияни ярмига яқини етиб келади. Мана шундан атиги 0,4% биомасса ҳосил қилиш учун ишлатилади, холос. Юзаки қараганда жуда ҳам кам кўринган, фотосинтезни маҳсулоти сифатида тўпланган бу энергия, ҳар йили $4,19 \times 10^{17}$ кДж озод энергия тўплайди. Фотосинтезни энергия миқдори бўйича ҳосилдорлиги фойдали қазилмаларникига нисбатан анча кўпроқдир. Шунинг билан бирга фотосинтез, ҳосилдорлик учун асос, атмосферани кимёвий таркибини бошқариб турувчи ва шу орқали ерда ҳаётни борлигини таъминловчи муҳим экологик омилдир.

Фотосинтетик жараёнларни тезлигига ҳар хил омиллар, масалан CO_2 ни миқдори таъсир кўрсатиб туради. Дала майдонлари шароитида мана шу карбонат ангидриди бу жараёни бошқариб турувчи бош омил эканлиги исботланган. Фотосинтезни маҳсулдорлигига атмосферани экотоксикантлар билан ифлосланиши салбий таъсир кўрсатади.

Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, фотосинтез жараёнида газларни алмашинуви, CO_2 ютилиши ва O_2 ажралиб чиқиши билангина чегараланмайди. Ҳозирги даврда фотосинтез жараёнида бошқа бирикмалар, масалан, алифатик учувчан тўйинмаган углеводородлар – изопрен (C_5H_8) ажратиб турувчи 200 дан ортиқ ўсимлик турлари аниқланган. Изопренни жадал ажралиб туриши учун ёруғликнинг аҳамияти катта. Изопреннинг синтезида ассимиляция қилинган CO_2 нинг углерод атоми тўғридан-тўғри иштирок этиши аниқланган. Шунинг учун ҳам изопренни синтезида бирламчи карбоксилланиш реакцияси катта аҳамиятга эга.

19.2.1. Сайёрамизнинг фотосинтетик маҳсулдорлиги

Бутун экосистема даражасида, фотосинтез ёрдамида амалга ошувчи углеродни фиксацияси, тахминан “тоза бирламчи ҳосилдорлик”га тенг бўлиб, углеродни ҳақиқий фиксациясининг интегралли, минус нафас олиш ва ўсимликни сақлаш учун кетган харажатларга тенгдир.

Баъзи-бир ҳисоб китобларга қараганда тоза бирламчи ҳосилдорликни (ўсимлик биомассасини) сайёрамизнинг алоҳида компонентлари орасида бўлиниши қуйидагича: қурғоқлик учун -120×10^9 т қуруқ биомассалари йилига; океан учун – 55×10^9 т/йилига. Бошқача ҳисоб китоблар асосида олинган шу кўрсаткичлар -10% дан +40% гача фарқланиб туради ва ҳақиқатга яқинроқ бўлса ажаб эмас.

Дунёни сув бассейни (ҳавзалари) майдони қуруқ ер майдонига нисбатан 2,5 маротаба кўпроқ бўлишига қарамасдан фотосинтетик тикланиб турадиган биомассанинг миқдори ерда, океанникига нисбатан тахминан уч маротаба кўпроқ. Баҳолашнинг ҳар хил йўллари билан олиб борилганлигига қарамасдан 49-жадвалда келтирилган маълумотлар ўта тахминий, чунки, бунда уй ва ёввойи ҳайвонлар истеъмол қиладиган ўсимлик биомассасининг қолдиқлари эътиборга олинмаган (49-жадвал).

Фотосинтетик қайта тикланидиган биомассалар миқдори

Ўсимлик типи	Майдон – 10⁶ км²	Ўртача ҳосилдорлик С+м²/г қуруқ биомасса, йилига
Тропик ўрмонлар	24,5	2016
Мўътадил зоналар	12,0	2142
Тайга	12,0	800
Ўрмончўл	8,5	706
Саванна	15,0	900
Ўтзор	9,0	600
Тундра + Алпий зоналари	8,0	140
Чўл	42,0	40
Маданийлаштирилган зона	14,0	650
Ботқоқлик + чиқинди сувлар	4,0	1700

Шунингдек, юқоридаги жадвалда келтирилган рақамларда фермерларнинг ички эҳтиёжлари учун ишлатиладиган, савдога чиқарилмаган маҳсулотлар миқдори ҳам ҳисобга олинмаган. Нима бўлганда ҳам бу рақамлар ва кўрсаткичлар жуда ҳам эътиборни тортадиган ҳолатдир. Бунинг устига, инсоният ҳар хил шаклда йилига 12×10^9 т. қуруқ қайта тикланидиган фотосинтез маҳсулотларини истеъмол қилишини ва унинг энергетикаси $0,24 \times 10^{21}$ кДж/йил ни ташкил этишини ҳисобга олсак-чи. Дарҳақиқат, бошқа ҳисобга киритилмайдиган йўқотишлар ҳам бор (чўлланиш, сув ҳавзаларининг қуриши, шаҳарсозлик (урбанизация) ва ҳ.к.).

Бор-йўғи 150 йил илгари фотосинтетик қайта тикланидиган биомасса, инсониятни иссиқлик, ёруғлик, саноат-ишлаб чиқариши, озиқ-овқат тайёрлаш ва бошқа эҳтиёжлари учун сарфланадиган энергия билан таъминлай олар эди. Аммо, ривожланган мамлакатларда нефт, тошқўмир, табиий газнинг борлиги ўсимлик биомассасидан фойдаланишни тубдан ўзгартириб юборди. Шундай қилиб, қайта тикланмайдиган иссиқлик энергиясидан фойдаланиш ривожланишнинг янги босқичини бошлаб берди ва бу жараён ҳозиргача давом этиб келмоқда.

Охирги 100 йилда қазилма бойликларни иссиқлик энергиясидан фойдаланиш ўртача йилига 4,35% га ошиб борди. Энергиянинг альтернатив манбаларини топиш йўлида турли хил илмий изланишлар олиб борилмоқда: ядронинг парчаланиш занжирли реакциясидан чиққан энергиядан фойдаланишдан бошлаб, фотосинтетик қайта тикланидиган ўсимлик биомассасидан (суюқ иссиқлик) фойдаланишгача.

Нима бўлганда ҳам бугунги кунга келиб, энергия манбаларини қисман ўрнини босаолаётган бўлсада, энг кенг тарқалган энергия манбаи тайёрлаш технологияларини яратишга киришиб кетилди. Бу технология

қуйидагилардир: кўп йиллик дарахтларни биомассасини майдалаб, уни лигнинсизлантирилади (ҳар хил физикавий ёки кимёвий усуллар ёрдамида), олинган масса таркибидаги целлюлозани глюкозагача парчаланади (кимёвий ёки ферментация йўли билан) ва ниҳоят ҳосил бўлган глюкозани спиртгача бижғитиб, уни дистилляция усулида концентрлаб, энергия манбаи сифатида ишлатишга тавсия этади.

Бу технология билан ёнма-ён биотехнологияга оид яна бир неча технологиялар ишлаб чиқилди:

ўсимлик маҳсулотларини делигнификация қилиш (бу технология бошқа мақсадлар учун ҳам ишлатилиб келинмоқда);

- ✓ *целлюлозани ферментатив парчаланишини механизми яратилди (бу жараёнда бир нечта гидролитик ферментлар иштирок этиши аниқланди);*
- ✓ *целлюлоза ферментининг ўта фаол продуцентлари яратилди, улар орасида аэроб ва анаэроб шароитда фаолият олиб бораётганлари, эукариот ва прокариот организмлар бор;*
- ✓ *целлюлоза ферменти синтези учун жавобгар бўлган ген ажратиб олиниб, бир микроорганизмдан бошқасига ўтказиш шароитлари ишлаб чиқилди;*
- ✓ *пентоза ва гексозаларни бижғиш шароитлари яратилди ва ҳ.к.*

Ўсимлик биомассасига бой бўлган мамлакатларда (Россия, Канада, Финляндия ва бошқалар, шулар қаторига Ўзбекистонни ҳам киритиш мумкин, чунки мамлакатимизда йилига 4 млн. тоннадан кўпроқ ғўзапоя етиштирилади ва ундан фойдаланиш усуллари ҳамон эскичасига қолиб кетмоқда.) суюқ энергия манбаини олиш технологиясидан фойдаланилмайдиган бўлсада, бу технологияни альтернатив деб қараш лозим. Чунки, бу технологиядан бир қатор мамлакатларда кенг фойдаланилиб келинмоқда. Масалан, АҚШ да газохол (10% этанол ва 90% бензин аралашмаси), Бразилияда 50% бензинни этанолга алмаштириш бўйича илмий-амалий ишлар жадал олиб борилмоқда.

Мамлакатни тупроқ ва иқлим шароити, суюқлик энергияси тайёрлаш биотехнологиясини кенг кириб келишига ёрдам беради:

биринчидан, *Бразилияда ишлатилмай ётган ҳайдаладиган майдон жуда кўп, бу эса мўътадил маҳсулот тайёрлаш тизимини яратишга ёрдам беради;*

иккинчидан, *фотосинтетик қайта тикланадиган биомассанинг маҳсулдорлиги тропик шароитда, бутун сайёрамиз бўйича энг баланд ҳисобланди.*

Шу муносабат билан яшил контингент – Австралия жуда катта қизиқиш уйғотади. Иқлим шароитини ҳисобга олган ҳолда, катта майдон

ва унчалик кўп бўлмаган аҳоли (15 млн.), худди шу мамлакатда ўсимлик биомассасидан биоиссиқлик тайёрлаш қанчалик долзарблигини кўрсатади.

Мутахассисларнинг фикрларича ғалла тайёрлаш тизимини бузмасдан туриб, бу ерда йилига 50×10^6 т. (қуруқ оғирлик) лигноцеллюлоза материаллари тўплаш ва ундан 17×10^6 т. (қуруқ оғирлик) бижғувчи материал тайёрлаш мумкин. Аммо, шуни ҳам эслаб қолиш лозимки, ҳар қандай қулай шароитда (мамлакатда) фотосинтетик қайта тикланадиган ўсимлик биомассасидан спирт тайёрлаш, тошкўмрдан метанол тайёрлашга нисбатан икки маратоба қимматроқ тушади.

Анъанавий, қайта тикланмайдиган иссиқлик манбаларидан қанчалик иқтисодий фойдасиз бўлишига қарамасдан, иқтисодий ривожланган мамлакатларда ўсимлик биомассасидан иссиқлик манбаи тайёрлаш тобора ривожланиб боравериши лозим.

Ўсимликлар CO_2 нинг концентрацияси ошиб боришига ҳар хил муносабат билдирадилар. C_4 -ўсимликлар ёки карбоксилланишни бирламчи реакцияси тўрт углерод атомига эга бўлган маҳсулот синтез қилувчи (масалан, қахрабо-сирка кислотаси), ўсимликлар (маккажўхори) сувли шароитда CO_2 ни концентрациясини ошишини унчалик сезмайди. Тажриба ўтказиш ўта мураккаб бўлганлиги сабабли, дала шароитида C_3 ва C_4 – ўсимликлар CO_2 миқдорини ошишига қандай муносабатда бўлишини кузатиш қийин.

Бундай қийинчиликлардан бири баъзи-бир ўсимликларда CO_2 концентрациясининг ошишига фотосинтез тезлигини мослашув (адаптация) ўзгаришлари намоён бўла бошлайди. Аммо, бундай ҳодисалар универсал характерга эга эмас, масалан, буғдой, тамаки ўсимлиги ва бодринг CO_2 миқдорининг ошишига фотосинтез тезлиги кучайиши билан жавоб қайтарганлар, кейин икки ҳафта оралиғида, одатдаги атмосферага тенг даражага туширганлар.

Ўсимликларда жуда кам учрайдиган, бунга қарама-қарши реакция, яъни фотосинтез интенсивлигини тўғридан-тўғри пасайиши – бу ўсимликларни фотосинтезини жуда қисқа вақтга ҳам кучайтириш имконияти бўлмаганлиги билан тушунтирилади.

Углерод икки оксиди (карбонат ангидриди) атмосферани ҳолатини аниқ кўрсаткичи ҳисобланади. Йилдан-йилга атмосферага чиқариладиган экотоксикантларнинг миқдори ошиб бориши (энергия ташувчиларнинг ёқилиши, транспортнинг кўпайиб бориши, индустриал чиқиндилар миқдорининг (кимёвий, металлургия заводи ва ҳ.к.) ошиб бориши), шу билан бир вақтнинг ўзида сайёрамизда ўрмонлар майдонининг тбора қисқариб бориши атмосфера таркибида CO_2 миқдорининг ошиб боришини башорат қилишга асос бўлиб хизмат қила олади.

Аммо, 25 йил мобайнида кузатиб борилган CO_2 амплитудасининг йиллик ҳалқаси, яхшиямки, атмосфера таркибидаги CO_2 нинг миқдори ўзгармаганлигидан далолат беради.

Бу ҳодисани ўсимликларнинг CO_2 ютиш имкониятларининг ошиб бориши, яъни фотосинтез жараёнини тезлашиши билан боғлаб тушинтириш мумкин. Ҳеч шубҳа йўқки, бу жараён жуда кўп омилларга боғлиқ. Афсуски, фотосинтезга таъсир этиш ўта фаоллик билан олиб борилаётган бўлсада у ҳақдаги билимларимиз анчагина саёздир.

Фотосинтезни, ўсимликларнинг углерод билан озикланиш жараёни сифатида ҳам қараш мумкин. Шундай экан, унинг функцияси фақатгина қуёш энергиясини тўплаш билангина чегараланиб қолмайди.

Фотосинтезнинг маҳсулотлари бўлиб, ёруғликда CO_2 , азот ва олтингугуртдан ҳосил бўладиган қатор органик моддалар ҳисобланади. Бу жараён хлоропластларда жойлашган (тўпланган), у жойда ўтадиган фотохимёвий реакциялар натижасида, энергия йиғувчи моддалар тўпланадилар ва уларни ҳужайра, кейинчалик CO_2 ассимиляциясига ва қатор бошқа жараёнларга сарфлайди.

Ҳозирги вақтда, фотосинтезнинг ягона маҳсулоти карбон сувлар деган фикр эканлиги ҳақиқатга тўғри келмайди. Фотосинтез натижасида карбонсувлар қатори, органик кислоталар, аминокислоталар, пептидлар, оксил моддалар, ёғлар ва бошқа бирикмалар синтез бўлади.

Фотосинтетик аппаратнинг фаолиятини ўрганиш асосида тўпланган материаллар асосида, биотехнологик характерга эга бўлган истиқболли вазифаларни режалаш мумкин. Бундай вазифаларнинг ечими сув фотолизи механизмидан амалиётда фойдаланиш, органик бирикмаларнинг синтези билан боғлиқ бўлади.

Бундай механизмларнинг ечилиши ва аниқланган қонуниятларнинг ишлатилиши инсониятга водород сингари экологик тоза иссиқлик манбаи ишлаб чиқариш имкониятини яратади.

Мана шулардан келиб чиққан ҳолда кейинги вақтларда фотосинтез қилувчи микроорганизмларга ва одатдаги шароитда сувни водород ва кислородга парчалаб бераоладиган ҳужайрасиз фермент тизимини янада чуқурроқ ўрганишга алоҳида эътибор берилмоқда.

Биологик йўл билан водород олиш бўйича кўпгина мамалакатларда ҳар томонлама изланишлар олиб борилмоқда. 130 дан ортиқроқ водород ҳосил қилувчи, фотосинтез қилувчи организмлар аниқланган. Булар орасида аэроб ва анаэроб хематроф бактериялар, тўқ қизил (пурпур) ва яшил фототроф бактериялар, цианобактериялар, ҳар хил сув ўтлари мавжуд. Ҳар хил фоторецепторлардан фойдаланадиган фототизимлар моделлари яратилган.

Биотехнологиянинг вазифаларидан бири – водород ҳосил қилувчи, самарали ва мўътадил фототизимлар яратишдир.

19.2.2. Фотосинтез орқали қайта тикланадиган ўсимлик полимерлари

Миллионлаб йиллар давомида ўсимликларнинг карбон сувлар синтез қилишлари ва улардан хилма хил органик бирикмалар ҳосил бўлишига қарамасдан, ерда ҳеч қачон органик бирикмаларнинг керагидан ортиқча миқдорда тўпланиб қолганлиги кузатилмаган. Фақатгина ўсимлик массасининг кичик қисмигина, қайтарилган ҳолатда, анаэроб шароитда тошқўмир, табиий газ ва нефт кўринишида сақланиб қолган.

Бу органик бирикмаларнинг синтези, уларнинг ўзгаришлари билан ҳамоҳанг кечишини, айниқса бу жараёнлар аэроб шароитда, молекуляр кислород иштирокида жадал амалга ошишидан дарак беради.

Динамик алоҳида ўралган тизим сифатида, сайёрамизга катта миқдорда ҳар қандай кимёвий элемент ташқаридан кириб кела олиши қатъиян мумкин эмас. Шунинг учун ҳам сайёрамизнинг углерод потенциали қанчалик катта бўлишига қарамасдан, қандайдир даражада у бари-бир чегараланган.

Мутахассисларнинг фикрича, урбанизация ва индустриализация жараёнларининг жадал ривожланиб боришларига қарамасдан, сайёрамизнинг фотосинтез қилиш потенциали, энг камида 50% га кўпаяди.

Бунга углероднинг икки терминал ҳолати: CO_2 ва органик бирикмалар орасида янада фаолроқ айланишини жадаллаштириш орқали эришиш мумкин.

Бу жараёни (углерод айланишини) чегараловчи босқич шак-шубҳасиз – фотосинтездир. Юқорида кўрсатиб ўтилган ҳисоб китоблардан келиб чиққан ҳолда, фотосинтез жараёнини жадаллаштириш, орқали қайта тикланадиган ўсимлик маҳсулотларини йилига тахминан 75 млрд. тоннага кўпайтиради деган фикрга келиш мумкин.

Ўсимлик массасининг 70-80% ини биополимерлар ташкил этиши маълум. Булар асосан глюкоза (целлюлоза) ва пентоза (гемицеллюлоза) ларнинг поликонденсация маҳсулотлари ҳисобланади.

Замонавий нуқтаи-назарга асосан, ўсимликларнинг фотосинтезловчи аппаратининг фаоллигини кўтариш, қуйидаги шарт-шароитларга риоя қилиш орқали амалга ошиши мумкин:

- ✓ *баргларнинг умумий юзасини кенгайтириш;*
- ✓ *фототизимларни бошқаришда гормонлардан фойдаланиш;*
- ✓ *хлоропластлар сонини ошириш;*
- ✓ *фототизмлар орасида электронлар транспортини тезлаштириш;*
- ✓ *фотонафас олишининг тезлигини пасайтириш ва ҳ.к.*

Бу вазифаларнинг бажарилиши – фотосинтезнинг жадаллигини кучайтириш учун асос бўлиб хизмат қилган бўлар эди. Аммо, фотосинтезнинг маҳсулдорлигини чегаралаб қўядиган факторларнинг ролини ҳам ҳисобга олишга тўғри келади. Уларнинг таъсири ички фотобиологик чегараловчи ўзига хослик ҳамда атроф муҳитнинг ўзига хос омиллари: ҳосилдорлик индекси, ёруғлик, CO_2 , сув, харорат, озика

моддалари, фотонафас олиш тезлиги, зараркунандалар, касалликлар ва ҳ.к. билан аниқланади.

Шунинг учун ҳам фотосинтезни кучайтирадиган универсал рецепт йўқ. Шунга қарамасдан баъзи бир натижаларга эришилган. Масалан, кўплаб тез ўсадиган ўсимликлар навлари яратилган, улардан баъзилари саноат нуқтаи назаридан катта аҳамиятга эга. Масалан, тол ўсимлигининг йилига 10-12 м ўсадиган навлари яратилган, уларнинг биомассаларида лигнин миқдори жуда ҳам кам (3-4%). Кўп йиллик ўсимликлар сингари бу навни катта майдонларда экиб, уларнинг плантациялари ташкил этилса, албатта катта саноат аҳамиятига эга бўлади. Агар бугунги кунда сайёрамизнинг ҳар бир вакилига йилига 40 т. фотосинтез маҳсулотлари (қайта тикланадиган ўсимлик полимерлари) етиштирилишини эътиборга олинса, бундай субстратларнинг аҳамияти ўз-ўзидан маълум бўлади.

Кимёвий синтез йўли билан олинадиган углеродли бирикмаларнинг табиатда айланишини алоҳида муаммо сифатида қараш лозим.

Маълумки, инсон қўли билан яратилган қатор паст молекулали (детергентлар, ядохимикатлар ва ҳ.к.) ёки юқори молекулали (полиуретанлар, полистироллар, эпоксидлар ва ҳ.к.) бирикмалар бутунлай микробиологик ўзгаришларга учрамайдилар ёки жуда ҳам секинлик билан парчаланадилар. Бундай бирикмаларни йўқотишнинг ягона йўли – ёқишдир. Синтетик химикатларни тайёрлаш, уларнинг таркибидаги моддаларни (углерод, азот, олтингугурт, фосфор), ўзларига хос бўлган айланишдан четлатиб қўяди (бор элементлар полимер кўринишида бўлганлиги сабабли парчаланмайди, демак, элемент табиатда айланмайди).

Йилига бир неча юз миллион тонналаб кимёвий синтез орқали тайёрланадиган полимерлар ишлаб чиқарилаётганлигини ва бу янада кенгайиб бораётганлигини ҳисобга олган ҳолда инсониятнинг “кимёвий” фаолиятини алоҳида назоратга олишни талаб қилади.

а) Целлюлоза

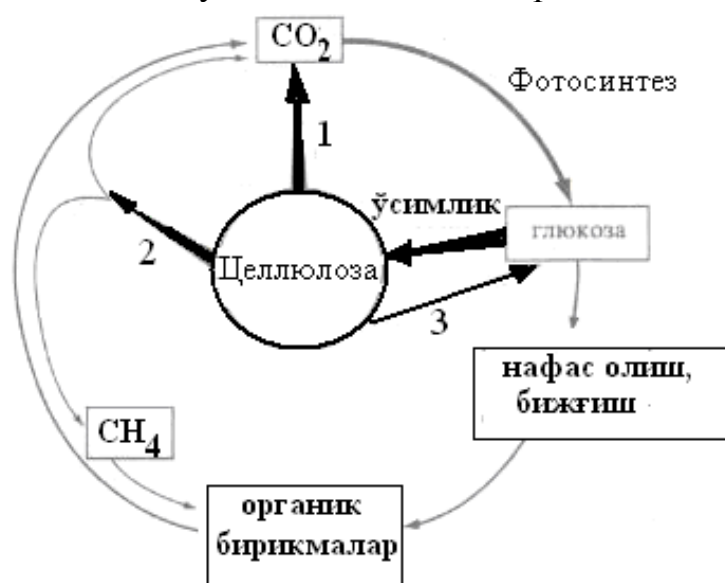
Целлюлоза – *табиатда энг кўп тарқалган биополимердир*. У ҳар қандай ўсимлик материалларининг асосини ташкил этувчи компонент ҳисобланади. Ўсимлик биомассасида целлюлозанинг миқдори ўртача 50% ни, кўп йиллик ўсимликларда эса 60-70% ни ташкил қилади. Целлюлоза бир бирлари билан β -(1→4)-глюкозид боғлари билан боғланган D-глюкозалардан ташкил топган.

Целлюлозадаги глюкозанинг полимерланиш даражаси 10000 дан кўпроқ, молекуляр оғирлиги эса 1,5 млн.Дальтон. У сувда эримайдиган полимер ҳисобланади. Ўсимликларда, полимер занжирлар табиий ҳолатда фибринга ўхшаш жойлашган. Водород боғларининг кўплиги ва уларнинг тузилиш характери аморф қисм билан алмашиб турган кристалл қисмлари пайдо бўлишини белгилайди.

Ҳисоб китобларга қараганда, йилига қайта тикланидиган (фотосинтез йўли билан) целлюлозанинг миқдори сайёрамиз бўйича 100-140 млрд. тоннани ташкил этади. Бу дегани, ер юзидаги ҳар бир инсонга йилига 25 тонна целлюлоза тўғри келади. Қуйидаги чизмада (60-чизма) углерод айланишида целлюлозанинг оралиқ ўрни акс эттирилган.

Ҳозирги вақтда целлюлозани қайта ишлаш ва унинг ҳосилаларини олиш бўйича катта технологик ишлар амалга оширилмоқда. Целлюлоза крахмалга ўхшаб, кимёда, биологияда, тиббиётда, саноатнинг турли хил тармоқларида, озиқ-овқат саноатида, илмий изланишларда кенг ишлатилмоқда. Саноат миқёсида целлюлозадан глюкоза тайёрлаш йўлга қўйилган.

Саноат шароитида целлюлоза сақловчи маҳсулотларни-ёғочни гидролиз қилиш икки хил йўл билан амалга оширилади.



60-чизма. Углерод айланишида целлюлозанинг иштироки

1-микробиологик оксидланиш; 2-анаэробли айланиш; 3-ферментатив парчаланиш.

Биринчи – *анъанавий минерал (хлорид ва олтингугурт) кислоталари билан гидролиз қилиш.*

Бу йўл билан олинган гидролизат мураккаб аралашма бўлиб, у таркибида глюкоза, пентозаларнинг аралашмаси ва спиртлар (кумарин, синап, кониферил спиртлари) сақлайди. Бу аралашмани қайта ишлаш орқали гидролиз спирти ва ачитқи замбуруғини биомассаси (ем ачитқиси) олинади. Бу технологиянинг ўзига яраша камчиликлари мавжуд:

- ✓ кислотага чидамли, катта ҳажмли махсус идишлар талаб қилади;
- ✓ иш шароити жуда ҳам оғир;
- ✓ экологик ифлосланиш манбаи ҳисобланади.

Мана шу камчиликларга қарамасдан бу технология кўплаб мамлакатларда ханузгача ишлатиб келинмоқда. Яқинларгача бундай завод мамлакатимизнинг Янгийўл шаҳрида ҳам фаолият кўрсатган, аммо

махсулот (дарахт чиқиндиси) етишмаганлиги сабабли, бу заводни фаолияти тўхтатилган.

Иккинчи технология (ҳозирча кенг ишлатилганича йўқ) – бу ферментатив технологиядир. Целлюлозани гидролиз қилувчи целлюлоза комплекси энг камида уч ферментдан:

1. β -эндо-(1-4)-глюкоза молекуласи ичидаги β -(1-4)-боғларни тартибсиз узадиган фермент - β -эндо (1-4)-глюканазалар;
2. Экзо-(1-4)-глюкоза ёки целлобиогидролаза-целлоолигосахаридларни редуцирланмаган охиридан дисахарид целлобиозани кесиб ташловчи фермент;
3. β -глюкозидаза – паст молекулали (сувда эрувчи) целлоолигосахаридларни редуцирланмаган охиридан глюкоза молекуласини кесиб ташловчи ферментлардан иборат бўлади.

Целлюлоза ферментларини узоқ вақт давомида, чуқур ўрганилиб келинаётганлигига қарамасдан, уларнинг таъсир механизмлари ҳақида тўлиқ бир тўхтамга келинмаган. Гап шундаки, ҳар хил тоқсономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизмлар бир-бирларидан солиштирма фаоллиги, субстрат спецификлиги ва қатор бошқа хусусиятлари бўйича тубдан фарқ қиладиган целлюлозалар синтез қиладилар. Илмий адабиётларда кристалл целлюлозани ферментатив гидролизининг бир неча вариантлари чоп этилган. Энг кўпроқ ишлатиладигани қуйидагича:



Целлюлозани парчаловчи ферментлар индуцибел ферментлардир. Уларни аэроб ҳамда облигат анаэроб микроорганизмлар ҳам синтез қиладилар. Анаэроб шароитда целлюлозани парчаланишида микроскопик замбуруғлар, айниқса: *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Allesheria*, *Geotrichum* ва бошқалар фаол иштирок этадилар. Целлюлозани парчалайдиган бактериялардан *Cellilomonas*, *Sporangium*, *Archangium* ва бошқалар маълум. Анаэроб шароитда целлюлоза термофил бактериялар – *Clostridium thermocellum* ва кўплаб мезофил бактериялар ёрдамида фаол парчаланadi. Бактерияларда целлюлозани парчаланишини охирига етказувчи β -глюкозидаза ферменти камроқ учраганлиги сабабли, целлюлоза паст молекулали олигосахаридлар ва целлобиозагача парчаланадилар, холос. Шунинг ҳам таъкидлаш лозимки, анаэроб бактерияларнинг эндоглюканазалари, аэроб бактерияларникига нисбатан кенгроқ субстрат спецификлигига эга. Анаэроб микроорганизмлар

эндонуклеазалари билан парчаланган целлюлозанинг целлоолигосахаридлари аралашмасида 5% гача глюкоза ҳам бўлиши аниқланган. Умуман олганда целлюлозани анаэроб бактериялар ферментлари билан гидролизи яхши ўрганилмаган.

Ёғоч материалларидан қоғоз тайёрлаш учун целлюлоза олиш жуда яхши йўлга қўйилган. Ҳар йили ишлаб чиқариладиган маҳсулотнинг ҳажми миллионлаб тонна билан белгиланади. Ёғоч материалларидан целлюлоза олишда кимёвий усуллардан фойдаланилади. Бу усуллар сульфитли ва сульфатли усуллардир. Улар мураккаб ва кўп босқичли усуллардир. Охирги ўн йилларда биотехнологик – ферментатив усуллардан фойдаланишга киришилган. Кимёвий усуллардан экологик нуқтаи назаридан афзалроқ бу усул асосида целлюлоза билан бирга иштирок этиб келаётган гемицеллюлозани танлаб гидролиз қилишга асосланган ва бу юқори сифатли қоғоз тайёрлаш имконини беради.

б) Гемицеллюлоза (ксилан)

Ўсимлик субстратлари таркибида гемицеллюлозани миқдори целлюлозадан кейинги ўринда туради. Ёғочли ўсимликларнинг қаттиқлиги целлюлоза, гемицеллюлоза ва лигнин бирлиги билан белгиланади. Нина баргли ўсимликлар 12% гача, барглилар эса 25% гача гемицеллюлоза сақлайдилар. Ўсимликларда гемицеллюлоза захира ва таянч вазифасини бажаради. Гемицеллюлоза пентозалардан, асосан β -(1-4) боғлари билан боғланган D-ксилозалардан ташкил топган. Ҳар хил гемицеллюлозалар ксилозадан ташқари арабинозалар, қисман эса гексозалар – глюкоза, галактоза ва глюкурон кислоталар ҳам сақлайди. Полимеризация даражасига қараб гемицеллюлозаларнинг молекуляр оғирлиги 30 дан 200 kDa гача бўлиши мумкин.

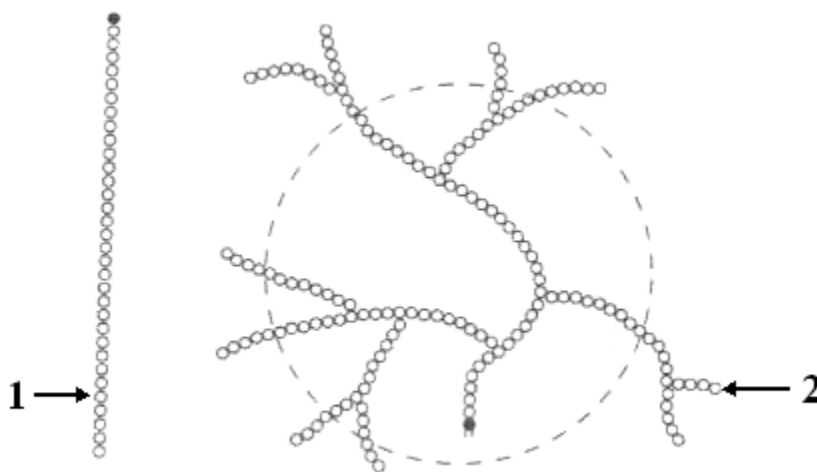
Гемицеллюлозалар ҳар хил токсонотик гуруҳга мансуб бўлган, хусусан, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Allescheria* ва ҳ.к. микроорганизмлар таъсирида осон парчаланадилар. Ксилан парчалоовчи бактерияларга *Bacillus*, *Streptomyces* ва *Clostridium* турига мансуб бўлган бактериялар киради. Табиий субстратларда стерик мураккаб бўлганликлари учун гемицеллюлозанинг парчаланиши биров қийинроқ кечади. Шунинг билан бирга гемицеллюлозани ферментатив парчаланиши целлюлозаникига нисбатан осонроқ ва тўлароқ бўлишини алоҳида таъкидлаш лозим. Гемицеллюлозанинг амалий аҳамияти катта бўлганлиги сабабли уни парчалоовчи ферментлар ҳам жадал ўрганилмоқда.

в) Крахмал

Крахмал–яшил ўсимликларнинг асосий, захира моддаси ҳисобланади. Амалий аҳамияти катта бўлганлиги ҳамда осон ажратиб олиниши учун крахмални ўрганиш ўтган асрдаёқ бошлаб юборилган.

Крахмал картошкада 30% гача, турли хил бошоқчиларда эса (80% гача) кўпроқ тўпланади. Крахмал икки компонентдан – амилаза ва амилопектиндан ташкил топган. Ҳар хил манбалардан олинган крахмал таркибидаги амилаза 20-25% ни, қолганини эса амилопектин ташкил этади. Амилоза линейли полимер бўлиб, бир-бирлари билан α -(1-4)- гликозид боғи билан боғланган D-глюкоза қолдиқлардан иборат. Крахмалдаги D-глюкозани полимерланиш даражаси 200 дан бир неча минггача бўлиши мумкин. Крахмал иссиқ сувда бўкмасдан, енгил эрийди. Йод билан ўзига хос бўлган қўнғир ранг беради.

Амилозадан фарқи ўлароқ, амилопектин молекуласи ёнига тарқалган. Тарқалган нуктада глюкоза молекулалари ўзаро α -(1-4)- гликозид боғлари (амилазага ўхшаб) билан боғланган. Ҳар хил амилопектинда α -(1-6)- боғларининг миқдори 4-5% дан ошмайди (61-чизма).



61-чизма. Амилоза (1) ва амилопектин (2)

тузилиши (ҳар бир думалок пираноз шаклидаги глюкоза қолдиғи)

Ҳар хил манбалардан ажратиб олинган крахмаллар полимеризация даражаси, ён боғларининг сони ва ферментатив гидролизга муносабати билан фарқ қилади. Крахмални ишлаб чиқариш кўрсаткичларидан муҳими, унинг ёпишқоқлигидир (клеистрилизация). Крахмалнинг эрувчанлиги полимеризация даражасига боғлиқ. Полимеризация даражаси ошиб бориши билан эрувчанлик пасайиб боради, 100-150 глюкоза қолдиғидан иборат бўлган крахмал фақат иссиқ сувда эрийди, холос.

Крахмалнинг гидролизини икки йўли: кислотали ва ферментатив йўли маълум. Кислоталар ёрдамида гидролиз қилинганда, крахмал молекуласидаги кристалл қисми аморфга айланади ва кейин гидролизга учрайди. Ферментатив гидролизда ҳам шундай бўлса керак - деб тахмин қилинади.

Крахмалнинг парчаланишида амилаза деб аталмиш бир гуруҳ ферментлар иштирок этади ва ўзининг таъсир характериға қараб, эндо-, ҳамда экзоферментларга бўлинади. α -амилаза- эндофермент, крахмал

молекуласи ичидаги боғларни тартибсиз гидролизлайди. Глюкоамилаза (амилоглюкозидаза) ва β -амилаза экзо типга кирадиган ферментлардир. Улар крахмални натив молекуласидан кетма-кет глюкоза (глюкоамилаза) ва мальтозани (β -амилаза) кесиб олинади (қайтарилмайдиган учидан).

Крахмал инсон озиқасида катта солиштирма оғирликка эга (нон, картошка, сабзавотлар ва ҳ.к.) шунинг учун ҳам организмнинг асосий энергетик ресурси ҳисобланади. Озиқа маҳсулотларида крахмал қуйидаги қисмда учрайди: буғдой уни – 74%, гуруч-77-78%, оқ нон- 51%.

Инсон организмда крахмални парчаланиши оғиздаги сўлакнинг α -амилазаси таъсиридан бошланади (оғизда крахмал қисқа бўлакчаларга бўлинади), кейин овқатланиш йўлида бу фрагментлар глюкозагача парчаланадилар ва ҳосил бўлган глюкоза қонга сўрилади. Озиқланиш баҳоси нуктаи назаридан, ўсимликлар полимерлари орасида крахмалга етадигани йўқ.

г) Пектин

Пектинлар полигалактуронидларни тўғри чизиқли занжири бўлиб бир бирлари билан α -(1-4)-гликозид боғлари билан боғланган. D-галактрон кислотаси қолдиқларидан ташкил топган. Пектинларнинг карбоксил гуруҳларининг катта қисми метанол билан эфир боғи ҳосил қилган. Пектин моддаларининг молекуляр массаси 20-200 kDa. Ҳар хил манбалардан ажратилган пектинлар молекуляр оғирликлари ва эфирланиш даражалари билан фарқланади.

Микроорганизмлар ҳар хил пектинларни фаол парчалайди. Шуниси қизиқки, ўсимлик микрофлорасининг патогенлиги уларнинг пектолитик ферментлар синтез қилишлари билан белгиланади. Пектин моддаларининг бузилишида икки типдаги ферментлар – эстеразалар ва деполимеразалар иштирок этади.

Пектин эстеразалар таъсирида эфир боғлари парчаланadi ва оқибатда метанол ажралиб чиқади. Деполимеразалар, гидролазалар полигалактурон кислотасини ди- ва тример олигомерларигача, ҳатто баъзи вақтларда мономерларгача (D-галактурон кислота) парчалайдилар. Табиий шароитда декарбоксилланиш оқибатида полигалактурон кислота пентоза-арабанга айланадилар. Ўсимликларда бу кислотани пектин моддаларнинг йўлдоши ҳам деб юритилади. Пектин моддаларга, шунингдек, галактозанинг полимери - галактан ҳам киради. Кўп миқдорда пектин моддалари сақлайдиган кўплаб ўсимликлар маълум: олма, узум, олхўри ва ҳ.к.

Пектинлар ва уларнинг қисман гидролизатлари озиқ-овқат саноатида кенг қўлланилади. Масалан, джем, павидло, конфет ва бошқа ширинликлар тайёрлашда.

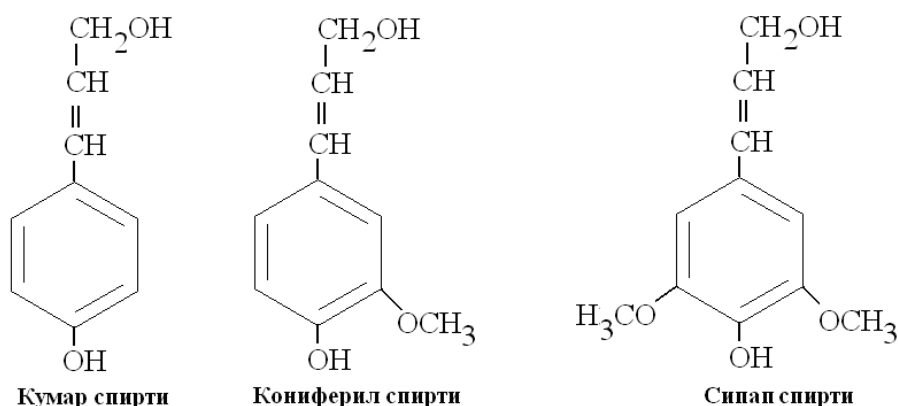
д) Лигнин

Қайта тикланадиган полимерлар орасида лигнин - карбон сув бўлмаган, ягона полимер ҳисобланди. Миқдор жиҳатидан ўсимликлар биополимерлари орасида лигнин, целлюлоза ва гемицеллюлозадан кейин

учинчи ўринда туради. Ёғочли ўсимликларда лигниннинг миқдори 15-30% га етади. Ўсимликда лигнин целлюлоза билан гемицеллюлозани боғлаб турувчи агент ролини ўйнайди ва ўсимликка қаттиқлик беради. Ўсимлик полимерлари орасида лигнин микроблар таъсирига энг чидамлидир.

Кимёвий нуқтаи назардан лигнин, бир хил бўлмаган бирикма бўлиб, таркибида кўмар спирти (асосий компонент) синап ва кониферил спиртларини сақлайди. Аммо, лигнинни мураккаблиги ҳар хил мономерларни сақлашида эмас, балки мономерлар орасидаги боғлар тўплами билан белгиланади.

Ҳар хил манбалардан ажратилган лигнин метоксил гуруҳини сақлаши билан фарқланади. Масалан, баргли дарахтларда метоксил гуруҳининг миқдори 20-21%, нина баргли ўсимликларда эса 16%, бошоқчиларда 14-15% ни ташкил этади.



Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, ўсимликларнинг бошқа биополимерларига нисбатан лигнин микроблар таъсирига анча чидамли. Лигнинни парчалайдиган ягона организм – бу юксак базидиал замбуруғлардир. Бу микромицетлар икки экологик ва физиологик гуруҳга бўлинадилар. Бир гуруҳга мансуб замбуруғлар кўнғир рангли чиринди ҳосил қилса, (улар целлюлозали ва гемицеллюлозали компонентларни парчалайдилар, лигнинни парчаламайдилар), иккинчиси оқ рангли чиринди ҳосил қиладилар. Фақатгина мана шу гуруҳга кирувчи микромицетлар ўсимликнинг барча биополимерларини, жумладан, лигнинни ҳам парчалай оладилар. Лигнинни кўпроқ парчалаш имкониятига эга бўлган базидиомицетлар ҳам ажратилган. *Pleurotus ostreatus* шулар жумласидандир.

Ёғоч маҳсулотларини саноат миқёсида қайта ишлаш жараёнида (қоғоз ишлаб чиқариш, ферментатив ва кислотали гидролиз, микрокристалл целлюлоза ишлаб чиқариш ва ҳ.к.) лигнин кераксиз компонент ҳисобланади ва шу сабабли, уни ажаратиб ташлашга тўғри келади.

Бу жараён делигнификация деб аталади. Шу мақсад учун ёғоч массасига ҳар хил кимёвий ва физикавий ишлов берилади (кислоталар, ишқорлар, органик эритувчилар, босим, буғ, механик ишлов бериш, майдалаш ва ҳ.к.).

е) Фруктанлар, маннанлар ва инулин

Фруктанлар, маннанлар ва инулинлар муҳим биополимерлар бўлиб, юқори озиқа баҳоси билан характерланади.

Фруктанлар (леванлар)–*фруктозадан ташкил топган полимерлардир.*

Улар ўтли ўсимликларнинг қуруқ массасининг 14-15% ини ташкил этади ва ҳайвон озиқаси учун энг муҳими ҳисобланади. Тупроқдаги бактериялар фруктанларни парчалайдилар, аммо уларни парчалайдиган энг фаол микроорганизмлар - аспергиллар ҳисобланади. Табиатда фруктанларга ўхшаш бўлган полимерларни ҳосил қилувчи бактерияларнинг катта гуруҳи маълум. Бу қуйидаги реакция асосида амалга ошади:



Маннанлар – *маннозалардан ташкил топган полимерлардир.*

Улар нина баргли ўсимликларда кўпроқ учрайди (қуруқ массасидан 10-11%). Илмий адабиётларда маннанларга ўхшаган эрувчан полимер ажратувчи ачитқи замбуруғлари маълум.

Инулин – *D-фруктоза қолдиқларидан ташкил топган полимер, озиқа бирлиги бўйича крахмалдан кам эмас, овқат билан бирга тез парчаланади.*

У ер ноки (тапинамбур) да кўпроқ учрайди. Бактериялар ва замбуруғлар инулинни парчаловчи фермент синтез қиладилар. Инулин озиқ-овқат саноатида, тиббиётда (қанд касаллигининг олдини олишда) кенг қўлланилиб келинмоқда.

ё) Агар

Агар – *икки компонентдан агароза ва агарпектиндан ташкил топган.*

Агароза – кетма-кет боғланган D-галактоза ва 3,6-ангидрогалактозадан ташкил топган полимердир.

Агаропектин - мураккаброқ таркибга эга. Юқорида қайд этилган бирикмалардан ташқари, унда уран кислотаси ва сульфат бор. Агар катта миқдор Қизил сув ўтларда сақланади. Саноат шароитида агар мана шу сувўтлардан олинади. Агар маълум гуруҳга мансуб бўлган бактериялар томонидан парчаланади: *Cytophaga, Flavobacterium, Bacillus, Pseudomonas*. Агар озиқ-овқат ва микробиология саноатида кенг ишлатилади.

ж) Хитин

Хитин – *N-ацетил-глюкозаминнинг тўғри чизикли полимеридир.*

Хитинни биополимер сифатида ҳар хил физик ва кимёвий таъсирга чидамлилиги N-ацетилли гуруҳ ҳосил қилувчи қўшимча водород боғларининг кўплиги билан тушинтирилади. Хитин ўсимлик ва ҳайвонот дунёсида структура полимери сифатида кенг тарқалган полимердир.

Хитин тупроқда катта миқдорда учрайди, у кўпинча мицелиал замбуруғларнинг хужайра қобиғининг асосий компонентиدير. Қисқичбақасимон плактонлар ҳар йили ўнлаб, миллион тонналаб хитин ишлаб чиқарадилар. Хитинни парчаловчи тупроқ ва сув бактериялари маълум.

Хитиннинг гидролизлари углерод ва азот манбаи сифатида микробиология саноатида кенг қўлланилади. Хитин парчаловчи энг фаол микроскопик замбуруғлар *Aspergillus* – авлодига мансубдир. Шунингдек, хитинни актиномицетлар ҳам парчалай оладилар. Бу жараёнда хитиназа ва хитобиаза ферментлари иштирок этадилар.

Узоқ муддат таъсир эттирилганда бу ферментлар хитиндан мономерлар – N-ацетилглюкозаминлар, димерлар ва тримерлар ҳосил қиладилар.

19.3. НАФАС ОЛИШ

Хужайра метаболизми. *Метаболизмнинг икки йўналиши – катаболизм (парчаланиш, диссимиляция) ва анаболизм (қурилиш, яратилиш) бир – бирига узвий боғлиқ ва қарама қарши жараёнлар йиғиндилари ҳужайрада бир вақтда, турли компонентларда кечади.*

Катаболик - реакциялар натижасида ҳужайрага кирган ёғ, углевод ва оқсилларни гидролитик парчаланиш маҳсулотлари глюкоза, ёғ кислоталар, глицерин, аминокислоталар энди чуқур ўзгаришларга учрайди, улар оксидланиш ва қайтарилиш, дезаминлаш ва декарбоксилланиш реакциялари учун субстрат бўлиб, бирин-кетин келадиган реакциялар натижасида моддалар алмашинувининг охирги маҳсулотлари CO_2 , H_2O , NH_3 ва бошқа кичик молекулаларга айланадилар.

Катаболизм мураккаб органик бирикмаларнинг парчаланишида эркин энергиянинг ажралиб чиқиши билан кузатилади. Унинг кўп қисми катаболик йўналишларнинг айрим босқичларида уларга уланган ферментатив реакциялар воситасида энергияга бой (макроэргик) фосфат боғлар, асосан аденозинучфосфат (АТФ) шаклида сақланади. АТФ ҳужайрада энергия алмашинувининг марказий субъектидир. Энергия, унинг молекуласида иккита пиррофосфат (боғлар шаклида кичик улушларда сақланади, энергия талаб қилинадиган жараёнларда анаболик реакцияларига етказилади ва сарфланади.

Энергия сақланишининг иккинчи муҳим оқими никотинамидаденинди- нуклеотидфосфатнинг оксидланган шакли НАДФ ни, унинг қайтарилган шакли НАДФ H_2 га ўтиши билан боғлиқ. Мана бу кофактордаги водород хужайранинг нафас олиш жараёнида оксидланиб, АТФ молекулаларининг синтезланишини таъминлайди.

Анаболизм-жараёнлари кичик молекулалардан ҳужайра структураларини ташкил қиладиган оқсил, нуклеин кислоталар ва бошқа макромолекулаларнинг ҳосил бўлиш реакциялари йиғиндисидир.

Бу жараёнларда молекула мураккаблашади, катталашади ва органеллалар яратилади. Структура текислигининг баландроқ даражага кўтарилиши билан боғлиқ бундай ҳодисалар энергиянинг ютилиши билан кузатилади. Зарур энергияни, асосан АТФ етказиб туради. Реакция жараёнида у АДФ ва аорганик фосфатга айланади. Анаболик жараёнлар учун ҳужайрада субстрат сифатида катаболик реакцияларда ҳосил бўлган оралик маҳсулотлар-метаболитлар хизмат қилади. Лекин тирик организмларни ташкил қиладиган барча молекулалар ва энергия билан таъмин қиладиган мураккаб бирикмалар қуёш энергиясининг ютилиши билан кечадиган фотосинтез жараёнининг маҳсулотларидир.

Бу оламшумул жараён, ер юзида ҳаётнинг бирдан-бир манбаи, ҳаётнинг пайдо бўлишидан тортиб, доимо уни субстрат ва энергия билан таъминлаб туради. Юқорида таъкидлаб ўтилгандек, организмнинг ўзи ҳам уларга метаболик жараёнлар ҳам қуёш энергиясининг аккумуляция қилинишидан келиб чиққан ва фотосинтез туфайли кечиб туради.

Шундай қилиб, ҳужайра метаболизми анаболик ва катаболик жараёнларнинг йиғиндисидир. Бу жараёнларнинг биргаликда содир бўлиши, ҳужайранинг парчаланиш ва синтез қилиш жараёнларини белгилаб беради. Аммо, ҳужайра метаболизмини ҳужайрада содир бўладиган ўзгаришларнинг арифметик йиғиндиси деб қараш керак эмас.

Замонавий нуқтаи назардан, метаболизм бу генетик белгиланган кетма-кет кечадиган жараёнларнинг йиғиндиси бўлиб, унда бир вақтда ўтадиган реакцияларнинг сони, хилма-хиллиги ва кўп сонлилиги ва юқори тезлиги, энергия тўпланишининг механизми ва жараёнларини бошқариш бўйича ўхшаши йўқдир. Метаболик жараёнларнинг ўзига хос бўлган белгиси, ташқи энергия тўпланишининг ўзгача шаклдалиги ва углеродли бирикмаларнинг айланишидан ҳосил бўлган энергия ҳисобидан, ҳужайра структураларини, макромолекулаларни алоҳида тўпламларининг ҳосил бўлиши ҳисобланади. Мана шу ўхшаши йўқ сифатлар учун ҳам, ҳужайра потенциалини замонавий биотехнология сифатида амалиётда фойдаланиш энг муҳим вазифалардан ҳисобланади ва ундан кенг миқёсда фойдаланилганда, энг юқори мақсадларга мувофиқ бўлган технологиялар яратиш имконияти мавжуд бўлар эди.

Аэроб шароитда ҳужайралар энергияни асосан нафас олиш орқали оладилар. Нафас олишни ҳаётий жараёнларнинг энг муҳимларидан бири сифатида қараш мумкин. Уни баъзан *газ алмашинув жараёни* деб ҳам айтилади, чунки бунда тўқималар ва алоҳида органлар кислород ютиб, углерод диоксиди чиқарадилар. Кенг маънода, нафас олиш деганда модда алмашинуви натижасида синтез учун зарур бўлган кимёвий энергиянинг тўпланиши билан боғлиқ бўладиган ҳар қандай катаболик экзотермик жараён тушинилади.

Шундай қилиб, нафас олиш жараёни ўзига хос ва маълум маънода бошқарилиб туриладиган, кўп босқичли оксидланиш-қайтарилиш

реакцияларининг кетма-кетлиги бўлиб, у анаэроб ва аэроб ўзгаришларнинг фазалари билан характерланади.

Аэроб фазанинг анъанавий йўли—гликолиз-бижғишни асоси ҳисобланади. Унинг кимёвий томонлари ушбу китобнинг бижғишга бағишланган қисмида келтирилган.

Қуйида катаболизмнинг тўғридан-тўғри аэроб нафас олиш босқичи учун характерли бўлган асосий принципларини ўрганишга ҳаракат қиламиз. Одатда уни ҳужайранинг нафас олиши дейилади.

Нафас олиш жараёнида электронлар органик моддалардан молекуляр кислородга кўчиб ўтадилар. Бу ҳолатда органик бирикмалар ҳужайра ёқилғиси вазифасини ўтайди. Агар аэроб нафас олишни бижғиш билан таққослайдиган бўлсак, ҳар иккала жараёнда ҳам битта бирикмадан, яъни глюкозадан ҳар хил моддалар ҳосил бўлишини кузатамиз.

Нафас олиш жараёни мураккаброқ ва кўп босқичлидир. Нафас олишда бижғишга нисбатан субстрат чуқурроқ оксидланади ва ўзгаради. Бу энг муҳим биологик жараёнларнинг бир-бирларидан фарқини билиш учун бактериялар ёрдамида кечадиган сут кислотали бижғиш (ачиш) жараёни шу субстратнинг (глюкозани) аэроб шароитда оксидланиш энергетикасини (озод энергиянинг ўзгаришини) таққослаб чиқиш кифоя:

Бижғиш: Глюкоза $\rightarrow$ 2лактат (-47 ккал)

Нафас олиш: Глюкоза + $6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ (-686ккал)

Кўриниб турибдики, нафас олиш, бижғишга нисбатан афзалроқ жараён. Аэроб шароитида глюкозадаги барча углерод атомлари углерод диоксиди ҳосил бўлишига қатнашадилар. Ушбу нафас олиш жараёнида глюкоза молекуласи ички боғларининг энергияси максимал даражада ажралиб чиқади деганидир. Глюкозанинг анаэроб шароитда ўзгаришида эса, ҳар қандай типдаги бижғиш жараёни бўлмасин, бари-бир охирги маҳсулот сифатида этанол, пропанол, бутанол, пропионат, сукцинат, лактат ёки глюкозанинг тўлиқ оксидланмаган, қандайдир маҳсулоти пайдо бўлади. Бу бирикмаларнинг ҳар қайсининг ички молекуляр энергияси CO_2 никига нисбатан жуда ҳам баланд бўлади.

Юқорида келтириб ўтилган моддаларда углерод ва водороднинг ўзаро нисбати худди глюкозадагидек эканлиги ҳам мана шуни кўрсатади.

Шундай қилиб, биокимё нуктаи назаридан ҳар қандай типдаги бижғишни энергетик тўлиқ амалга ошмаган жараён сифатда қараш мумкин. Бу ҳолат аэроб ва анаэроб жараёнлар орасидаги энергетик дисбаланснинг ягона сабаби эмас. Маълумки, электронларни молекуляр кислородга кўчириб ўтказишда, органик акцепторларга ўтказишга нисбатан кўпроқ энергия ажралади. Анаэроб оксидланишда молекуляр кислород иштирок этмаслигини ҳисобга олинса, электронлар акцепторлари бўлиб, фақат органик бирикмалар хизмат қилиши аниқ бўлади.

Анаэроб ўзгаришлар натижасида ҳосил бўлган ацетил гуруҳлар катаболизмнинг атамал босқичига киради. Оксидланишнинг бу босқичи учкарбон кислоталари ҳалқаси, лимон кислотаси ҳалқаси ёки *Кребс* ҳалқаси деб аталади. Бунда иштирок этадиган органик бирикмаларнинг оксидланиши тугайди: ацетил гуруҳлар углерод диоксиди ва водородга парчаланади.

19.4. УЧ КАРБОН КИСЛОТАЛАР ҲАЛҚАСИ (КРЕБС ҲАЛҚАСИ)

Глюкозанинг парчаланишидан ҳосил бўлган пирозум кислотаси аэроб шароитда CO_2 ва H_2O и оксидланиши туфайли ҳужайра метаболизмида марказий ўринни эгаллайди ва бу ҳолат биокимёда *ҳужайранинг нафас олиши* деб юритилади. Бу жараёнда пируватдан ташқари ёғ кислоталари ва қатор аминокислоталар ҳам тўла оксидланадилар. Бу жараён уч босқичга бўлинади:

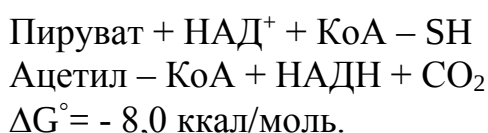
Биринчи босқичда - *ҳужайрада ёқилги ролини ўйнайдиган органик бирикмалар, яъни углеводлар, ёғлар ва аминокислоталар ацетил-ко-энизм А таркибига кирадиган икки углеродли фрагмент – ацетил- CH_3CO гача оксидланадилар.*

Иккинчи босқичда - *ацетил гуруҳлар лимон кислота ҳалқасига киради ва парчаланиб, юксак энергияли водород атомлари ва органик ёқилгининг охирги маҳсулоти бўлган CO_2 ни ҳосил қилади (62-чизма).*

Учинчи босқичда - *водород атомлари протонлар ва электронларга ажраладилар. Сўнгга энергияга бой бўлган электронлар митохондрияларнинг ички мембраналарида жойлашган электрон ташувчилар ёки нафас занжири орқали молекуляр кислородга узатилади ва H_2O ҳосил қилиб, қайтарилади.*

Электрон ташилиш оксидланувчи фосфорланиш деб аталадиган жараёнда энергияга жуда ҳам бой бўлган АТФ молекулаларининг тўпланиши билан бирга ўтади. Юқорида таъкидланганидек, глюкоза молекуласи тўла оксидланиб CO_2 ва H_2O га айланганда, гликолизга қараганда анча кўп энергия ажралади ($\Delta G^\circ = -686$ ккал/моль, гликолизда эса бор-йўғи $\Delta G^\circ = -47$ ккал/моль).

Ҳужайрада CO_2 ва H_2O гача оксидланадиган ёқилги Кребс ҳалқасига асосан ацетил-КоА шаклига киради. Пирозум кислота ҳам, аввало, оксидланиш ва декарбоксилланиш реакциялари орқали ацетил-КоА га ўтади. Бу мураккаб реакция, эукариотик ҳужайра митохондрияларида жойлашган пируват дегидрогеназа комплекси деб аталган мультисубъединица тизим томонидан катализланади.



Оксидланиш билан борадиган *декарбоксилланиш* деб аталадиган бу реакцияда пируват дегидратланиб, ундан CO_2 ажралади, унинг ацил гуруҳи КоА га уланади. Пируватдан ажралган водород атомларидан бири НАДН таркибида, иккинчиси H^+ шаклида топилади. Пируватнинг бирга мужассамланган оксидланиш ва декарбоксилланиши жараёнида уч хил ферментлар:

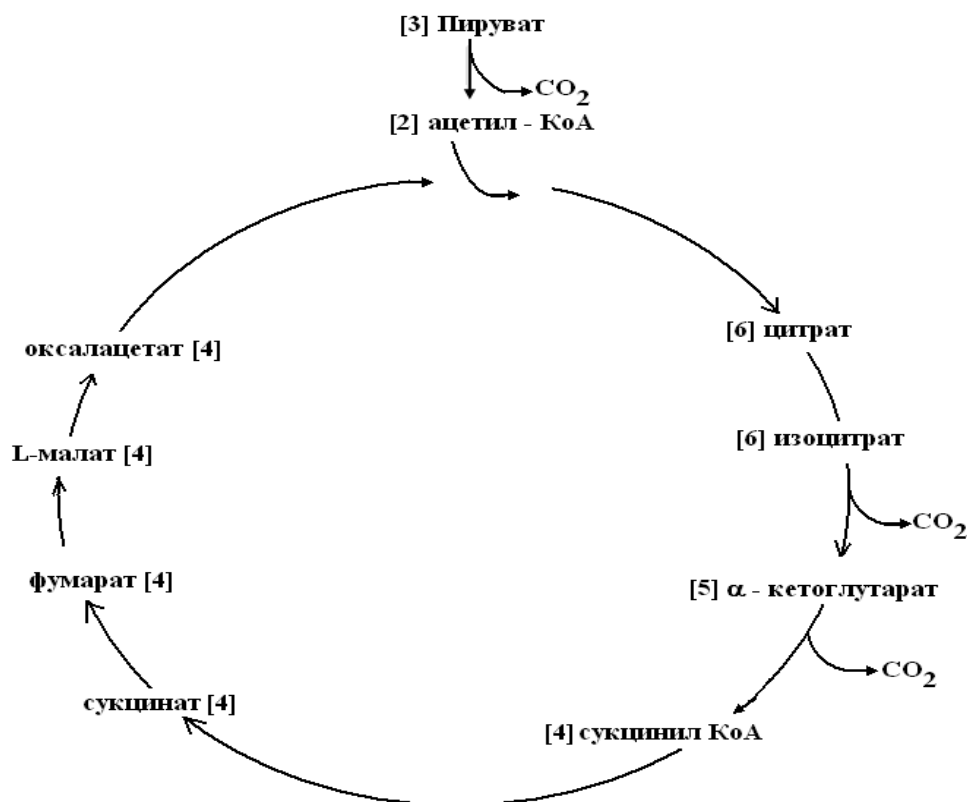
- ✓ *пируватдегидрогеназа* (E_1),
- ✓ *дегидролипоил-ацетилтрансфераза* (E_2)
- ✓ *дегидролипоил-дегидрогеназа* (E_3)

ва бешта коферментлар ёки простетик гуруҳлар:

- ✓ *тиамин пирофосфат* (ТФФ),
- ✓ *флавинадениндинуклеотид* (ФАД),
- ✓ *кофермент А* (КоА),
- ✓ *никотинамид-адениндинуклеотид* (НАД^+)
- ✓ *липоат кислота қатнашади.*

Бу фермент ва коферментлар йиғиндисидан ташкил топган мультифермент тизимни Лестер Рид ва унинг шогирдлари ажратиб олиб, мукаммал ўрганганлар. Организм муҳтож бўлган витаминлардан тўрттаси – *тиамин* (ТФФЗ да), *рибофлавин* (ФАД да), *пантотен кислотаси* (КоА да) ва *никотинамид* (НАД^+ да) айнан шу тизимнинг мажбурий, таркибий қисмидир. Яна бу тизимга липоат кислота киради. *E.coli* дан ажратиб олинган бу йирик мультифермент тизимнинг молекуляр массаси $6 \cdot 10^6$ дан ортиқдир.

Лимон кислота халқаси ёпиқ халқали режимда кечадиган жараёндир (62-чизма). Халқа икки углерод атоми ацетил-КоА нинг тўрт углеродли оксалацетат билан бирикиб, олти углеродли бирикма – цитрат ҳосил қилишидан бошланади.



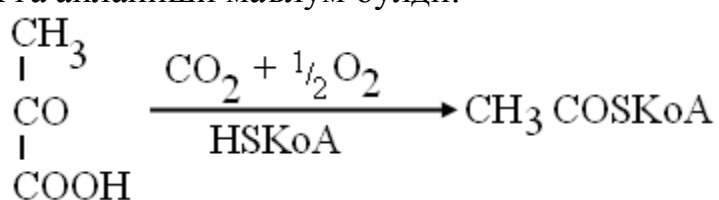
62-чизма. Лимон кислотаси ҳалқасининг чизмаси
(қавс ичида молекулалардаги углерод сони кўрсатилган)

Халқада кечадиган қатор босқичларда яна олти углеродли изоцитрат, унинг дегидробланишидан ва декарбоксилланишидан ҳосил бўлган беш углеродли α-кетоглутарат, ундан ҳосил бўлган тўрт углеродли сукцинат келиб чиқиши чизмада акс эттирилган. Сукцинатнинг уч босқичда ўтадиган алмашинув реакциялари натижасида ҳалқанинг бошидаги тўрт углеродли оксалацетат қайтадан ҳосил бўлади. Демак, ҳалқанинг бир айланишида унга ацетил-КоА шаклида кирган иккита углерод, иккита CO_2 шаклида ажралиб чиқади. Икки углеродли ацил гуруҳи CO_2 гача парчаланиши олти углеродли цитрат кислота орқали ўтиши таажублидир. У ортиқча, мураккаб бўлиб, тирик ҳужайранинг биокимёвий ҳолатига тўғри келмайдиган кўринишда бўлиши мумкин. Лекин бу ҳалқанинг кашф этилиши ва унинг ҳужайра метаболизмининг турли тармоқлари билан боғланишини ҳар томонлама ўрганиш бу йўлнинг ўта самарали ва ягона тўғри йўл эканлигини кўрсатди.

Ҳужайра метаболизмида бундай ҳалқанинг мавжуд эканлигини биринчи марта 1937 йилда *Ганс Кребс* томонидан фарз қилинган. Бундай ғоя пируватнинг оксидланишига турли органик кислоталар таъсирини ўрганиш жараёнида туғилган эди. *Кребс* тадқиқотларидан бироз олдинроқ, Венгрияда *Альберт Сцент Дчерди* кабутарнинг кўкрак мускуллари қиймасидан тайёрлаган экстрактларда тўрт углеродли дикарбон кислоталарининг оксидланишини текшириш давомида муҳим натижалар олган эди.

Қушларни кўкрак мускуллари жуда ҳам тез нафас олишлари сабабли, тўқиманинг оксидланиши фаоллигини ўрганиш учун қулай манба бўлиб чиқади. *Сцент Дчерди* ўз тажрибаларида кабутарни кўкрак мускуллари тўқималарида вақт ўтиши билан кислороднинг ютилиши секин-аста пасайиб боришини кузатган эди. Агар шу тизимга кам миқдорда қуйидаги тўртта дикарбон кислота: сукцинат, фумарат, олма ва оксалацетатдан бири қўшилса, нафас олиш тезлиги дастлабки кўрсаткичга кўтарилганлиги кузатилган. Мускулларда бу кислоталарни дегидратлайдиган ферментларнинг борлиги, булардан энг муҳими сукцинатдегидрогеназининг цитохром тизимга боғлиқлиги *Тенберг* ва *Кейлин*нинг илмий ишларидан ҳам маълум эди. *Сцент-Дчерли* тажрибалари мана шу ферментлар мускул тўқимасининг аэроб оксидланишига каталитик таъсир кўрсатишини аниқлади.

Аэроб оксидланиш йўлини аниқлашда ҳал қилувчи кашфиёт *Кребс* тадқиқотларига боғлиқ. У цитрат кислота ва α -кетоглутрат кислота ҳам қиймаланган мускулларга каталитик таъсир кўрсатишини аниқлади. Бу тажрибалар асосида *Кребс* 6 ва 5 углеродли компонентлар ҳам бу жараёнда иштирок этишини ва оксидланиш йўлида дастлабки қадам пирозум кислота (уч углеродли) нинг оксалацетат кислота (тўрт углеродли) билан бирикиб, 7 углеродли компонент ҳосил қилишидан иборат деган фикрга келди. Бу оралиқ модда сўнгра цитрат кислота, α -кетоглутарат кислота ва турли (тўрт углеродли) карбон кислоталарга айланади. Ҳақиқатдан ҳам *Кребс* пирозум кислота ва оксалацетат кислота қиймаланган мускул билан инкубация қилинганда цитрат кислота ажратиб олиниши мумкинлигини кўрсатди. Аммо гипотетик (етти углеродли) компонент ҳосил бўлиши аниқланмайди. *Липман*нинг тадқиқотларидан пирозум кислота (уч углеродли) аввал оксидловчи декарбоксилланиш йўли билан ацетил коэнзим А га айланиши маълум бўлди:

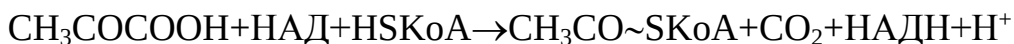


Ҳосил бўлган фаол ацетат энди оксалацетат билан қўшилиб олти углеродли компонент (цитрат кислота) ҳосил қилади.

Кребс ҳалқаси, цитрат кислотаси ҳалқаси, кўпроқ уч карбонли кислоталар ҳалқаси деб юритилади ва у пирозум кислотанинг оксидланиш жараёни бирин-кетин келадиган қатор реакциялардан иборатдир. Ҳалқа бошланишидан аввал пирозум кислота парчаланиб, фаол ацетатга айланади.

Пирозум кислотанинг оксидланиши бир нечта энзиматик босқичлардан иборат мураккаб жараён бўлиб, ҳайвон хужайралари ва микроорганизмларда НАД, тиаминпирофосфат (ТПР), липоат кислотанинг

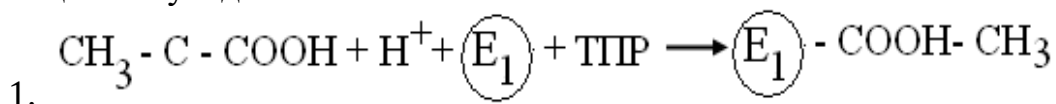
амиди ва коэнзим А (КоА) иштирокида ўтади. Реакция қуйидаги умумий тенглама билан ифодаланади:



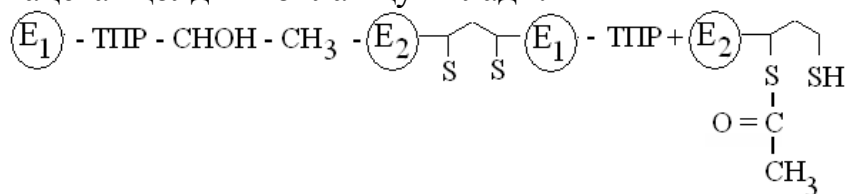
Ҳосил бўлган ацетил-КоА макроэргик бирикма бўлиб, унинг таркибида ацил қолдиғи (ацетил) коэнзим А, Н гуруҳидаги водороднинг ўрнига кирган. Ацетил коэнзим А энергияга бой $-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C} \sim \text{S}-\text{H}$ боғга эга бўлганлигидан, у ацетат кислотанинг фаолланган шакли сифатида турли синтетик реакциялар учун осонлик билан истеъмол қилинади.

Юқорида келтирилган пироузум кислотанинг оксидланиши—пируватдегидрогеназа деб аталадиган ферментлар комплекси билан амалга оширилади.

Реакциянинг биринчи босқичида пируват пируватдегидрогеназага боғланган тиаминпирофосфат (E_1) билан реакцияга киришиб, декарбоксилланади. Реакция натижасида тиозол халқасидаги гидроксэтил унуми ҳосил бўлади:

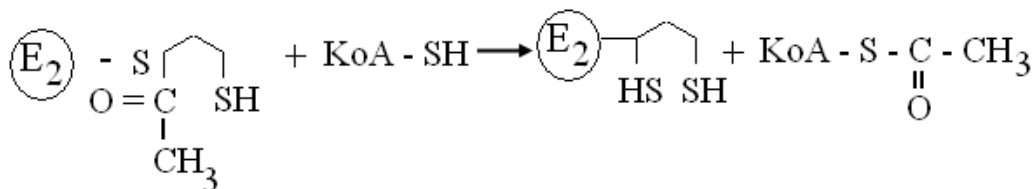


Иккинчи босқичда, гидрооксэтилпирофосфатдан водород ва ацетил группа комплексининг марказий ферменти дегидролипоилацетаттрансфераза ферментининг (E_2) липоиллизилли простетик группасининг оксидланган шаклига қайтарилади. Натижада липоамиднинг дисульфид боғи узилади ва у дегидрадланиш натижасида ҳосил бўлган ацетат қолдиғи билан қўшилади:



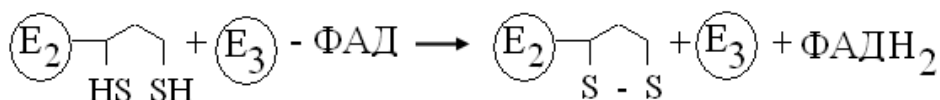
2.

Учинчи босқичда ацетил қолдиғи коэнзим А га кўчирилиб, липоил группанинг тўлиқ қайтарилган шаклига тикланади:



3.

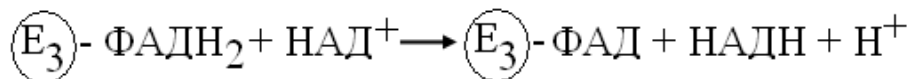
Тўртинчи босқичда, дегидролипоилацетилтрансферазанинг қайтарилган шакли водород атомларини шу фермент системасининг ўзида ФАД га узатиб, оксидланган шаклига қайтади:



4.

Бу реакциянинг простетик группаси флавинадениндинуклеотид (ФАД) бўлган – липоамиддегидрогеназа ферменти катализ қилади.

Бешинчи босқичда дегидролипоилдегидрогеназанинг қайтарилган ФАД группаси водородни НАД⁺ га узатиб НАДН ни ҳосил қилади:

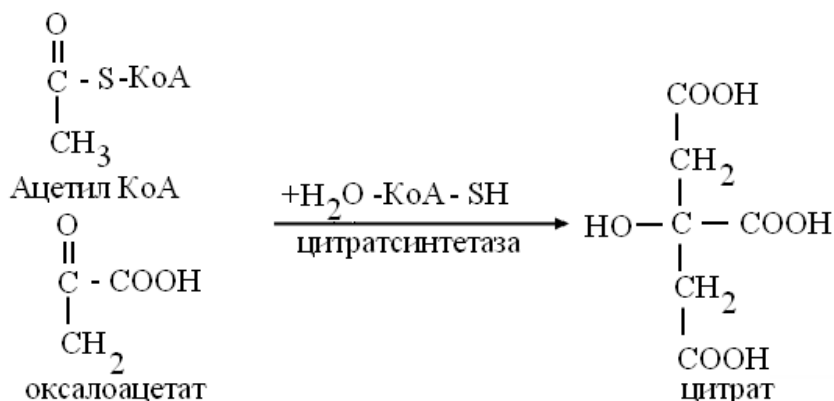


5.

Бу реакцияларнинг баланс тенгламаларига липоамид кирмайди, у реакция давомида вақтинча қайтарилиб, сўнгра аввалги оксидланган шаклига қайтади. Пироузум кислотасини оксидловчи декарбоксилланиши натижасида қайтарилган НАД углерод (IV)-оксид ва ацетил КоА ҳосил бўлади.

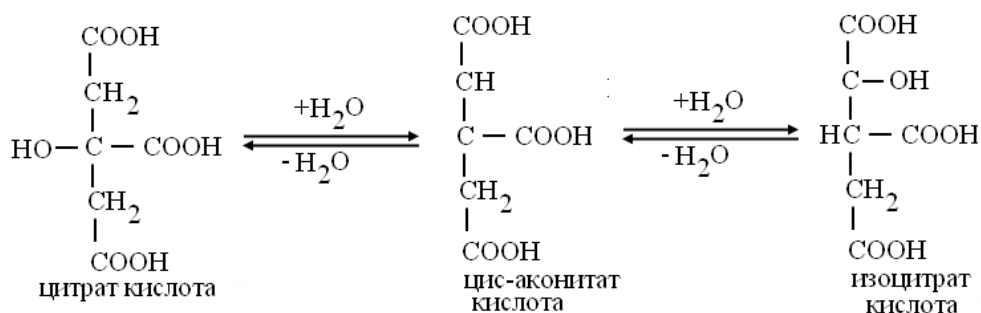
КРЕБС ҲАЛҚАСИ РЕАКЦИЯЛАРИ - қуйидаги саккиз босқичли реакциялардан иборат:

Биринчи босқичда – оксалацетат кислота билан ацетил коэнзим А бирлашиб, цитрат кислота ҳосил бўлади. Бу реакция цитратсинтетаза ферменти иштирокида амалга ошади.

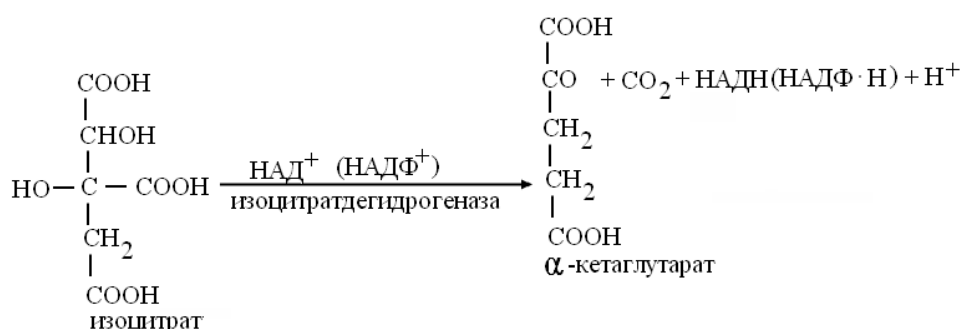


Бу реакция оксалацетат ва фаол ацетатдан бошланадиган бир қатор босқичлар орқали ўтиб, қайтадан оксалацетат ҳосил бўлиши билан тугайди. Ацетат эса ҳалқада декарбоксилланади ва оксидланиб, тўлиқ парчаланади.

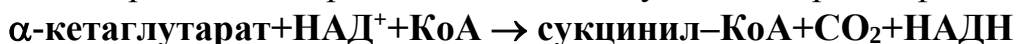
Иккинчи босқичда - цитрат кислотанинг цис-аконитат кислота орқали изомерланиб изоцитрат кислотага айланиши аконитатгидролаза ферменти томонидан катализланади:



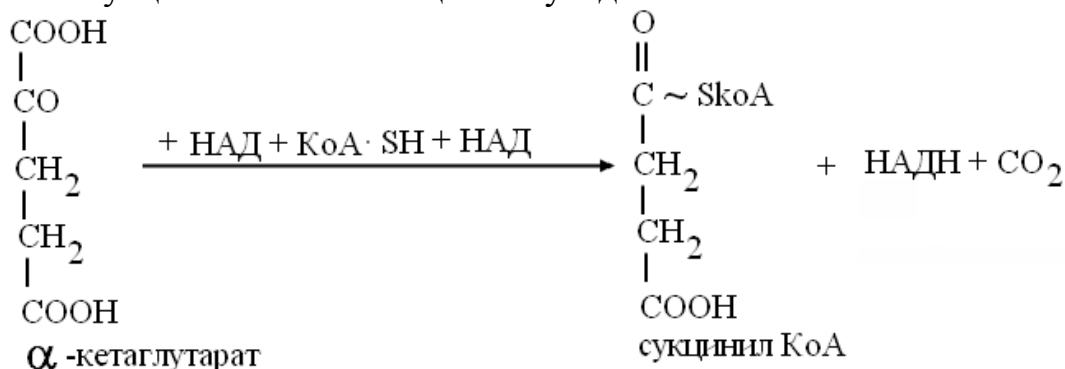
Учинчи босқичда – изоцитрат изоцитратдегидрогеназа ферменти таъсирида α -кетоглутарат ва CO_2 ҳосил қилиб парчаланади. Изоцитратдегидрогеназанинг икки хил типи мавжуд, бири акцептор сифатида НАД^+ ни, иккинчиси НАДФ^+ ни истъеъмол қилади. Аммо ҳар икки фермент иштирокида ҳам реакция бир хил боради.



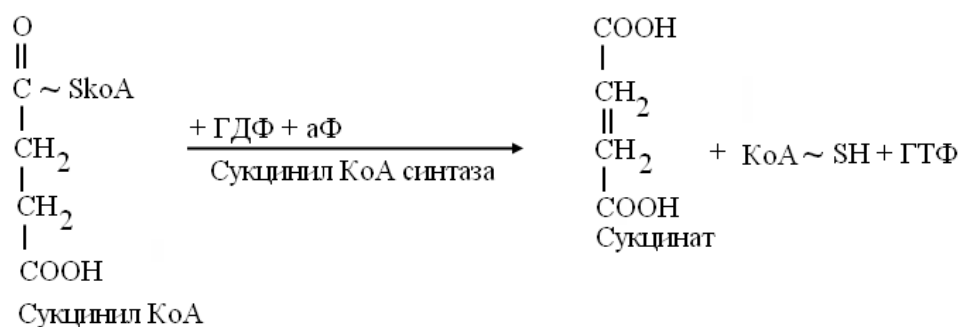
Ҳосил бўлган α -кетоглутарат кислота, худди пирозум кислотага ўхшаш оксидловчи, декарбоксилланиш йўли билан парчаланади. Бу босқич ҳам мураккаб бўлиб, α -кетоглутаратдегидрогеназа ферменти томонидан НАД^+ , ФАД , ТПФ , КоА ва липоамид иштирокида бажарилади. Фермент арсенит таъсирида ингибирланади. Реакция қуйидаги тарзда ифодаланади:



Реакция механизми худди пируватнинг оксидланиш механизмига ўхшаб кетади, бу реакцияда ацетил коэнзим А ўрнига, шунга ўхшаган микроэргик боғга эга бўлган сукцинат (янтар, қахрабо) кислотанинг ҳосиласи сукцинил коэнзим А ҳосил бўлади:



Сукцинил-КоА даги энергияга бой боғ аорганик фосфатли макроэргик фосфат боғи шаклида бириктириш учун сарф бўлади бу реакция гуазаиндифосфат (ГДФ) махсус фермент томонидан катализланади ва оқибатда гуазаинтрифосфат (ГТФ) ҳосил бўлади:



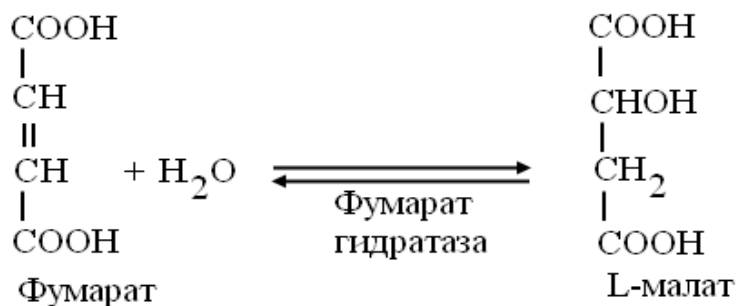
Сукцинат кислота сукцинатдегидрогеназа ферменти таъсирида дегидрирланиб фумарат кислотага айланади:



Сукцинат дегидрогеназа ферменти митохондриянинг сувда эримайдиган структураларида локализация қилинган, шунинг учун ҳам уни тоза ҳолда ажратиш анча қийин кечиб, яқиндагина амалга оширилди.

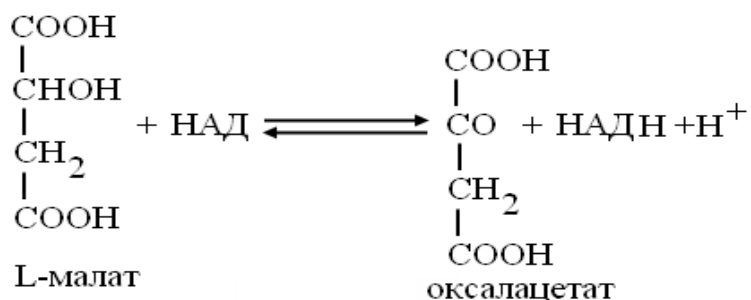
Сукцинатдегидрогеназа бошқа дегидрогеназалардан фарқли равишда субстратдан ажралган водородни коферментлар орқали эмас, балки тўғридан тўғри кўчира олади. Фермент ўзаро ковалент боғланган фловинадениндинуклеотидни сақлайди. Бу простетик группа қайтарилиш қобилиятларига эга, водород акцептори вазифасини бажаради. Бу фермент митохондрияларда дегидрирланиш жараёнида пайдо бўлган водородни оксидловчи энзим системаси билан боғлиқ. Митохондрия парчаларидан иборат бўлган барча энзим системаси сукцинатоксидаза деб юритилади.

Сукцинатнинг дегидрирланишидан келиб чиққан фумарат сув бириктериши натижасида олма кислотага (малат) айланади. Бу қайталама реакцияни фумарат дегидрогеназа ферменти катализ қилади.



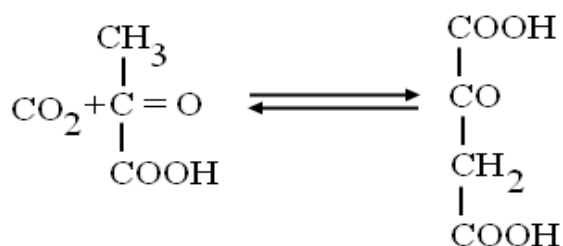
Олма кислота малатдегидрогеназа ферменти таъсирида дегидратланиб, ҳалқанинг бошланишидаги иштирокчиси оксалацетат кислотага айланади ва шунинг билан ҳалқа (ҳалқа) ёпилади.

Бу реакция НАД таъсирида боради:



Шундай қилиб, озгина оксалацетат кислота мавжуд бўлганда ҳалқанинг ҳар бир айланишида бир молекула пирозум кислота парчаланиб, CO_2 ва H_2O га айланади ва реакциянинг бошланишида қатнашадиган оксалацетат янгидан тикланиб туради.

Оксалацетат кислота анча беқарор бўлиб, тиамин пирофосфат иштирокида фаол β -декарбоксилаза ферменти таъсирида осонлик билан декарбоксилланади ва пирозум кислотага айланади. Оксалацетатнинг пируват ҳосил қилиб, парчаланиши эркин CO_2 нинг кетакислоталарга бирикиш реакциясининг тескарисидир:

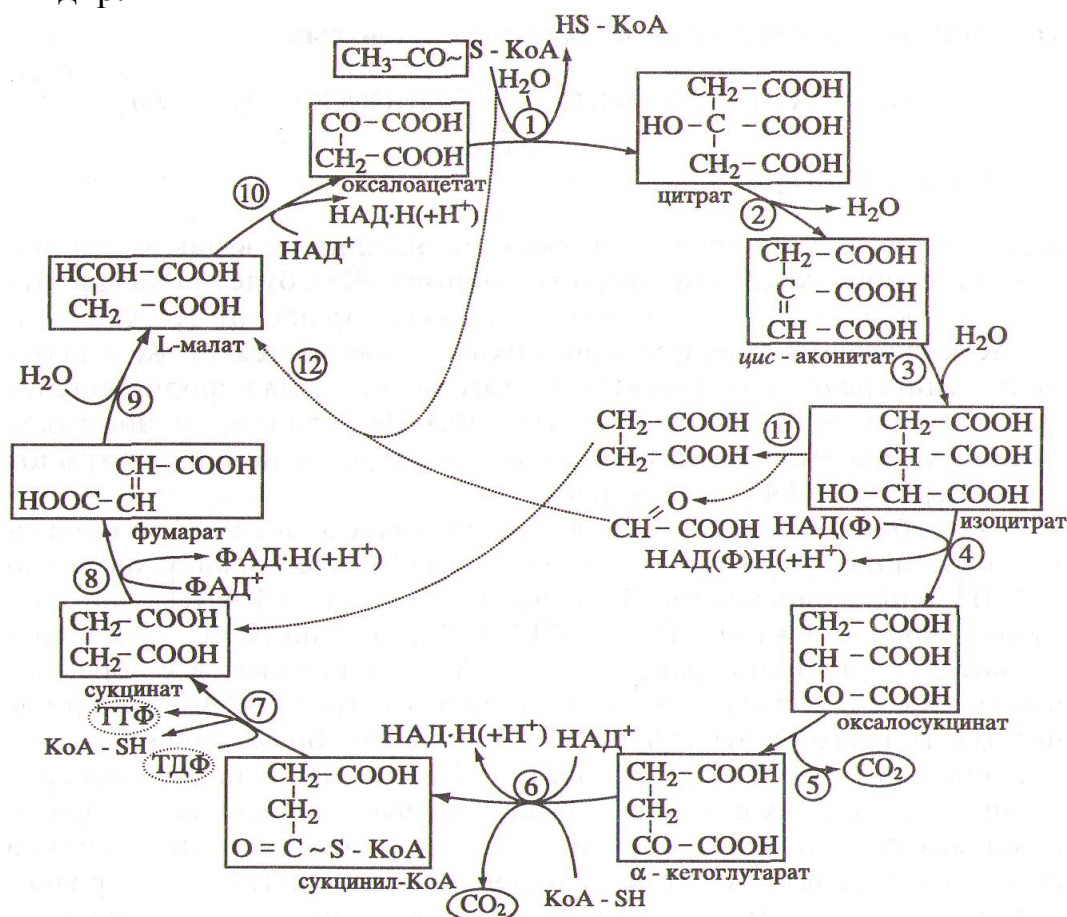


Бу реакция энг аввало микроорганизмларда Вуд ва Верхман томонидан топилган. Шунинг учун ҳам шу олимлар томонидан юритилади ва кейинчалик, бу реакция ўсимлик ва ҳайвонлар тўқималарига ҳам хос эканлиги аниқланган. Аммо, физиологик шароитда оксалацетат кислота кам концентрацияда ва доимо айланишда бўлганидан унинг пирозум кислота ҳосил қилиб, парчаланиши ҳам унчалик муҳим аҳамият касб этмайди. β -декарбоксилаза ферменти жигар тўқималарида топилган, аммо мускулларда ҳозирча топилгани йўқ.

Кребс ҳалқаси хужайра метаболизмининг марказида бўлиб, унинг айрим компонентлари ёғ кислотлар ва айрим аминокислоталарнинг алмашинувига боғлиқ. Масалан, углевод алмашинувининг айрим маҳсулоти – пирозум кислота, аланин ва оксалацетат кислоталар билан қайталама боғлиқдир. Унинг оксидланувчи декарбоксилланиш маҳсулоти – фаол ацетат кислота ва ёғ кислоталарининг парчаланишидан ҳам ҳосил бўлади. Шунингдек, оксалацетат кислота аспартат кислотанинг, β -кетоглутарат кислота эса глутамат кислотанинг дезаминланиш маҳсулоти бўлиб, улар бир-бирига ўта оладилар. Мана шу йўл билан уч карбон кислоталар ҳалқаси орқали хужайрада асосий бирикмалар синфининг алмашинуви бир бутун боғланган тўрға айланади ва интеграция қилинади. 63-чизмада келтирилган реакциялар ва чизмадан кўриниб турибдики, уч

карбон кислоталар ҳалқасининг бир айланишида битта ацетил радикал оксидланиб, 2 молекула CO_2 ажралади. Оралиқ маҳсулотлар оксидланганда 2НАД, 1НАДФ ва сукцинат дегидрогеназининг фламини қайтарилади. CO_2 молекулалари изоцитрат кислота ва β -кетоглутарат кислота оксидланиш йўли билан декарбоксилланганда ва олма кислотаси оксидланганда, НАДФН₂ эса изоцитрат кислота оксидланганда ҳосил бўлади. Қайтарилган коэнзимлар ва флавин оксидланганда ажраладиган деярли барча энергияни сақлайди ва келгусида ҳужайранинг нафас олиши жараёнида молекуляр кислород билан бирикиб, кўп миқдорда макроэргик фосфат боғларни ҳосил қилади.

Шуни ҳам алоҳида таъкидлаш лозимки, ҳалқадаги барча реакциялар бир йўналишда ва бир-бирлари билан келишилган ҳолда кечади. Шундай реакциялардан бири – ацетил – КоА ва оксалацетатдан цитратни синтез бўлиши, иккинчиси – изоцитратни декарбоксилланиб, α -кетоглутаратга айланиши, учинчиси - α -кетоглутаратдан сукцинил-КоА нинг ҳосил бўлишидир.



63-чизма. **Кребс ҳалқаси** (глиоксилат ҳалқаси узук чизиқчалар билан кўрсатилган).

Ҳалқаларда иштирок этувчи ферментлар: 1-цитратсинтаза; 2-ва 3-аконитаза; 4-ва 5-изоцитратдегидрогеназа; 6- α -кетоглутарат сукциназа; 7-сукцинил-КоА-синтетаза; 8-сукцинатдегидрогеназа; 9-фумараза; 10-малатдегидрогеназа; 11-изоцитратлиаза; 12-малатсинтаза.

Бу реакцияларнинг мажмуаси ҳалқани бир йўналишда ишлашига олиб келади. Бу феномен, ҳаттоки, малатдегидрогеназа ферменти катализ қилувчи реакциянинг тенглиги тескари томонга силжиганда ҳам, ўзгармайди. Бутун ҳалқа реакцияларини озод энергиянинг умумий катталигининг ўзгариши салбийлиги реакцияларни фақат бир томонга йўналишини белгилаб беради.

Кребс ҳалқаси билан бир вақтда таъсир этиб турувчи глиоксилат ҳалқаси анаплеротик вазифасини бажаради. Кребс ҳалқасидан фарқли ўлароқ (маълумки, унда сирка кислотасини оксидланиши содир бўлади), глиоксилат ҳалқасида сирка кислота синтезга кетади. Бу ҳалқанинг фаолият кўрсатиши учун икки фермент: изоцитратлиаза – изолимон кислотасини янтар ва глуксил кислоталарига парчалаб берувчи фермент, ва малатсинтетаза-глиоксил кислотасини ацетил КоА га қўшилиб, олма кислотасини синтез қилиш реакциясини катализ қилувчи фермент.

Глиоксилат ҳалқасининг ҳар бир айланишида ҳалқага икки молекула ацетил КоА қўшилади. Чизмада кўрсатилган реакцияларнинг умумий натижаси, мана шу икки молекула ацетатни шавел сирка кислотасига айлантириб беришдан иборатдир. Шунинг билан бир вақтда бир молекула янтар кислотаси ҳам ҳосил бўлади. Бу кислота биосинтез учун сарфланади, водород атомининг бир жуфти олма кислотасидан нафас олиш занжири орқали кислородга кўчиб ўтади. Бу эса АДФ ни оксидланиб фосфорилланиши томонидан бошқарилиб турилади. Шундай қилиб, глиоксилат ҳалқаси биосинтезнинг ҳар хил жараёнларига ҳам энергия ҳам тўрт углеродли оралик маҳсулотлари етказиб бериб туради.

19.4.1. КРЕБС ҲАЛҚАСИ ФЕРМЕНТЛАРИ ФАОЛЛИГИНИ БОШҚАРИШ

Учкарбон кислоталари ҳалқасининг ҳужайра фаолиятидан марказий, мужассамловчи механизм эканлиги ва унинг биосинтез механизмларидаги роли, бу ҳалқада иштирок этувчи ферментларни бошқаришни биокимёвий механизмларига алоҳида эътибор билан қарашга мажбур этади.

Бу механизмлар фақатгина ҳалқадаги реакцияларни эмас, балки модда алмашинувининг кенг давралаи бўлимларини, яъни нафас олиш занжири, туташ энергиялар тизими биосинтетик реакцияларни ҳам қамраб олади. Муаммонинг мураккаблиги, ферментларни фаоллигина эмас, балки, уларни биосинтез бўлиш механизмларига таъсири борлиги билан ҳам янада чуқурлашиб боради. Ҳалқага ацетил-КоА ни киритувчи биринчи реакция пируватни оксидланиб, декарбоксилланиши ҳисобланади ва бу реакция пируватдегидрогеназа комплекси иштирокида катализланади.

Бу ферментнинг фаоллигини бошқариш катта аҳамиятга эга, чунки у пируватни алмашинувининг йўналишини белгилайди. Фермент ўз реакциясининг метаболитлари - НАДН⁺ ва ацетил-КоА билан фаолланиши

ёки рақобатли сусайиши (ингибирланиши) мумкин. Масалан, НАДН/НАД⁺ нисбатини 1 дан 3 гача кўпайиши 90% гача реакция тезлигининг пасайишига ва (ацетил-КоА) / КоА нисбатининг кўпайишига олиб келади. Бошқача қилиб айтганда, агар ацетил-КоА ва НАДН миқдори кўпроқ бўлса, уларни пируватдегидрогеназа ферменти ёрдамида ҳосил бўлиши тўхташи ва буни тескараси КоА ва НАД миқдори юқори бўлганда, фермент фаол ишлаб, ацетил-КоА ва НАДН синтези тезлашиши лозим.

Ёғ кислоталарини оксидланиши содир бўлаётганда, пируватдегидрогеназа сезиларли даражада ингибирланади. Бу ходиса оксидланиш жараёнига ҳамроҳлик қиладиган АТФ, ацетил-КоА ва НАДН миқдорини баландлиги билан тушинтирилади.

Пируват фақатгина пируватдекарбоксилаза комплекси ферментлари учун субстрат бўлиб қолмасдан, у бошқа муҳим реакцияни олиб боровчи фермент пируваткарбоксилаза учун ҳам субстратдир. Маълумки, бу фермент пироузум кислотасини АТФ иштирокида карбоксиллаб, шавел сирка кислотасини ҳосил қилади ва уни ҳалқага етказиб беради.

Ачитқи замбуруғларининг пируваткарбоксилазаси учун асосий бошқарувчилар бўлиб, фосфорилланиш даражаси, ацетил-КоА ва аспартат ҳисобланади. Ацетил -КоА шунингдек, биотин сақловчи фермент билан СО₂ комплексини ҳосил бўлишида иштирок этиб, пируваткарбоксилаза ферментини фаоллигини оширади ва реакция маҳсулоти сифатида пируватдекарбоксилаза ферменти фаоллигини пасайтиради.

Пируваткарбоксилаза ферменти учун специфик ингибитор бўлиб, L-аспарагин кислотаси ҳисобланади. Бу кислота шавел сирка кислотасини переаминланиши натижасида ҳосил бўлади. Кребс ҳалқасининг биринчи реакцияси ацетил-КоА ни шавел сирка кислотаси билан конденсацияси ҳисобланади ва у цитратсинтетаза ферменти билан катализланади. Мана шу цитратсинтетаза ферментининг фаоллиги ҳалқага кирувчи оқимни тезлигини белгилаб берувчи бош меъзон ҳисобланади.

Ачитқи замбуруғларида (балки, кўпгина эукариотларга ҳам хосдир) цитратсинтетаза реакциясининг тезлиги энг аввало шавел сирка кислотаси ва ацетил-КоА нинг митохондриядаги миқдorigа боғлиқ.

Цитратсинтетаза реакцияси нафақат Кребс ҳалқасини бошқарувчи звено, балки унинг билан алоқадор бўлган хужайрада моддалар алмашинувини белгиловчи бошқа реакциялар учун ҳам аҳамиятлидир.

Ёғларнинг ситезини биринчи босқичи ҳам цитрат билан боғлиқ, чунки митохондрияда ҳосил бўлган ацетил-КоА, митохондрия мембраналари орқали цитрат бир шаклсида цитоплазмага тушади. Цитоплазмада у яна ацетил-КоА га айланади. Бу жараён АТФ га боғлиқ бўлган цитратлиаза ферменти иштирокида амалга ошади. Ачитқи замбуруғлари хужайраларида цитрат Пастер эффе́ктини ҳосил бўлишида, яъни нафас олиш орқали бижғиш фаоллигини тўхталишида муҳим роль ўйнайди. Бу жараёнда цитрат фосфатруктокиназа ферменти учун аллостерик ингибитор ролини ўйнайди.

Цитратнинг синтези – лимон кислотаси ҳалқасининг тезлигини чеклаб қўювчи босқичдир. НАДН ва сукцинил-КоА цитратсинтетазага ингибиторлик қиладилар. Цитратсинтетазанинг реакцияси натижасида ҳосил бўладиган цитрат кейинчалик аконитаза ферменти иштирокида ўзгаришга учрайди. Аконитаза цитратни цис-аконат ва изоцитратга айлантириш реакциясини катализ қилувчи фермент. Бу реакция эса қайтар реакциядир.

Уч карбон кислоталарининг энг муҳим назорат механизмларидан бири изоцитратдегидрогеназа реакцияси ҳисобланади. Ачитқи замбуруғлари бир-бирларидан коэнзим спецификлиги, физик-кимёвий ва кинетик хусусиятлари билан фарқ қилувчи изоцитратдегидрогеназанинг икки шаклини сақлайдилар. Улардан бири, НАД-га боғлиқ, митохондрияда локализация бўлган, иккинчиси эса, НАДФ – га боғлиқ митохондрияда ҳамда цитозолда учрайди. НАД-га боғлиқ изоцитратдегидрогеназанинг аллостерик фаоллаштирувчи (активатор) бўлиб, АМФ хизмат қилади.

Уч карбон кислоталарининг реакцияларини бошқаришда энергетик заряднинг ҳам муҳим улуши бор. Илмий назарияларга асосан, аллостерик ферментлар катализ қиладиган реакцияларнинг йўналиши ачитқи замбуруғларида АТФ/АМФ га нисбати билан назорат қилинади. АТФ/АМФ ни камайишига олиб келадиган ҳар қандай функционал фаоллик уч карбон кислоталар ҳалқасининг фаоллашувига олиб келади. Бу эффект цитратсинтетаза ва изоцитратдегидрогеназаларни фаоллигининг ошиши ҳисобидан амалга ошади.

Нафас олиш занжирига қайтарувчи эквивалентларни киришини кучайиши, АТФ/АМФ кўпайишига олиб келади. Бу эса ўз навбатида уч карбонли кислоталар ҳалқасини сусайишига олиб келади ва ацетил-КоА ни ёғлар синтези томонга йўналтиради ёки глюкоплогенезни фаоллашувига олиб келади. Шунингдек, ацетил-КоА дан синтези бошланадиган бошқа маҳсулотлар ҳам бўлиши мумкин.

Юқорида кўрсатиб ўтилганидек, микроорганизмларда изоцитрат ёки изоцитратдегидрогеназа орқали ёки глиоксилат йўлида изоцитратлиаза орқали ўзгаришга учрайди. Кўпгина микроорганизмларда глиоксилат йўли, уларни асосий углерод манбаи сифатида ацетат, этанол ёки алканлар сақлаган муҳитда ўстирилганда, кузатилади. Масалан, *Saccharomyces cerevisiae* хужайраларини 1,5% ли глюкоза сақлаган муҳитдан (глиоксилат ҳалқаси ферментларини бутунлай репрессия қилиб қўйилганда) ацетатли муҳитга кўчириб ўтказилганда, аэроб шароитда глиоксилат ҳалқаси ферментлари – изоцитратлиаза ва малатсинтаза ферментларини солиштирама фаоллиги анча кўпаяди.

Candida tropicalis хужайраларини глюкозали муҳитдан гексадекан сақлаган муҳитга ўтказилганда ҳам юқорида келтирилган ферментларни фаоллиги ошганлиги кузатилган. “Гексадекан” ли ачитқилар “глюкоза” ли вариантларига нисбатан юқори фаолликка эга бўлган цитратсинтаза ва аконитазалари билан фарқланади.

α -кетоглутаратдегидрогеназаларга АТФ ижобий таъсир кўрсатади. Ферментга АМФ ни боғланиши α -кетоглутарат учун Михаэлис константасини 10 мартага камайтиради. Сукцинил-КоА ва НАДН физиологик концентрацияда ингибиторли таъсир кўрсатади, бунда сукцинил-КоА ни концентрацияси жараён тезлигини бошқарувчи бош омил сифатида тахмин қилинади. Сукцинатдегидрогеназа ва изоцитратдегидрогеназаларнинг субстратлари ижобий аллостерик эффект вазифасини бажаради.

Бошқариш нуқтаи назаридан уч карбон кислоталари ҳалқасининг муҳим ферментларидан бири малатдегидрогеназа ҳисобланади. АМФ цитоплазматик малатдегидрогеназани ингибирлайди, митохондриял шаклдаги малатдегидрогеназани эса фаоллаштиради. Бунга тескари равишда, АТФ малатдегидрогеназани митохондриял шаклсини ингибирлайди. Уч карбон кислоталари ҳалқаси билан фақатгина митохондриял ферментлар алоқадордир. У, конститутив фермент ҳисобланади. Малатдегидрогеназанинг цитоплазматик шакли шавел сирка кислотасини – олма кислотасига ўтказишга муносабат кўрсатади.

Кребс ҳалқасида тўртта дегидрогеназа ферментларининг иштирок этиши, ҳалқани бир меъёردа ишлашига шароит яратади, чунки ҳалқанинг узлуксиз ишлаб туриши қайтарувчи эквивалентларнинг албатта қайтадан оксидланишини талаб қилади. Ҳалқанинг юқори тезликда ишлаши керакли миқдорда кислородни талаб қилади, яъни ҳалқа аэроб шароитда яхши ишлайди.

Кребс ҳалқасида ферментларни фаоллигини аллостерик тарзда бошқариш электронларни кўчиши занжирида ҳам амалга ошади. Митохондрияда жойлашган бу тизимларда асосий бошқариш механизмлари НАД ва АДФ ни концентрациясини ўзгариши билан боғлиқ. Агар НАД ни катта қисми қайтарилган ҳолатда бўлса, ҳалқада дегидрогеназаларни фаоллиги пасаяди. Электронларни кўчириб ўтказиш занжирида оксидланишга улгурмай қолганда НАДН ни концентрацияси кўпаяди. Бундай ҳолат кислород етишмаганда кузатилади. Худди шунга ўхшаб, АДФ/АТФ ни кичик моляр нисбатида энергетик боғлиқлик сабабли митохондриял занжир бўйича электронларнинг кўчиши секинлашади.

Микроорганизмларда ҳалқани кетма-кет келадиган босқичларини эътибор билан кузатиш, Кребс ҳалқаси озиқа моддаларнинг оксидланиши ва хужайра метаболитларининг синтези учун универсал механизм эканлигини кўрсатади.

Уч карбон кислоталари ҳалқасини компонентларини оксидлай олмайдиган замбуруғ ёки бактерияларнинг мутантлари хужайралари ташқарисида алоҳида реакцияларда ўзгариш (бузилиш) бўлганлиги сабабли, уларнинг АТФ миқдори паст бўлади. Энергетик ва биосинтетик функциядан ташқари ҳалқани бошқарувчанлик аҳамияти ҳам бор. Чунки, ҳалқа муҳим метабolik йўллари чорраҳаларида турган бирикмалар орасида боғ ташкил қилади.

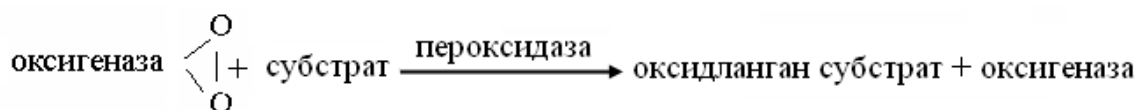
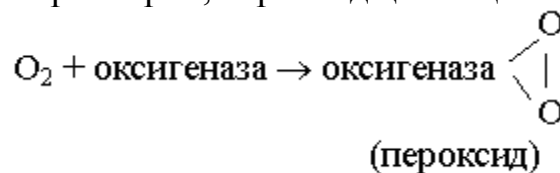
19.5. НАФАС ОЛИШ ЗАНЖИРИ ВА ОКСИДЛАНИШЛИ ФОСФОРЛАНИШ

Барча тирик организмларнинг ҳаёт кечириши учун зарур бўлган энергия уларнинг таналарида мураккаб бирикмалар кимёвий боғларининг узилиши натижасида ҳосил бўлади. Энергия ажратиш билан борадиган бу реакция биологик тизимларнинг юксак шаклларида, асосан тўқима ва ҳужайраларда кечадиган *оксидланиш* натижасидир.

Мураккаб бирикмаларнинг организмда кислород бириктириб парчаланиши натижасида ҳосил бўладиган охирги маҳсулотлар, ташқи муҳитда ёниш жараёнида келиб чиқадиган H_2O ва CO_2 нинг ўзи эканлиги аниқланган.

Кўпгина микроорганизмлар энергияни молекуляр кислород иштирокисиз ўтадиган кимёвий реакциялар орқали олиши мумкин, ҳайвон организми ҳужайралари ҳам кислород етишмаганда мураккаб бирикмаларнинг анаэроб парчаланиши жараёнида энергия манбаи сифатида фойдаланадилар. Аммо, аэроб прокариотларда ва эукариотларда кимёвий энергиянинг асосий қисми озиқа моддаларнинг молекуляр кислород билан оксидланиши натижасида келиб чиқади. Бу жараёнлар ҳужайра ва тўқималарда кечадиган организмлардаги биологик оксидланиш ҳодисаси тўқиманинг ёки ҳужайранинг нафас олиши деб аталади.

Биологик оксидланиш XIX- асрнинг охирларида оксидаза ферменти иштирокида бажарилиши аниқланган эди. Аммо бу жараённинг механизмини аниқлаш учун яна кўпроқ вақт талаб қилинди. Кўплаб тажрибалар молекуляр кислороднинг ўзи метаболитларни оксидлай олмаслигини кўрсатди. Бу жараён содир бўлиши учун кислород фаолланиши лозимлиги ва фақатгина ўшанда оксидланиш реакциясини ҳужайра ичидаги ферментлар амалга оширишлари ҳамда бу жараёнда металл компонентлар муҳим роль ўйнаши кўп сонли тажрибалар асосида тасдиқланган. “*Кислороднинг фаолланиши*” ғоясини ривожланиши рус олими *А.Н.Бахнинг* (1857-1946) пероксид назарияси катта ўрин тутди. Бу назария бўйича кислороднинг фаолланиши оксигеназа ферментини молекуляр килородни бириктириб, пероксид ҳосил қилишига боғлиқ.



Бу механизм ўсимликларда бир қатор моддаларни оксидланишини етарли даражада тушунтира олса ҳам, аммо умумий ҳужайранинг нафас олишидаги асосий метаболитларнинг оксидланишига алоқаси йўқ эканлиги аниқланди. Шу туфайли тажрибалар яна давом эттирилаверди.

Ҳужайранинг нафас олишида кислороднинг фаолланиш назарияси билан бир қаторда, биологик оксидланиши субстратдан водороднинг четлатилиши (дегидридлиниш) билан боғлиқ эканлигини тасдиқлайдиган тажрибаларнинг натижалари ҳам тўплана борди. Бу ғоя ҳам машҳур рус олими, физиолог ва биокимёгар *В.И.Палладин* (1859-1922) томонидан 1908 йилда ўртага ташланган эди. Ундан кейин дегидрогенланиш водороднинг фаолланиш маъносида *Тумберг* ва *Виланд* тажрибаларида янада ривожлантирилди.

*В.И.Палладин*ни фикрича, нафас олиш жараёнида кислороднинг роли ўсимликларда кенг тарқалган, рангсиз аммо, кислород таъсирида осонлик билан оксидланиб пигментга айланадиган нафас хромогенлари номли моддаларнинг оксидланишидан иборат. Оксидланиш натижасида ҳосил бўлган рангли модда турли субстратдан ажраладиган водородни қабул қилиб, рангсиз хромогенга айланади. Бу жараён такрорланиб туриши туфайли субстрат водород ажратиш билан оксидланади. Шундай қилиб, организмлар оксидланадиган моддалар – оксиллар, углеводлар, ёғлар водород донорлари (берувчилари), молекуляр кислород эса унинг акцепторлари (қабул қилувчилари) сифатида нафас олиш жараёнида қатнашади.

Оксидланиш ва қайтарилиш ҳодисаси – дастлаб моддага кислороднинг бирикиши ёки бирикмадан кислороднинг ажралиши билан юз берадиган реакцияларни ифода қилади. Умумий кимёнинг назарий асосларини яратиш жараёнида бу таърифнинг тўлиқ эмаслиги маълум бўлади. Биринчидан, оксидланиш жараёни давомида оксидланаётган модда атомининг қандай бўлмасин мусбат валентлигини орттириши ва аксинча, қайтарилаётган атом валентлигинининг камайиши аниқланади. Атом тузилиши ҳақидаги ҳозирги замон тушунчаларига биноан, элементнинг валентлиги унинг ташқи орбитасидаги электронлар сонига боғлиқ бўлиб, ундан электрон (e) ажратилганда элементнинг валентлиги ортади, электрон бириктирилганда эса камаяди. Масалан: $\text{Fe}^{++} - 1e \rightarrow \text{Fe}^{+++}$.

Органик бирикмаларнинг оксидланиши, кўпинча улардан водороднинг ажралиши билан, қайтарилиши эса водород бириктириш билан боради. Шундай қилиб, оксидланиш деганда, бирикмага кислороднинг бирикишини, ундан водород ҳамда электроннинг йўқотилишини тушунамиз. Қайтарилиш эса кислороднинг йўқотилиши, водороднинг бириктирилиши ёки электрон қўшилишидан иборатдир. Бир модданинг оксидланиши ҳамма вақт иккинчи модданинг қайтарилиши билан бирга кечади. Шунинг учун оксидланиш – қайтарилиш жараёни билан доимо бир вақтда тўқнашамиз.

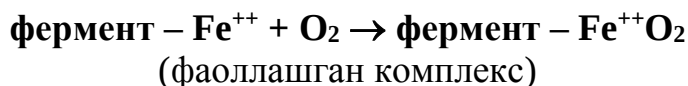
Ҳужайранинг нафас олиши – деб аталадиган жараён углевод, ёғ ва оксиллар алмашинувида келиб чиқадиган метаболитларнинг кислород билан бирикиб, охириги маҳсулотни ҳосил қилишидан иборат. Бу жараён учун зарур бўлган молекуляр кислород атмосферадан ўпкага, қизил қон таначаларидаги гемоглобин орқали тўқималарга етказилади. Бу ерда

кислороднинг парциал босими камайиши туфайли кислород эркин ҳолда ажралади ва кимёвий реакция давомида ҳужайра томонидан ютилади.

Метаболитларнинг оксидланиши кимёвий боғларнинг узилиши ва энергиянинг ажратилиши билан содир бўладиган комплекс реакцияларидан иборат. Бу жараёнда кўпчилик биологик оксидланиш реакцияларининг биринчи босқичи метаболитларнинг дегидридланиши билан боғлиқ. Бундан кейин келадиган босқичлар водородни ёки электронни бир қатор босқичлар орқали кўчириб, охирида кислородга узатиш ва улардаги кимёвий энергияни ҳужайрадаги жараёнларда фойдаланиш учун яроқли шаклда ажратиб беришни ўз ичига олади. Мана шу асосда водород ва кислород юмшоқ шароитда иссиқликни ташқарига беҳуда сарф қилмай бирикади. Оксидланиш жараёнида ажраладиган энергия бирдан кўп миқдорда тарқалмай, кичик улушларда кириш модданинг функцияси учун сарфланадиган энергияга бой кимёвий боғларда тўпланади.

Тирик ҳужайралар метаболитларни оксидловчи катализаторларга эга бўлиши керак деган ғоя *Отто Варбург* томонидан илгари сурилган эди. У органик компонентларни оксидланиш металл ионлари, хусусан, темир ионлари томонидан катализланишига диққатни жалб этди. 1927 йили у тўқимада нафас олиш ферментининг борлиги ва унинг таркибига гемпротеин шаклида органик боғланган темирнинг кириши ҳақида хабар берди. Бу фермент таркибидаги уч валентли Fe^{+++} метаболитдан электрон олиб қайтарилади, яъни Fe^{++} шаклига ўтади:

Қайтарилган фермент молекуляр кислород билан реакцияга киришиши орқали қайта оксидланади:



Оксидланган фермент энди қайтадан метаболит билан реакцияга киришади. Бу назарияга кўра, фаолланган комплекснинг ҳосил бўлиши кислородни фаолланишини мужассамлаштиради. Ҳужайранинг оксидланиши дегидридланиш деб қабул қилувчи *Палладин* ва *Виланд* назарияси субстратдаги боғланган водородни фаолланишини кўзда тутди. Субстратдан ажраладиган водород каталитик реакцияда водород акцептори деб аталадиган компонент томонидан қабул қилинади. Биологик оксидланишида акцепторлик ролини қайта оксидланиб – қайтарилиб турадиган, коферментлар НАД, НАДФ, ФМН ёки ФАД бажаради.

Шуни ҳам эътиборга олиш лозимки, реакциянинг давом этиши учун акцептор вақтинча бириктириб олган водород атомларини бошқа акцепторга узатиб, ўзи субстратнинг янги молекулаларини қайтадан

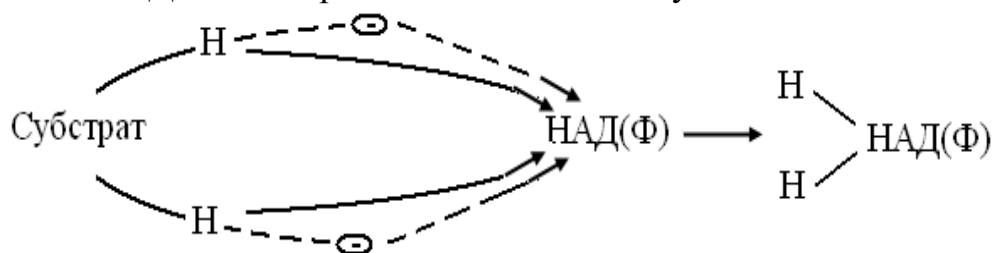
оксидлаш учун тайёр бўлиши керак. Бу жараёнда водороднинг энг сўнгги (атамаал) акцептори сифатида молекуляр кислород қатнашади. Шунинг ҳам таъкидлаб ўтиш керакки, биологик оксидланиш таълимотининг яратилиши давомида *Виланд* водородни қабул қиладиган оралик ташувчиларга диққатни жалб этиб, кислород фақат шу ташувчиларнинг қайта оксидланиши учун зарур эканлигига эътибор берган эди.

Варбург эса металл ионларининг иштирок этишига ва молекуляр кислороднинг бевосита таъсирига эътибор берган. Кейинги вақтларда биологик оксидланиш таълимотининг ривожланиши ҳужайранинг нафас олиши қатор реакциялар занжиридан ташкил топганлигини ва у *Виланднинг* дегидридланиш жараёнидан бошланиб, акцептор қабул қилган водород бир нечта водород ташувчилар орқали ўтгандан сўнг металл ион ташувчи комплекслар иштирокида фаоллашиб, молекуляр кислородга қўшилиши билан тугалланиши тасдиқланди. Бу жараёнда қатнашувчи, таркибида металл иони сақлайдиган оксидазалар молекуляр кислород билан бевосита бириктиш реакцияларини ҳам ўз ичига олади.

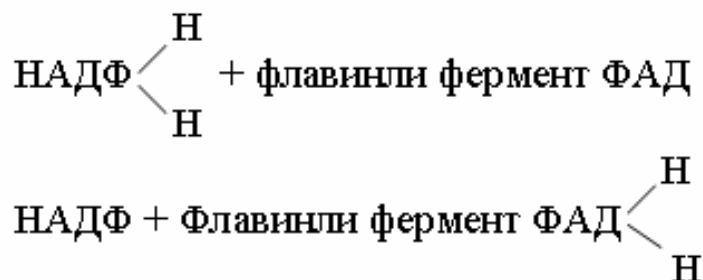
Варбургнинг нафас ферменти темир атоми сақлайдиган ***цитохромоксидаза*** деб аталадиган фермент билан бир хил бўлиб чиқди. Водородни фаолланишида ҳам ундан электронларни қабул қилиб, кислородга узатадиган, таркибида темир сақлайдиган бир нечта гемпротеинлар – цитохромлар қатнашади. Бинобарин нафас олиш системаси мураккаб тузилма бўлиб, у водород донори метаболит, дегидрогеназа ферменти водороднинг оралик ташувчилар (НАД, НАДФ), простетик группаси Fe ва ФАД бўлган флавопротеидлар, коэнзим Q цитохромлар ва молекуляр кислороддан ташкил топади.

Тўқима нафас олиш ферментлари – нафас олиш катализаторларининг компонентлари асосан митохондриялар билан боғланган. НАД ли коферментлар ва уч карбон кислотлар халқасининг баъзи ферментлари митохондриялар матриксида жойлашган цитохромлар, утихинон ва металлофлавопротеинлар эса ички мембрананинг липид фракциялари билан аралашган (боғланган). Субстрат бевосита кислород билан реакцияга киришмай қатор оралик ташувчилар орқали ундан ажратилган. Ҳужайранинг нафас олишидаги биринчи реакцияда субстрат специфик дегидрогеназа таъсирида дегидридланади. Бу жараёнда ажраладиган водород атоми (протон ва электрон) дегидрогеназа ферментининг юзасида НАД ёки НАДФ томонидан қабул қилинади.

Натижада НАД ни қайтарилган шакли пайдо бўлади:



Қайтарилган НАД дан водородни флавин ферментлар қабул қилиб олади. Натижада НАДФН₂ оксидланиб, қайтадан субстрат билан муносабатга кира оладиган (водород акцептори) ҳолатига келади. Флавинли фермент энди қайтарилган шаклга ўтади:

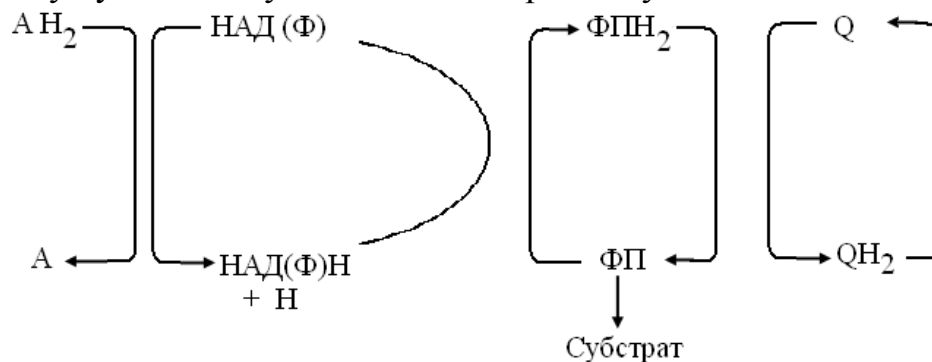


Флавинли ферментларнинг баъзилари фақат қайтарилган НАД ва НАДФ дангина водородни қабул қилиб олади, бошқалари эса оксидланишнинг асосий субстрати билан бевосита реакцияга киришади, яъни регидрогеназа ёки оксидаза сифатида қатнашади.

Ҳозирда маълум бўлган флавопротеидларнинг сони қиркга яқин бўлиб, уларнинг тахминан ярмининг таркибида металл атомлари (Fe, Cu, Mo, Zn) дан бирининг борлиги тасдиқланган.

Металл флавопротеидларнинг бир гуруппасидаги металл атомлари электронни бириктириб олиши, ёки йўқотиши туфайли валентлигини осонгина ўзгартириб туради ва шу йўл билан флавопротеинларнинг қайтарилган шаклидан цитохром системага электронни узатади.

Флавинли ферментлар орасида сукцинат, бутилин, бутинил-КоА, лактатни водородсизлайдиган бир қатор муҳим дегидрогеназалар ҳам бор. Флавинли ферментларнинг оксидазалар қаторига кирадиган вакиллари, масалан, L-аминокислота ва D-аминокислота оксидазалари, глюкозаоксидаза, альдегидоксидаза ва ксантинооксидаза водородни субстратдан бевосита молекуляр кислородга узатади. НАД·Н₂ водородга ва сукцинат кислотани дегидридловчи флавопротеидларнинг ягона умумий водород атомларини Q-энзимга беради, бинобарин, НАД·Н₂ оксидлайдиган фермент НАД·2Н – коэнзим Q-редуктаза, сукцинат дигидрогеназа эса, сукцинат коэнзим Q-редуктазадир, демак, нафас олиш занжирининг субстратдан водородни ажратиб, оралиқ ташувчиларга узатувчи бу бўлимини қуйидагича тасвирлаш мумкин:



Нафас олиш занжирининг кейинги қисми электрон ташувчи цитохромлар тизими билан боғлиқ. QH₂-цитохром С-редуктаза номли фермент қайтарилган коэнзим Q-билан цитохромни боғловчи звенодир.

Цитохром В бу ферментнинг таркибий қисми бўлиши мумкин. Мана шу воситачи иштирокида қайтарилган коэнзим Q га боғланган водород атомларининг электронлари цитохром С таркибидаги уч валентли темирни қайтаради, электрон ажралгандан сўнг водород атомидан қолган протон муҳит таркибида бўлади. Қайтарилган цитохром С дан электронлар цитохром а (а₃) иштирокида молекуляр кислородга ўтказилади. Электронлар билан бирга кислородга муҳитдаги протон ҳам қўшилиб, сув ёки гидропероксид (H₂O₂) ҳосил бўлади. Бу жараёнда ҳар бир кислород молекуласига цитохромлардан тўрт электрон, муҳитдан тўрт протон кўчирилади.

Шундай қилиб, электронни қайтарилган флавин ферментлардан коэнзим Q-(цитохром В комплекси) иштирокида молекуляр кислородга кўчиришида бир нечта цитохромдан иборат тизим: цитохром В (коэнзим Q-редуктаза комплексида), цитохром С (кўпинча, аэроб тизим В ва а цитохромлар орасида) оралиқ ташувчи сифатида таркибида цитохром С₁ ҳам сақлайди, цитохром а (ва а₃) иштирок этади. Уларнинг электрон ташиш занжирига бирин кетин қўшилиши оксидланиш ва қайтарилиш потенциалига боғлиқ. Асосий цитохромлар а, В, С учун бу кўрсаткичлар қуйидагича қийматга эга:

цитохром а + 0,29

цитохром В..... – 0,04

цитохром С..... + 0,26

Ҳужайранинг нафас олиш кулминацияси электронларни ташилиши ва оксидланиш билан боровчи фосфорланиш жараёнида оксидланиш реакцияси энергиясининг энергияга бой боғлар шаклида тўпланишидир.

Нафас олиш занжирида реакциянинг ҳамма энергияси бирданига эмас, балки кичик улушлар билан ажралиб чиқади ва занжирнинг маълум нуқталарида аноорганик фосфат молекуласининг эфирланишини таъминлаб, биттадан макроэргик фосфат боғи ҳосил қилади. Нафас олишда қатнашувчи катализаторлар занжири орқали водород НАДН₂ дан молекуляр кислородга кўчирилганда, уч молекула аноорганик фосфатнинг боғланиши ва бу жараёнда бир атом кислороднинг сарф бўлиши аниқланган.

Ҳужайранинг нафас олиш жараёнида аноорганик фосфатнинг микроэргик боғлар орқали бириккан фосфат эфирларига айланиши, яъни электронлар транспорти билан уланган ҳолда НАДФ ва АДФ дан АТФ ҳосил бўлиши оксидланишли фосфорланиш деб аталади.

Унинг ҳосиласи ёки самараси боғланган фосфор атомларининг ютилган кислород атомлари сонига нисбати (Р:О) билан белгиланади.

Энергияга бой боғларнинг синтеzlаниши нафас олиш жадаллигига боғлиқ. Қулай шароитда ҳар бир кислород атомига уч макроэргик фосфат

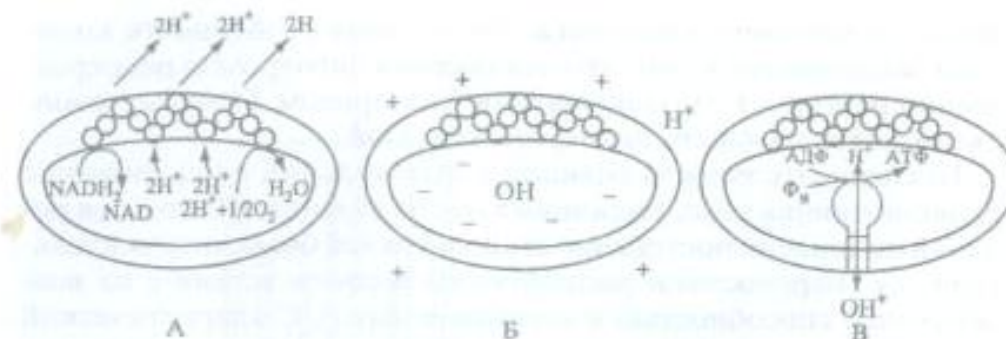
боғи – 3АТФ молекуласи ҳосил бўлади, яъни оксидланишли фосфорланишнинг самараси учга тенг бўлади.

Оксидланишли – фосфорланиши деганда, ҳужайрада кечадиган икки жараён тушунилади:

Биринчи – НАДН ва ФАДН га ўхшаган қайтарилган молекулаларни электронлар транспортининг биринчи реакциялари натижасида, экзоэргоник оксидланиши;

Иккинчи – АДФ ни эндэргоник фосфорланиши билан АТФ ҳосил бўлиши.

Жараёнларни алоҳида бўлганликларига қарамасдан, улар энергетика бўйича ўзаро алоқадорлар, чунки, электронларни ташишда ҳосил бўладиган энергия АТФ ни синтези учун сарфланади. Бундан ташқари бу жараёнларда иштирок этувчи молекулалар бир компартментда жойлашган. Бу жараённинг чизмаси қуйидаги чизмада келтирилган (64-чизма):



64-чизма. Митохондрияда оксидланишли фосфорланиш

А-нафас олиш занжирида НАДН ни оксидланиши митохондрияларни ички мембраналаридан протонларни ажралиб чиқишига олиб келади; **Б**-ички ва ташқи томонлар орасидаги электркимёвий градиент; **В**-протонларни қайтиб ўтиши оқибатида АТФ нинг регенерацияси.

64-чизмадан кўриниб турибдики, тегишли субстратлардан қайтарувчи эквивалентлар (протонлар ва электронлар) плазматик мембранага ёки митохондрияларнинг ички мембранасига кўчиб ўтади. Мембраналарни ички ва ташқи томонида электрокимёвий градиент (мусбат потенциал ташқарида, манфий потенциал ичкарида) ҳосил бўлади ва шу туфайли мембраналар орқали кўчиб ўтиш (транспортировка) га шароит туғилади.

Зарядларни бундай ўзгаришига нафас олиш занжири компонентларининг мембранада маълум даражада жойлашуви сабаб бўлади. Бу компонентларни баъзилари электронларни бошқалари эса водород ташиб ўтадилар. Ташиб ўтувчи компонентларни мембранада ўзаро жойлашувлари шундайки, электронларни субстратдан кислородга ташиб ўтаётганда протонлар (H) мембранани ички томонидан, ажралиб чиқадиганлари эса мембрананинг ташқарисида боғланадилар.

АДФ ва ноорганик фосфордан АТФ ни АТФ–синтетаза ферменти ҳосил бўлади. Фермент замбуруғсимон шаклга эга бўлиб, мембранани ички томонидан матрицага қараб чиқиб туради. Юқорида акс эттирилган

АТФ ни синтез механизми организмда АТФ ни қайта тикланиб туриши учун энг муҳимдир.

Электронларни ташилишини тажрибалар асосида ўрганмоқчи бўлган изланувчиларга, мана шу жараёни маълум босқичларини тўса оладиган махсус ингибиторлардан фойдаланиш тавсия қилинади. Бундай ингибиторлардан энг кўп ишлатиладиган ротенон – НАДН дан убихинонга (кофермент Q га) электронларни ташиш участкасини тўсиш хусусиятига эга, антимицин А антиотиғи эса – электронларни убихинондан цитохром С га кўчирилишини тўсади;

Цианид–цитохром $a \cdot a_3$ катализ қиладиган кислороднинг қайтарилишини тўсадиган кучли ингибитор ва заҳардир.

Цитохром $a \cdot a_3$ ни бўғадиган яна бир кучли ингибитор углерод икки оксидидир (СО). Занжирда, бўғилган босқичдан бевосита олдинда турган электрон ташувчилар кучлироқ қайтарилган, бу босқичдан кейинда турганлари кучлироқ оксидланган бўладилар. Компонентларнинг бу шакллари спектрофотометр ёрдамида осонгина аниқлаш мумкин.

Юқорида таъкидланганидай, митохондриянинг ички мембранасидан АТФ–синтезловчи фермент–АТФ–синтетаза ажратиб олинган. Бу фермент икки оксил компонентлари F_0 ва F_1 омилларидан иборат эканлиги аниқланган.

Хусусан, бу жараёни ҳар–бир босқичи, унинг компонентларининг бирин–кетин келиши ва фосфорланиш ўрнини аниқлашда занжирнинг айрим звеноларини ва маълум реакцияни катализ қилувчи ферментларни соф ҳолда ажратиб олиш ва уларни батафсил текшириш, нафас олишни заҳарловчи турли ингибиторлардан фойдаланиб, реакциялар тезлигини ўзгаришини ўрганиш ишлари олиб борилмоқда. Натижада баъзи–бир гипотезалар ҳам тақлиф этилган.

Улардан бири *Ленинджер* олдинга сурган кимёвий уланиш гипотезасидир. Бу гипотезага кўра нафас олиш занжирини фосфорловчи ҳар уч нуктасидан электрон кўчирилиши энергияга бой боғни ҳосил қилиш билан бирга ўтганда, электрон ташувчи фосфат ёки қандайдир бошқа компонент $-(x)$ билан уланади. Бу оралиқ маҳсулот сўнгра ўзида ҳосил бўлган фосфор (Ф) боғини АДФ га узатиб, АТФ ни ҳосил қиладди:

биринчи босқич: ташувчи + $x \rightarrow$ ташувчи $\sim x$.

иккинчи босқич: ташувчи $\sim x$ + анорганик Ф (фосфат) $\rightarrow$ ташувчи + Ф $\sim x$.

учинчи босқич: $\text{Ф} \sim x + \text{АДФ} \rightarrow x + \text{АТФ}$.

Бу фикр митохондрияларда электрон ташиш тамомила тўхтаганда ҳам АТФ нинг охирги фосфати молекулада икки реакция орқали ҳосил бўлиши билан тасдиқланади. Бу реакцияларнинг бири нишонланган P^{32} билан АТФ орасида ўтадиган алмашинув реакцияси бўлиб, бунда P^{32} тез вақтда ва бевосита АТФ ни охирги фосфатини ўрнида пайдо бўлганлиги билан исботланган. Иккинчи реакцияда эса P^{32} ёки C^{14} билан нишонланган АДФ дан АТФ синтез бўлганлиги билан исботланган.

Ҳар иккала реакциянинг ҳам оксидланиш билан борувчи фосфорланишга бевосита алоқаси борлиги, бу жараёни катализ қилувчи ферментни ингибирловчи динитрофенол билан захарланиши асосида тасдиқланган бўлсада, бу гипотеза тўла экспериментал тасдиқ топмади.

Кўп йиллар мобайнида астойдил ўтказилган изланишларга қарамай ҳужайрада электронларнинг ташилишини АТФ синтези билан боғловчи (фараз қилингандек) юксак энергияли оралик маҳсулотни топишга эришилмади.

Оксидланувчи фосфорланиш механизмини тушунтирувчи энг замонавий фараз инглиз биокимёғари *Питер Митчелл* томонидан таклиф этилган. Бу гипотеза хемиосматик гипотеза деб ҳам юритилади ва унга асосан митохондрияларнинг ички мембранасида электронларни ташиш функцияси митохондрия матриксидан H^+ ионларини ташқи муҳитга кўчириш ва шу йўл билан мембранани ажратиб турадиган икки сув фазасида H^+ ионлари концентрацияси градиентини яратилиши билан тушунтирилади. H^+ ионлари концентрацияси митохондриялар ичидагидан баланд бўлган бундай градиент потенциал энергияга эга. Хемиосматик назарияга биноан электронларни ташиш энергияси ҳисобига ташқарига чиқарилган H^+ ионлари қайтадан бу ионлар учун F_0-F_1+ATP фаза молекулаларидаги махсус каналлар ёки “ғоваклар” орқали ичкарига киришга интиладилар. Мана шундай ҳолда улар концентрация градиенти бўйича силжийдилар ва АТФаза молекулалари орқали ўтишида эркин энергия ажралади. Худди мана шу энергия АДФ ва Ф дан уланган АТФ синтези учун ҳаракат кучи бўлиб хизмат қилади.

Бундан келиб чиқадики, хеMOSTATик фараз ҳеч қандай юксак энергияли кимёвий омилга муҳтожлик сезмайди. Аммо, бу механизми амалга ошиши учун мембрана бутун, яъни интакт митохондрияларда у батамом ёпиқ бўлиши зарур. Ўз-ўзидан маълумки, мембрана бутун бўлмаса, унинг ҳар икки томони орасида H^+ ионлари концентрация градиенти туғилиши мумкин эмас. Шунингдек, турли ажратувчи агентлар иштирокида “ H^+ ионлари оқиб чиқиб кетса” градиент пасаяди, энергетик уланиш бўшашади. Лекин хеMOSTATик гипотеза ҳам оксидланувчи фосфорланиш механизмининг ҳамма масалаларини охиригача ҳал қилиб бергани йўқ. Масалан, электронлар ташиш занжири қандай қилиб H^+ ионларини матриксдан ташқарига итариб чиқаради деган саволга ҳозирча жавоб йўқ.

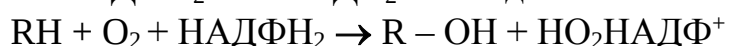
19.6. МИКРОСОМАЛАРДАГИ ОКСИДЛАНИШ

Микросомалар-деб *тўқима парчаланиш жараёнида* (гомогенлаштирилганда) *эндоплазматик тўр мембраналаридан ҳосил бўладиган ёпиқ пуфакчаларга айтилади.*

Микросомал оксидланиш асосан жигар ва буйрак фракцияларида кузатилиб, митохондриядаги оксидланишдан фарқ қилади. Митохондриал оксидланиш асосан дегидридланиш механизми орқали ўтиб, бу жараёнда кислород электронларнинг охириги акцептори ролини ўйнаса,

микросомаларда кечадиган оксидланишда кислород бевосита оксидланувчи молекулага киради. Бундан ташқари митохондриял оксидланишда кислород биоэнергетик жараёнларга сарф бўлса, микросомал оксидланишда у “пластик” мақсадлар учун “истеъмол” қилинади.

Микросомаларда жойлашган ферментлар оксигеназалар группасига кириб, улар ё молекуляр кислородни органик бирикмага тўла бириктирадилар (диоксигеназалар) $R + O_2 \rightarrow RO_2$, ёки гидроксил группа ҳосил қилиб, битта атомини боғлайдилар (монооксигеназалар, гидроксилазалар); иккинчи кислород атомини қайтарилиши учун водородни асосан НАДФН₂ ёки НАДН₂ етказди:



Хужайрада гидрооксиллаш реакцияси бир қатор муҳим жараёнларда, масалан, холестерин ва стероид гормонларни оксидланиш йўли билан модификацияланишида, простогландинлар синтезида, балки тўйинмаган ёғ кислоталарни оксидланишида иштирок этади. Микросомал оксидланиш жуда кўп экзоген заҳарли бирикмалар, дори-моддаларнинг алмашинувида ҳал қилувчи аҳамиятга эга.

Гидрооксилланишни таъмин қиладиган микросомал ферментлар занжири – қуйидаги компонентлардан ташкил топган цитохром Р 450 ни қайтарилган шаклини СО билан мустаҳкам комплекси, коферменти ФАД бўлган флавопротеин, гемин бўлмаган темир сақловчи оксил.

19.7. ТўЛИҚ БЎЛМАГАН (ЧАЛА) ОКСИДЛАНИШ

“Чала оксидланиш” ибораси нисбатан яқинда ишлатиладиган бўлди. Илгари бу жараён бижғишга ҳеч алоқаси бўлмаса ҳам оксидловчи бижғиш деб юритилар эди. *Г.Шлегель* бу жараёнга қуйидагича изоҳ берган: “кўпчилик аэроб микроорганизмлар нафас олиш жараёнида органик моддаларни СО₂ ва сувгача оксидлайдилар. СО₂ молекуласидаги углерод энг юқори даражада оксидланганлиги учун, нафас олишнинг бу хили (тип) ни тўлиқ оксидланиш деб атайдилар, нафас олишнинг бундан фарқ қиладиган бошқа типи ҳам борки, унда модда алмашинуви махсули сифатида чала оксидланган органик бирикмалар ҳосил бўлади”. Чала оксидланишни охирги маҳсулоти сифатида сирка кислотаси, глюкон, фумар, лимон, сут кислоталари ва қатор бошқа бирикмалар бўлишлари мумкин. Чала оксидланиш жараёнининг энг кўп тарқалган маҳсулоти сифатида лимон кислотасини кўрсатиш мумкин. Бу кислотанинг ишлатилиш доираси жуда ҳам кенг. У металлларни коррозиядан (занглардан) тозалаш учун, детергент сифатида, газ қувурларини олтингугурт диоксидидан тозалаш, нефт қувурларига ишлов бериш (бетонни қотишини узайтириш мақсадида), енгил саноат, озиқ-овқат, фармацевтика саноатларида ва парфюмерияда кенг ишлатилади. Лимон кислотасини микробиологик йўл билан олиш, аввалги технологияни яъни

цитрус ўсимликлари меваларидан ажратиб олишни бутунлай тўхтатиб қўйди. Лимон кислотаси синтез қилувчи асосий продуцент бу *Aspergillus niger*. Юқорида таъкидланганларидан маълумки, лимон кислота, уч карбон кислоталари ҳалқасига кирувчи бирикмалардан бири. Лимон кислотага айланувчи углеводлар уч босқичдан ўтадилар:

Биринчи босқич: *глюколиз натижасида гексозалардан пируват ва ацетил-КоА ларни ҳосил бўлиши*;

Иккинчи босқич: *пируват ва CO₂ дан оксалацетатни ҳосил бўлиши (“анаплеротик” ҳосил бўлиши)*;

Учинчи босқич: *лимон кислотасини тўпланиши*.

Лимон кислотанинг продуценти глюкозани гликолиз (Эмбден-Майергоф-Парнас) йўли билан ёки пентоза фосфат йўли билан ассимиляция қилиши мумкин. Махсус қўйилган тажрибалар асосида, озиқа муҳитига солинган глюкозанинг 80% дан кўпроғи глюकोлиз йўли билан ўзгаришларга учраши исботланган. Катаболизмга кирган глюкозанинг ярми пируватга, иккинчи ярми эса – ацетил-КоА га айланади. Ажралиб чиққан CO₂ оксалацетат ҳосил қилувчи реакцияга киришади. Лимон кислотасини синтези CO₂ ни ютилиш даражасига боғлиқ эканлиги исботланган. Бу жараён учун жавоб берадиган фермент пируваткарбоксилаза ҳисобланади. Продуцентнинг бу ферментни синтез қилиши озиқа муҳити таркибидаги глюкоза ёки бошқа шакарнинг миқдорига тўғри пропорционал бўлиши ҳам аниқланган.

Лимон кислотасини юқори миқдорда ҳосил бўлишига асосий сабаблардан яна бири хужайра ичидаги фруктоза – 2,6-бисфосфатни миқдоридир. Бу модда гликолиз жараёнини жадаллаштиради. Баъзи-бир металлларнинг ионлари лимон кислота ҳосил бўлишида салбий роль ўйнайдилар. Чунки, улар лимон кислотаси метаболизмида иштирок этувчи ферментларнинг фаоллигини бўғиб қўядилар. Масалан, муҳит таркибида темир ва марганец ионлари танқис бўлса, аконитаза ва изоцитратдегидрогеназа ферментларининг фаоллиги бирданига тўхтайди. Марганец ионларини таъсирини оксил синтези жараёнлари билан боғлашади. Баъзи бир олимларнинг фикрларича, марганец ионлари хужайра ичидаги оксилларни гидролизини кучайтиради ва бу жараёнда юқори миқдорда ҳосил бўлган аммоний ионлари цитратни фосфофруктокиназа ферментини бўғиб қўйишлари мумкин. Изоцитратдегидрогеназа ферментини фаоллигини калий ферроцианид ва лимон кислотасининг юқори концентрацияси ҳам бўғиб қўядилар.

Металлларнинг роли ҳақидаги юқорида кўрсатиб ўтилганларга боғлиқ равишда, углеводларни манбаи ҳам катта аҳамиятга эга. Кўпчилик микробиологик технологияларда кенг ишлатиладиган модда-массасининг таркибида металл ионлари ва лимон кислотанинг синтезини тўсиб қўйиш қобилиятига эга бўлган бошқа моддалар ҳам кўп учрайди. Шунинг учун ҳам лимон кислотасини саноатда ишлаб чиқариш учун сахароза ишлатилади. Агар олдиндан гидролиз қилинмаган бўлса, полисахаридлар

ҳам ишлатилмайди. Бунга сабаб, уларни нордон муҳитда жуда ҳам секин гидролизга учраши билан боғлиқ. Азот манбаи сифатида аммонийнинг нитратли ёки сульфат тузлари ишлатилади. Аммоний тузларининг ассимиляцияси ва продуцентни ўсиш даврида муҳитнинг pH кўрсаткичи нордонлашиб боради ва лимон кислота тўпланадиган даврга келиб, 2,0 га тенг бўлади. Агар pH ундан баланд бўлса *Aspergillus niger* глюкооксидаза ферменти баланд бўлганлиги ҳисобидан глюкон кислотаси ҳосил қилади.

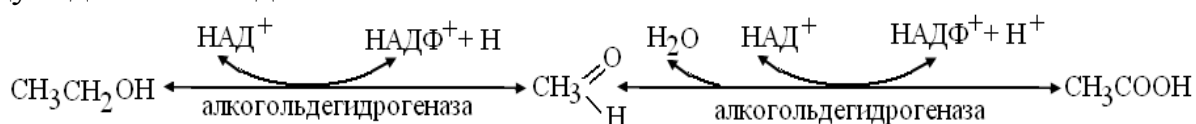
Културал суюқликда лимон кислотасидан ташқари полиоллар – маннит, арабит, эритрит, глицерин, шунингдек, органик кислоталар – малан, янтар, олма, қахрабо ва фумар кислоталари ҳам учрайдилар. Културал суюқликдан дастлаб қахрабо кислотасини олиб ташлайдилар ва кейин лимон кислотасини кальций тузи кўринишида чўктириб оладилар.

Охириги йилларда лимон кислотасини углеводородли муҳитда ўстирилган микромицетлар ва ачитки замбуруғлардан ажратиш технологиялари ҳам ишлаб чиқилган. Лимон кислотаси ажратишнинг биокимёвий асослари углеводларда ўстрилган микроорганизмлардан олишдан фарқ қилмайди. Углеводородлар, ёғ кислоталарига айланиб, β-оксидланишга учрайдилар ва Кребс ҳалқасига қўшилиб кетадилар. Лимон кислотасини юқори миқдорда синтез қилишнинг асосий физиологик шарти–озиқа муҳитида азотнинг танқислигидир. Микроорганизм ҳужайраларида лимон кислотаси билан бир вақтда изолимон кислотаси ҳам тўпланади. Агар муҳитда тиамин танқис бўлса, α-көтаглютар кислотаси кўп миқдорда синтез бўлади. Маълумки, тиамин – пируватдегидрогеназа ва α-көтаглютаратдегидрогеназа ферментларининг асосий таркибий қисми ҳисобланади. Мана шунинг учун ҳам унинг танқислиги α-көтаглютар кислотасининг тўпланишига олиб келади, чунки, ёғ кислоталарини β-оксидланишида пироузум кислотаси ҳосил бўлмайди. Бу кислота углеводородларнинг бевосита оксидланганда ҳам ҳосил бўлмайди. Субстратларнинг чала оксидланишига яна бир мисол қилиб сирка кислотасининг ҳосил бўлишини кўрсатиш мумкин. Сирка тайёрлаш энг қадимий жараёнлардан ҳисобланади. Сирка тайёрлаш учун манба сифатида муайян шароитга хос бўлган маҳсулотлардан фойдаланилади. Сирка сифатли бўлиши учун углеводлардан ташқари хушбўй ҳид берувчи моддалар сақлайдиган маҳсулотлардан кўпроқ фойдаланилади. Масалан, олма, узум, шафтоли ва ҳ.к. Сирка тайёрлаш учун икки хил микробиологик жараёнлардан фойдаланилади.

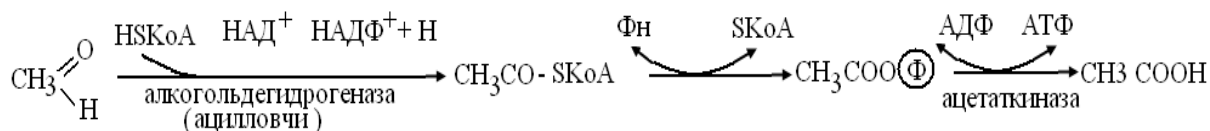
Биринчи – *маҳсулот дастлаб спиртли бижғитилади, ҳосил бўлган спирт кейин сирка кислотасигача оксидлантирилади. Спиртли бижғиш анъанавий усулда олиб борилади. Тайёр бўлган маҳсулотда, дастлабки субстратга хос бўлган кислоталар, эфирлар, углеводлар, пигментлар бўлиши мумкин.*

Иккинчи – *кўпроқ ишлатиладиган йўл бўлиб, тайёр этанолни тўғридан-тўғри Acetobacter ва бошқа қатор бактериялар ёрдамида оксидлаш йўлидир.*

Ҳар икки йўлда ҳам этанолдан сирка кислотасини ҳосил бўлиши куйидагича кечади:



Қатор бактерияларда бошқа йўл ҳам маълум:



Бижғиган маҳсулот қўлланса ҳид ва таъмга эга. Одатда уни махсус идишларда саклаб қўйилади (қариш учун). Бунда маҳсулотни сифатини яхшиловчи қатор қўшимча реакциялар содир бўлади. Шундай реакциялардан бири эфирланиш -ацето-этил эфири ҳосил бўлиш реакциясидир.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ:

1. Бижғиш жараёнлари ҳақида умумий тушунча беринг.
2. Пропион, мой, ацетон бутилли бижғишлар, уларнинг бориши, продуцентлари ва аҳамияти ҳақида маълумот беринг.
3. Чумоли, гомоацетатли ва метанли бижғишлар, уларнинг бориши, продуцентлари ва аҳамияти ҳақида маълумот беринг.
4. Фотосинтез жараёнига таъриф беринг?
5. Лигнин, фруктан, маннан ва инулинлар ҳақида маълумот беринг.
6. Агар ва хитин ҳақида маълумот беринг.
7. Нафас олиш жараёни ҳақида маълумот беринг.
8. Анаболизм ва метаболизм жараёнлари ҳақида маълумот беринг.
9. Ҳужайранинг нафас олишига таъриф беринг?
10. Кребс ҳалқасини таърифлаб беринг?
11. Макросомаларда кечадиган оксидланиш жараёнига таъриф беринг?
12. Тўлиқ бўлмаган (чала) оксидланиш жараёнига изоҳ беринг?

АДАБИЁТЛАР.

1. Кретович В.Л. Усвоение и метоболизм азота у растений. М.: Наука, 1987
2. Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1974
3. Шлегель Г. Микробиология. М.: Мир, 1987
4. Эллиот В., Элиот Д. Биохимия и молекулярная биология. М.: НИИ Биомед. Химии РАМН, 1974
5. Квеситадзе Г.И. Безбородов А.М. Введение в биотехнологию. М.: Наука, 2002.
6. Brown T.A. Essential molecular biology. Oxford: JRL press, 1991
7. Prise N., Stevens L. Fundamentals of enzymology. Oxford: Univ.press, 1996
8. Vorabjeva L.J. Propionibacteria. Dordrecht etc.: Kluver, 1999, 300p.

20. ФЕРМЕНТЛАР

Ферментлар-тирик ҳужайралар томонидан синтез бўладиган оксил табиатли молекулалар бўлиб, улар ҳар бир ҳужайрада бир неча юзлаб учрайди ва ҳар хил вазифаларни бажарадилар. Улар ўзига хос бўлган биологик катализаторлардир. Улар организм учун жуда зарур моддалар ҳисобланадилар, агар ферментлар бўлмаганларида ҳужайрадаги реакциялар жуда ҳам секинлик билан ўтиб, ҳаётни ушлаб туриш имконияти бўлмас эди. Ферментатив реакцияларни тезлиги одатдаги кимёвий реакцияларга караганда 10^{14} мартаба тезроқ кечиши аниқланган.

Кимёвий реакцияларни худди шундай самара билан кечиши учун 600-700⁰ С ва 200-300 атм. босим зарур бўлиши ҳам аниқланган. Морфологик ҳар-хил ҳужайраларда ферментлар сони ва уларни хилма-хиллиги ҳам ҳар хил бўлади. Масалан, прокариот ҳужайраларда 3000 га яқин оксил моддалари аниқланган бўлса, эукариотлар ҳужайраларида бу сон 40000 дан ортади.

Органик ҳаётда ферментлар энг мураккаб бирикма ҳисобланади. Улар 20та ҳар хил аминокислоталардан тузилганлар. Ҳар бир оксил учун ўзига хос бўлган аминокислоталар кетма-кетлиги маълум. Ферментларни молекуляр оғирлиги бир неча мингдан, бир неча миллионгача бўлади.

Ферментлар ўзига хос бўлган спецификликка ва фаолликка эга. Бу эса ферментларни, бизга маълум бўлган бошқа кимёвий бирикмалардан ажратиб туради.

Ферментлар ўзларининг спецификликлари бўйича уч гуруҳга бўлинадилар:

1. Нисбатан паст спецификликка эга бўлган ферментлар. Бу гуруҳга барча гидролитик ферментлар: амилазалар, липазалар, пектиназалар, целлюлазалар, эстеразалар ва бошқалар кирадилар. Юқорида кўрсатилган ферментлар ҳар хил тезликда полимер, олигомер ҳамда паст молекулали субстратларга таъсир кўрсатадилар.

2. Бир-бирларига ўхшаш структурага эга бўлган бир гуруҳ субстратларга таъсир этувчи ферментлар, бундай ферментларни гуруҳ спецификлигига эга бўлган ферментлар деб аталади. Бу гуруҳга мис ол қилиб, ҳар-хил гексозаларни фосфориллаш реакциясини олиб борувчи гексокиназа –ферментини кўрсатиш мумкин.

3. Абсолют спецификликка эга бўлган ферментлар. Бундай ферментлар фақатгина биргина субстратни ўзгартирувчи реакцияни катализ қила оладилар ёки структураси жуда ҳам яқин бўлган субстратларни ўта секинлик билан ўзгартиришлари мумкин. Бу ферментлар стерео специфиликлиги билан характерланади. Масалан, дегидрагеназалар водород атомини субстратдан коферментнинг никотин-амид ядросини ўта аниқ томонига ўтказадилар.

Ферментларни фаоллигини паст молекулали органик бирикмалар ёки металл ионлари билан бошқариб туриш мумкин. Хужайра жараёнларини бошқаришни бу механизми, мураккаб биосинтетик жараёнларда иштирок этувчи ферментларга хос бўлиб, дастлабки ферментлардан бирини, охирги маҳсулот билан ингибирланиши билан белгиланади ва оқибатда бутун жараёни секинлашувига ёки бутунлай тўхтаб қолишига олиб келади.

20.1. ФЕРМЕНТЛАРНИ АЖРАТИШ.

Биологик манбалардан ферментларни препаратлар сифатида ажратиб олиш ҳар хил мақсадлар учун олиб борилади:

- ферментларни физик-кимёвий хусусиятларини ўрганиш, уларни таъсир этиш шароитларини аниқлаш, ҳар хил критик шароитларга нисбатан муътадиллигини белгилаш, кинетик хусусиятлари ва тузилишини аниқлаш мақсадида;

- саноат, тиббиёт ва илмий изланишлар учун керак бўлган ферментларни ишлаб чиқариш мақсадида;

- ферментларни иммобилизация қилиш мақсадида.

Баъзи-бир ферментлар хужайра органеллалари ёки мембраналар билан боғланган ҳолатда бўладилар, шу сабабли ҳам уларни ажратиш бироз қийинроқ ўтади. Бундай ҳолатларда боғланган ферментларни ажратиш жараёнини енгиллаштирувчи моддалар махсус детергентлардан фойдаланилади. Ферментларни ажратиб олиш жараёнида инактивацияга учрашининг асосий сабабларидан бири, уларни протеолизм ҳисобланади. Барча организмлар хужайралари ҳар хил спецификликка эга бўлган протеометрик ферментлар сақлайдилар. Ажратишни методологиясини бузилиши протеолитик ферментлар таъсирида пептид боғларини бузилишига, оқибатда эса ажратиб олинмоқчи бўлган ферментни инактивациясига олиб келади. Шунинг учун ҳам зарурки, фермент фаоллигини йўқолиши учун биргина фермент боғини парчаланиши кифоя. Ҳар қандай оксил хужайрадан ажратилиш жараёнида маълум микдорда ўзини табиий ҳолатини ўзгартиради. Шунинг учун ҳам ферментни ажратиш жуда ҳам мураккаб жараён ҳисобланади.

Ферментларни хоссаларидан келиб чиққан ҳолда уларни ажратишни ҳар хил технологик ишловлари маълум. Масалан, оксилларни органик эритувчиларда эрувчанлигини хилма-хиллиги, уларни этанол, ацетон, изопропанол, аммонийни сульфат тузи эритмаларининг ҳар хил концентрациясида чўкишини белгиласа, оксилларни молекуляр оғирлигидаги фарқ, ультрафилтрация, гелфилтрация усулларида фойдаланишни, молекулалардаги зарядларни хилма-хиллиги, ион-алмашинув хроматографияси ва препаратив электрофорез усулларида фойдаланишни тақозо қилади. Бу усуллар қатор монографиялар ва дарсликларда яхши ёритилган.

Ферментлар ҳар хил биологик манбалардан ажратилиши мумкин: ҳайвон органлари (безлар, жигар, ичак, ва ҳ. к.), ўсимлик органлари (уруғи, майсаси ва ҳ.к.) ва микроорганизмлардан. Ҳайвон органлари енгил гомогенизация бўлади, шунинг учун ҳам улардан ферментларни ажратиш олиш учун изотоник эритмалардан кўпроқ фойдаланилади. Изотоник эритмалар ҳайвон ҳужайрасидаги органеллаларни парчаланиб кетишдан сақлайди.

Ферментларни ўсимлик органларидан, замбуруғ ва бактериялардан ажратиш бироз мураккаброқ шароитда олиб борилади. Бунга сабаб уларни ҳужайра деворларини мураккаблиги ва қаттиқлигидир. Бундай организмлардан олинган нусха алюминий оксиди ёки қум, баъзан шиша синиқлари билан аралаштириб эзилади, нусхаларни эзишдан олдин музлатиш ва кейин эритиш яхши натижалар бериши кузатилган. Бир қисм ҳужайралар пресслаш орқали ҳам бузилади.

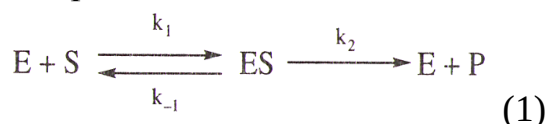
Баъзида ўсимлик ва микроб ҳужайралари гидролитик ферментлар, масалан, лизоцим билан ишлов берилганда яхши бузилади. Хитиназалар ва глюканазалар ёрдамида микроскопик замбуруғларни протопластлари ажратиш олинади. Кўпчилик микроорганизмлар суюқ озика муҳитида экилганда, ферментларни ҳужайрадан ташқаридаги метаболитлар сифатида озика муҳитига чиқарадилар, бу эса ферментларни ажратиш олишни ва уларни тозалаш жараёнини бироз бўлсада, енгиллаштиради.

Агар ўсимлик ҳужайраларини гомогенизация қилиш мобайнида вакуолалар парчаланиб кетса, ундаги протеолитик ферментлар ташқарига чиқиб, ажратиш олинмоқчи бўлган ферментга салбий таъсир кўрсатадилар. Бундай ҳолатда фермент ажратиш олинмоқчи бўлган массага протеазаларни ингибиторларини қўшиш яхши натижалар беради. Бундан ташқари, ўсимликлар кўпинча фенолли бирикмалар сақлайдилар, улар осонгина оксидланиб, ферментларни фаоллигини пасайтириб юборадилар. Бундай ҳолларда фермент ажратмоқчи бўлган манбалардан дастлаб фенол бирикмаларни ажратиш ташлаш тавсия этилади.

20.2. ФЕРМЕНТАТИВ РЕАКЦИЯЛАР КИНЕТИКАСИ.

Ферментатив реакция оксил молекуласини ташкил қилувчи аминокислоталарни сиртида жойлашган функционал гуруҳлар иштирокида амалга ошади. Бу гуруҳ нафақат субстратларни фермент билан боғланишини, балки уларни ўзгаришини ҳам таъминлаб беради. Бу ферментатив реакциялар ўтиш жараёнида нафақат органик субстратларни молекулаларини ичидаги ўзгаришлар, балки реакция муҳитида иштирок этаётган бошқа бирикмалар билан ўзаро таъсир этиши ҳам мумкин. Ферментатив реакцияни белгилаб берувчи босқич, бу жараённи бошида содир бўлувчи фермент – субстрат комплексини ҳосил бўлишидир. Бу комплекс фермент молекуласининг алоҳида қисмида пайдо бўлиб, бу қисмни ферментнинг **фаол маркази** деб аталади.

Кейинчалик фермент – субстрат комплекси, фермент ва реакциянинг маҳсулотигача парчаланади. Аммо фермент–субстрат комплекси, маҳсулот пайдо бўлмасдан олдин диссоциацияга ҳам учраши мумкин. Ҳар икки ҳолда ҳам, (реакция чапга ёки ўнгга кетганда ҳам) ферментни регенерациясига учраб, янги актга тайёр бўлади. Қуйида мана шу жараёни тенгламаси келтирилган:



k_1, k_{-1}, k_2 – лар тегишли реакцияларни константалари ҳисобланади.

Идеал шароитда $k_{-1}+k_2$ константалар йиғиндиси, фермент–субстрат комплексининг ўзгариш мумкин бўлган константаларни барчасини, шу комплекс ҳосил бўлиш константасига k_1 бўлингани K_m яъни Михаэлис константасига тенг бўлади ва бу жараён қуйидагича ўтади:

$$\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \quad (2)$$

Михаэлис константаси (K_m) миллимоль/л. да, агар эримайдиган субстрат бўлса, мг да ўлчанади. Ҳар хил субстрат спецификликка эга бўлган ферментлар учун K_m нинг миқдори тахминан 0,015 – 250 мМ оралиғида бўлади. K_m энг муҳим кўрсаткичлардан бири бўлиб, унинг катталиги реакциянинг рН, ҳарорат кўрсаткичларига қараб ўзгариб туради.

Агар фермент бир неча субстратга таъсир этса K_m катталиги бир-биридан анча фарқ қилиши мумкин.

Михаэлис константаси ёрдамида фермент-субстрат комплексининг концентрациясини аниқлаш мумкин:

$$[ES] = \frac{[E] \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (3)$$

Агар субстратни концентрацияси катта бўлиб, реакция муҳитидаги барча фермент субстрат билан комплекс ҳолатда бўлса, реакция тезлиги энг юқори бўлади. Ферментларни реакция тезлигининг максимуми (V_{max}) бир-биридан анча фарқ қилади ва тахминан 0,5-500 атрофида бўлади. K_m сингари V_{max} ҳам рН, ҳарорат ва субстратнинг кимёвий табиатига боғлиқ бўлади. V_{max} ни аниқлаш учун қуйидаги формуладан фойдаланиш мумкин:

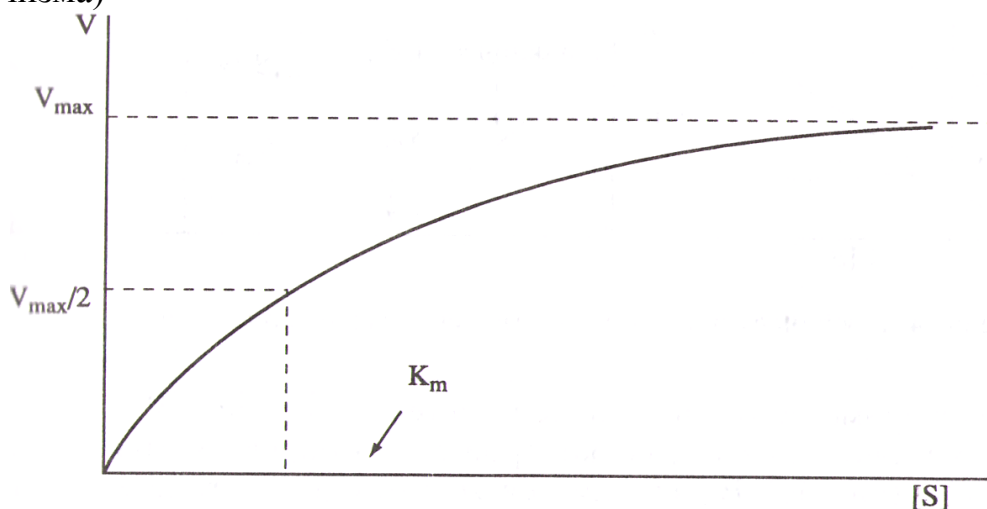
$$V_{max} = k_2[ES], \quad (4)$$

k_2 -фермент субстрат комплексидан $[ES]$ ҳосил бўладиган маҳсулотнинг константаси.

Бир томондан бошланғич тезлик ва максимал тезлик орасидаги, иккинчи томондан субстратнинг концентрацияси оралиғидаги боғлиқликни аниқловчи тенглама–**Михаэлис-Ментен тенгламаси** деб аталади ва қуйидагича изоҳланади:

$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (5)$$

Михаэлис константасининг кўрсаткичи ферментни концентрациясига боғлиқ эмас. Қуйидаги чизмада аниқловчи эгри чизиклар кўрсатилган:
(65-чизма)



Бу чизмадан кўриниб турибдики, K_m сон жиҳатидан максимал тезликдаги субстрат миқдорининг ярмига тенг экан.

Агар субстратнинг концентрацияси $[S]$, K_m дан анча кам бўлса, унда биз 1-тартибли реакцияни кўрамиз:

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m} \quad (6)$$

Агар субстрат концентрацияси K_m дан анча кўп бўлса:

$$V = V_{\max} \quad [7]$$

Унда бундай реакция ноллик тартибда бўлади.

Оралиқ ҳолатларда, яъни субстрат концентрацияси кўрсаткичлари Михаэлис константасига тенг ёки унга яқин бўлса, аралашган реакция тартибли бўлиб, бундай ҳолатда тенглама:

$$V = V_{\max}/2, \quad [S] = K_m \quad [8]$$

кўринишда бўлади.

Михаэлис-Ментен тенгламасига алгебраик бошқа кўриниш бериш ҳам мумкин.

Маълумки, Михаэлис-Ментен тенгламаси [5] реакция тезлиги билан субстрат концентрацияси ва Михаэлис константалари орасидаги миқдорий боғлиқликни изоҳлаб беради, аммо шу кўрсаткичларни (5) тенглама асосида аниқ топиш мураккаб иш ҳисобланади. Шунинг учун ҳам Михаэлис-Ментен тенгламасини бир неча ўзгартирилган вариантлари таклиф қилинган бўлиб, улар (9), (10) ва (11) тенгламаларда изоҳланган:

Лайнуивер-Берк тенгламаси:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{[S]} \cdot \frac{1}{V_{\max}} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (9)$$

Бу тенгламага асосан, $1/[S]$ ва $1/[V]$ координат тизимида чизилган чизма, тўғри, эгилган бурчакни тангенсига бўлиб, у $K_m/V_{\max}$ га тенг, ордината

ўқидан ўтган нуқта $1/V_{\max}$ га, абсцисса ўқидан ўтган нуқта эса $1/K_m$ га тўғри келади. Мана шу тизим координаталарида чизилган чизма, $V_{\max}$ ва K_m ни аниқлаш имконини беради. (66-чизма)

Эди-Хофст тенгламаси:

$$\frac{v}{[S]} = \frac{V_{\max}}{K_m} - \frac{v}{K_m} \quad (10)$$



66-чизма: Ферментларни кинетик характеристикасини график ҳисоблаш.

V ва $V/[S]$ координаталар тизимида, экспериментал материаллар графикка солинганда, тўғри чизиқ ҳосил қилади ва у орқали $V_{\max}$ ва K_m ни миқдорини аниқлаш жуда ҳам осон бўлади. (66-б- чизма)

Хейнс тенгламаси:

$$\frac{[S]}{v} = \frac{[S]}{V_{\max}} + \frac{K_m}{V_{\max}} \quad (11)$$

Хейнс тенгламаси орқали $[S]/v$ ва S координаталар тизимида график чизиш мумкин. Абсцисса ўқидан ўтадиган чизиқни нуқтаси K_m га $1/V_{\max}$ эса қия чизигига тенг бўлади (66-в-чизма)

66-чизмада кинетик кўрсаткичларни Лайнуивер-Берк (а), Эди-Хофст (б) ва Хейс (в) тенгламалари асосидаги чизмалар кўрсатилган. $a=bc+d$ тўғри чизиқли тенгламада b - тўғри қия бурчагининг тангенсига тенг, d – Y ўқидан кесиб ўтган нуқтага тенг, d/b - нисбати эса, X ўқининг кесиб ўтган нуқтасига тенг.

Юқорида акс эттирилган, материаллардан кўриниб турибдики, график анализ услубларини ишлатишдан асосий мақсад K_m ва $V_{\max}$ катталикларини аниқлашдан иборат.

$V_{\max}$ - ферментни айланиш сонини бошқача қилиб айтганда, 1 молекула ферментни вақт бирлигида (k_{cat}) ги ферментатив актларни миқдорини аниқлаш имконини беради. Бу катталик қуйидаги тенглама асосида топилади:

$$k_{\text{cat}} = \frac{V_{\max}}{[E]_0} \quad (12)$$

Бу ерда $[E_0]$ – ферментларни фаол марказини концентрацияси.

Шуни ҳам таъкидлаш лозимки, фаол марказнинг моляр концентрацияси, ҳар доим ҳам ферментларни моляр концентрациясига тўғри келавермайди. Бунга сабаб молекуласида биттадан кўпроқ фаол

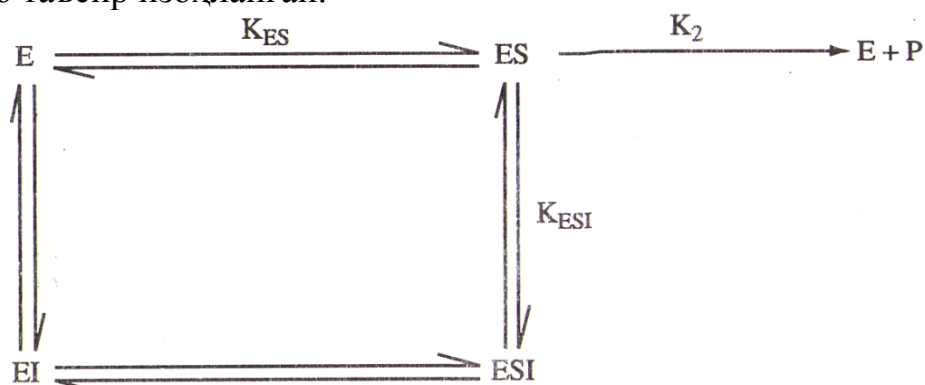
марказ сақловчи ферментларни борлигидир. Каталитик константаларни физик моҳияти шундан иборатки, у бутун жараёни ўтиш самарадорлигини кўрсатиб беради ёки бошқача қилиб айтганда реакцияни чегараловчи омилларни тўпламини аниқлаб бера олади. Бу кўрсаткич ферментлардан амалиётда фойдаланишда катта аҳамият касб этади.

Суб-бирликлардан ташкил топган, ёки бир неча фаол марказ сақлаган ферментларни кинетик катталикларини аниқлаш бироз мураккаб бўлади. Агар реакция даврида бу марказлар орасида ўзаро таъсир аниқланса, юқоридаги чизмаларда тўғри чизиқлик бузилади.

Нормал хужайраларда ферментларни фаоллигини сусайиши, уларни фаоллигини физиологик бошқаришни асосий усулларида бири ҳисобланади.

Шунинг учун ҳам, ферментлардан амалиётда фойдаланилганда, ингибиторларни типини ва ингибирланишини қанчалик чуқур ўтишини аниқлаш катта аҳамиятга эга.

Қайтар ва қайтмас ингибирланиш жараёнлари маълум. Ингибитор фермент билан ковалент боғланиб, бир ёки бир неча функционал гуруҳини модификация қилса, эквимоляр концентрацияда кўпинча фермент фаоллиги бутунлай йўқолади, бундай ҳолатда қайтмас ингибирланиш содир бўлади. Агар ингибитор фермент билан ковалент боғлари орқали боғланмасдан уни фаоллигини тушурса-ю, ҳосил бўлган комплекс маълум вақт ўтгач ёки реакцион муҳит шароитини ўзгартириш ёки бошқа йўллар билан ҳосил бўлган фермент–ингибитор комплекси бузулса, бундай ингибирланиш типини қайтар ингибирланиш деб аталади. Бундай ингибирланишни Михаэлис-Ментен (5) тенгламаси орқали миқдорий аниқлаш мумкин. 67-чизмада қайтар ингибирланиш жараёни келтирилган бўлиб, унда фермент, субстрат ва ингибитор орасида содир бўладиган барча ўзаро таъсир изоҳланган.

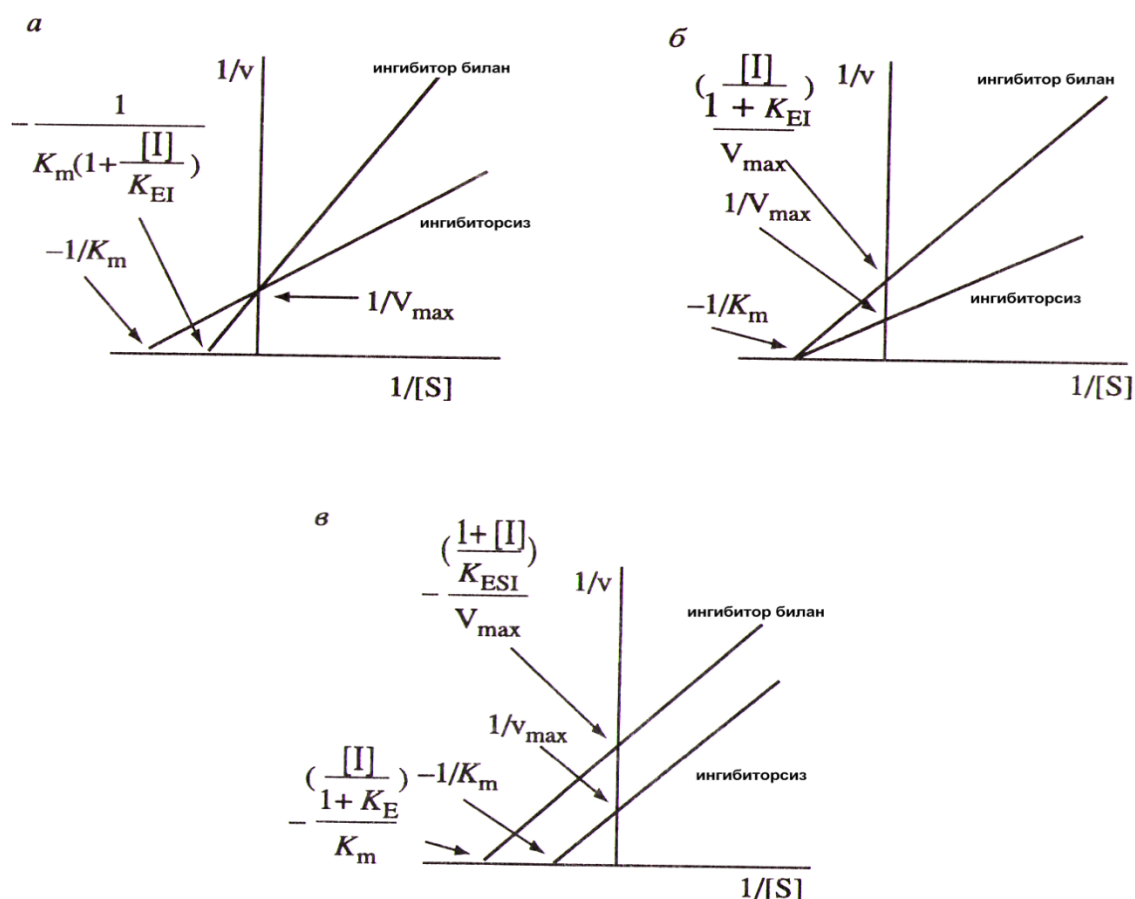


67-чизма. Ферментатив реакцияларни ингибирланишини умумий чизмаси.

K_{ES} , K_{ESJ} , K_{EJ} –диссоциация константалари. Келтирилган чизмада ESJ комплекси активлигини йўқотган комплекс сифатида қаралади. Бу чизмага асосан, барча тизимлар динамик тенгликда, ҳаттоки маҳсулотни ҳосил бўлиши ҳам бу тенгликни унчалик сезиларли даражада ўзгартира олмайди.

Бу чизманинг кинетик кўрсаткичларини тенгламаси мураккаб кўринишга эга:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_{ESI}} \right] + \frac{K_{ES}}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}} \right] \frac{1}{[S]} \quad (13)$$



68-чизма. Рақобатли (а) рақобатсиз (б) ва рақобат бўлмаган ингибирланишни, Лайнуивер-Берк координата тизимида, тегишли кинетик кўрсаткичлари билан чизма кўриниши.

Албатта, бу тенгламани экспериментал натижалар олиш мақсадида ишлатиш унчалик фойдали эмас. Аммо, константаларга нисбатан маълум имтиёзлар берилса, бу тенглама бироз соддалашади. Ингибирланишни типини аниқлаш учун Лайнуивер-Берк координата тизимлари ишлатилиши мумкин. Диссоциация константаларини аҳамиятига қараб, қайтар ингибирланиш уч: рақобатли, рақобатсиз ва рақобат бўлмаган типда бўлиши мумкин.

Рақобатли ингибирланиш. Агар $K_{ES} = \infty$ деб қаралса, ES комплекси ES ни J билан ҳамда EJ ни S билан боғланиши орқали ҳам ҳосил бўла олмайди. Бундай ҳолатда (13) тенглама қуйидаги кўринишда бўлади:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} + \frac{K_{ES}}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}} \right] \frac{1}{[S]} \quad (14)$$

Лайнуивер-Берк координаталарида тўғри, рақобатли ингибирланишни характерлайдиган чизик бўлиб, у реакцияни баъзи-бир муҳим параметрларини ҳисоблаш имконини беради (68а-чизма). Рақобатли ингибирланиш ўз моҳияти бўйича, бир марказ учун ингибитор ва субстратни рақобатини изохлайди.

Рақобатсиз ингибирланиш. Агар $K_{ESJ} = K_{EJ}$ га тенг деб ҳисобланса, субстратни фермент билан боғланиши, ингибиторни боғланишига таъсир этмайди. Бундай ҳолатда (13) тенглама, қуйидаги кўринишга эга бўлади:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}} \right] + \frac{K_{ES}}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}} \right] \frac{1}{[S]} \quad (15)$$

Лайнуивер-Берк координата тизимида тенглама тўғри изохланади ва реакциянинг энг муҳим кўрсаткичларини аниқлаш имкониятини беради. (68б-чизма). Рақобатсиз ингибирланиш даврида фермент ва фермент-субстрат комплекси нофаол ҳолатга ўтадилар. Бу эса, субстратни концентрациясини кўпайиши, ингибирланиш жараёнига таъсир кўрсатмайди дегани бўлади. Рақобатсиз ингибирланиш ўзининг мана шу хоссаси билан рақобатли ингибирланишдан фарқ қилади. Фаоллик кўрсатиш учун металл ионларига муҳтожлик сезган ферментлар, уларни комплекс ҳосил қилувчи агентлари билан рақобатсиз ингибирланиш механизми асосида ингибирланади.

Рақобат бўлмаган ингибирланиш. Агар $K_{EJ} = \infty$ деб қабул қилинса, ферментни ингибитор билан комплекс ҳосил қилиши бутунлай мумкин бўлмайди, унда асосий тенглама (13) қуйидаги кўринишга эга бўлади:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \left[1 + \frac{[I]}{K_{ESI}} \right] + \frac{K_{ES}}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} \quad (16)$$

Лайнуивер-Берк тенгламаси координата тизимидаги параллел тўғри чизиклар орасидаги масофа ингибиторни таъсир даражасини кўрсатади (68в). Шунини ҳам таъкидлаш керакки, моносубстратли реакцияларда рақобат бўлмаган ингибирланиш жуда ҳам кам учрайдиган ҳолат бўлиб, у полисубстратли реакцияларда кўп учрайди.

20.3. ФЕРМЕНТЛАРНИ ОҚСИЛ МУҲАНДИСЛИГИ.

Ўзгариб турадиган атроф муҳит шароитларига тирик организмни мослашиб бориши, муайян организмлар ҳужайраларидаги макромалекулаларнинг тузилишларини ўзгаришига олиб келади. Ферментларни эволюцияси ҳам жуда узоқ вақт давом этган жараён. Тахмин қилишича, миллион йиллар аввал ўша даврдаги ташқи муҳит таъсири сабабли, ферментлар ўзларининг бугунги аналогларига нисбатан анчагина юқори ҳароратга чидамли бўлганлар. Худди шунингдек ўша давр ферментларининг молекуляр оғирлиги ҳозиргисидан анча баланд бўлганлиги ҳам маълум. Бундай хусусият фақатгина ферментларга эмас,

балки хужайрадаги барча макромолекулаларга ҳам хос бўлади. Молекуляр массани кичикланиши, нуклеин кислоталари ва ферментларни макромолекулаларини оптимал ҳолатга тушиши, эволюция жараёнининг энг муҳим натижаларидан биридир. Агар ферментларни иссиққа чидамлилигини пасайиб боришини сабабларини муҳокама қилсак, бундай эволюцион ўзгаришлар вақт ўтиши, атроф-муҳит шароити ўзгариб бориши билан хужайра учун шундай макромолекулаларни синтез қилиш қулайроқ бўлганлиги билан тушунтирилиши мумкин. Маълумки, термостабил ферментлар хужайра ичидаги қўшимча боғларни бўлиши зарурлигини талаб қилади, бу эса хужайра учун энергетик жиҳатдан фойдасиз ҳисобланади.

Бугун биологиянинг энг янги йўналишларидан бири-оксил муҳандислиги-маълум оксил молекуласини синтез қилувчи ген даражасида шу оксил молекуласини сунъий ўзгартириш муаммолари билан шуғулланади. Бундай изланишлардан мақсад фаол марказдаги ёки унинг ёнидаги алоҳида аминокислоталарни бошқаси билан алмаштириш ва бундай модификацияни фермент фаоллиги ва стабиллигига таъсирини ўрганишдан иборат. Олинган натижалар асосида фаолроқ ва критик шароитда стабиллиги баландроқ фермент синтез қилиш стратегияси яралади. Бундай технологияни **нуктавий мутация усули** деб аталади.

Метод гендаги битта нуклеотидни алмаштириш асосида олиб борилади. Масалан, AAG кодони лизинни боғлаб олишни амалга оширади. Агар бу кодонда аденин (A) гуанин G билан алмаштирилса, кодон GAG кўринишини олади, бу эса лизинни эмас, уни ўрнига глютамин кислотасини бирлаштириб олишга олиб келади. Илмий асосланган нуктаи назарга кўра, гомологик ферментлардаги деярли барча ўзгаришлар нуктавий усул натижасида амалга ошган. Охирги даврлардаги, ДНК ни секвенлаш (ДНК таркибидаги нуклеотидларни бирин-кетинлигини ўқиш) асосида олинган натижалар нуктавий мутация усулидан йўналтириб фойдаланиш мумкинлигини кўрсатмоқда. Нуктавий мутация қуйидагича амалга оширилади: текширишга мўлжалланган генни клонланади, масалан фаг-м13 векторига киритилади. Фаг ДНК сини бир занжирли, ҳалқали, спиралсимон молекуласи репликация даврида икки спиралли молекулага айланади. Ундан кейин текшириладиган ген сақловчи битта занжир алоҳида ажратиб олинади ва текшириладиган қисм асосида ўхшаш олигонуклеотид молекуласи синтез қилинади. Аммо синтез мутация бўлиши кутиладиган жойда амалга оширилмаслиги шарт. Кейин лигаза ферменти ёрдамида олигонуклеотид ДНК занжири таркибига киритилади. Ундан кейин, махсус ишлаб чиқилган услублар ёрдамида мутант ДНК сақловчи клонларни селектив ажратилади. Бу усул алоҳида аминокислоталарни ферментатив катализ жараёнидаги ролини аниқ кўрсатиб беради. Ҳақиқатдан ҳам, модификация чақирган самарани аниқлаш учун ферментни умумий хоссаларини олдиндан билиш шарт. Биргина аминокислотани алмаштириш қандай ўзгаришларга олиб

келганлигини соф ҳолда ажратиб олинган ферментларни таққослаб ўрганиш орқали амалга оширилади.

20.4. ИЗОФЕРМЕНТЛАР.

Бир ҳужайра жойлашган ҳар хил генларни маҳсули бўлган ва бир хил реакцияни катализ қилувчи ферментларга изоферментлар деб аталади. Изофермент атамасига баҳо берганда хато қилмаслик лозим. Чунки, ферментларни ажратиш ва тозалаш жараёнларида улардан кўпчилиги қисман денатурацияга (протеолиз, водород боғларини узилиши, кофакторларни ажралиб кетиши ва ҳ.к.) учрайди. Бундай ҳодисалар органик эритувчилар таъсиридан, рН кўрсаткичини меъёридан у ёки бошқа томонга силжишидан, реакция муҳит ҳароратини ўзгаришидан ва бошқа таъсирлар оқибатида содир бўлади. Оқибатда оксил молекуласидаги умумий заряд миқдорида ўзгариш пайдо бўлади. Шундай пайтларда худди сифат жиҳатидан бутунлай янги оксил изофермент бор эканига ўхшаб қолади. Амалиётда эса қисман денатурацияга учраган ферментни ўзи бўлиб чиқади. Шунинг учун ҳам изоферментларни бор эканлигини аниқлаш учун додецилсульфат натрий сақлаган муҳитда электрофорез қилиб текшириб кўриш тавсия қилинади. Бундай шароитда оксилни фазовий структураси бузилади, полипептид узун ҳолатга ўтади ва оксилларни бўлиниши молекуланинг ҳақиқий заряди ҳисобидан амалга ошади.

Изоферментларни бўлиши деярли барча ферментлар мисолида маъқулланган. Аммо изоферментлар эволюцион жараёнлар натижасида пайдо бўлганми ёки улар мутацияни оқибатими, аниқ айтиш қийин. Нима бўлганда ҳам изоферментларни ҳилма-хиллиги, модификацияга учраган ферментларни ҳар хил организмлар учун одатдаги хос эканлигидан гувоҳлик беради.

Биотехнология мақсадлари учун изоферментларни борлиги, уларни фаолликларини ва критик шароитларга мўътадиллиги ҳар хил бўлганлиги билан қизиқарлидир.

20.5. МУЛЬТИФЕРМЕНТЛИ ОКСИЛЛАР.

Бир молекуласи икки ёки ундан кўпроқ ферментатив фаолликка эга бўлган, алоҳида ёки бир-бирлари билан кимёвий боғланган оксилларни **мультифермент оксиллар** деб аталади. Охирги вақтларда мультифермент комплексларни **мультифермент полипептидлар** деб аталадиган бўлди. Мисол тариқасида *E.coli* бактериясидан ажратилган, молекуляр оғирлиги 86 кДа тенг бўлган, аспертаткиназа ва гомосериндегидрогеназа фаолликларига эга бўлган полипептидни кўрсатиш мумкин.

Диққатга сазовор бўладиган ферментлардан яна бири—ёғ кислоталарини синтезида фаол иштирок этувчи полипептид-ёғ кислоталар

синтаза ферментидир. Бу фермент ацетил-КоА ни карбоксиллаш реакциясидан ташқари ёғ кислоталарини биосинтези жараёнинг бирин-кетин келадиган барча босқичида иштирок этади. Биотехнология нуқтаи назаридан шунингдек, ароматик аминокислоталар—L-триптофан, тирозин ва фенилаланин биосинтезининг бирин-кетин келадиган бир неча реакцияларини катализ қилувчи мультифермент полипептид (1- ва 2-комплекслар) ҳам катта аҳамият касб этади. Мультифермент полипептидларни қизиқарли томони шундан иборатки, улар ўта мураккаб ўтадиган ўзгаришларни енгиллаштиради, ҳамда барча жараёнларни бошқариш учун имконият яратиб беради.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Ферментлар нима?
2. Ферментларни спецификлиги деганда нимани тушунаси?
3. Ферментларни ажратиш нималарга асосланади?
4. K_m нима ва қандай аниқланади?
5. Лайнуивер-Берк тенгламасини ёзиб беринг?
6. Нуқтавий мутация нима?
7. Изофермент нима?
8. Мультиферментлар деганда нимани тушунаси?

АДАБИЁТЛАР.

1. Биология термофильных микроорганизмов. Под редакцией А.А.Имшенецкого. М.:Наука, 1986.
2. Варфоломеев С.Д., Калюжный С.В. Биотехнология. М.: Высш. шк 1990 с.286.
3. Гавриленко В.Ф., Гусев М.В., Никитина К.А., Хоффман П. Избранные главы физиологии растений. М.: Издательство МГУ, 1986 с.234.
4. Квеситадзе Г.И. Ферменты микроорганизмов, живущих в экстремальных условиях. Под редакцией В.Л. Кретовича. М.:Наука, 1990 с. 52.
5. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н., Тихонович И.А., Ходжанова Л.Т., Шишкова С.О. Генетика развития растений / под редакцией С.Г.Инге-Вертомова Спб.: Наука 2000 с.539
6. Глангшвили Д.А. Молекулярная биология архебактерии / под редакцией М.Заалишвили. Тбилиси: Мецнисреба, 1989 с.170.
7. Сассон А. Биотехнология: Сверхения и каденады / под редакцией В.Г.Дебябова. М.Мир.: 1987 с.411
8. Price N, Stevens I. Fundamentals of enzymology. Oxford: Univ.press, 1996. 526p
9. Smith J. Biotechnology/ Cambridge: Univ. press. 1996. 236p.

21. ФЕРМЕНТ ИШЛАБ ЧИҚАРИШ БИОТЕХНОЛОГИЯСИ.

Ферментлар-каталитик фаол биополимерларни жуда катта синфи бўлганлиги учун, уларни ишлаб чиқариш ва ишлатиш технологияларини алоҳида кўриб чиқиш мақсадга мувофиқдир. Ферментлар саноатида, бири-биридан бутунлай фарқ қиладиган икки технологияни, яъни ферментларни олиш ва уларни ишлатиш технологияларини фарқиға эътибор бериш зарур.

Бу технологиялар ферментларни биосинтези (микроорганизмлар ферментлари тўғрисида гап кетганда), ажратиш, тозалаш, алоҳида ҳолатларда иммобилизация қилиш ва уларни амалиётда қўллаш босқичларини ўз ичига олади. Яқин келажакда ферментлар ёрдамида инсоният учун ўта зарур бўлган муаммолар: экологик тоза озиқа моддалари олиш, энергияни тежаш технологиялари, атроф муҳитни муҳофаза қилиш, чиқиндисиз ёки кам чиқиндили биотехнологиялар яратиш ва бошқалар муаммоларни ҳал қилиш мумкин бўлиши башорат қилинмоқда.

21.1. ФЕРМЕНТЛАР БИОСИНТЕЗИНИ БОШҚАРИШ.

Оқсил биосинтезидаги, (жумладан биологик фаол оқсиллар ҳам) унчалик кўп бўлмаган, жавоби ҳозирча топилмаган кичик масалалар эътиборга олинмаганда, умуман бу муаммо жуда яхши ўрганилган. Оқсил структураси ҳақидаги ахборот, кетма-кет келадиган 4 нуклеотидлар: АТР, СТР, ГТР ва ТТР кўринишида ДНК молекуласидан жой олган. Ферментларни бирламчи структурасида бир аминокислотани жойлашиши 3 нуклеотиднинг кетма-кет келиши билан аниқланади, бундай кетма-кетлик **триплет** деб аталади. 4 нуклеотид борлигини эътиборга олсак, $4 \cdot 4 \cdot 4 = 64$ вариантдаги триплет бўлиши мумкин, шунинг учун ҳам бор йўғи 20 та аминокислотани синтези жуда ҳам осон ўтади. Оқсил биосинтезига жавобгар бўлган ген (ДНК нинг маълум бир бўлағи) тўғридан-тўғри оқсил биосинтезида иштирок этмайди. Эукариотларда ДНК ядрога, оқсил синтез қилувчи аппарат эса цитоплазмада жойлашади. Оқсил синтез қилувчи аппаратни бошқариш бошқа нуклеин кислота–РНК орқали амалга оширилади. Бу РНК ахборот-РНК дейилади ва илмий китобларда мРНК деб белгилаш қабул қилинган.

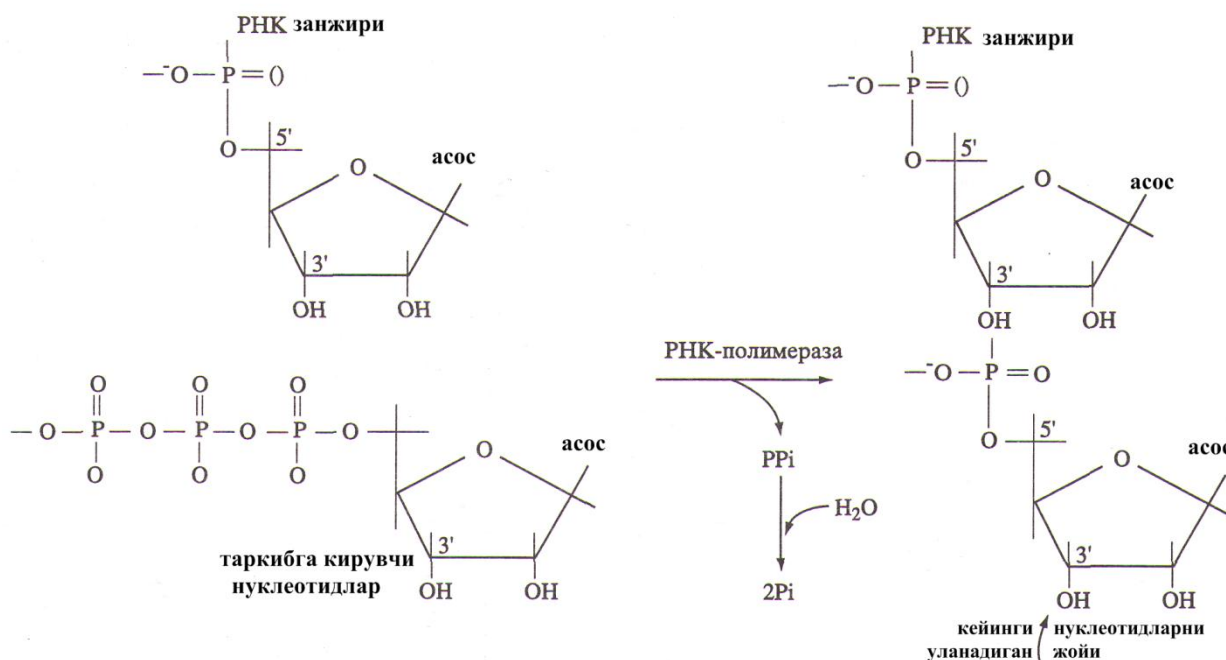
Икки занжирли ДНК дан бир занжирли мРНК га ахборотни ўтиши **транскрипция** деб аталади ва бу жараён РНК-полимераза деб аталувчи ферментлар ёрдамида амалга ошади.

мРНК молекулалари ДНКнинг транскрипцион бирлик деб аталадиган маълум қисмидан “ажралиб” чиқади. РНК биосинтезида субстрат сифатида рибонуклеозид уч фосфатлар (69-чизма) ишлатиладилар. РНК- транскрипт синтези 5¹ –дан 3¹-охирга қараб амалга ошади. Бунда, ўсаётган РНК занжирни 5¹-учфосфат, 3¹-охирда эса –ОН

группа жойлашади ва бу жой фосфодиэфирли боғни пайдо бўлиш жойи бўлиб хизмат қилади. Бу реакция РНК-полимераза ферменти иштирокида амалга ошади. РНК синтез бўладиган майдонда ДНК молекуласининг икки спиралини бир-биридан “ажралиши” (16-18 жуфт асослар) содир бўлади, ва шундай қилиб, ДНК-матрицаси занжиридан саналиб ажралади. ДНКда транскрипцион бирлик бир томондан промотор (транскрипцияга туртки берувчи участкаси) билан, иккинчи томондан эса терминатор (терминация қилувчи участка) билан чегараланиб туради.

69-чизма

РНК полимераза II ферменти иштирокида РНКни синтез бўлиши.



мРНК нуклеотидларини кетма-кетлигидан тегишли оксилни аминокислоталарини кетма-кетлигига ахборот узатиш ўта мураккаб жараён бўлиб, уни **трансляция** деб аталади.

Организмларни яшаш шароити доимо ўзгаришларга учраб туради. Шунинг учун ҳам, табиий танлов натижасида, ўзини генетик фаоллигини мана шу ўзгарувчи муҳитга жавобан ўзгартириб ёки бошқариб тура олган организмлар устиворликка эга бўлган деб тахмин қилиш мумкин.

Генетик экспрессияни бошқариш организмга мана шу вақтда захирада бўлган усулларни танлаш учун керакли даражада мослашувчанлик имкониятини яратади, бу эса репродукция тезлигини максимал ҳолатда ушлаб туришга имкон яратади ва атроф-муҳитни ноқулай шароитига нисбатан муътадилликни таъминлайди. Масалан, қулай углерод манбаи сақловчи бой муҳитда ўсувчи бактериялар ўзларини захираларини ноқулайроқ, углерод манбаи бўлган субстратларни парчалаш учун зарур бўлган ферментлар синтез қилишга сарф қилмасалар, жуда ҳам тез ўсиб, кўпаядилар. Ҳужайра ўзларини бу метаболик функцияларини фақатгина озиқа муҳитида керакли компонентлар бўлмаганидагина ишлатишлари керак.

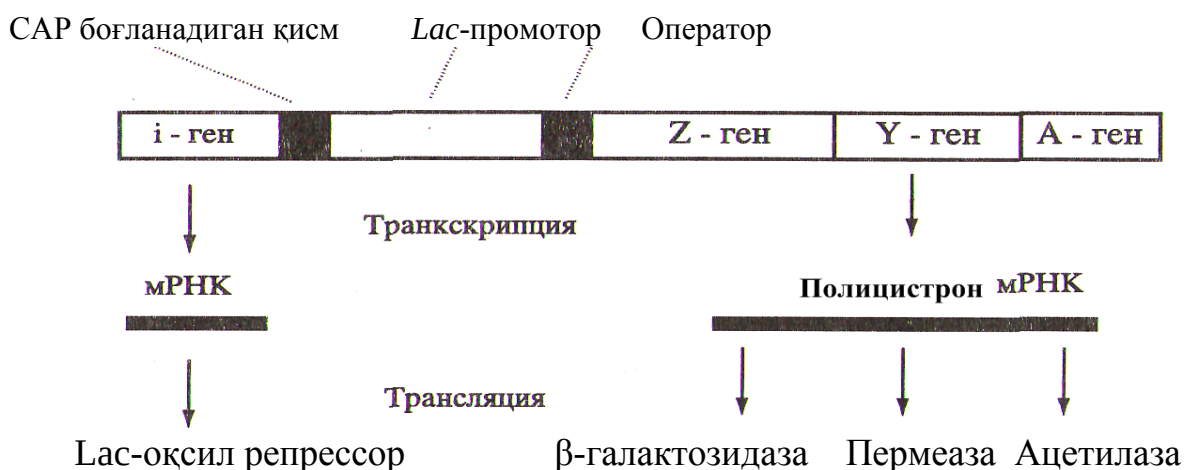
Прокариотларда генетик фаолликни назорат қилишни энг самарали ва оддий йўли-транскрипция даражасида назорат қилишдир. Худди мана шу типдаги бошқаришни ишлатилиш мисоллари *E.coli* ва бошқа бактерияларда жуда кўплаб кузатилган. Транскрипцион назоратни намоён қилувчи классик мисоллардан бири—дисахаридлар лактозани глюкоза ва галактозагача парчалаб берувчи фермент β -галактозидазани синтезини бошқариш тизимидир. Бу ферментни синтези озиқа муҳитида лактоза бўлганда, аммо меъёрий манба - глюкоза бўлмаганда индукция бўлади.

Индукциядан кейин β -галактозидазани синтез бўлиш тезлиги тахминан 1000 мартаба ошади ва муҳитда индуктор борида мана шу даражада сақланиб туради. β -галактозидазани индуктори сифатида лактозадан ташқари, унинг аналоглари ҳам хизмат қиладилар. Шулардан бири аллолактоза-лактоза метаболизмининг оралиқ маҳсулотларидан бири. β -галактозининг паст конституцион даражаси индуцирланмайдиган ҳужайралар учун характерли бўлиб, лактозани индуктори аллолактозага айлантириш учун етарлидир.

Муҳитдан индуктор чиқариб ташлагандан кейин мРНК миқдори тезда пасаяди. Бунга сабаб мРНК нуклеотидларгача парчаланиб кетади. мРНКни ярим умри бир неча минутдан иборат. Шунинг учун ҳам мРНКни маълум даражада ушлаб туруш учун доимий равишда индукция бўлиб туриши лозим. Деярли барча прокариотларни мРНКси метаболик мустаҳкам эмас. мРНКни мана шу хусусияти, транскрипцион бошқариш механизми билан бирга, ҳужайрага фақат керакли оқсилни танлаб синтез қилиш имкониятини яратади.

Аниқ бир метаболик занжирга кирувчи генларни кодловчи генлар, геномда қатор кластерлар кўринишида жойлашади. Кластерда ўзаро функционал алоқадор бўлган ҳар қайсини транскрипцияси умумий промоторда инициация бўладиган генлар гуруҳи, бу генларни экспрессиясини назорат қилишга имкон яратади. Бир полицистронли мРНК ҳосил бўлиши билан генлар кластерини транскрипцияси, индукциядан кейин тегишли функцияни бажариш учун зарур бўлган барча оқсилларни бирданига пайдо бўлишини таъминлайди.

Ф.Жакоб ва Ж.Моно *E.coli* бактерияси ёрдамида лактозани утилизация қилишни анализ қилиб чиққанлар. Мана шу эксперимент бактериал генларни бошқариш механизмини яққол кўрсатиб беради ва шу асосида биринчи мартаба оперонни структура ва функционал тузулиш модели яратилган. Лактозани утилизация қилиш учун ҳужайрага икки бир-бирига чамбарчас боғланган генларни маҳсулотлари (цисронлар) керак бўлар экан (70-чизма). Бу β -галактозидаза ферменти синтезини кодловчи Z гени ва пермеаза ферментини синтезини кодловчи Y гени.



70-чизма. Лас-оперон чизмасы: Лас-оқсил репрессор кодловчи i-гени.

Пермеаза ферменти лактозани хужайрага транспорт қилиб берувчи фермент. Учинчи ген А-галактозид-трансацилаза ферментини кодловчи ген бўлиб, у Z ва Y генлари билан алоқадор ҳолатда бошқарилади-ю, аммо лактозани утилизациясига тўғридан-тўғри алоқадор эмас.

Ҳар учала оқсиллар синтези битта умумий полицистронли мРНК синтези орқали индукция бўлади. мРНКни транскрипцияси ва трансляцияси Z-Y-A йўналишида содир бўлади.

Одатда, индуктор йўқлигида бу генларни транскрипцияси жуда ҳам паст ва хужайрада жуда ҳам кам миқдорда β-галактозидаза ва пермеаза учрайди.

Z, Y ва A генларни транскрипцияси операторни бошқариш участкаси назоратида туради. Оператор участкасида транскрипция I генни маҳсулоти бўлган репрессор билан бошқариб турилади. Репрессорни индуктор молекуласи билан боғланиши, репрессор-оператор комплексини диссоциациясини чақиради ва шу орқали транскрипцияга имкон яратиб беради. Шундай қилиб, Z, Y ва A генлар ўзларини транскрипциясини назорат қилиб турувчи промоторли ва операторли участка билан оперон ҳосил қилади.

Оперон деганда, умумий индуктор ёки эффектор молекулалари билан боғланиш орқали бошқариб туриладиган, репрессор назоратида турган бир-бирига кириб кетган генлар тўплами тушунилади.

Негатив регулятор оқсилга мисол қилиб, Лас-репрессорни кўрсатиш мумкин. Бундай регуляторлар назоратда бўлган генларни экспрессиясини босиб туради. Ўз навбатида, репрессорни таъсири паст молекулали эффекторлар (бу ҳолатда аллактоза репрессор ролини бажаради) билан назорат қилиб турилади. Аммо, бундан ташқари Лас-оперон позитив регулятор-оқсил назоратида ҳам бўлади. Бу оқсил бир вақтнинг ўзида *E.coli* нинг ҳар хил катаболит тизимини бошқаришда иштирок этади. Бу регуляторни таъсири билвосита оптимал углерод манбаи бўлган глюкоза

билан назорат қилиб турилади. Глюкоза ҳатто лактоза иштирокида ҳам Лас-оперон генларини транскрипциясини ингибирлаб туради. Глюкозани таъсири тўғридан-тўғри эмас, балки ўртада турувчи модда орқали амалга ошади. Бундай модда вазифасини циклик АМФ (ц-АМФ) бажаради. цАМФ ни ҳужайра ичидаги миқдори бир-бирини мувозанатда сақлаб турувчи икки жараён—аденилатциклаза иштирокидаги синтез ва фосфодиэстераза таъсирида ўтадиган деградация орқали назорат қилиб турилади. Глюкоза йўқлигида ҳужайра цАМФ миқдори юқори, глюкоза бўлганида эса паст даражада бўлади. цАМФ нитранскрипцияга таъсири CAP-оқсил (катаболит генларини фаоллаштирувчи оқсил) билан ўзаро таъсир натижасида амалга ошади. CAP-оқсил транскрипцияни фақат цАМФ билан комплекс ҳолатда стимуляция қилади. CAP-цАМФ ни ДНК билан боғланган жойи Лас-промоторга кириб туради.

CAP-цАМФ боғланганда промоторни структурасини ўзгартиради ва фақат шундан кейингина РНК-полимераза билан ўзаро таъсирга кириша олади деган тахминлар ҳам бор.

Шундай қилиб, Лас-оперонни экспрессиясини бошқариш (регуляция) учун икки типдаги назорат қилувчи факторлар бўлиб, улардан ҳар бири ўз навбатида муҳит шароити таъсирида туради. Ҳужайрада жуда ҳам кам миқдорда репрессор молекуласи бўлиб, улар индуктор (лактоза) ни ўта паст концентрациясида ҳам инактивацияга учрайди. CAP-цАМФ комплексининг тегишли боғланиш маркази билан ўзаро таъсир тизими транскрипцияни бир текисда бошқариш имконини яратади. цАМФ паст концентрацияда бўлганда транскрипция камроқ, чунки CAP-активатор оқсилнинг кўпчилиги нофаол ҳолатда бўлади. цАМФ миқдори ошганда, оқсилни кўпроқ қисми CAP-цАМФ ҳолатида бўлади, бу эса оперондаги транскрипция генларини кучайтиради.

Ҳар хил типдаги эукариот организмларнинг ҳужайралари бир қатор бир хил оқсиллар синтез қиладилар, аммо бир-бирларидан маълум типга хос (специфик) бўлган оқсиллар тўплами бўйича фарқланадилар. Бундан ташқари, ҳар бир оқсилни миқдори (синтез даражаси), ҳужайрани типига ва ривожланиш босқичига қараб ўзгариб туради. Мана шуни муносабати билан эукариотлар генлари икки типга бўлинадилар: улардан бири ҳужайрани универсал функциясини ушлаб туриш билан банд бўлса, иккинчиси, ихтисослашган функцияни бажаради.

мРНКни маълум тўпламини ва оқсилларни экспрессияси генетик регуляцияни кўрсатиб туради.

Эукариотларда генларни регуляция қилиш механизмини ўрганиш замонавий молекуляр биология ва генетиканинг энг жадал ривожланиб келаётган йўналишларидан бири ҳисобланади.

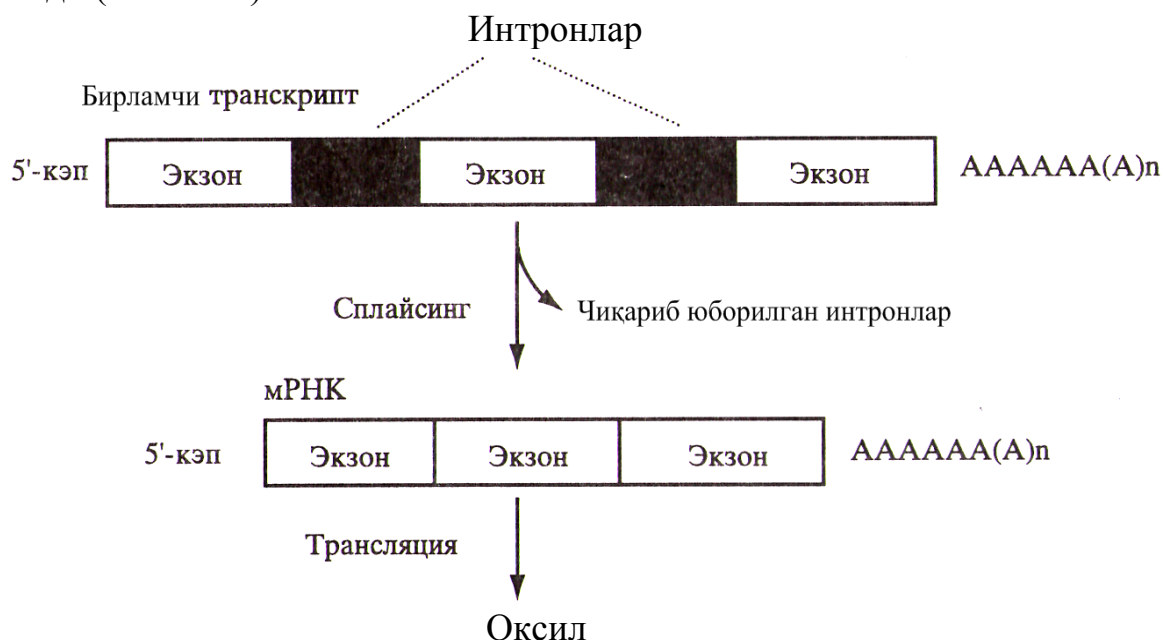
Эукариот организмларда генларни экспрессиясини молекуляр механизми ҳақидаги замонавий фикрлар асосан, рекомбинант ДНК методларидан фойдаланиб олинган натижаларга асосланган. Аммо, эукариот генларни структураси ва регуляцияси ҳақидаги фикрлар

ҳозиргача аниқ бир ҳолатга келганича йўқ. Юқорида кўрсатиб ўтилганидек, прокариот генларни регуляцияси регулятор оқсилларни днк молекуласидаги регуляция учусткаси билан ўзаро таъсири ҳисобида амалга ошади. Экариот генларда ҳам худди шундай бўлади.

Ҳар хил экариотик ҳужайралардан ва уларни вирусларидан бир қатор генлар ва уларга уланган регулятор оқсиллар индивидуал ҳолатда ажратиб олинган ва ўрганилган.

мРНК ҳосил бўлишини назорат қилиш ядронинг ичида ва бир неча ҳар хил босқичларда амалга ошириш мумкин.

Эукариотларни кўп генлари трансляция қиладиган участкалари (экзонлар) билан бир қаторда, оқсиллар аминокислоталарни кетма-кетлиги ҳақида ахборот ташимайдиган аммо, транскрипция қилувчи (интронлар) кетма-кетлик саклайди. Экзонларни узунлиги 1000 жуфт нуклеотиддан ошмайди (71-чизма).



71-чизма. Бирламчи транскриптдан мРНК процессинги.

Генлар матрицасидан бирламчи транскрипт РНК-полимераза || иштирокида ҳосил бўлади. РНК молекуласининг 5¹-охири (транскрипцияда биринчи бўлиб синтез бўлади) мРНК билан рибосомани боғловчи молекулагача қурилиб битади. Бу жараён барча молекулалар синтези тамом бўлганга қадар давом этади. РНКни синтези РНК-полимераза терминация кетма-кетлигига етгунча давом этади. Шу жойда транскрипция тўхтайди. Ундан кейин махсус фермент-poly(A)-полимераза- ҳар бир РНК-транскриптни 3¹-охирига 100дан 200гача аденил кислота poly(A), молекуласини улаб, бирламчи РНК-транскрипт ҳосил бўлиш жараёнини тугатади. Poly(A) ни функциясини аниқ эмас, тахмин қилинишича, бу қисм РНКни кейинги процессингига ва етилган мРНКни ядродан цитоплазмага транспорт бўлишига ёрдам беради.

РНК-транскриптни етилган мРНК молекуласига айланиш мобайнида ҳар бир молекула РНК-транскриптдан РНКнинг интрон кетма-кетлиги ўзига хос равишда ажралиб тушади. Интронлар кесилгандан кейин экзонлар бир-бирлари билан уланиб, бутун молекулани ҳосил қиладилар. Мана шу чизма (71-чизма) асосида ўтадиган процессинг (сплайсинг деб ҳам аталади) РНКни цитоплазмага ўтиши олдидан ядрога содир бўлади.

Генлар экспрессиясининг назорати транскрипцияни ўзи даражасида ёки сплайсинг даражасида амалга оширилиши мумкин. Бундан ташқари эукариотик ҳужайраларда ДНК нуклеосомалардан ташкил топган, улар ўз навбатида юқорироқ катордаги хроматинли структураларни ташкил қиладилар.

Хроматинларни локал (тўдаланган) структурасига боғлиқ равишда ДНКни бу участкалари РНК-полимераза ферменти таъсир этишига қулай ёки ноқулай ҳолатда бўлишлари мумкин, яъни хроматинни структураси транскрипцияни бошқаришга таъсир этиши мумкин. Эукариотларда транскрипция тўғридан-тўғри трансляция билан боғлиқ бўлмаганлиги учун, бошқарувчи мРНК ёрдамида (ишлатилиб) цитоплазматик назорат бўлиши ҳам мумкин. Бу механизмларни барчаси ДНКни тегишли бошқариш участкаларига таъсир этувчи ихтисослашган оқсилларни иштирокини талаб қилади. Аммо, ҳозиргача бошқарувчи оқсилларни табиати ҳақидаги илмий ахборотлар етарлича эмас.

Маълумки, микроскопик замбуруғларда, индукция ва репрессия механизмлари прокариот организмларникига жуда яқин. Бу барча гидролитик ферментларга (амилаза, пектиназа, целлюлаза, ксалапазалар ва ҳ.к.) тегишли бўлиб, уларда синтез фақат организмни тегишли субстратбилан (полимерлар) контактидан кейин бошланади.

Ҳайвонларда, мураккаб оқсиллар ва ферментларни синтезини танлаб модуляция қилиб турадиган қатор гормонлар ва бошқа бирикмалар маълум. Масалан, жигарда фенотарбитал-ўзини кейинги метаболитик ўзгаришларида иштирок этувчи ферментларни концентрациясини оширади, холестерин эса, унинг синтезида иштирок этувчи биринчи ферментни синтезини босиб қўяди (репрессия). Эукариотларда баъзи-бир генлар, ўзларини функционал вазифаларидан келиб чиққан ҳолда, ҳар хил вақт оралиғида экспрессия бўлиб турса, бошқалари ҳаммаша экспрессия бўлиш ҳолатида бўлади. Кейингиларга мисол қилиб, ДНК синтезида ва оқсилни гидролитик парчаланишида (янгиланишида) иштирок этувчи ферментлар киради. Бу ферментлар конститутив бўлиб, эритроцитлардан ташқари барча эукариот организмлар учун характерлидир. Кўплаб оқсиллар юқори эукариотларни алоҳида органлари (мушак, жигар, буйрак ва ҳ.к.) учун характерли ҳисобланадилар.

Аммо, алоҳида генларни экспрессияси муаммоси фақатгина уларни тўқима спецификлиги билан ҳал бўлмайди, чунки, организмни эмбрионал ривожланишини дастлабки босқичида бир генларни экспрессия маҳсулотлари керак бўлса, кейинги босқичида бошқа генлар маҳсулотлари

керак бўлади. Демак, эукариот генларни экспрессияси, прокариотларга қараганда бошқаришни кенгроқ механизми билан характерланади, жумладан, баъзи бир генлар доимий тезликда экспрессия бўлиши мумкин бўлса (конститутив синтез), бошқалари фақат индуктор иштирокидагина ишга тушишлари мумкин (индуцибель синтез) ва ниҳоят генларни учинчи тип экспрессияси ҳар хил гормонлар ёки бошқа факторлар билан бошқарилиб турилишлари мумкин.

21.2. ФЕРМЕНТ ПРОДУЦЕНТЛАРИНИ СЕЛЕКЦИЯСИ ВА УЛАРНИ ЎСТИРИШ.

Ҳар қандай саноат маҳсулотини олиш билан алоқадор бўлган биологик жараён, ҳеч бўлмаганда икки ҳолатни ҳисобга олган ҳолда яратилмоғи лозим. Биринчидан, муайян маҳсулотга харидор бўлиши шарт. Иккинчидан, жараёни ишлаб-чиқаришга тадбиқ этиш иқтисодий фойда келтирадиган бўлиши керак. Харидор бор, керакли фермент олиш учун тегишли манба бор бўлган ҳолатда, ечимини топиш керак бўлган бош масала ферментни ишлаб-чиқариш технологиясини самарадорлигини ошириш ва шу тарзда ишлаб чиқариладиган маҳсулот иқтисодий асосланган бўлиши лозим.

21.3. ПРОДУЦЕНТЛАР СЕЛЕКЦИЯСИ.

Саноат шароитида ферментлар ҳар хил биологик манбалардан (хайвон тўқималари, ўсимлик ҳужайралари, микроорганизмлар) олинishi мумкин. Аммо, энг яхши манба микроорганизмлар эканлиги тан олинган. Бу фикр қуйидаги далиллар билан исботланади:

Биринчидан, микроб культуралари селекциясига (бирламчи селекция, мутация, ген муҳандислиги) бўлган замонавий усуллар ва ўсиш шароитини оптимизация қилиш ҳар қандай микроб ферментини биосинтезини оширишга имкон яратади.

Иккинчидан, саноат шароитида ишлатиладиган штамм-продуцент, фермент синтезини бошқаришни шундай тизимига эга бўлиш керакки, продуцент ўзини физиологик эҳтиёжидан кўпроқ микдорда синтез қилиш имкониятига эга бўлсин.

Учинчидан, микроорганизмларни ўстириш жараёнига фасл факторини таъсири умуман бўлмаслиги шарт.

Тўртинчидан, ҳар хил таксономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизм-продуцентлар учун ферментларни кенг спектори биосинтези характерлидир. Бошқача қилиб айтганда продуцентлар керакли ферментларни синтез қила оладилар.

Микроорганизмларни жуда ҳам кўп сонли эканлиги ва ген муҳандислигини имкониятлари билан қўшилиб, ҳар қандай технологиялар

ва бошқа мақсадлар учун фермент танлашни идеал имкониятларини яратади;

Биринчидан, бошқаларга ўхшамаган каталитик хоссаларга эга бўлган фермент яратиш мумкин (оксил муҳандислиги). Бу ферментларни саноат жараёнларида ишлатишда, айниқса тиббиётда ишлатишда катта аҳамиятга эга бўлади.

Микроорганизм ферментлари биосинтезини кучайиши ёки янги, уникал хусусиятларга эга бўлган ферментлар синтезини пайдо қилиш, тегишли генларни клонлаш натижасида ташкил қилиш мумкин. Шу мақсадда, генетик яхши ўрганилган организмлар: *Escherichia coli*, *Basillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae*, *Phanerochaeta chrysosporium* ва бошқалардан кенг фойдаланилади. ген ва ҳужайра муҳандислиги усулларида фойдаланиш микроорганизмларда фермент продуцентлари сифатида катта имкониятлар очиб беради.

Микроорганизмнинг саноат культураси, рақобатбардош бўлиши учун қуйидаги хоссаларга эга бўлиши керак: арзон озик муҳитида, катта ҳажмда катта миқдорда (ҳужайрада ёки культурал суюқликда) фермент тўплаши; саноат миқёсида ўстирилганда токсинлик ва патогенлик хусусиятига эга бўлмаслик; ҳосил бўладиган фермент ишлатилиш шароитига қараб юқори стабилликка ёки лабилликка эга бўлиши; продуцент (кўпинча мутант ёки трансформант бўлиши мумкин) асосий ферментни конститутив механизм асосида синтез қилиши; ўстириш вақтини иложи борича камайтириши ва метаболитларни фермент фаоллигига салбий таъсирини иложи борича кам бўлиши керак.

Юқоридагилар саноат ферментлари учун қўйиладиган талабларни ҳаммаси эмас, чунки ҳар бир штамм ўзига хос бўлган характеристикага эга ва уларни эътиборга олмаслик саноат шароитида мумкин эмас.

Мутахассисларни фикрича, сифатан фарқ қиладиган микроорганизмлар 30-40% ни ташкил қилар экан, бу эса метаболик йўллари биохимикларга номаълум бўлган ферментлар ҳозирча кўп. Шундай культураларни табиатдан ажратиб олиш ва уларни физиолого-биокимёвий хусусиятларини чуқур ўрганиш, шубҳасиз керакли ферментлар сонини кўпайишига олиб келади. Шу нуқтаи-назардан ўсиш оптимумлари одатдагидан фарқ қиладиган микроорганизмлар хусусан: термофиллар, ацидофиллар, алкафиллар, психрофиллар, галофиллар ва барофиллар катта қизиқиш уйғотадилар. Шу гуруҳга кимёвий таркиби бўйича жуда камбағал муҳитда ўсадиган автотрофлар, масалан лигнинни оксидлайдиган ферментлар синтез қилувчи базидиал замбуруғлар ҳам киради.

Термофиллар, экваторга яқинроқ мамлакатларда, иссиқ манбаларда, ўз-ўзидан исиб кетадиган компостларда, чўлларни тупроқларида кўпроқ учрайдилар. Аммо, оддий тупроқлардан, бошоқли ўсимликларни уруғларида ёки мевалардан ажратилган факультатив термофил ва ҳатто термофил микроорганизмлар ҳам маълум. Психрофиллар кўпроқ шимолда,

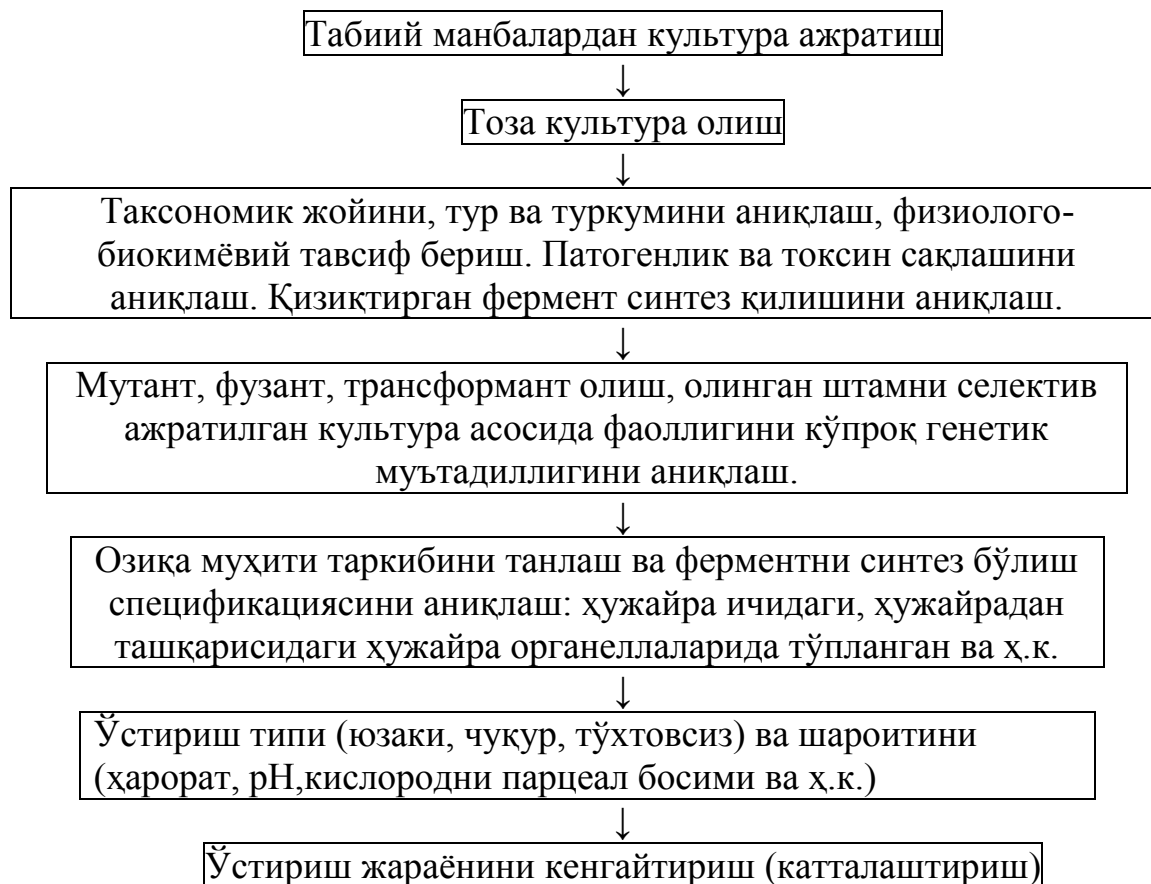
совуқ мамлакатларда учрайди. Паст ҳарорат устиворлик қилиб турган қиш фаслида бундай микроорганизмларни ажратиш осонлашади. Табиийки, нордон манбалар (тупроқ ва кўллар) ацидофил культуралар ажратиш учун қулай ҳисобланадилар. Алькалифил культуралар кўпроқ оҳакка бой бўлган тупроқларда учрайдилар. Аммо, ацедофил ва алкалифил микроорганизмларни оддий тупроқлардан ажратилганлиги ҳақида ҳам маълумотлар бор. Шўрланган кўллар ва тупроқларда кўпроқ галофил культуралар яшайдилар. Мана, шундай, одатдан ташқари бўлган жойлардан (тупроқ, бошоқлар, мева ва сабзавотлар) нусха олиб, улардан керакли микроорганизмларни ажратиш олиш мақсадга мувофиқ бўлади.

Шубҳасиз, маҳаллий табиий муҳит жуда ҳам хилма-хил микроорганизмлар манбаи бўлиб хизмат қилади, аммо микроорганизмларни селекциясида культура келиб чакқан жойни географик узоқлигини ҳам ҳисобга олишга тўғри келади. Масалан, Ўзбекистон биотехнологияси учун микроорганизмларни Африкада ёки Шимолий муз океанида қидириш иқтисодий самара бера оладими ёки йўқми? Шунинг учун ҳам махсус экспедициялардан ташқари, ҳар хил регионлардан ажратилган микроорганизмлар тўпламидан фойдаланиш ҳам тавсия этилади.

Ҳар қайси фермент учун культураларни табиий манбалардан ажратишдан бошлаб барча селекцион ишлар амалга оширилмоғи лозим. Масалан, амилазалар бошоқли ўсимликларда яшайдиган микроорганизмларда фаолроқ бўлади; целлюлаза ва ксиланазаларни ўсимлик чиқиндиларидан, ўрмон тупроқларидан ажратилган микроорганизмлар фаолроқ синтез қилади; пектиназалар мева ва сабзавотларни парчалайдиган микроорганизмларда, оксидланиш-қайтарилиш ферментлари (фенолоксидаза, пероксидаза, лакказа, монооксигеназалар) тирик ўсимликлар ва сабзавотларда яшовчи микроорганизмларда (масалан, базидиал замбуруғлар) фаолроқ бўлади. Баъзида, бутун мантиққа ҳилоф равишда, кутилмаган жойда у ёки бу ферментни фаол продуценти чиқиб қолиши ҳам мумкин.

Фермент продуцентларини олиш ўта мураккаб ва узоқ давом этадиган жараён.

Амалиётда ҳар бир продуцент қуйида келтирилган босқичлардан ўтиши шарт (72-чизма).



72- чизма: Табиий манбалардан саноат штаммлари олиш учун бажарилиши лозим бўлган ишларни кетма-кетлиги.

21.4. ФЕРМЕНТАЦИЯ УЧУН ОЗИҚА МУҲИТЛАРИ ТАРКИБИ.

Озиқа муҳитни баҳоси, ишлаб чиқариш шароитида ферментация жараёнига кетадиган харажатларни 50% дан кўпроғини ташкил қилади. Изланувчиларни энг асосий вазифаларидан бири қимматбаҳо компонентларни арзонларига алмаштиришдан иборат.

Озиқа муҳитини энг муҳим компонентларидан бири углерод бўлиб, у бутун муҳит оғирлигини 50% ни ташкил қилади. Озиқа муҳитини органик қисми углероддан ташқари энергия манбаи ҳамдир. Агар ферментацияни спецификацияси имкон берса, углерод манбаи сифатида лигноцеллюлозали маҳсулотлар ишлатилади. Айниқса, целлюлазалар, ксиланазалар, лигнин парчаловчи ферментлар ёки оксилга бой бўлган микроб биомассасини кўп миқдорда, катта масштабда олиш учун мана шундай чиқиндилардан фойдаланилади. Бунда лигноцеллюлоза маҳсулотларига дастлабки ишлов берилади (термик, механик, кимёвий ёки физикавий). Бу жараён кристаллизация, делигнифляцияни камайтириш ва ҳазм бўлиш самарасини ошириш учун ишлатилади. Углеводлар энг муҳим углерод манбаи ҳисобланади; аммо тозаланган шакар моддалари жуда қиммат туришини ҳисобга олиб, кўпроқ моносахарид, дисахарид, олигосахарид ва полисахарид сақловчи қишлоқ хўжалиги чиқиндиларидан

бошқа органик бирикмалар билан аралаштириб фойдаланилади. Бундай ҳолларда субстратларни майдалашдан ташқари, дастлабки ишлов беришни бошқа шаклларида ҳам фойдаланилади.

Углерод манбаининг бошқа бир тури арпа, буғдой ва шоли унлари ҳисобланади. Масалан, арпани юқори ҳарорат таъсирида ўсиши тўхтатилган ўстирилган майсаси-солод жуда кўплаб қимматбаҳо озиқа компонентлари сақлайди (қисман гидролизланган крахмал, паст молекулали шакарлар, аминокислоталар, оксиллар ва х.к.) ва кўп ҳолларда биомасса миқдорини ва фермент фаоллигини ошириб кетишига олиб келади. Аммо, қимматбаҳо бўлганлиги учун бу манба нисбатан кам ишлатилади.

Микробиология саноатида углерод манбаи сифатида кўпроқ меласса ишлатилади. Шакар ишлаб чиқаришни чиқиндисини бўлган бу субстрат кўп миқдорда глюкоза, фруктоза ва сахароза сақлайди.

Углерод манбаларидан яна бири—лактоза бўлиб, у сувда ёмон эрийди ва жуда қийин гидролизга учрайди. Лактоза β-типага кирувчи дисахарид бўлиб, сут зардобидан кўпроқ сақланади. Лактозани парчаловчи микроорганизмлар

Учун жуда ҳам яхши углерод манбаи ҳисобланади. лактоза парчаланиб, енгил ҳазм бўлувчи глюкоза ва галактоза ҳосил қилади. Лактоза β-галактозидазани индуктори ҳисобланади.

Озиқа муҳитини таркибига кирувчи энг муҳим компонентлардан бири азот ҳисобланади. микробиологик синтез жараёнида азотни органик ва ноорганик бирикмалари ишлатилади. Кўпинча азотни аммоний тузлари сифатида ишлатилади, аммо азотни органик бирикмалари ҳам микроорганизмларни ўсиш ва ривожланишини тезлатиши мумкин.

Саноат шароитида азот манбаи сифатида қон, балиқ, арахис ва соядан тайёрланган ун кўпроқ ишлатилади. Юқорида кўрсатилган манбалар пурин ва пиримидин асосларига, витаминларга ва ўстириш омилларига бой бўладилар.

Маккажўхори экстракти органик азотни энг муҳим формаларидан ҳисобланади. У маккажўхори крахмали ишлаб чиқаришда қўшимча маҳсулот ҳисобланиб, 25%гача оксил ва аминокислоталар сақлайди.

Озиқа муҳитига минерал тузлардан фосфат ва сульфат тузлари қўшилиб, уларни миқдори, фосфат тузлар учун 1л га 1,0гр, сульфат тузлари эса 0.5г ни ташкил этади. Кўпинча озиқа муҳитига металл ионлари, масалан Mg^{2+} , Zn^{2+} қўшиш ҳам тавсия этилади. Микроэлементлар озиқа муҳити таркибига кирувчи бошқа озиқа компонентларида ҳам учрайдилар.

Хуллас, ферментларни биосинтезини кучайтирувчи озиқа муҳити тайёрлаш, анчагина қийин ва ҳар бир штаммни хусусиятидан келиб чиққан ҳолда даврий танланадиган жараён ҳисобланади. Бу мақсадда углерод ва азотни ҳар хил манбаларидан фойдаланилади ва тажрибалар асосида уларни миқдори, бир-бирларига бўлган нисбати танланади. Бу масалани

аниқроқ ва тезроқ ечиш мақсадида тажрибаларни математик моделлаш усулларидадан фойдаланилади.

21.5. ЭКУВ КУЛЬТУРАСИНИ ОЗИҚА МУҲИТИГА СОЛИШ.

Прокариотлар, ўртача 1,5-2,0 соатда ўзини биомассасини 2 мартаба оширади, эукариотлар эса бу жараёнга 1,5-2,0 мартаба кўпроқ вақт сарфлайдилар. Мана шу кўрсаткичлардан келиб чиққан ҳолда инокулянтни миқдори (экув материални миқдори) аниқланади. Солинадиган инокулянтни миқдорини аниқловчи 2-омил, тўлиқ стерилизация бўлганлигига ишонч йўқлиги ҳисобланади. Саноат шароитида ишлатиладиган ферментларни ҳар хил конструкцияси бўлишига қарамасдан бу муаммо (стерилизация) ҳамон муаммолигича қолиб келмоқда. Озиқа муҳитини ифлосланмаслиги учун кўпроқ миқдорда экув materiali солишни тавсия этилади. Бу, асосий штамм, ҳар хил шаклдаги ифлослантирадиган омиллар (бегона микроорганизмлар) билан рақобат қила олишини таъминлайди.

Инокулянт миқдорини кўпроқ бўлишини исботловчи омилларга яна қуйидагилар киради. Саноатда ишлатиладиган микроорганизмлар кўпинча мутантлар, фузантилар ёки трансформантлар ҳисобланадилар. Шунинг учун буларни кўп сонли генерацияси ўсиш жараёнида генетик мустаҳкам бўлмаган штаммлар ҳисобидан (бундай штаммлар кўпроқ эукариот организмларда учрайди) ҳосилдорлигини камайтиришга олиб келиши мумкин.

Инокулянт тайёрлашни универсал чизмаси йўқ бўлсада, кўпроқ қуйидагича тайёрлашни тавсия этади: пробиркалардан, Петри ликопчаларидан ёки лиофил қуритилган штаммлар 150 мл дан 1 л гача ҳажмга эга бўлган колбалардаги озиқа муҳитига экилади. Озиқа муҳитини таркиби юқорида келтириб ўтилганидек, ҳар бир штамм учун алоҳида танлаб олинади. Штамм ўз ўсишини экспонциал фазасига чиққанда, унчалик катта бўлмаган ферментларга 30-500 л ўтказиб экилади; кейин, ўсишини стационар фазасига чиққанда, (прокариотлар учун 8-20с, эукариотлар учун 20-50с) бошқа, каттароқ ферментларга (1-5м³) экилади, ундан кейин охириги, саноат ферментерига (25-100м³) ўтказилади ва ўстириш давом эттирилади.

Одатда, саноат шароитида инокулят миқдори 5-10%, жуда кам ҳолатларда саноат ферментерини 15%ни ташкил этади.

Инокулянтни охириги ферментерга ўтказиш жуда катта эътиборни талаб қилади. Ҳар қайси босқичда штаммни қаттиқ назорат қилиш лозим. Микробиологик синтез даврида бактериофаглар билан ифлосланиши хавфи ҳам бор. Фаголизисни кузатиш осон бўлиб, у штаммни ўсишини бирданига сусайиб келиши ва ҳосилдорликни тушиб кетиши орқали кузатилади.

21.6. ПРОДУЦЕНТЛАРНИ ЎСТИРИШ УСУЛЛАРИ.

Микробиологик йўл билан ферментларни ишлаб чиқаришни, иқтисодий самарадорлигини аниқловчи омиллардан бири-микроорганизмларни ўстириш усулидир. Ўстиришни бир неча усуллари мавжуд: сиртки (юзаки), суюқ озиқа муҳиtida (даврий), осиб (жуда ҳам кам ишлатилади) ва озиқа муҳиtida тўхтовсиз ўстириш усуллари. Бу усулларни ҳар бири ўзига хос бўлганлиги учун ҳам улардан ҳозиргача фойдаланиб келинади.

Микроорганизмларни қаттиқ фазада сиртида, юзаки ўстириш жуда катта тарихга эга. Японияда ва Узоқ Шарқни бошқа мамлакатларида ивигилган буғдой ёки гуручга тузлар солиб, уй ҳароратида ва стерил шароитда маҳсус идишларда замбуруғ ўстирилади. Шу усулда амилаза, протеаза, пектиназа, целлюлаза ва бошқа ферментлар олинади. Ўтган асрнинг 20-йилларида-антибиотиклар ишлаб чиқариш бошланган даврда—микроорганизмларни суюқ озиқа муҳиtida, чуқурликда ўстириш усули яратилган. Бу усулдан фойдаланиб, ферментлар биосинтезини амалга ошириш, дастлабки тажрибаларда ўзини истиқболли эканлигини кўрсатди ва эндиликда бу усул бошқаларидан кўра самаралироқ эканлиги ҳеч кимда шубҳа уйғотмайди.

Саноат ферментациясини асосий мақсади энергиядан (ўстириш ҳарорати, озиқа муҳитини стерилизация қилганда ва уни аралаштирганда сарфланадиган энергия вах.к.) унумли ва самаралироқ фойдаланишдан иборат. Шунинг учун ҳам озиқа муҳитининг компонентларини энергетик ва озиқавий баҳоси энг муҳим омиллардан ҳисобланади. Шунингдек, ўстириш шароитини танлаш ҳам катта аҳамиятга эга (ҳарорат, рН, O_2 ни парциал босими, жараёни давомийлиги ва х.к.). саноат шароитида маҳсулотни тан нархини белгилашда, ферментациядан ташқари, озиқа муҳити компонентларини баҳоси, энергия сарфлари, хизматчиларни меҳнат ҳаражатлари, аппаратларни ишлатишдаги ҳаражатлар ва бошқа муайян жараён билан алоқадор бўлган ҳаражатлар эътиборга олинади.

Лабораторияда саноат шароитига ўтишда пайдо бўладиган яна бир муаммо ҳақида эслаб ўтиш ўринлидир. Саноат шароитига ўтказишни асосий моҳияти, асосий конструктив элементларни ҳажмини аниқлаш, ферментларни ишлаш режимини танлаш, микроорганизмларни яхши ўсиб, ривожланиши учун зарур бўлган аралаштириш шароитларини, иссиқлик ва масса алмашинуви ва бошқа кўрсаткичларни тўғри танлаш асосида ферментларни фаолиятини олдиндан белгиланган ҳолатга чиқаришдан иборат. Ҳозирги вақтда жараёни катталаштиришни кўп сонли мезонлари ва кўрсаткичлари маълум. Аммо, кўпчилик ҳолларда, улар барча кўрсаткичларни мужассамлаштирмасдан, бор-йўғи икки-уч кўрсаткичлар билан чегараланади. Шунинг учун ҳам асосий критерия сифатида аэрация даражаси кўрсаткичлари қабул қилинган. Одатда 2 фактор қараб чиқилади: суюқлик билан бирга кислород кириш тезлиги ва

уни газли фазадан масса узатиши, ҳамда микроорганизмларни кислород қабул қилиши тезлиги ва уни ишлатилган суюқлик билан чиқиб кетиши.

Кислородни газли фазадан суюқликка ўтиши адсорбциянинг ҳажмий тезлиги орқали белгиланади. Суюқ фазада кислородни концентрациясини ўзгариши қуйидаги тенглама билан белгиланади:

$$dC/dt = KLa(C_p - C),$$

Бу ерда: KLa -кислород бўйича масса узатишни ҳажмий коэффициент;

C_p -муҳитда кислородни тенглик концентрацияси;

C -муҳитда кислородни ўша (қиска) даврдаги (нуктадаги) концентрацияси.

KLa катталиги газ-суюқлик чегарасида масса узатишни ҳажмий коэффициент.

Ҳужайра сиртидаги кислородни ўлчаш имконияти бўлмаганлиги сабабли, чегарадаги масса узатиш, Q_{O_2} муҳити ҳажм бирлигида микроб ҳужайраларини кислород ютишини кўрсаткичлари ёки q_{O_2} биомасса бирлиги билан характерланади. Агар кислородни кириши, уни ишлатилиши билан баробар бўлса, ва муҳитда кислородни концентрацияси доимо бир хил турса:

$$dC/dt = KLa(C_p - C) - Q_{O_2} = 0$$

Бу ерда: $Q_{O_2} = q_{O_2}X$; q_{O_2} -биомасса бирлигида кислород ютишни солиштирма тезлиги; X -биомассанинг концентрацияси.

21.7. ҲУЖАЙРАДАН ТАШҚАРИДАГИ ФЕРМЕНТЛАР.

Экзоген ёки ҳужайрадан ташқарида учрайдиган ферментларни ажратиб олиш осонроқ ва иқтисодий арзонроқ бўлганлиги учун ҳам, уларга бўлган эътибор кучлироқ. Саноатда ишлатиладиган продуцентларни фермент секреция қилиш механизмларини ўрганиш ва бу жараёни кучайтириш йўллари бағишланган мақолалар жуда кўплаб чоп этилган. Маълумки, ҳужайрадан ташқарига чиқадиган ферментлар, ҳужайра ичида қолиб фаолият кўрсатадиган ферментларга қараганда, мураккаброқ индукция (биосинтезни кучайиши) механизмига эга. Ҳужайрадан ташқарида фаолият кўрсатадиган ферментларни (протеаза, амилаза, целлюлаза, ксиланаза, липаза, нуклеаза) субстратлари юқори молекуляр оғирликка эга бўлиб, ҳужайра ичига кира олмайдилар. Шунинг учун ҳам ҳужайра бундай субстратларни озиқа муҳитида топиб олиши ва уларга тегишли ферментлар синтез қилиш билан муносабат билдириши керак.

Фермент секрециясининг яна бир ўзига хос бўлган хусусияти, уларни ҳужайра мембраналари орқали ўтишидир. Ферментларни секрециясини ҳар хил таксономик гуруҳлар ҳамда оксилларни ҳар бири учун ҳар хил бўлган (бир-бирларидан фарқ қиладиган), доимий конститутив (унчалик кўп бўлмаган) тезлиги бор деган тахминлар ҳам илмий адабиётлардан

маълум. Суюқ озиқа муҳитида ўстирилган микроорганизмлар биомассасида ферментлар ҳужайра ичида (эндоген) ёки ҳужайра ташқарисига чиқадиган маҳсулотлар сирасига кириши мумкин. Продуцентлар, ўзларини секретор тизимлари орқали культурал суюқликка катта молекуляр массага эга бўлган оксилларни жумладан ферментларни ажратиб турадилар. Бу хусусият кўплаб эукариот ва прокариот организмларда генетик белгиланган (детерминация қилинган). Ҳужайрадан ташқаридаги оксилларни техник препаратлар сифатида ажратиш, уларни тозалаш, иммобилизация қилиш, капсулаларга жойлаштириш ва бошқа жараёнлар ҳужайра ичида жойлашган ферментларга қараганда анча арзон. Маълум ферментларни синтез қилиш ва кейин уларни ҳужайра мембраналари орқали ташқарига чиқариш хусусияти ҳар хил таксономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизмлар (бактериялар, ачитқилар, замбуруғлар) орасида кўплаб учрайди. Кўпроқ ҳужайра ташқарисига фаолият кўрсатган ферментлар полимер субстратларга таъсир этиб, уларни қисман ёки тўла парчалаб, қўшимча углерод манбаи тўплаб берадиган ферментлар ҳисобланадилар. Бундай ферментлар фаолият кўрсатишлари учун кофакторларга муҳтожлик сезмайдилар. Юқорида айтиб ўтилганидек, ферментларни ҳужайра мембраналаридан ўтиш хусусияти шунчалик ўзига хос, мураккаб муаммо керакли хусусияки, керакли продуцентларни селекция қилишда нафақат у ёки бу ферментни биосинтезини, балки секреция қилиш хусусиятини ошириш масаласи биринчи қилиб қўйилади.

Ҳужайра ичидаги ферментларни кўпчилиги ҳам уларни экстракция қилиб ажратиб олиш биров мураккаброқ бўлишига қарамасдан, ажратиб олинади ва ишлатилади. Шундай ферментлардан тиббиётда ва озиқ-овқат саноатида глюкозани аниқлаш учун кенг ишлатиладиган глюкозооксидаза ҳамда ҳар хил шишларни даволашда ишлатиладиган аспарагиназа, антибиотикларни трансформациясида иштирок этувчи-пенициллинацилаза ферменти ва бошқалардир.

21.8. ФЕРМЕНТ ПРЕПАРАТЛАРИНИ АЖРАТИБ ОЛИШ.

Ҳужайра ичидаги ва ҳужайра ташқарисига чиқадиган ферментларни ажратиб олиш ва уларни тозалашни дастлабки босқичида жуда ҳам катта фарқ бор. Биомассани культурал суюқликдаги метаболитлардан, жумладан ҳужайра ташқарисига чиққан ферментлардан ажратиш жараёни унчалик мураккаб бўлмасдан, центрифуга, сепаратор хаттоки оддий филтрлаш (замбуруғлар учун) орқали амалга оширилади. Оқибатда кимёвий таркиби бўйича хилма-хил метаболитлар сақловчи культурал суюқликни филтрати биомассадан ажратиб олинади.

Одатда, филтрат ажратиладиган ферментни 80%га яқинроқ бўлган фаоллигини сақлайди ва кейинги технологик манипуляцияларга тайёр эритма ҳисобланади. Ҳужайра ичидаги ферментларни ажратиб олиш учун

биомасса, унда сорбция бўлиб қолган компонентлардан тозалаш учун дистилланган сув ёки жуда ҳам суюлтирилган буфер билан бир неча маротаба ювиб ташланади. Хужайра структурасини бузиб, ичидаги ферментларни ажратиш олиш учун ҳар хил усуллардан фойдаланилади: механик (шарикчалар ёрдамида бузиш; кварц қумлари билан артиш), физик (ультратовуш, гидравлик қимирлатиш, музлатиб-эритиш) ва бошқалар. Бузилган биомассада ферментни рН кўрсаткичи ферментга тўғри келадиган суюлтирилган буфер ёрдамида амалга оширилади. Хужайрани бузилган қисмлари центрифуга ёрдамида ажратилади. Нуклеин кислоталар ферментлар ёрдамида парчаланади ёки юқори молекулали катионлар ёрдамида чўктирилади. Бу операция айниқса нуклеин кислотаси кўпроқ бўлган бактериялар ва ачитқилардан (уларда нуклеин кислоталар миқдори биомассада 8-12% ни ташкил қилади) фермент ажратишда албатта қўлланилади.

Шундай қилиб культурал суяқликни филтрати (хужайрадан ташқаридаги ферментлар ажратиш учун) ва хужайра ичидаги ферментлар экстракти тайёр бўлади. Бу икки эритма бир-биридан нима билан фарқ қилади? Хужайра ташқарисидаги филтрат одатда 15-20 та ҳар хил оксиллар сақлайди, хужайра экстрактида эса оксил спектри анча кўпроқ бўлади.

Кўпинча, тиниқ ҳолатдаги фермент эритмаси вакуумда парлатиш орқали ёки ультрафилтрация йўли билан қуюлтириб олинади. Бу усуллар фермент эритмасини 5-15 маротаба қуюлтириб олиш имконини яратади.

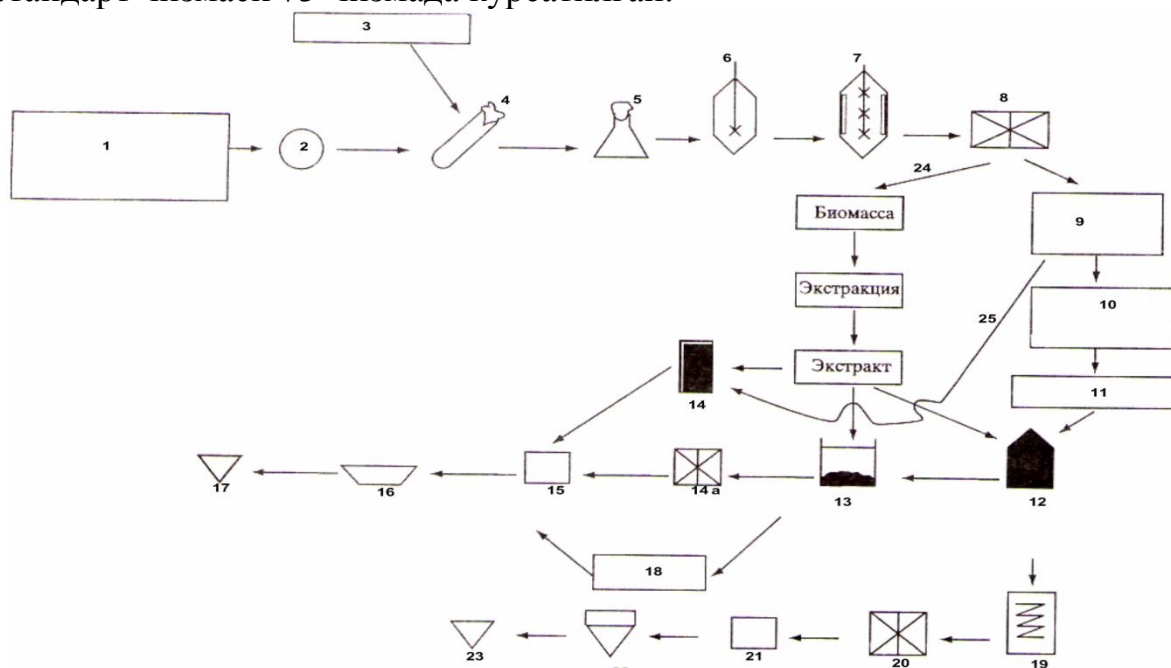
Қуюлтирилган фермент эритмалари асбест ёки целлюлоза филтрларидан ўтказилиб, тозалаб олинади. Коммерция учун тайёрланган фермент концентратларига стабилизаторлар (ош тузи, бензоатлар, сорбинатлар, баъзида металл ионлари) солинади. Агар зарур бўлса суюлтирилади.

Қуруқ ҳолатдаги фермент препаратлари олиш учун органик эритувчилар (этил спирти, изопропил спирти, ацетон) ёрдамида (1ҳажм фермент концентратига 2-4 ҳажм органик эритувчи ҳисобидан) ёки ноорганик тузлар, (аммоний сульфат ёки сульфат натрий) ёрдамида чўктирилади, чўкма центрифуга ёрдамида ажратилиб, вакуумда қурилади. Қурилган препаратлар ҳавончада майдаланиб, унга қўшимча моддалар (крахмал, декстринлар, ксилоза, ош тузи ёки бошқа инерт қўшимчалар) қўшиб стандартланади. Кўпинча фермент препаратлари (суяқликда қуруқ модда миқдори 15% дан кўпроқ бўлса) пуркаб қурилади.

Юқори тозалikka эга бўлган фермент препаратлари олиш учун хилма-хил хроматографик усуллардан: ион алмашинув, юқори самарали суяқликда хроматография (ВЭЖХ) ва гелъ филтрация усулларида фойдаланилади. Ҳар бир ферментни физик-кимёвий ва энзимологик хусусиятларидан келиб чиққан ҳолда, тозалаш усуллари танлаб олинади ва унда танланган усулни самарадорлиги, арзонлиги, тез вақтда амалга

ошириш мумкинлигига эътибор берилади. Ўсимликлардан, ҳайвонлардан ва айрим микроорганизмлардан ажратилиб, озиқа таркибига кирувчи ферментлар зарарсиз деб топилган. Бошқа ферментлар учун эса (асосан микроорганизмлар ферментлари) заҳарлилиги аниқланиши шарт. Бунга сабаб, фермент препаратлари таркибида аллергия реакция берувчи оксил моддалар, михотоксинлар ва бошқа заҳарли оксиллар учраши мумкин.

Микроорганизмларни суяқ озиқа муҳитида ўстириб, фермент олишни стандарт чизмаси 73-чизмада кўрсатилган.



1-Табий манбалардан ажратиш: тупроқ, ҳосил(мева), ҳайвон организмлари, 2-Тоза культура ажратиш, 3- Музей культури, 4- Агарли муҳитда саҳлаш, 5- Тебратгичларда колбаларда ўстириш, 6- Инокулянт тайёрлаш учун ферментёр, 7- Асосий ферментация, 8-Филтрлаш тизими, 9-Филтрланган культурал суяқлик, 10- Органик эритувчилар билан экстракция қилиш, 11- Фракцияларга ажратиш, 12- Концентрлаш (вакуум-қуюлтириш, мембраналар ва ҳ.к.), 13-Органик эритувчилар ёки ноорганик тузлар ёрдамида чўктириш, 14-Ион алмашинув тозалаш тизими, 14а- Филтрация, сепарация, 15-Стандартация, 16-Вакуумда ёки сублимация йўли билан қуриш, 17-Қадоқлаш, 18-Диализ, 19-Чўктириш, 20-Филтрация, 21-Стандартация, 22-Пуркаб қуриш, 23-Қадоқлаш, 24-Ҳужайра ичидаги ферментлар, 25-Ҳужайра ташқарисидаги ферментлар.

73-чизма. Фермент препаратларини микроорганизм культураларидан олиш жараёнининг умумий чизмаси.

21.9. ТАБИЙ БИРИКМАЛАРНИ АЖРАТИШНИ АСОСИЙ УСУЛЛАРИ.

21.9.1.Оқсилларни чўктириш.

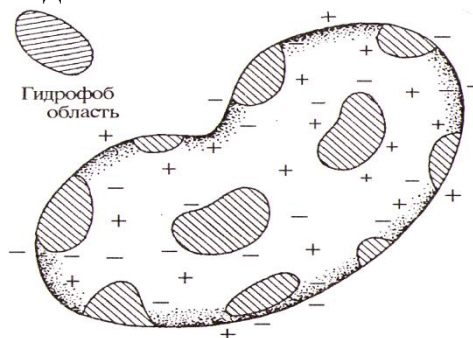
Чўктириш-оқсил ажратиш ва тозалашни қадимги усулларида бўлиб, ҳозиргача кенг ишлатилади. Бу усулни қатор вариантлари маълум бўлиб, уларни асосини тизимни ҳар хил параметрларини ўзгариши ташкил

қилади. Масалан, ҳарорат, ион кучи, рН, диэлектрик тавсиф ва бошқалар шулар жумласидандир.

Чўктириш фермент препаратларини қуюлтиришни энг самарали усулларида ҳисобланади. Бу усулдан фойдаланиш, фермент эритмасини ҳажмини кескин камайтиради.

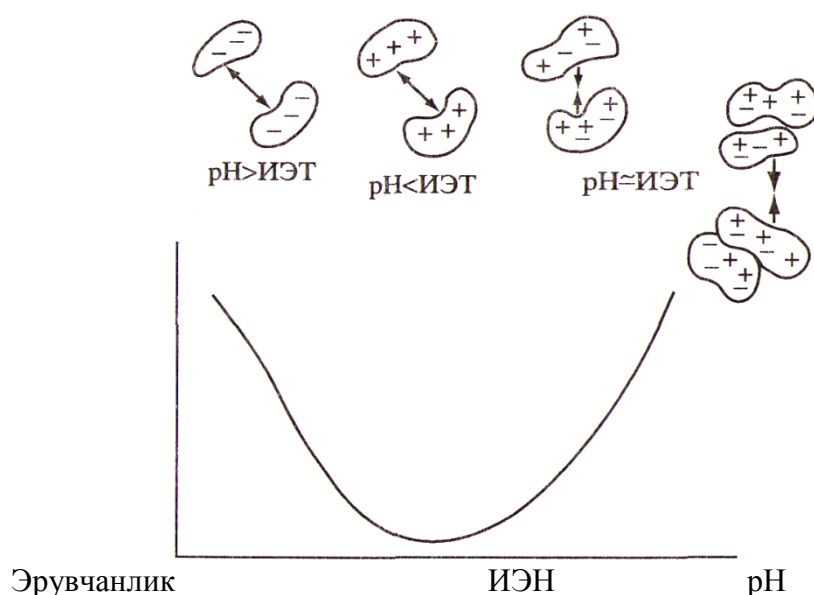
Лаборатория шароитида чўктиришни жуда кўп хилма-хил усуллари маълум. Катта ҳажмли жараёнларда эса асосан 5 хил чўктириш усулларида фойдаланилади. Булар: тузлаш, органик эритувчилар ёрдамида чўктириш, изоэлектрик нуқтада чўктириш, ионсиз полимерлар ёрдамида чўктириш ва полиэлектrolитлар билан чўктиришдир.

Оқсил молекуласи юзасини гидрофилли ва гидрофобли қисмларга бўлиниши, оқсилни ҳар хил эритувчиларда эрувчанлигини аниқлаб берувчи белги ҳисобланади. Гарчан гидрофобли гуруҳлар оқсил молекуласининг ичида тўпланишга интилсаларда, улардан бир қисми молекула сиртида қолади ва эритувчилар билан контактда бўлади (74-чизма). Бошқа зарядланган поляри гуруҳлар билан бирга, молекула юзасидаги гидрофоб гуруҳлар оқсилларни эритмадаги хусусиятларини аниқлашда катта рол ўйнайди.



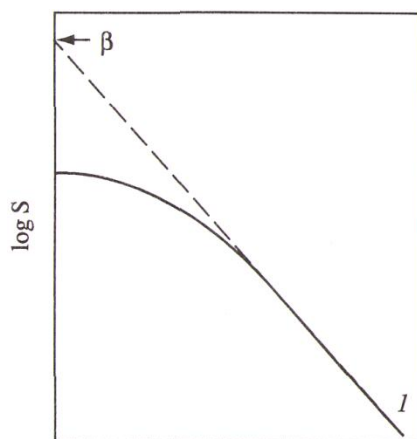
74-чизма. Оқсил молекуласи юзасида зарядларни ва гидрофоб қисмини жойлашиши.

Оқсилни эрувчанлиги эриган модда билан сувли эритувчини қарама-қарши (поляри) ўзаро таъсири ва унинг муҳит таркибидаги тузлар билан ионли ўзаро таъсирдир. Агар оқсилни юзаси юқори гидрофобликка эга бўлса, унинг жуда кам қисми эритувчи билан ўзаро таъсирда бўлади ва шунга тегишли равишда кам миқдорда зарядланган гуруҳ туз билан муносабатда бўлади. Агар заряд нолгача пасайса, электростатик итариш камаяди ва изоэлектрик нуқтага яқинлашган сари молекуляр бир-бирларига яқинлашиб боради (75-чизма). Бундай жараён изоэлектрик чўкиш деб аталади.



75-чизма. Глобулин хусусиятига эга бўлган оксилни рН кўрсаткичлари
изоэлектрик нуқтага яқинлашгандаги эрувчанлиги.

1. Тузланиш. Тузлаш ёки тузланиш чўктиришни энг кенг тарқалган усулларида бири ҳисобланади. Бу усулни моҳияти оксил эритмасига юқори концентрацияда нейтрал туз солиш билан боғлиқ. Оксил молекуласи электростатик кучлар ва гидрофобли ўзаро таъсир орасидаги тенглик ҳисобида сувда эриган ҳолатда тура олади деб тахмин қилинади. Оксилни тузланиши 76-чизмада келтирилган қийшиқ чизик бўйича содир бўлади.



Тузлар концентрацияси C_s

76-чизма. Тузланишни қийшиқ чизиги β ва к-оксил-туз аниқ тизимининг константалари; S -оксилни эрувчанлиги; C_s -тузни концентрацияси. I -энгашиш (эрувчанликни тўғри чизикка олган кўринишини константаси)

Тузни концентрацияси ошганда оксилни эрувчанлигини пасайиши қуйидаги эмпирик тенглама орқали тушунтирилиши мумкин:

$$\text{Log } S = \beta \cdot K_c$$

Бу ерда: S -оксилнинг эрувчанлиги; C_s -тузнинг концентрацияси; β ва K_c -хар бир оксил учун ўзига хос бўлган константалар (β -хароратни ва рН функцияси ҳисобланади).

Оқсилларни чўктириш учун ҳар хил тузлар ишлатилади: нитратлар, фосфатлар, сульфатлар ва хлоридлар. Юқоридаги тузларни тузлаш самараси пасайиши бўйича келтирилди. Бу рўйхатда фосфатлар сульфатларга нисбатан самаралироқ деб кўрсатилган бўлсада бир нарсага эътибор бериш лозим. Одатда, рН кўрсаткич нейтрал бўлганда фосфатлар HPO_4^{2-} ва H_2PO_4^- ионлари аралашмаси ҳолатида бўлади, бунга эса PO_4^{3-} га қараганда самараси пастроқ. Катионлар оқсилларни чўкишига таъсири қуйидагича бўлиши аниқланган: $\text{NH}_4^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+$. Туз танлаётганда рНга эътибор бериш лозим. Масалан, натрий нитратдан рН 8,0 дан баланд бўлганда фойдаланиш мумкин. Аммоний тузларидан рН кўрсаткичи баланд бўлганда фойдаланиш мумкин эмас, бундай шароитда уларни буферлик таъсири ҳалақит қилади. Худди шу сабабли цитрат тузларидан рН 7,0 дан паст бўлганда фойдаланиш ҳам мумкин эмас. Лаборатория амалиётида кўпроқ аммоний сульфатдан фойдаланилади, чунки у ҳатто паст ҳароратда ҳам яхши эрувчанлик хусусиятига эга. Сульфат аммонийни баҳоси ҳам бошқа тузларга нисбатан баланд эмас, шундай бўлишига қарамасдан катта ҳажмдаги ишлаб-чиқаришда ундан фойдаланиш чеклаб қўйилган. Бунга сабаб аммоний сульфат тузининг эритмаси металлларда коррозия чақиради, бетонни бузади, бу эса чиқиндиларни утилизация қилишдек қўшимча муаммога олиб келади. Бундан ташқари бу тузни чўктирилган оқсилдан бутунлай ажратиш жуда ҳам қийин. Аммоний сульфатдан лаборатория шароитида кутилиш учун диализ ёки гелфильтрация усулларида фойдаланилади. Аммоний сульфатни натрий сульфат билан алмаштириш ҳам мумкин, аммо бу тузни эрувчанлигини таъминлаш учун оқсил эритмасини ҳароратини 35-40°C гача кўтаришга тўғри келади. Шунини ҳам айтиб ўтиш зарурки, тузни эрувчанлигини ҳароратга боғлиқлигидан фойдаланиб, уни оқсил эритмасини ҳароратини пасайтириш орқали регенерация қилиб олиш мумкин. Аммо, бунда тузни кутилмаганда кристаллизацияга тушиб, иссиқ алмаштиргичларни беркитиб қўйишидан эҳтиёт бўлиш зарур. Саноат шароитида бошқа тузлардан фойдаланиш иқтисодий кўрсаткичлар билан белгиланади. Оқсилларни чўктириш жараёни даврий режимда самаралироқ бўлади. Эритмани тўйиниш даражаси эмпирик йўл билан танланади. Оқсил чўктиришда аммоний сульфатни концентрацияси тўлиқ тўйинишга нисбатан 20-60% ни ташкил этади. Аммоний сульфат оқсил эритмасига майдаланган кукун ёки тўйинган эритма ҳолатида қўшилиши мумкин. Эритма ҳажмини кўпайтириш мумкин бўлмаган ҳолатларда кукундан фойдаланилади. Тўйинган эритмадан тозалашни охирги босқичларида фойдаланиш мақсадга мувофиқ натижаларга олиб келади. Тузни тўйинган эритмани қўшилиши яхши аралаштириш орқали амалга оширилади. Тузни бирданига эмас, балки бўлиб-бўлиб ишлатиш, биринчи қисми бутунлай эриб бўлганидан кейингина кейингисини қўшиш тавсия қилинади. Охирги бўлагини солингандан сўнг яна 15-20 мин аралаштириб туриш, фракцияларни тоза ажралишига олиб келади. Аммоний сульфат билан

чўктиришдан олдин оксил эритмасини оғир металлларни, айниқса темир тузларидан тозалаш тавсия этилади. Бунинг учун эритмага металлни ўзига боғлаб олувчи агентлар, масалан ЭДТА (этилен диаминтетраацетат) қўшиш мумкин. Эритма таркибидаги аммоний сульфатни миқдори тўла тўйинганликни 1,0 га тенг қилиб олган ҳолда, унинг бир қисми, масалан, 0,2; 0,3; 0,5; 0,7 ва х.к. деб белгиланади. Белгиланган тўйиниш даражасидаги аммоний сульфатни миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$x = \frac{0,515 V(C_2 - C_1)}{1 - 0,272 \cdot C_2}$$

Бу ерда, $V-C_1$ тўйинишига тенг бўлган аммоний сульфат сақловчи эритмани ҳажми;

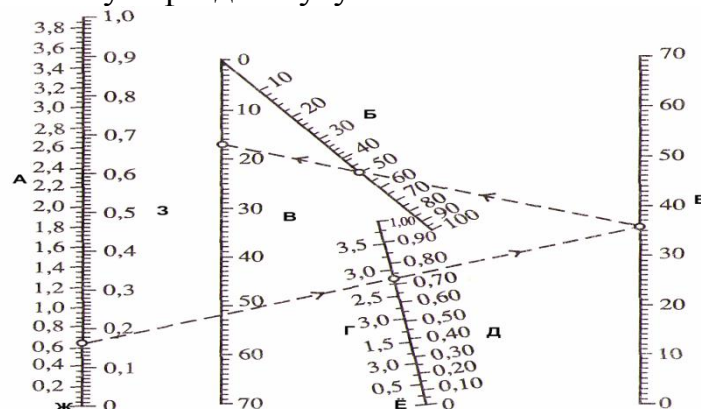
C_2 -мақсадли бўлган тўйиниш даражаси;

X -тўйиниш (C_2) учун зарур бўлган аммоний сульфат миқдори.

Сульфат аммонийни керакли миқдорини 77-чизмада изоҳланган номограмма орқали ҳам топиш мумкин. Мана шу номограммдан ўзи аммоний сульфатни эритмадаги моляр концентрациясини аниқлаш учун ҳам фойдаланиш мумкин. Агар оксилни чўктириш аммоний сульфатни тўйинган эритмаси ёрдамида бажарилса, унинг 100мл фермент эритмасига қўшиладиган ҳажми (V) қуйидаги тенглама асосида топилади:

$$V = \frac{100 \cdot (C_2 - C_1)}{1 - C_2}$$

Бу ерда, C_1 -дастлабки, C_2 -керакли бўлган тўйиниш даражаси. C_1 ва C_2 -ўндан бир қисм деб изоҳланади. Аммоний сульфат билан тўйинтирилгандан кейин олинган алоҳида фракцияларни ферментатив фаоллиги фақат чўкма тушиб, фракция ажратиб олиниб, жуда ҳам кам миқдордаги буферда эритилиб олингандан кейингина аниқланади. Аниқ натижалар олиш учун чўкмадан эритилиб олинган ферментни сефадексдан ўтказилиб, аммоний сульфатдан бутунлай тозалаб олиш тавсия этилади.



А- моль/литрда; Б- дастлабки концентрация, мл; В-қўйилиш керак бўлган миқдор, Г- моль/литрда; Д- тўйиниш даражаси; Ж- дастлабки концентрация; З- тўйиниш даражаси; Е-100мл эритмага қўшиладиган миқдор, г; Ё-талаб этиладиган концентрация.

77-чизма. Оксил эритмасини тўйинтириш учун керак бўладиган аммоний сульфат миқдорини аниқлаш номограммаси.

Тажриба охирида, амалиёт учун тавсия таклиф қилинади, чунки 25% гача тўйинтирилганда (ёки 0,25) кичик бўлакчалар ҳамда жуда ҳам юқори молекуляр оғирликка эга бўлган оксиллар ва уларни агрегатлари чўкмага тушади. 50-жадвалда аммоний сульфат билан чўктиришни баъзи-бир натижалари келтирилган.

50-жадвал

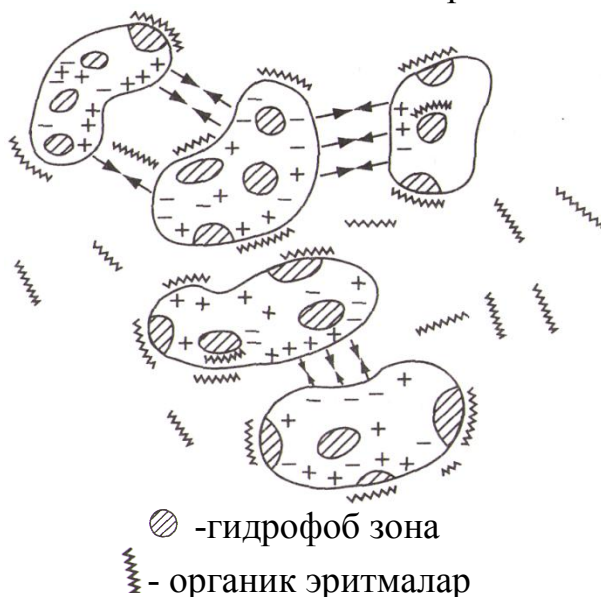
Аммоний сульфат ёрдамида оксилни босқичма-босқич фракцияларга ажратиш.

Тажриба номери	Тўйиниш даражаси, %	Чўккан ферментни миқдори, %	Чўккан оксил миқдори, %	Тозалик даражаси*
Биринчи тажриба	0-40	4	25	
	40-60	62	22	2,8
	60-80	32	32	1,0
	80 (чўкма устидаги суюқлик)	2	21	
Хулоса: 40-60% тўйинишда чўктирилганда, 60-80% тўйинишга нисбатан кўпроқ фермент чўкмага тушади. Демак, 45-70% орасини текшириб кўриш керак.				
Иккинчи тажриба	0-45	6	32	
	45-70	90	38	2,4
	70 (чўкма устидаги суюқлик)	4	30	
Хулоса: 1-тажрибага нисбатан ферментини чўкиш миқдори кўпроқ бўлсада, уни тозалик даражаси пастроқ; агар препаратни тозалиги катта аҳамиятга эга бўлса, 48-65% оралиғини текшириб кўриш керак.				
Учинчи тажриба	0-48	10	35	
	48-65	75	25	3,0
	65 (чўкма устидаги суюқлик)	15	40	

*фракцияни солиштирма фаоллигини дастлабки нусхасини солиштирма фаоллигига нисбати.

2. Оксилларни органик эритувчилар билан чўктириш. Оксилларни чўктиришни бу методи кўплаб катта ҳажмдаги жараёнларни асосида ётади. Самарали таъсир кўрсатиш учун органик эритувчи сув билан яхши аралашishi, яъни гидрофил табиатли бўлиши керак. Органик эритувчини асосий самараси-оксилни ўраб турган сувни сольватирлаш хусусиятини пасайтиришга асосланган. Буни эритувчини диэлектрик доимийлигини пасайтириш билан тушунтириш мумкин. Оксил молекуласи юзасидаги гидрофоб участкаларда тартибли жойлашиб олган сув молекулалари, органик эритувчини молекулалари билан алмашишлари мумкин, бу эса мана шу участкаларини нисбатан юқориноқ “эрувчанликка” олиб келади. Кучли гидрофоб табиатли оксиллар 100% ли органик эритувчида ҳам эриш хусусиятига эга. Оксилни изоэлектрик нуқтасига яқинроқ шароитда, уларни чўкиши органик эритувчини камроқ концентрациясида содир

бўлиши кузатилган. 78-чизмада оксил молекулаларини сув билан органик эритувчи аралашмасидаги ҳолати схемаси келтирилган.



78-чизма. Сув билан органик эритувчи аралашмасида оксилни агрегацияси.

Бунда, агрегация оксиллар юзаларидаги қарама-қарши зарядланган участкалар орасидаги ўзаро таъсир натижасида содир бўлади. Органик эритувчилар билан чўкишга таъсир кўрсатадиган омиллардан энг муҳими оксил молекуласини катта ёки кичиклигидир. Оксилни молекуляр оғирлиги қанчалик катта бўлса, уни чўктириш учун шунчалик кам органик эритувчи сарфланади.

Технологик жараёни амалга ошириш учун органик эритувчини танлаш энг муҳим вазифалардан бири ҳисобланади. Эритувчи сув билан яхши аралашishi, оксилга таъсир этмаслиги ва яхши чўктириш хусусиятига эга бўлиши керак. Амалиётда бир неча эритувчидан кенг фойдаланилади. Булар метанол, этанол, изопропанол ва ацетон. Юқори занжирли спиртлар, паст занжирлиларга қараганда оксилларни кўпроқ денатурация қилиш хусусиятига эгалар. Спиртлар орасида этанол оксилларни эрувчанлигига кам таъсир қилувчи, шу туфайли денатурацияни энг кам микдорга тушириш хусусиятига эга бўлганлиги учун ҳам амалиётда кенг қўлланилади. Ундан кейин ацетон ва изопропанол туради.

Фракцияларга ажратилиши лозим бўлган оксил препарати 0°C гача совутилади. Оксил концентрацияси 1мл га 5дан 30мг гача бўлиши яхши натижа беради. Керакли микдорда органик эритувчи қўшилгандан кейин, аралаштириш жараёнини яна 10 мин давом эттириш, чўкмани центрифуга ёрдамида ажратиб олиб, тезда тегишли буферда эритиб олиш тавсия этилади.

3. Изоэлектрик чўктириш. Бу усул оксилни изоэлектрик нуқтасида эрувчанлигини пасайишига асосланган. Маълумки, изоэлектрик нуқта оксил молекуласини зарядларини йиғиндиси нолга тенг бўлган шароитдаги

pH кўрсаткичига тўғри келади. Бу нуқтада оксилни гидратация даражаси энг кичик, бу эса оксил-оксил орасидаги ўзаро таъсирни кучайтиради ва оқибатда оксилни чўкишга олиб келади. Бу усулдан фойдаланишдаги асосий қийинчилик, оксилни фақатгина қисқа диапазондаги pH кўрсаткичида мўътадиллиги билан боғлиқ. pH кўрсаткичи экстремал бўлганда оксил тез денатурацияга учрайди. Бу усулни самарадорлиги унчалик катта бўлмаганлиги учун амалиётда кам қўлланилади.

4. Ионсиз полимерлар билан чўктириш. Оксилни чўктириш учун ишлатиладиган энг кўп тарқалган юқори молекулали полимерлардан бири полиэтиленгликол ҳисобланади.

Бу усулни бошқалардан устиворлиги, чўктириш жараёнини хона ҳароратида ўтказиш мумкинлиги, чунки полимерлар оксиллар билан жуда ҳам суст ўзаро алоқага киришадилар. Кўпчилик оксилларни чўктириш учун нисбатан унчалик катта бўлмаган полимер концентрацияси (5-15% оғирлик/ҳажм). Бундан кўпроқ концентрация ёпишқоқ бўлиб, жараённи олиб боришда қийинчиликлар туғдиради, масалан ультрафилтрацияда ишлатиладиган мембраналарни тешикчалари битиб қолиши мумкин.

Тузлар ёрдамида чўктириш, ион-алмашинув, аффин хроматографиялари, гель-филтрация учун полимерларни паст концентрацияси ҳалақит қилмайдилар. Одатда оксилларни чўктириш учун полиэтиленгликолни икки хили-6 ва 20 кДа тенг молекуляр оғирликка эга бўлганлари ишлатилади.

5. Полиэлектролитлар билан чўктириш. Полиэлектролитлар, (полиакрилкислота, нордон полисахаридлар, полифосфатлар) оксил тозалашда ишлатилади. Бу усулни асосий устиворлиги уларни жуда ҳам кам миқдорда ишлатилишидир. Одатда оксилларни чўктириш учун 0,05-0,1% полиэлектролитлар кифоя бўлиб, бунда яхши кўринишга эга бўлган, тез чўкмага тушадиган оксил тўпланади. Усулни асосий салбий томони полиэлектролитларни нархини баландлиги. Аммо, уларни регенерация даражаси 90% гача етишини ҳам эътиборга олиш зарур.

21.9.2.Оксилларни фракцияларга ажратиш усуллари.

Оксилларни тозалаш ёки алоҳида фракцияларга ажратиш учун ҳар хил усуллардан фойдаланилади. Жумладан, ион алмашинув хроматографияси ёки ҳар хил зарядларга эга бўлган компонентларни бир-бирларидан ажратиш усулидир. Ионалмашинувчи сорбентлар манфий ёки мусбат зарядга эга бўлиши мумкин. Агар ион алмашинув мусбат зарядланган бўлса, унга манфий зарядланган оксиллар адсорбция бўлади. Десорбция жараёнида нусхани манфий зарядланган компонентлари тузли градиентларни манфий зарядлари билан алмашадилар. Бу эса тажриба давомида секин кўтарилиб бораётган ион кучидир. Градиентли элюция натижасида нусханинг ҳар бир компоненти, маълум ион кучида

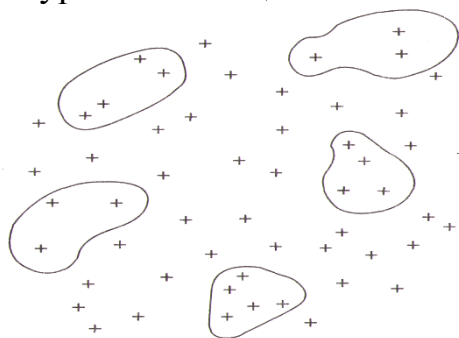
десорбцияга учрайди ва ион алмашинуви сақлаган колонкадан тўхтовсиз ювилиб туради.

Оқсилларни ажратишда сорбция усулидан кенг фойдаланилади. Кўпроқ ўзига хос бўлган сорбентлар ишлатилади. Бу сорбентлар моҳияти бўйича ион алмашинувчи сорбентларга ўхшайди.

Кичик молекулали бирикмалар учун ишлаб чиқилган хроматографиянинг назарий томонлари оқсилларни ўзаро таъсири ва уларни адсорбентлар билан қўшилгандаги ўзини тутишларини тушунтириш учун ҳар доим ҳам тўғри келавермайди. Юқори молекулали полимерларни бир-бирларидан ажратишини ўзига хос бўлган томонларидан, сорбент асосини самараси, ва оқсил адсорбентни ҳар хил участкаси билан боғланганда ҳар хил куч билан боғланишини эътиборга олиш зарур. Оқсил адсорбентларига қўйилган талаб, кичик молекулали бирикмаларни адсорбентларига қўйилган талабдан биров фарқ қилади. Оқсил учун тайёрланган адсорбент ғовак структурага эга бўлиши керак. Чунки, оқсил адсорбентни ичига кириб, уни боғлаш марказига етиб бориши керак. Мустаҳкамроқ структурага эга бўлган адсорбент унчалик кўп бўлмаган оқсил билан боғланиш марказига эга бўлади, чунки оқсил фақат адсорбент юзасида жойлашган боғланиш марказлари билан боғланади холос. Бундай ҳолатда адсорбентни ҳажми жуда кам бўлади.

Оқсилларни хроматографиясида муваффақият билан ишлаган дастлабки сорбентлар целлюлоза асосида тайёрланган. Энг аввал (функционал гуруҳ боғланмасдан олдин) целлюлоза кукунига ғовак структура ҳосил қилиш мақсадида, махсус методикалар асосида ишлов берилади.

Ташувчи молекуласида оқсил учун ҳар хил конфигурациясига эга бўлган кўплаб марказлар бўлади. Маълумки, оқсилни ўзи ҳам олигомер структурага эга бўлиш ва шунинг учун ҳам ташувчини ҳар хил жойидан боғланиши мумкин. 79-чизмада оқсил молекуласини сорбент билан боғланиши мумкин бўлган кўриниши изоҳланган:



79-чизма: Ион алмашинувчидаги адсорбцион марказларни полидисперслигини кўриниши.

Оқсил молекуласи адсорбентни уч, тўрт, ва беш мусбат зарядга (+) эга бўлган жойлари билан боғланиши мумкинлиги кўрсатилган. Зарядланган гуруҳлар тартибсиз жойлашган ёки адсорбентни бир хил бўлмаганлиги сабабли гетеродисперс ҳолатда бўлинган.

Оқсил икки, уч, тўрт ва ундан ҳам кўпроқ марказлар орқали боғланиши мумкин, бу эса ўзаро таъсир кучини полидисперс бўлишига олиб келади. Юқоридаги чизмада “+” белгиси ион алмашинувни изохлайди.

21.9.3. Ион алмашинувчи сорбентлар.

Оқсилларни хроматографик ажратиш учун специфик ион алмашинуви сорбентлардан фойдаланилади. Бундай сорбентлар нейтрал, сувда эримайдиган матрицалар бўлиб мусбат ёки манфий зарядларга эга бўлади. Шунга қараб, анион алмашинувчилар ва катион алмашинувчиларга бўлинади. Оқсиллар ион алмашинувчилар билан оқсил молекуласини зарядланган гуруҳи ва ион алмашинувчини қарама-қарши заряди билан кўплаб ионли боғлар ҳосил қилиш йўли орқали боғланадилар. Ўзаро таъсир даражаси ҳар хил факторларга, жумладан оқсил молекуласининг зарядлар йиғиндисига ҳам боғлиқ бўлади.

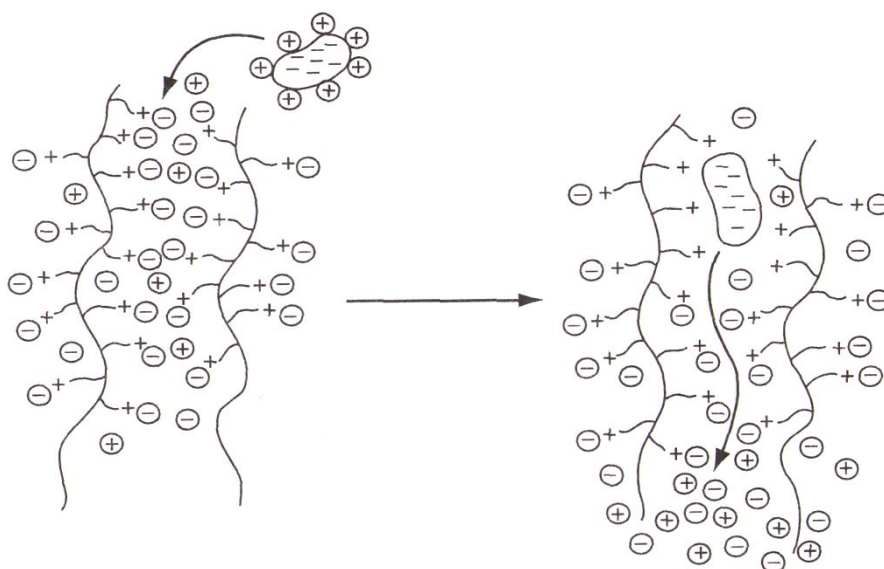
Оқсилни молекуласини катта ёки кичиклиги хроматографик пикни кенглигига таъсир кўрсатади. Бир неча суббирликлардан иборат бўлган, молекуляр оғирлиги катта бўлган оқсил молекулалари адсорбентни бир неча марказлари билан боғланишлари мумкин бўлганлиги сабабли, ўзаро таъсир кучи ҳам ҳар хил бўлиши мумкин.

Колонкага қуюлган оқсиллар аралашмаси ион алмашинувчилар билан қисқа қатлам кўринишида, колонкани тепа қисмига “ўтириб” олади. Тегишли элюция қилувчи эритмани колонкадан ўтказиш оқибатида оқсил фракциялари бир-бирларидан ажраладилар. Ажралиш, бўлиниш коэффициенти катталигига тегишли равишда, яъни ион алмашинувчи билан оқсил орасидаги ўзаро таъсир даражасига қараб амалга ошади.

Оқсил қарши ионни сиқиб чиқариб матрицага боғланиб олади. Одатда, оқсилдаги зарядлар йиғиндиси, сиқиб чиқарилган қарши ионларникига тенг бўлади. Шунинг учун ҳам бу жараён “ион алмашинув” деб номланган. Эритмада оқсил молекулалари ҳам қарама-қарши ион зарядлари билан нейтраллашади. Оқибатда, адсорбентни шу жойи электронейтрал ҳолатга айланади.

Бу 80-чизмада яхши кўрсатилган бўлиб, унда манфий зарядланган оқсил трис- HCl буфери билан тенглаштирилгани изохланган. Шундай қилиб, оқсил билан H-трис^+ ионлари боғланади. ДЭАЭ-целлюлоза шу буфер билан тенглаштирилган ва ўзида қарши ион Cl^- сақлайди.

Оқсил кейин хлорид ионини алмаштиради ва адсорбентда боғланиш марказини эгаллайди ва оқибатда трис- Cl ҳосил бўлади.



80-чизма. Манфий зарядланган оксилни ион алмашувчига сорбция бўлишида кечадиган “ион алмашув” чизмаси.

Оқсил молекуласи билан ассоциация қилинган етти мусбат зарядланган ионлар (масалан, H-трис^+) ион алмашувчидан етти манфий ионлар (Cl^-) томонидан сиқиб чиқарилмоқда.

Оқсилларни ажратишга мўлжалланган кўплаб ион алмаштирувчи сорбентларни ишлаб-чиқаришни саноат усули йўлга қўйилган. Юқорида эслатиб ўтилганидек, улар орасида кенгроқ тарқалганлари целлюлоза, декстран ёки агароза асосида тайёрланган сорбентлар ҳисобланади. бундан ташқари илмий лабораторияларда, муайян ферментни тозалашга мўлжалланган махсус сорбентлар ҳам синтез қилинади.

Сефадекс ёки биогел асосида тайёрланган ион алмашувчиларни ҳажми pH кўрсаткичи ва муҳитда тузни концентрацияси ўзгаришига қараб ўзгаради. Целлюлозали ион алмаштирувчилар эса бунга нисбатан мўътадилроқ.

51-жадвалда оқсилларни тозалашда кўпроқ ишлатиладиган ион алмашувчиларни тавсифи келтирилган.

Оқсилларни хроматографиясида кенг ишлатиладиган
ион алмашувчи адсорбентлар.

Адсорбент номи	Функционал гуруҳ
Декстран асосидаги анионитлар	
ДЕАЕ-сефадекс	Диэтиламинэтил $C_2H_4N^+H(C_2H_5)_2-CH_2N^+(CH_3)_3$
QAE- сефадекс	Диэтил (2-гидроксипропил) аминоэтил)
Агарозалар асосидаги анионитлар	
ДЕАЕ-сефароза	Диэтиламиноэтил
Q-сефароза	Диэтиламиноэтил
Целлюлозалар асосидаги анионитлар	
ДЕАЕ-сефацел	Диэтиламиноэтил
ДЕАЕ-целлюлоза	Диэтиламиноэтил
ЕСТЕОЛА-целлюлоза	Эпихлоргидрин триэтаноламин
QAE-целлюлоза	Диэтил (2-гидроксипропил) аминоэтил
TEAE-целлюлоза	Триэтиламиноэтил $C_2H_4N^+H(C_2H_5)_3$
Декстранлар асосидаги катионитлар	
CM- сефадекс	Карбоксилэтил CH_2COO^-
SP- сефадекс	Сульфопропил
Агарозалар асосидаги катионитлар	
CM- сефароза	Карбоксилэтил
SP- сефароза	Сульфопропил
Целлюлозалар асосидаги анионитлар	
CM- целлюлоза фосфоцеллюлоза	Карбоксилэтил PO_3H
CE- целлюлоза	Сульфопропил

Жадвалда кўрсатилганларидан ташқари, катионитлар-сульфометилцеллюлоза (SM-Ц) ва сульфопропилсефадекс (SP*С), анионитлар- 2-оксипропиламиносефадекс (АЕ-сефадекс) ва бошқалар ҳам амалиётда ишлатилиб келинади. Ион алмашувчиларни кучли ва кучсизга бўлинади. Кучли анионитларга гуанидиноэтил ва QAE-сефадекс, кучсизларга эса ДЕАЕ-сефадеклар киради. Кучли катионитларга SP-сефадекс, кучсизларга КМ-целлюлоза ва КМ-сефадекс киради. Ион алмашувчи адсорбентларни ва оқсилларни бир-бирларига ионлиги (мослиги) ва уларни ҳажми муҳитдаги туз миқдори ва pH кўрсаткичи билан белгиланади. Шунинг билан бирга сорбентни ҳажми нафақат ион алмашувчидаги зарядланган гуруҳларни миқдори билан, балки уларни матрица юзасида жойлашишига ҳам боғлиқ бўлади. Ион алмашувчини

ҳажми, одатда тайёрланган фирма томонидан унинг этикеткасига ёзиб қўйилади.

Оқсиллар икки полярли ионлар сақлаганлари учун, улар маълум рН-кўрсаткичида катион алмашувчилар билан ҳам анион алмашувчилар билан ҳам боғланишлари мумкин. Аммо, кўпчилик оқсилларни мўътадиллик зонаси рН 5,0-8,0 оралиғида бўлади. Шунинг учун ҳам нордон оқсилларни (изоэлектрик нуқтаси $pI < 5$) анионитларда, ишқорий оқсилларни ($pI > 8$) катионитларда тозалаш яхши натижалар беради.

Айтилганлардан изоэлектрик нуқта ион алмашувчи ташлашда катта аҳамиятга эга эканлиги кўриниб турибди.

Оқсилларни изоэлектрик нуқтаси, уларни структурасидаги ионизация бўлувчи аминокислоталарни сони билан боғлиқ. Аргинин, лизин ва гистидин мусбат заряд ташувчи аминокислоталарга кирадилар. Шунингдек, барча N-охирда жойлашган аминокислоталар ҳам рН 8,0 дан паст бўлганда мусбат зарядли бўлишади. Агар хроматографияни унчалик юқори бўлмаган рН да ўтказилса, масалан рН 8,5 дан юқорироқ бўлса, аргинин ва лизинни ҳамма қолдиқлари мусбат зарядланган дейиш мумкин. Манфий зарядни асосан аспарагин ва глутамин кислоталари ташийдилар ва рН 6 дан юқори бўлганда, С-охирдаги карбоксил гуруҳлар ҳам ионлашадилар. рН кўрсаткичи юқори бўлганда (>8) цистеин ҳам ионизацияланади.

рН кўрсаткичи меъёрида бўлганда, ферментларни мўътадиллиги сақланади (рН 5,5-9,0). Умумий заряд йиғиндисидagi фарқ асосан гистидин қолдиғи ҳисобидан содир бўлади, чунки гистидинни рН 6-7 оралиғида ётади. Демак, кам гистидин сақловчи оқсил анча кенг кўрсаткичдаги рН ўзини бир хил тутати. Бундай ҳолатда рН кўрсаткичи ҳал қилувчи рол ўйнамайди. Фермент қисқа рН кўрсаткичида мўътадил бўлса, агар уни изоэлектрик нуқтаси мўътадиллиги чегарасидан ташқаридан бўлса, қуйида келтирилган 52-жадвалда кўрсатилганидек, фақат бир типдаги ион алмашувчидан фойдаланиш мумкин бўлади.

52-жадвал

Изоэлектрик нуқтаси аниқ бўлган осилни тозалаш учун ионалмашгич танлаш (оқсил рН 5,5-8,5 оралиғида мўътадил деб тахмин қилинган)

Изоэлектрик нуқта	Ион алмашинув	Буфернинг рН
8,5	Катион	$\leq 7,0$
7,0	Катион	$\leq 6,0$
	Анион	$\geq 8,0$
5,5	Анион	$\geq 6,5$

Ион алмашувчи адсорбентлар ишлатиб хроматография қилиш усули, препаратив энзимологияда кенг қўлланилади, чунки у нисбатан юмшоқ шароитлар рН, ион кучида ишлашга имкон беради ва юқори самарадор усуллардан биридир.

21.9.4. Аффин хроматография.

Аффин хроматографияга адсорбцион хроматографиянинг алоҳида бир хили сифатида қараш мумкин. Оддий адсорбциядан фарқли ўлароқ, аффин хроматографияда адсорбцияда матрицага уланган молекула билан, мураккаб аралашмадан ажратиб олиниши мўлжалланган малекулани комплементар (ўхшаш, бир-бирига мос келадиган) қисми орасидаги биоспецифик ўзаро таъсири асосида содир бўлади. Кейинги босқич-комплементар боғланган молекулаларни ҳаракатчан фаза ёрдамида элюция қилиш (ювиб туриш)дан иборат. Биоспецифик боғланиш юқори даражада танлаш асосида содир бўлади. Масалан, ферментлар ва уларни субстратлари, ферментлар ва уларни ингибиторлари, антигенлар ва уларга специфик бўлган антителалар ва ҳ.к. Юқорида келтирилган компонентларни ҳар қайсисини лиганд сифатида матрицага боғлаш мумкин. Матрицага боғланган компонент ёрдамида мана шулар биоспецифик жуфтликни иккинчи ярми аралашмадан ажратиб олиниши мумкин. Баъзида бу бир эмас, балки бир неча бир-бирига тузилиши ёки фаолияти билан яқин бўлган ўша лигандни топадиган моддалар ҳам бўлиши мумкин. Масалан, изоферментлар ёки бир хил коферментлардан фойдаланадиган бир неча ферментлар ва ҳ.к.

Аффин хроматографиянинг энг устивор томони, уни танлаши бўлиб, бу усул ёрдамида жуда ҳам кам миқдорида бўлган моддаларни ҳам ажратиб олиш мумкин. Бир босқичда биологик фаол моддани бир неча минг мартаба тозалаб олиш имконияти яратилади. Матрица билан лиганд орқали моддани боғланиш усули мустаҳкам бўлишига қарамасдан, бошқа хил хроматографияга нисбатан жуда ҳам юмшоқ. Бу эса оксилларни фракцияларга ажратишда жуда ҳам муҳим ҳисобланади.

Маълумки, оксилларни ва нуклеин кислоталарни тозалашда уларни парчаловчи гидролитик ферментлар-протеазалар ва нуклеазалар ҳалақит қиладилар. Аффин хроматография ишлатилганда, бу ферментлар тозаланиш жараёнини бошида ўзларини субстратларидан ажратиб олинади. Бу усулни устивор томонларидан яна бири ҳар хил хроматографик жараёнларга хос бўлган стерик чегараланиш билан боғлиқ. Аффин хроматографияда лиганд сифатида биополимерлар ишлатилиши ва унинг биоспецифик ўзаро таъсири участкаси матрицада боғланган жойдан анча узоқроқ бўлганлиги, ҳар хил стерик қарама-қаршиликлар содир бўлишига йўл қўймайди. Аммо лиганд сифатида кичик молекулалик субстрат, масалан, кофактор ишлатилса, уларни матрицага жойлашганлиги, матрица юзасида имобиллашган сув молекуласини қопламани ҳисобга олганда, лиганд билан ўзаро таъсирга кирувчи оксилни тўғри мўлжал олишига стерик таъсир кўрсатиши мумкин. Оқибатда моддани аффин яқинлик даражаси пасаяди, баъзида эса нолга яқинлашиб қолади. Бундай ҳолатларда биологик фаол лиганд матрицадан узоқлаштирилиши лозим. Бу жараён матрица билан лиганд орасида нозик

“оёқчалар”, масалан, бир неча метилен қолдиқдан иборат бўлган тўғри занжир ёки бошқа мос келадиган структуралар киритиш орқали амалга оширилади. Бундай структурани “спейсер”лар дейилади.

Биоспецифик ўзаро таъсир, оддий физик-кимёвий жараёнлар ҳисобидан амалга ошади: ҳар хил зарядланган гуруҳларни электростатик тортилиши, водород Вандер-вальс кучлар, гидрофоб ўзаро таъсир ва ҳ.к. Биоспецификлик, боғланувчи участкаларни конформацион мослиги билан белгиланади, бу эса бир вақтни ўзида бир неча нуқталарда содир бўладиган ўзаро таъсирни йиғилишига олиб келади. Биоспецифик ўзаро таъсирни пасайишини одатдаги усуллар орқали амалга ошириш мумкин: рН кўрсаткичини ўзгартириш, ион кучини кўпайтириш, ҳароратни ошириш, элюент таркибига органик эритувчилар детергентлар ва хаоброп агентлар аралаштириб, ва ҳ.к.

Аффин сорбентларни яратиш, осон кўрингани билан, матрица танлашда, лигандни матрицага боғлашда, спейсерлар танлашда ва ҳ.к. бир қатор муаммолар бор. Бундай муаммоларни анчасини аффин сорбентлар ишлаб чиқарадиган ферментлар томонидан ҳал қилинган.

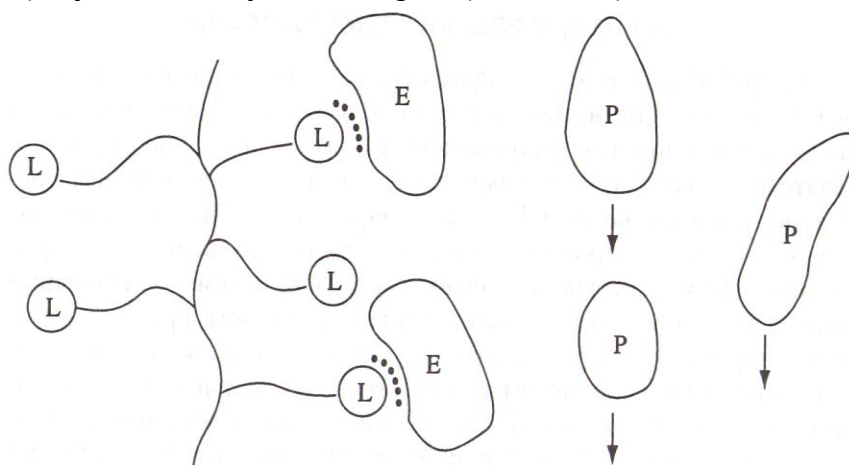
- Аффин хроматография тизими яхши ишлаши учун қуйидагиларга эътибор бериш лозим:

- Лиганд матрицага шундай боғланиши керакки, кейин уни оксил билан боғланишига ҳеч қандай тўсқинлик бўлмаслиги керак;

- Матрица ва лиганд орасидаги кучайтирувчи кўприкча, спайсер оксилни лигандга боғланишини енгиллаштириш керак;

- Носпецифик ўзаро таъсир унчалик кучли бўлмаслиги лозим. Керакли оксилдан ташқари оксиллар адсорбент билан боғланмасликлари лозим.

- Хроматография ўтказиш жараёнида лиганд билан матрица орасидаги боғ (шу жумладан, адсорбентни қайта ишлатиш олдидан тозалаш жараёнида ҳам) мустаҳкам бўлиши керак (81-чизма).



81-чизма. Аффин адсорбцион хроматографиянинг асосий принципи.

Лиганд L ташувчи занжирга ковалент боғланган. Адсорбент фақат L га специфик бўлган фермент (E) молекуласини ўзига боғлаб олади. "P"-оксиллар адсорбент билан боғланмасда, колонкадан тўғри ўтиб кетаверадилар.

Хроматография жараёнида ишлатиладиган матрица қуйидаги сифатга эга бўлиши керак: сувда эримайдиган, гидрофил, мустаҳкам, гранулалари керакли шаклга ва ўлчамга эга бўлиши, кимёвий мўътадил, носпецифик адсорбентлик хусусияти бўлмаслиги керак. Юқорида келтирилганлардан ташқари матрица ўзини лигандлар ва спейсерлар билан ковалент боғлайдиган кимёвий гуруҳга эга бўлиши керак. Мана шуларни ҳисобга олган ҳолда полисахарид табиатли матрицалар-агарозалар ва сефадексларни гидроксил гуруҳлари, шунингдек, полиакриламид гелининг амид гуруҳлари энг қулай гуруҳлар ҳисобланади. Агар оксилларни лигандлар сифатида ишлатилганда, юқорида келтирилганлардан ташқари, матрица катта ғовакли бўлишини ҳам қўшиб қўймоқ керак. Шундай геллар сирасига агарозалар (сефазозалар), “Ultrogel Ac A” типидagi аралашган (2-4% полиакриламид гели агароза билан мустаҳкамлаштирилган) геллар кирадилар. Матрица сифатида целлюлоза агарозага нисбатан анчагина пастроқ туради, бунга асосий сабаб, целлюлозани носпецифик сорбция қилиш даражасининг баландлигидир.

Одатда, изланувчилар ва технологлар фирмаларда тайёрланган, ҳар томонларда яхши ўрганилган сорбентлар билан ишлайдилар.

Юқори спецификликка эга бўлган ҳамда бир гуруҳ спецификликка эга бўлган аффин сорбентлар бор. Иккинчи гуруҳга мансуб бўлган сорбентлар баъзи ҳолатларда индивидуал спецификликка эга бўлган сорбентлардан кам эмас, балки баъзи ҳолатлардан улардан кўра устиворроқ ҳам бўладилар. Масалан, агар ажратиб олмақчи бўлган модда, сорбентга специфик бўлган гуруҳ моддаларни биргина вакили бўлган аралашмадан ажратилиши лозим бўлганда, гуруҳ спецификликка эга бўлган сорбент индивидуал сорбентдан ҳеч ҳам кам бўлмайди.

Гуруҳ спецификликка эга бўлган аффин сорбент лигандга мос бўлган бир гуруҳ моддаларни бир-биридан ажратиш лозим бўлган ҳолларда, устиворликка эга бўлади. Лиганд билан моддаларни орасидаги мойиллик бир хил бўлмаган ҳолларда, улар ҳар бири учун специфик бўлган, рақобатли эльлюентлар танлаш орқали моддаларни навбатма-навбат ювиш орқали бир-биридан ажратилади.

Бундай ҳолларда индивидуал спецификликка эга бўлган сорбентларда яхши натижа бера олмайдилар.

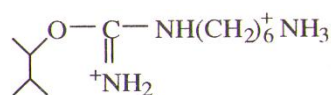
21.9.5. Гидрофоб хроматография.

Гидрофоб хроматография, сорбентни алифатик занжири билан оксил молекуласи юзасидаги гидрофоб участкалар орасидаги ўзаро таъсир натижасида боғланишига асосланган. Шунинг учун ҳам, гидрофоб боғланиш, носпецифик аффин боғланишга ўхшаб кетади.

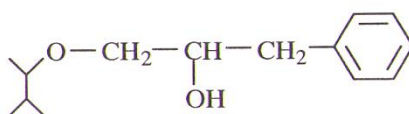
Гидрофоб боғланиш тузни концентрациясини ошиши билан кучайиб боради. Тузлашда юқори фаоллик кўрсатадиган тузлар масалан, аммоний сульфат, гидрофоб боғланишни кучайтириш хусусиятига эга бўлади. Бу эса,

ҳар иккала жараён асосида ҳам бир хил механизм ётганлиги билан тушунтирилади. Тузланиш жараёнида оксилни агрегацияга учрашини асосий сабаби, оксил молекулалари орасидаги гидрофоб ўзаро таъсирни кучайиши ҳисобланади. Демак, тузни концентрацияси ошганда, кўп сонли оксиллар, инерт матрицага боғланган гидрофоб гуруҳларга адсорбция бўлишлари мумкин.

Гидрофоб сорбентларни кўп ишлатиладиганларига мисол қилиб, аминогексил –сефароза ва фенилсефарозаларни кўрсатиш мумкин.



Аминогексил-сефароза

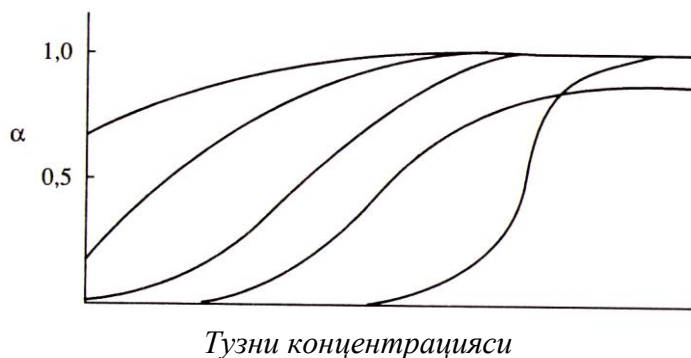


Фенилсефароза

Фенилсафароза кўпроқ аффин лигандларни боғлашга мўлжалланган бўлсада, аммо, ўзи гидрофоб сорбент ҳисобланади, чунки унинг молекуласида водород боғлари ҳосил қиладиган ва электростатик ўзаро таъсирга кира оладиган гуруҳлар мавжуд. Гидрофоб сорбентлар агарозани бромциан билан фаоллаштириш орқали тайёрланганлиги учун ҳам алифатик занжирни учиди мусбат зарядланган гуруҳ сақлайди.

Сефароза (агароза)дан ташқари матрикс сифатида кўпроқ тойоперл (toyoreare HW-65), дан фойдаланилмоқда. Бу сорбент охирги қолдиқ сифатида бутил ёки фенил гуруҳлари сақлайди ва ўзаро бўлакчаларини катта- кичиклиги билан фарқ қилади.

Хроматографиянинг бошқа усуллари ишламаган ҳолатларда гидрофоб хроматографиядан фойдаланилганда яхши натижага эришиш мумкин. Аммо ҳар доим ҳам фракцияларни аниқ ажратилишига эришиб бўлмайди. Чунки шароит ўзгарганда, α катталиги (моддаларнинг ажралиш коэффицентини ўзгариши) жуда ҳам секин ўзгаради, бу эса алоҳида компонентларни пикларини бир-бирлари билан чалкашиб кетишига олиб келади.



82-чизма. Гипотетик беш оксилдан иборат бўлган аралашмани гидрофоб адсорбентда бўлиниш коэффицентини (α) тузни концентрациясига боғлиқлиги.

Гидрофоб сорбентларни ижобий томони уларни оксилларга нисбатан жуда юқори ҳажмга эгалигидир. Бу кўрсаткич $10-100\text{мг/м}^3$ га тенг бўлади. Сорбция юқори концентрацияли тузда бажариладигани учун, оксил нусхаларини колонкаларга қўйишдан олдин буферни алмаштиришга эҳтиёж бўлмайди. Керакли компонентни адсорбентга боғлаш учун зарур бўлган миқдорда туз қўшишни ўзи кифоя. Тузлар кўпинча стабилизация қилиш хусусиятига эга бўлганлиги учун ҳам, оксил колонкадан жуда яхши миқдорда ювилиб чиқади.

Одатда, жуда кам концентрацияли тузларда адсорбция бўладиган оксиллар ҳам сувда ёмон эрийдилар. Шундай оксилларга глобулинлар, мембранага боғланган оксиллар ва бошқа аммоний сульфатни паст концентрациясида (20-40) чўкадиган оксиллар киради.

Гидрофоб боғни қуйидаги йўллар орқали юмшатиш мумкин:

- а) ҳароратни тушириш орқали;
- б) органик эритувчилар қўшиб;
- в) муҳитга полиолитлар, масалан этиленгликоль қўшиб;
- г) ноион детергентлар ишлатиб;
- д) рН кўрсаткичини пасайтириб.

Шунинг учун ҳам тузни градиент концентрациясини туширувчи эритувчидан кейин, гидрофоб колонкани этиленгликолни кўтариловчи градиент концентрацияси билан ювиш тавсия этилади. Гидрофоб сорбентлар оксилларни тозалашни дастлабки босқичларида ишлатилганда яхшироқ натижа беради.

21.9.6. Гель-фильтрация.

Гель-фильтрация атамаси бир неча синонимларга эга. Уларни орасида кенгроқ тарқалгани-гель-хроматография. Аммо бу атама ўз моҳияти, маъноси билан нотўғри. Чунки, бу жараёнда ишлатиладиган модда гель бўлиши шарт эмас.

Гель бир-бири билан кўндалангига тикилган учламчи молекуляр элак бўлиб, гранула ҳолатига келтирилган модда ҳисобланади. Гранулаларни ичидаги бўшлиқларни ўлчаши ҳар-хил бўлиб, уларга катта молекуляр оғирликка эга бўлган моддалар киролмайдилар, кичик молекулалар эса бўшлиқ ичига кириб олишлади. Бўшлиқлар жуда қисқа бўлиб, гранулани сиртига чиқадиган каналлари бўлмаганлиги сабабли, йирик молекулалар уларга кира олмайдилар. Бу жараёнда ҳаракатсиз фаза бўлиб, гранула ичидаги суюқлик хизмат қилади. Агар ҳар хил ўлчамга эга бўлган молекулаларни буферда эритиб колонкага ташланса, йирик молекулалар ҳаракатчан фаза билан колонка бўйлаб ҳаракат қилади.

Ҳаракатчан фазанинг умумий ҳажми V_t , гранулаларни ичидаги ҳажм V_i билан колонка ичидаги гранулаларни орасидаги ҳажмни V_0 йиғиндисидан иборат. Эритувчини гранулаларни ичида ва ташқарисидаги ҳаракат диффузия қонунлари асосида амалга ошади. Эриган моддани

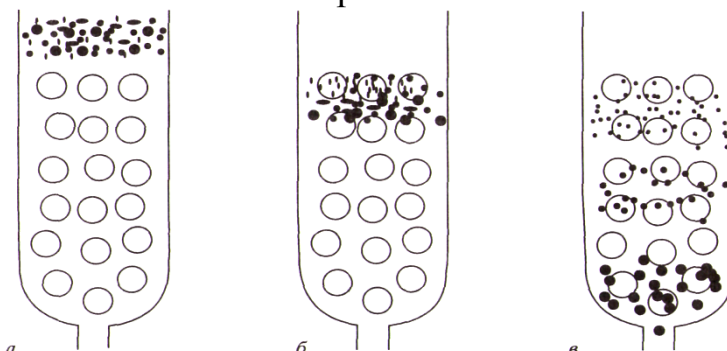
эритувчини ички ва ташқи қисми орасида бўлиши, бўлиниш коэффициентини K_D билан аниқланади:

$$K_D = \frac{V_e - V_0}{V_i} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$

Бу ерда: V_e -моддани ювилиш ҳажми; V_0 -бўш ҳажм (ташувчи гранулалари оралиғидаги суюқликни ҳажми); V_t -ҳаракатчан фазани умумий ҳажми.

Сорбент бўшлиқлари ичига кира олмаган молекулалар, бўшлиқ ичидаги суюқлик билан тенг бўлади ($K_D=0$), ва $V_e=V_0$ ҳажмда ювилиб чиқади. Бўшлиқ ичига кирадиган, катта бўлмаган молекулалар $K_D=1$), колонкадан V_e ҳажмда бирга пик бўлиб ювилиб чиқади. Бу ҳажм $V_t \cdot K_D$ умумий ҳажмга тенг бўлиб, $0 \leq K_D \leq 1$ оралиғида ўзгариши мумкин. Йирик молекулалар колонкадан кичиклардан тезроқ ювилиб чиқади. Идеал ҳолатда ювилишни минимал ҳажми V_0 га тенг, максимал ҳажм эса, $V_0 + V_i$ га тенг бўлади. Тажрибаларда колонкани бўш қисмини топиш учун ундан ташувчини бўшлиқлари ичига кира олмайдиган, катта молекуляр оғирликка эга бўлган моддалардан фойдаланилади. Шу мақсадда кўпроқ ҳаворанг декстрандан фойдаланилади.

Юқорида келтирилган назарий фикрлар 83-чизмада келтирилган ва унда гель сақлаган колонкадан ҳар хил молекуляр оғирликка эга бўлган моддаларни ўтиш механизми акс эттирилган.



83-чизма. Гель-филтрация принципи (айланалар-ғовак матрицани гранулалари; ҳар хил катталиқдаги қора нукталар-моддаларни аралашмаси.

- а- колонкага моддаларни қўйилган даври;
 б- моддаларни бир-биридан ажралишини бошланиши;
 в- йирик молекулаларни колонкадан чиқишини бошланиши;

Гель-филтрация учун матрицаларни тавсифи ва улардан оксилларни фракцияларга ажратишда фойдаланиш. Гель-филтрация учун ҳар хил матрицалар ишлатилади. Шундай матрицалардан энг кенг тарқалгани декстран асосида тайёрланган бўлиб, сефадекс деб аталади. Тижоратда сефадексни бир неча туридан фойдаланилади, улардан энг кичик бўшлиқка эга бўлганлари эса G-10, энг катта бўшлиқка эга бўлганлари G-200, деб номланган. Гранулалар қанча йирик бўлса, уларни ивитиш учун шунчалик кўп сув талаб қилинади. Сефадекс маркировкасидаги рақам, уни қанчалик ғовак эканлигини, яъни 10г курук

гель қанча миқдорда сувни боғлаб олишини кўрсатади. Сефадекс гранулаларини ўлчамига қараб, асосан икки гуруҳга бўлинади: диаметри 40-120 мкм гача бўлган одатдаги гранулалар ва кичик диаметрли гранулалар 20-50мкм. Кичик диаметрли гранулаларни “Superfine” деб аталади. Сефадексларни кўпроқ ишлатиладиган типлари – G-25 ва G-50 уч ўлчамга бўлинган: “Fine”(20-80мкм), “medium” (50-150мкм) ва “coarse” (100-300мкм). Аммо, гранулаларни рухсат этилган ўлчами орасидаги фарқ 50% гача бўлиши мумкин. Сефадексларни тавсифи 53-жадвалда кўрсатилган.

53-жадвал

Сефадексларни тавсифи

Сефадекс типи	Глобуляр оксиллар учун фракцияларга ажралиш доираси, кДа	Гранулаларни солиштирма ҳажми 1г курук сефадексга (мл/г)
G-10	< 0,7	2-3
G-15	<1,5	2,3-3,5
G-25 Coarse	1-5	4-6
G-25 Medium	1-5	4-6
G-25 Fine	1-5	4-6
G-25 Superfine	1-5	4-6
G-50 Coarse	1,5-30	9-11
G-50 Medium	1,5-30	9-11
G-50 Fine	1,5-30	9-11
G-50 Superfine	1,5-30	9-11
G-75	3-80	12-15
G-75 Superfine	3-70	12-15
G-100	4-150	15-20
G-100 Superfine	4-100	15-20
G-150	5-300	20-30
G-150 Superfine	5-150	18-22
G-200	5-600	30-40
G-200 Superfine	5-250	20-25

Бу жадвалда, колонкага жойлаштирилган сефадекс гранулаларини солиштирма ҳажми келтирилган бўлиб, бу кўрсаткичлардан колонкаларни сефадекслар билан тўлдиришда фойдаланса бўлади.

Биотехнология ва оксил кимёси амалиётида кенг ишлатиладиган ташувчилардан бири сефакриллардир.

Сефакриллар-N,N1-метилбисакриламид билан тикилган декстранлардир. Сефадексга нисбатан бу қаттиқроқ бўлиб, шунинг учун сефакрилларда хроматографияни каттароқ тезликда амалга ошириш мумкин. Сефакрилни қаттиқлиги колонкаларни тўлдиришни

осонлаштиради ва уларни буфер эритмалари билан баробарланишини 20-40мг/см² тезликда ўтказиш имкониятини яратади. Сефакрилни кимёвий чидамлилиги, колонкаларни қайта ишлатишга тайёрлашни NaOH 0,2М-ли эритмасида узоқ вақт олиб бориш имкони беради. Тижоратда 6 хил сефакриллар маълум (S-100дан S-1000гача) бўлиб улар бир-бирларидан ғоваклари билан фарқ қилади. Сефакриллар бўктирилган ҳолатда, қуюқ сувли суспензия кўринишида сотилади. Сефадексларни асосий тавсифи 54-жадвалда акс эттирилган.

54-жадвал.

Сефакриллар тавсифи.

Сефакрилларни типлари	Оқсилларни фракцияларга ажратиш чегараси, кДа	
	Глобуляр оқсиллар учун	Декстранлар учун
S-100	1-100	
S-200	5-250	1-80
S-300	10-1500	1-400
S-400	20-8000	10-2000
S-500	-	40-20000
S-1000	-	500-100000

Агароза асосида сефароза деб номланган матрица ҳам ишлаб чиқилган. Бундай гелларни таркибидаги агарозани миқдори, уларни этикеткаларида рақамлар билан кўрсатилган бўлади. (55-жадвал).

55-жадвал

Сефарозаларни тавсифи

Сефарозалар маркаси	Агароза миқдори, %	Глобуляр оқсиллар учун фракцияларга ажратиш чегараси, кДа
6В	6	10-4000
6В cross-linked	6	10-4000
4В	4	60-20000
4В cross-linked	4	60-20000
2В	4	70-40000
2В cross-linked	2	70-40000

Сефарозалар суспензиялар ҳолатида сотувга чиқарилиб, уларни қуриб қолишига йўл қўймаслик керак. Сефароза геллари қаттиқ бўлсада, сефакрилга нисбатан юмшоқроқ. Сефарозанинг гранулалари жуда мўрт бўлиб, қўполроқ аралаштирилганда ҳам майдаланиб кетади. Сефарозадан юқори ҳароратда (40⁰С дан ортиқроқда) фойдаланиш тавсия этилмайди. Уларни кимёвий чидамликлари ҳам паст: детергентлар ва 6М гуанидинхлоридни эритмалари, уларни секин-аста емириб боради. Сефарозалар ишлайдиган рН кўрсаткичларини чегаралари ҳам қисқа (рН 4-9). Тузли буферларда, ҳатто озгина нордонлаштирилганда ҳам уларни

ғоваклари қисқариб, юзаки сорбцияси кучаяди. Юқорида келтирилган сефарозалардан ташқари кимёвий боғланган сефароза ҳам тайёрланган. Агароза гели асосида тайёрланган матрица, дибромпропанол билан тикилган ҳолатда амалиётда ишлатишга тавсия қилинган. Тижорат препаратларда кимёвий боғларни борлиги CL (“cross-linked”) ҳарфлари билан белгилаб қўйилади. Бундай сефарозаларни фракциялаш чегаралари ва уларни оксилларни табиатига бўлган муносабати тегишли маркали сефарозалардан деярли фарқ қилмайди. Кимёвий боғланиш сефарозага қаттиқлик беради. Бундай сефарозаларни ювиш тезлиги сувли эритмаларда 1,5 маротаба, 6М гуанидинхлорид эритмасида гель-фильтрация қилганда эса, деярли 4 маротаба ошади. Модификация қилинган матрицани кимёвий чидамлилиги, айниқса ишқорий буферларда кўринарли даражада ошади. Бундай сефарозани автоклавларда иситиш ҳам мумкин. Сефадекслардан ва оддий сефарозалардан фарқли ўлароқ, модификация қилинган сефарозани ғоваклилиги сувли эритувчилардан органик эритувчиларга ўтказилганда ўзгармайди. Шунини ҳам эслатиб ўтиш лозимки, улар органик эритувчиларни таъсирига чидамли, шу сабабли уларни асосида аффин сорбентлар яратиш, молекулага ҳар хил кимёвий боғлар улаш мумкин.

Тижоратда юқоридагилардан ташқари ультрагеллар ҳам бор. Улар 2 хил А ва АсА серияларда савдога чиқарилади. А2, А4, А6 типидagi ультрагеллар сефароза 2В, 4В, 6В дан жуда ҳам кам фарқ қилади. Ультрагелларни ишчи рН кўрсаткичи агарозага нисбатан бироз кенгрок. Ультрагеллар сувда бўктирилган гранулалар суспензияси кўринишида савдога чиқарилган.

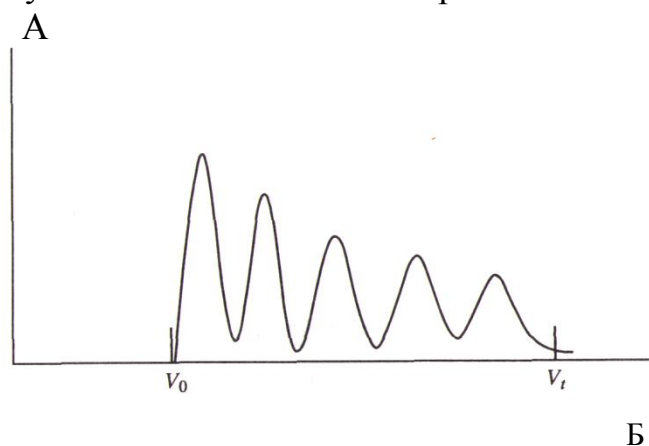
Шунини ҳам эслаб қолиш керакки, юқорида келтирилган материалларни ҳаммаси ҳам тўлиғича инерт эмас. Баъзи-бир буферларда кўпгина оксилларни сорбцияга учрагани ҳам кузатилган. Маълумки, сорбция элюция (ювилиш) тезлигини пасайтиради, шунинг учун ҳам оксил ўзини молекуляр оғирлигини кичикроқдай қилиб кўрсатади. Агар сорбция ион алмашув характерида бўлса, буферни ион кучини кўтаришга тўғри келади. Аммо, гидрофоб боғланиш бўлган ҳолларда буфер эритмаларини ион кучини ўзгариши, баъзи бир хатоликларга олиб келади. Молекулаларида кўндаланг боғлар ҳосил қилувчи алифатик занжирлар сақлаган сефакрилларни сорбция қилиш хусусиятлари, айниқса тузларни концентрацияси юқори, ҳамда рН кўрсаткичи паст бўлган муҳитда кучли намоён бўлади.

Бугунги кунда ҳар хил хусусиятга эга бўлган сорбентларни сони жуда ҳам кўп. Шу сабабли ҳам изланувчи олдида катта танлов туради. Тажрибаларни дастлабки босқичларида кўндаланг тикилган декстранлар ёки агароза гелларидан фойдаланишни тавсия қилинади. Агар оксилни молекуляр оғирлиги 15 кДа дан кам бўлмаса-ю ва 100 кДа дан катта бўлса, икки хил сефакрилдан (S-200 ва S-300), ёки икки-учта ультрагелдан АсА 22-АсА 34 ва Ас 44 дан фойдаланиш яхши натижа беради. Ўйрик оксиллар

учун агароза гелидан, айниқса сефароза 4В ёки С-4В, шунингдек А4 ёки А6 ультрагелларидан фойдаланиш тавсия қилинади.

Таркиби аниқ бўлмаган аралашмани анализ қилиш учун дастлаб, фракциялаш имкониятлари кенг бўлган сорбентлардан фойдаланиш керак. Ундан кейин, қизиқтирган оксил сақловчи фракцияни тўплаб, уни фракциялаш диапазони қисқа бўлган гелларда ажратиш кутилган натижалар бериши мумкин.

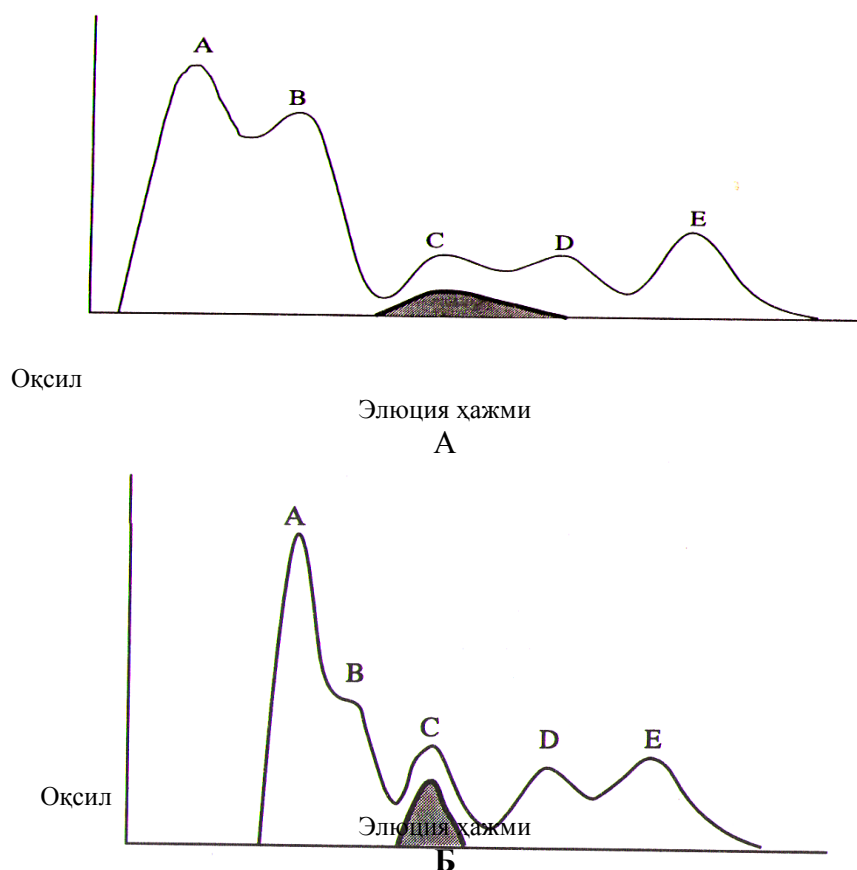
Юқорида келтирилганлар асосида бир неча амалий таклифлар бериш мумкин. Ион алмашув хроматографиясидан фарқли ўлароқ, ишлатиладиган буфер оксилни фракцияларга ажралишига таъсир этмаслиги керак. Бунда, материалларни хили ҳал қилувчи рол ўйнайди. 84-чизмада оксилларни гел-филтрация қилувчи колонкаларда фракцияларга ажралишини энг мукаммал чизмаси акс эттирилган.



84-чизма. Бешта оксилдан иборат бўлан аралашмани гел-филтрация колонкасида ажралиши. Бу оксилларни ҳар бири кейингисидан молекуляр оғирлиги бўйича икки мартабага фарқ қилади. Колонкага ҳар бир оксилдан бир хил миқдорда қўйилган. Кичикроқ молекулаларни кўпроқ диффузияга учраганлиги сабабли пикларни баландлиги пасайиб боради.

А- Оксил концентрацияси, Б- Элюция ҳажми.

Йирик молекулалар сақловчи биринчи фракциялар колонкадан тезроқ ўтадилар, шунинг учун ҳам турбулентлик эффектига камроқ даражада учрайди. Демак, фракциялар қанчалик олдин чиқса, уларни пикини ювиб кетиши шунчалик кам бўлади. Бундан ташқари кичик ўлчамга эга бўлган молекулалар, каттароқ диффузия коэффициентига эга бўладилар, бу эса уларни ювилиб кетишига сабаб бўлади. Агар керакли оксилни молекуласи унчалик катта бўлмаса, уни пики кўпроқ даражада тарқалиб кўринади, бу эса керакли оксилни молекуляр оғирлиги яқинроқ бўлган оксиллар билан аралаштириб юборади. Агар оксил олдинроқ ювилиб чиқса, унинг пики ўткирроқ бўлади, аммо аралашмада юқори молекулалар оксиллар сони кўпроқ бўлса, керакли оксил бошқа ўзига ўхшаган оксиллар билан ифлосланиб кетиши ҳам мумкин. (85-чизма)



85-чизма. Бир оксилни ҳар хил ғоваклик матрицаларда гелъфилтрация усулида ажралиши.

А. Йирик ғовакли материал-фермент кейинроқ ювилиб чиқади ва А ва В оксилларидан яхши ажралади, аммо, Д оксидан яхши аралаша олмайди.

Б. Майда ғовакли материал-фермент колонкани бўш ҳажмида яқинроқ ювилиб чиқади ва В оксиди билан аралашиб кетади; Д оксидан яхши ажралади.

Шундай қилиб, фракциялар оралиғини асосий ифлослантирувчи оксил молекуласини ўлчамини, ҳамда керакли оксилни ўлчамини эътиборга олган ҳолда танлашга тўғри келади.

Энг муҳим таклиф ва маслаҳатлар қуйидагилардан иборат: **биринчидан**, колонкани ўлчами, фракция ҳажмидан 30-100 маротаба каттароқ бўлиши керак; **Иккинчидан** идеал шароитда оксилни дастлабки концентрацияси 10-20 мг/мл ни, энг кўпи 30 мг/мл ташкил этиши керак;

Шундай қилиб, 100 мг оксилни тозалаш учун уни камида 3,5мл буферда, яхшиси 5-6мл да эритиб, 200-250 см³ ҳажмга эга бўлган колонка ишлатиш керак. Колонкани узунлиги, уни диаметридан 20-40 маротаба каттароқ бўлиши тавсия этилади. Мана шулардан келиб чиққан ҳолда юқорида кўрсатилган оксилни тозалаш учун диаметри 2,5 ва узунлиги 50 см бўлган ёки диаметри 1,8 ва узунлиги 100 см бўлган колонкадан фойдаланиш керак. Колонкаларни оптимал ўлчами қуйидаги формула асосида аниқланади:

$$\text{диаметр} = \sqrt[3]{m/10} \text{ см}$$

Бу ерда m-оксил миқдори, мг да; узунлиги эса 30·диаметр.

Оқсилларни ажратишда колонкадан чиқадиган буферни чиқиш тезлиги ҳам катта аҳамиятга эга. Одатда, ҳар бир сорбент учун бу кўрсаткич, шу сорбентни ишлаб чиқарган фирма томонидан таклиф қилинган кўрсатмалар асосида олиб борилади. Масалан, сефадекслар учун элюция тезлиги $30 \text{ мл} \cdot \text{соат}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ бўлиши керак, аммо ультрагеллар учун бу кўрсаткич анча камроқ. Колонкани ўлчамига қараб, ажралиш вақтини аниқлаб чиқиш мумкин.

21.10.ФЕРМЕНТ ПРЕПАРАТЛАРИНИ ИШЛАТИЛИШИ.

Микроорганизмлардан ташқари манбалардан олинадиган ферментлар ҳар хил сабабларга кўра камроқ ишлатилади. Бунга сабаб уларни: чидамлилигини пастлиги; қимматлилиги; ишлаб чиқарилишини фаслга боғлиқлиги ва ҳ.к. Аммо микробли аналоглари бўлмаган ферментлар тижорат учун ҳайвон органларидан ва ўсимлик хужайраларидан ажратилади. Бундай ферментларга мисол қилиб, ҳайвонлардан олинадиган ренин, анжир ширасидан олинадиган фицин, папайи ўсимлигидан олинадиган папаин ва бошқаларни кўрсатиш мумкин. Охирги вақтларда ҳайвон ва ўсимликлардан олинадиган ферментларни саноат шароитида ишлаб чиқариш учун тўқима ёки алоҳида органларни ўстириш усулидан кенгроқ фойдаланилмоқда. Бу усул ўсимликлардан олинадиган ферментларни нархини пасайтириши ва уларни солиштирма улушини оширади деган башоратлар ҳам бор.

Саноатда ишлаб-чиқариладиган ферментлар кўпинча техник препаратлар сифатида ишлатилса ҳам, уларни бир қисми ҳар хил даражада тозаланган ҳолда ишлатилади. Ферментларни тозалаш жараёнида бир неча масалалар ҳал қилинади: заҳарли ва кераксиз бўлган метаболитлар, микроорганизмларни қолдиқлари чиқариб ташланади ҳамда фермент фаоллиги бўйича стандартлаштирилади. Шундай қилиб, препаратни сифати оширилади ва уни муайян шароитда ишлатишга мослаштирилади, ҳамда унга ёқимли ҳид, таъм ва ранг берилади. Микроорганизмларни культурал суюқликларини таркибини хилма-хиллиги, уларни таркибида кўпроқ коллоид моддалар учраганлиги сабабли ёпишқоқ бўлиши ферментларни ишлатишда бир оз бўлсада қийинчилик туғдиради.

2000 йил дунё бозорида техник фермент препаратлари 1млрд долларга яқин ҳажмда сотилган. Ферментлардан фойдаланадиган энг йирик саноат тармоқлари қуйидагилар: крахмални гидролиз қилиш соҳаси – бу соҳа умумий техник ферментларни деярли ярмини ишлатади; техник ферментларни ишлатиш бўйича иккинчи ўринда детергентлар тайёрлаш соҳаси (30% га яқин) ва ниҳоят пишлоқ тайёрлашда техник препаратларни деярли 10% га яқинроқ қисми ишлатилади.

Крахмал гидролизи. Крахмални саноатда қайта ишлашни асосини, уни бижғитишдан пайдо бўладиган шакар моддалар (глюкоза, мальтоза, изомальтоза), қуюлган шакар-шиннилар (глюкоза, фруктоза) ва кичик

молекулали олигосахаридлар-декстринлар ташкил қиладилар. Бу моддалар қатор озиқ-овқат маҳсулотлари ва ичимликлар тайёрлашда ишлатиладилар. Крахмални гидролизини ҳозиргача маълум бўлган усуллардан бири-ферментатив усул қатор устунликларга эга. Крахмални гидролитик парчаланишида қуйидаги ферментлар иштирок этадилар: **α -амилаза**, крахмал молекуласи ичидаги боғларни тартибсиз парчалаб, крахмал эритмасини ёпишқоқлигини тезда пасайтиради. Бу мақсад учун саноатда ҳам бактериялар, ҳам замбуруғдан олинадиган ферментлар ишлатилади.

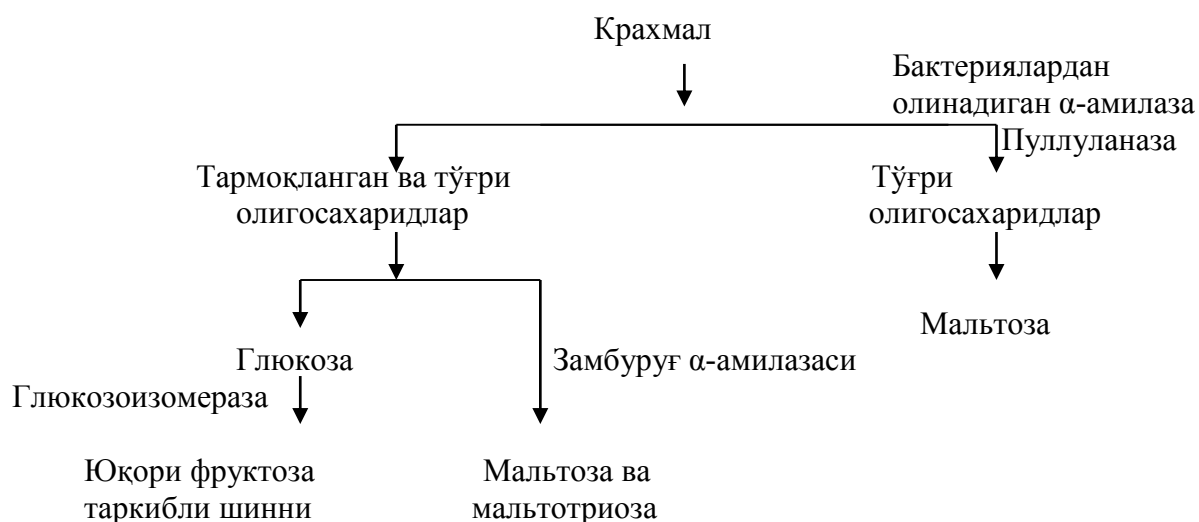
Глюкоамилаза (амилоглюкозидаза)- крахмални ва уни гидролизга учраган (декстранлар) маҳсулотларини редукцияга учрамаган томонидан (охиридан) β -D- глюкозани узиб олади. Бу фермент асосан замбуруғлардан ажратиб олинади ва крахмални шакарлантириш жараёнларида ишлатилади. Хужайрадан ташқарига чиқадиган глюкоамилазани- *Aspergillus*, *Rhizopus* ва *Endomykopsis* авлодларига мансуб бўлган замбуруғлар синтез қиладилар.

Крахмални ширалатиш жараёнининг кимёвий йўли кўп энергия талаб қилганлиги сабабли, бу жараённи ферментлар ёрдамида олиб бориш технологияси амалиётга тадбиқ этилган.

β -амилаза- ўсимликларда кўпроқ учрайди. Амилоза ва амилопектинни мальтозагача парчалайди. Бу фермент 1,6- α -боғларга таъсир қилмайди. β -амилазани баъзи-бир бактериялар, хусусан, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* лар синтез қилиши ҳам аниқланган. Пиво ва спирт ишлаб чиқариш жараёнларида β -амилазага муҳтожлик катта. Бу фермент таркибида кўпроқ мальтоза сақловчи шарбатлар тайёрлашда ҳам ишлатилади.

Пуллуланаза- 1,6- α -боғларни парчалаш оқибатида амилопектин ва глюкоген молекулаларида шохланишни йўқотадиган фермент. Айниқса крахмални тўла деградация қилиш жараёнида кўпроқ ишлатилади. Пуллуланаза- граммулбат ва грамманфий бактерияларида кенгрок тарқалган. Саноат шароитида *K.pneumoniae* дан олинади.

Глюкозоизомераза (ксилозоизомераза)- бу фермент глюкоза эритмасидан юқори концентрацияли фруктоза шарбати тайёрлаш учун ишлатилади. Бундай шарбатларни тайёрлаш айниқса АҚШда яхшироқ йўлга қўйилган бўлсада, ҳозирги вақтда, Европада, Японияда ва Австралияда ҳам бошлаб юборилган. Бу ферментни продуценти сифатида *Bacillus coagulans*, *Lactobasillus brevis*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces atratus* лар патентланган.



86-чизма. Саноат шароитида крахмалга ферментатив ишлов бериш.

21.10.1. Ферментларни детергентлар билан ишлатиш.

Бу мақсадда асосан, оксил парчаловчи ферментлар- протеазалар ишлатилади. Микроблардан олинадиган барча протеазаларни уч синфга ажратиш мумкин: серин протеазалар, металлопротеазалар ва нордон протеазалар. Серин ва металлопротеазалар кўпроқ бактериялар, нордон протеазалар эса микроскопик замбуруғлар томонидан синтез қилинади.

Серин протеазаларни ўзига хос бўлган хусусияти-уларни фаол марказларида серин қолдиғи туриши билан боғлиқ. Бу ферментлар, таъсир механизмлари бўйича эндопептидазалар бўлиб, улар юқори протеолитик фаолликка эгалар. Серин протеазаларни меъёрий pH кўрсаткичи ишқорий 9,0-11,0 бўлиб, уларни молекуляр массаси 25-30 кДа га тенг. Баъзи-бир бактериялардан (*Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. alacalophilus*) олинадиган серин протеазалар термостабил (иссиқ ҳароратга чидамли) бўлиб, улар ҳатто pH кўрсаткичи 12,0 га тенг бўлганда ҳам яхши ишлайверади. Ишқорий протеазаларни мана шу хусусиятлари, уларни детергентлар билан ишлай олишини олдиндан белгилаб берди. Бундай протеазалар йилига 1000 тонналаб ишлаб чиқарилсада, уларга бўлган талаб тўла қондирила олмайди. Бу протеазалар кийим-кечакларни овқат доғларидан, қон доғларидан ва бошқа оксил табиатли ифлослантирувчи моддалардан тозалашда юқори самара билан ишлатилади. Бундан ташқари бу ферментлар тозалаш жараёнини умумий ҳолатини яхшилайди. Бу фермент асосида сирт-таранг моддалар (детергентлар), комплекс ҳосил қилувчи моддалар ва ишқор аралаштириб, юқори сифатга эга бўлган кир ювиш воситалари ишлаб чиқарилади. Европа мамлакатларида юқоридаги таркибга қўшимча қилиб перборат қўшилади. Бу модда юқори ҳароратда (50°C дан ошганда) ўздан водород перокси (H_2O_2) чиқаради ва шунинг учун ҳам Европа мамлакатларида ишлаб чиқариладиган кир ювиш воситалари оқартириш хусусиятига ҳам эга. Маълумки, кўпинча

кийимларни ифлослантирувчи моддалар, ноорганик моддаларни оксил билан аралашмасидан иборат бўлади. Ювиш жараёнида сирт-таранг моддалар ифлослантирувчи моддаларни кўпини эритиб юборади, аммо оксил табиатли моддалар кийимга ёпишиб қоладилар ва эримайдилар. Серин протеазалар мана шу доғларни парчалаб, кийимдан нафақат оксил табиатли моддаларни, балки улар билан боғланиб қолган органик ва ноорганик компонентларни ҳам ювилиб кетишига олиб келади.

Металлопротеазалар-бактериялар орасида кенг тарқалган бўлиб, улар қуйидаги турга мансуб бўлган бактериялар: *Bacillus subtilus*, *B. polymixa*, *B. stearothermophilus* ва бошқалар томонидан фаол синтез ва секреция қилинади. Булар орасида *B. stearothermophilus*-термостабил фермент секреция қилади ва бу фермент термолизин номи билан тижоратга чиқарилган.

Металлопротеазалар кўпинча пиво пишириш ва спирт тайёрлашда кенг қўлланиладилар. Пиво тайёрлашда протеазадан фойдаланиш, пиво таркибидаги куйка оксил моддаларни парчалош билан боғлиқ. Металлопротеазалардан ташқари бу жараёнда ўсимлик ферментлари-бромелин ва папаин ҳам ишлатилади.

Озиқ-овқат спирти ишлаб чиқаришда арпа солоди (майсдан чиқадиган шарбат) бошқа бошоқлар, масалан буғдой билан алмаштирилади. Мана шундай ҳолатларда, муҳит таркибида бижғувчи шакар моддалари ҳосил қилиш мақсадида α -амилаза ва протеаза қўшилади. Мана шу мақсад учун кўпроқ *B.amyloliquefaciens* дан ажратиб олинган металлопротеаза ишлатилади.

Нордон протеазалар-бактерияларда, кўпроқ мицелиал замбуруғларда ҳам учрайдилар. Айниқса *Mucor*, *Aspergillus*, *Endothea* авлодига мансуб бўлган мицеллиал замбуруғлардан олинадиган нордон протеазалар кўпроқ ишлатиладилар.

Aspergillus oryzae замбуруғидан органик эритувчилар билан чўктириш йўли билан такадиастаза деб аталадиган фермент ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. Такадиастазани таркибида нордон протеазадан ташқари, нейтрал протеаза, α -амилаза, целлюлаза ва пектиназа ҳам сақланади. Бу препарат Шарқ мамлакатларида севиб истеъмол қилинадиган соя соусини таркибидаги соя оксилени парчалош учун ишлатилади.

Сутни ачитадиған ферментларда протеолитик фаолликдан кўра, коагуляция қилиш фаоллиги кўпроқ бўлиши керак. Коагуляция (сут ачиши) жараёнини моҳияти-сут таркибидаги казеин билан Ca^{+2} ионлари орасида комплекс ҳосил қилиши билан боғлиқ.

Сычуг-бузоқчаларнинг (ёки қўзичоқларнинг) ошқозонидан экстракция қилиб олинадиган препарат, таркибида ренин ферментини сақлайди ва бу юқоридаги жараён учун тўғри келадиган протеолитик фермент ҳисобланади. Қимматбаҳо ҳамда дефицит бўлган, сычуг ферментини арзон ва қулай топиладиган микроб ферменти билан алмаштириш, пишлоқ

тайёрлашни истикболларини белгилаб берувчи омиллардан бири ҳисобланади.

Замбуруғлардан олинадиган протеазалар клейковинани маълум даражагача парчалаш учун ишлатиладилар. Бу эса, нон пишириш жараёнини стандартлаш имкониятини яратади.

Бошқа ферментларни (глюкозооксидаза, фруктофуранозидаза, галактозидаза, пектиназа, папаин, трипсин, химотрипсин, шунингдек баъзи бир бактериялар ва замбуруғлардан олинадиган ферментлар) ишлатиш тобора кенгайиб бормоқда. Ҳисоб-китобларга қараганда ферментлардан халқ-хўжалигининг ҳар хил тармоқларида фойдаланиш ҳар 10 йилда 2 баробарга ошмоқда.

Замонамизнинг энг долзарб муаммоларидан бири целлюлоза сақловчи моддаларни ферментлар ёрдамида гидролиз қилиш орқали шакар ва шакар табиатли моддалар ажратиб олишдан иборат. Бу мақсадда жуда катта илмий ва амалий ишлар олиб борилмоқда. Айниқса, технология талабларига жавоб бера оладиган продуцентлар яратиш бўйича бутун дунёда катта ишлар қилинган. Хусусан, микроскопик замбуруғларни 200 дан ортиқ штаммлари, бактерияларни 20 дан ортиқ штаммлари шу мақсадда селекция йўли билан танлаб олинган. Юқори фаолликка эга бўлган целлюлоза ферментини 50 дан ортиқрок препаратларини ишлаб чиқариш технологиялари, лигно-целлюлоза материалларига ишлов бериш шароитлари яратилган. Оқибатда ферментатив усулда глюкоза ишлаб чиқаришни иқтисодий жиҳатдан фойдали эканлиги тасдиқланган.

Нефт ва газ захираларини тобора камайиб бораётганлиги, дунё бозорида уларни нархи ошиб бораётганлиги, биотехнологик усуллар ёрдамида, яъни ферментлар ишлатиб биологик ёқилғи тайёрлашни янада долзарб соҳага айлантириб қўйди. Шу сабабли ҳар йили қайта тикланадиган ўсимлик қолдиқлари ва чиқиндилардан биоёқилғи тайёрлашни иқтисодий самарали технологиясини яратиш устида бутун дунёда илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бундай технология целлюлоза ферменти иштирокида глюкоза олиш ва глюкоза шарбатини спиртли бижғитиш орқали биоэтанол олишга қаратилган.

Замонавий биотехнологиянинг долзарб муаммоларидан бири иссиққа чидамли, ишқорий муҳитда яхши ишлайдиган целлюлоза препаратларини яратишдир.

Юқорида келтирилган сабаблар энергия тайёрлашни ноанъанавий йўллари тобора кенгайтормоқда. Мана шундай йўллардан бири ёғ парчаловчи ферментлардан фойдаланишдир.

Биотехнологияни бош масалаларидан бири тозаланган ферментлар ишлаб чиқариш билан боғлиқ. Охирги 10-15 йилда ферментларни катта ҳажмда тозалаш бўйича эътиборга сазовар ишлар бажарилмоқда, хусусан ҳар хил спецификликка эга бўлган аффин, гидрофоб ва ион алмашинув сорбентлари тайёрланган, улар асосида ферментларни саноат миқёсида тозалаш усуллари яратилган. Бу эса, ферментлардан тиббиёт амалиётида

фойдаланиш имкониятини яратмоқда. Ҳозирги вақтда бир неча ўнлаб ферментларни юқори даражада тозаланган формалари тиббиётда ишлатиб келинмоқда.

21.10.2.Иммобилизация қилинган ферментлар.

Бундан 25-30 йил илгари иммобилизация қилинган ферментларни ишлатилиши фермент саноатини тубдан ўзгартириб юборади, айниқса фермент препаратларини ишлаб чиқариш баҳосини камайтириб, уларни ажратиш олиш ва тозалаш билан боғлиқ бўлган муаммолар ҳал бўлади деб башорат қилинган эди. Иммобилизация қилинган ферментлар ҳар хил соҳаларда, хусусан тиббиётда, фармацевтикада, кимёвий ва озиқ-овқат саноатларида аналитик мақсадлар учун, фермент электродлари сифатида шакар, аминокислоталар ва бошқа моддаларни миқдорини аниқлашда ишлатилиб келинмоқда. Бундан ташқари, иммобиллашган ферментлардан фойдаланиш имкониятлари, радиоиммун ва ферментатив иммуносорбент анализ каби янги йўналишларни очилишига олиб келди. Аммо, иммобилизация қилинган ферментлардан амалиётда фойдаланиш, башорат қилинганидек кенг ва равшан бўла олгани йўқ.

Иммобилланган ферментларни тайёрлаш усуллари кўплаб адабиётларда келтирилган, шу мақсадда махсус китоблар чоп этилган. Шунинг учун ҳам бу масалаларга батафсил қарашни маъқул деб топмадик ва иммобилланган ферментларни ўзларини аналоглари олдидаги устивор томонларини кўрсатиб бериш билан чегараландик:

Биринчидан, иммобилланган ферментлар реакция муҳитидан осон ажратиш олинади ва қайта ишлатилса бўлади;

Иккинчидан, иммобилланган ҳолатдаги ферментлар ўзларини аналогларига қараганда экстремал шароитларида (юқори ҳарорат, рН кўрсаткичи ва х.к.) чидамлироқ ва узокроқ вақт давомида фаолликларини сақлаб қоладилар;

Учинчидан, иммобиллашган ферментлар тўхтовсиз технологиялар яратиш имкониятини яратади;

Тўртинчидан, иммобилизация усуллари орқали мультифермент композиция тайёрлаш мумкин, бу эса ўз навбатида ҳар хил жараёнларни кетма-кет амалга ошириш имкониятини яратади.

Иммобилизация қилинган ферментлар камчиликлардан ҳам ҳоли эмас. Баъзан иммобилизация, ферментатив тизимни солиштира фаоллигини камайиб кетишига олиб келади. Бу эса ҳар хил сабабларга кўра содир бўлади. Масалан, ферментларни ташувчи билан ковалент боғланиши, фаол марказга яқин турган аминокислоталарни камраб олиши мумкин. Ферментлар ташувчига боғлаб қўйилганлиги сабабли, иммобилланган ферментлар ҳаракатсиз ёки сувда эримайдиган субстратларга таъсир кўрсата олмайди. (целлюлоза, ксилон, лигнин ва бошқалар)

Иммобилланган ферментни яна бир камчилиги, иммобиллаш усулини қимматлигидир. Шундай қилиб, иммобилланган ферментлардан

фойдаланишда катор масалаларни, хусусан иқтисодий ва амалий масалаларни ҳал қилишга тўғри келади.

Иммобилланган ферментларни олиш технологияси қуйидаги стратегия асосида ечилади:

-ион алмашув смолаларга, ташувчини ва ферментлар таркибидаги аминокислоталарни қарама-қарши заряди ҳисобидан адсорбция қилиш. Бу иммобилизация қилишни энг оддий усули бўлиб, ташувчи билан фермент эритмасини, маълум рН да аралаштириш орқали бажарилади. Бу усулни камчилиги муҳитни ион кучини ўзгартирганда, ферментни ташувчидан энгил десорбция бўлиши билан боғлиқ.

Мана шу усулда тайёрланган ДЭАЭ-целлюлозага иммобилизация қилинган глюкозаоксидаза ферменти 1980 йиллардан буён глюкозани миқдорий аниқлашда ишлатилиб келинмоқда. Аминоацилаза (ташувчи ДЭАЭ-сефадекс) кимёвий синтез йўли билан олинган ацил DL-аминокислоталарни аралашмасини L-аминокислота ва ацил D-аминокислоталарга ажратишда ишлатилади;

-илмий адабиётларда 50 дан ортиқ ферментларни адсорбция усули билан ҳар хил ион алмашувчи смолаларга иммобилизация қилинганлиги чоп этилган бўлсада, шулардан атиги бир нечтаси амалиётда ишлатилган холос;

-ферментларни ҳужайра ичига фиксация қилиш усули глюкозоизомераза ферментини саноатда ишлатилишини асосини ташкил қилади. Стрептомицетларни (продуцентлар) 60-80⁰С гача 3-5 дақиқа давомида қиздирилганда, уларнинг ҳужайраларида кичик молекулалар бемалол ўтадиган муътадил тешикчалар пайдо бўлади. Мана шу ҳужайралар билан реакторлар тўлдирилади ва ундан глюкоза эритмаси ўтказилади. Оқибатда глюкоза-фруктоза шарбати ҳосил бўлади.

Шу усулда *Artrobacter* ҳужайрасида фиксация қилинган глюкозоизомераза ферменти ҳам амалиётда ишлатилиб келинмоқда.

Шакар саноатида шунингдек қийин ҳазм бўлувчи раффинозани сахароза ва галактозагача парчалаб берувчи фермент L-галактозидазани ҳам иммобилланган шаклидан кенг фойдаланиб келинмоқда.

-ковалент боғланиш орқали иммобиллаш усули энг кенг тарқалган усуллардан ҳисобланади. Ташувчи сифатида органик ҳамда ноорганик, кўпроқ силикатли (ғовакли шиша) моддалардан фойдаланилади. Ферментни ташувчи билан “тикувчи” модда сифатида хилма-хил кимёвий бирикмалардан, хусусан глутаральдегид, госсипол, карбодиамид сингари бифункционал моддалардан фойдаланилади. Бу усул билан олинган иммобилланган ферментлар мустаҳкамлиги билан бошқа препаратлардан фарқланиб туради. Бу усулни асосий камчилиги боғланган ферментларни солиштирма фаоллигини пастлиги ҳисобланади. Мисол тариқасида қуйидагиларни келтириш мумкин: ғовак шишаларда ковалент боғлар орқали иммобилизация қилинган глюкоамилаза ферментини реакторларда тўхтовсиз ишлатилганда, уларни ярим инактивация даври 1,5 йилга тўғри

келган. (АҚШ ни Айова штатидаги биотехнология лабораторияси ахбороти);

-ферментни синтетик полимерлар структурасига киритиш усули, иммобилизацияни энг оддий ва самарали усулларида бири ҳисобланади. Бу мақсад учун кўпроқ полиакриламид ва желатина гелларидан фойдаланилади. Бу усулни асосий камчилиги юқори молекулали субстратларга таъсир этганда содир бўладиган диффузион муаммолар ҳисобланади. Мана шу усул билан жуда катта миқёсда ишлатиладиган глюкозоизомераза, аминоксилаза, β -галактозидаза ферментларини иммобилланган шакллари олинган.

Биотехнологияда ферментларни технологик жараёнлар шароитига мослаштириш бўйича ҳар хил илмий ва амалий изланишлар доимий равишда олиб борилмоқда. 56-жадвалда саноатда кенгрок фойдаланиладиган ферментларни иммобилланган шакллари келтирилган.

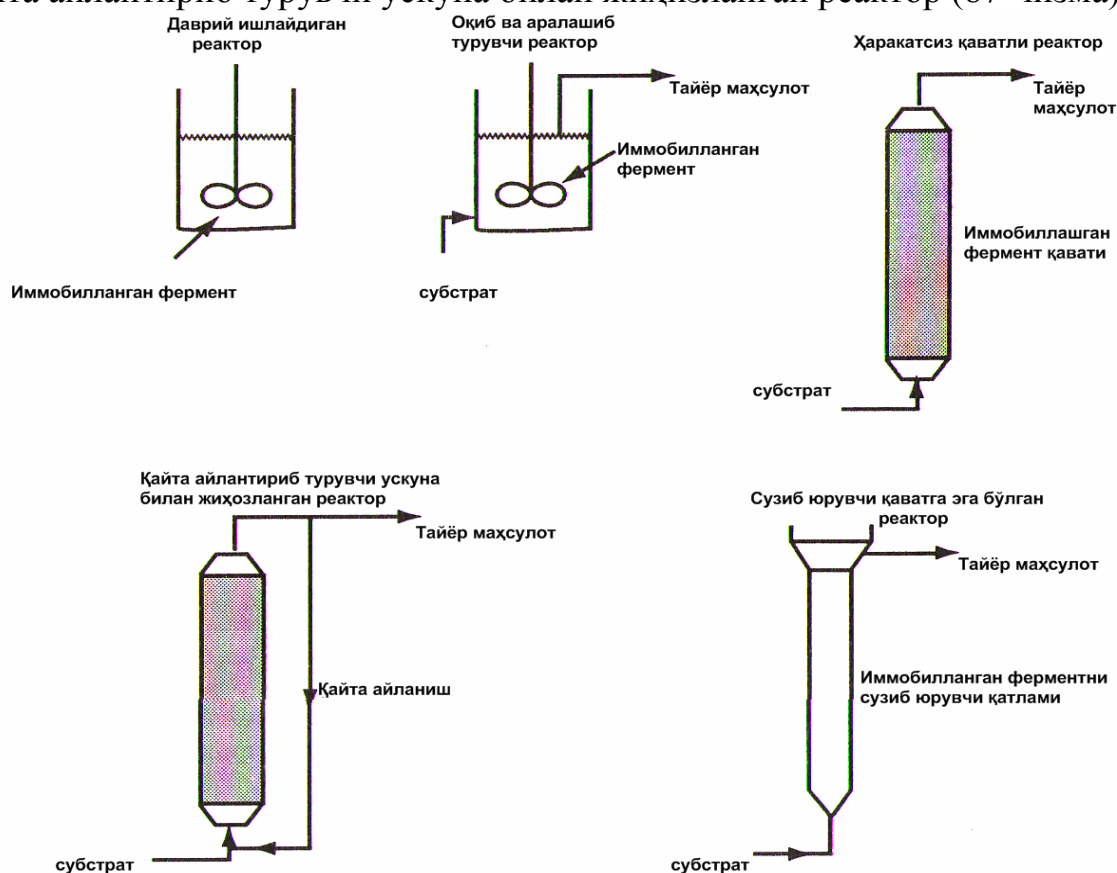
56-жадвал.

Иммобилланган ферментлар ва микроб ҳужайраларини саноатни ҳар хил соҳаларида ишлатилиши.

Фермент ёки ҳужайра	Ташувчи/ иммобилизация усули	ишлатилиши
Аминоксилаза	ДЭАЭ-сефадекс / адсорбция	DL-аминокислоталар аралашмасидан L-аминокислоталар ажратиш
β -галактозидаза	Шиша парчаларда / адсорбция	Лактозасиз сут олиш
Глюкозоизомераза (ксилозаизомераза)	Даулет А 7, амберлит IRA 904 / адсорбция	Глюкоза ва фруктоза аралашмаси тайёрлаш
Липаза	ДЭАЭ-целлюлоза, микростал целлюлоза / адсорбция	Ёғ кислоталари, моно-, диглицеридлар ва глицерин олиш
Аспартатаминоксилаза <i>E.coli</i> ҳужайралари	Полиакриламид гели / структурага киритиш	L-аспартат олиш
Гистидинаминоксилаза, <i>Achromobacter liquidum</i> ҳужайралари	Полиакриламид гели / структурага киритиш	Цитруллин олиш
Пенициллинамидаза, <i>E.coli</i> ҳужайралари	Полиакриламид гели / структурага киритиш	6-аминопенициллан кислотасини олиш
Фумаратгидратаза <i>Brevibacterium ammoniaenes</i>	Полиакриламид гели / структурага киритиш	Олма ва фумар кислоталари олиш

Иммобилланган ферментларни таъсир самарадорлигини ошириш мақсадида, фермент реакторларини қуйидаги типлари ишлаб чиқилган: оқиб ва аралаштириб турадиган реактор, даврий ишлайдиган реактор,

харакатсиз қаватли реактор, сузиб юривчи қаватга эга бўлган реактор, қайта айлантириб турувчи ускуна билан жиҳозланган реактор (87-чизма)



87-чизма. Имобилланган фермент билан ишловчи реактор тури.

21.10.3. Ферментлар ишлатиладиган соҳалар.

Ферментларни ишлатилишига замонамизни ютуғи сифатида қараш нотўғри бўлади. Чунки, улар бир неча асрлар аввал тери ошлашда, пишлок тайёрлашда, солод ишлаб-чиқаришда (сумалак тайёрлашни эсланг), пиво пиширишда, хамиртуруш сифатида ва бошқа соҳаларда ишлатиб келинган. Бу жараёнларда ҳайвон ва ўсимлик тўқималари ёки бутун микроорганизмлар таркибидаги ферментлар ишлатилган. Ферментлардан тозаланган препаратлар сифатида фойдаланиш бироз кечроқ, балки XIX асрнинг охирида бошланган. АҚШда яшовчи, япон олими Июкиши Такамина фермент олиш бўйича 1-патентни 1884-йилда рўйхатдан ўтказган. Ўша жараёнда *Aspergillus oryzae* замбуруғи намланган гуручда ёки буғдой кепида ўстирилиб, секреция бўлган амилаза ферментини сув ёки тузли эритма ёрдамида экстракция қилиб олинган. Мана шу “Такадиастаза” ҳозиргача овқат ҳазм бўлишига ёрдам берувчи восита сифатида ишлатилиб келинади.

Ферментлар озиқ-овқат, енгил саноатда, тиббиётда, фармакалогия, қишлоқ хўжалиги, органик синтез, илмий изланишларда, ген муҳандислигида кенг ишлатилади. 57-жадвалда фермент препаратлари

ишлаб-чиқаришда етакчилик қилиб келаётган мамлакатларда саноат учун мўлжалланган фермент тайёрлашни йиллик миқдори келтирилган:

57-жадвал.

**Саноатда ишлатишга мўлжалланган ферментларни ишлаб
чиқарувчи мамлакатлар.**

Мамлакат номи	1 йилда	Солиштирма %
Дания	25,00	45
Голландия	10,10	19
АҚШ	6,36	12
Япония	4,24	8
Олмония	3,18	6
Франция	1,59	3
Швейцария	1,06	2
Буюк Британия	1,06	2
Бошқа мамлакатлар	1,00	1
Ҳаммаси бўлиб	53,00	100

Ферментларни саноатнинг ҳар хил соҳаларида ишлатиш бўйича олиб бориладиган ишлар таҳлил қилинганда, бу жараён йилдан-йилга ошиб бораётганлигини кўрсатади. Башорат қилинишича, экстремал шароитда яшайдиган микроорганизмлардан олинадиган ва ҳар хил шароитда чидамли бўлган ферментлардан фойдаланиш, бу соҳани жадал ривожланишига олибкелади.

Ҳозирги вақтда ҳам паст (0°C) ҳам юқори ($+115^{\circ}\text{C}$) ҳароратда ҳамда жуда ҳам кенг бўлган pH кўрсаткичида (pH 2,0-14,0) ишлайдиган ферментлар борлиги аниқланган. Ферментатив реакцияларни одатдагидан узокроқ бўлган ҳароратда ёки pH да ўтказилиши, юқори тозалikka эга бўлган маҳсулот олиш, кераксиз моддаларни ҳосил бўлишини камайтириш, ферментларни ажратишни оддий чизмасини ишлаб чиқиш каби жараёнларни яратишга имкон беради. Умумий тавсиф сифатида, бундай ферментларни токсинлик хусусияти жуда ҳам катталиги, биодеградацияга енгил учрашини таъкидлаш мумкин. Бу эса бундай ферментларни тиббиётда ва озиқ-овқат саноатида кенгрок ишлатишга имкон яратади. Ферментларни биокатализаторлар сифатида энг асосий устиворлиги уларни ўта мураккаб кимёвий реакцияларни оддий шароитда, жуда ҳам кам энергия сарф қилиб бажаришларидир.

Замонавий биотехнологик жараёнларда ферментлар уч шаклда ишлатиладилар:

-мембраналарда ёки ҳужайра структураларида локализация бўлган ферментлар, фақатгина ҳужайра ичидаги субстратларни ўзгаришини катализ қиладилар. Бундай шаклдаги ферментларни таъсири, бижғиш, нафас олиш каби бошқа, ўтиши махсус шароит талаб қилмайдиган жараёнлар учун хосдир;

-экзоген (хужайра ташқарисига чиқувчи) ёки хужайрадан экстракция қилиш йўли билан оланган ферментларни таъсир этиши учун махсус шароит (харорат, рН, буфер системаси, металл ионлари ва бошқа кофакторлар) талаб қилинади;

-ферментларни ёки бутун хужайраларни иммобилланган шаклда ишлатиш. Саноатда ишлатиш учун тайёрланган бу усул қуйидаги босқичларни ўз ичига олади: бутун хужайра бу усул қуйидаги босқичларни ўз ичига олади: бутун хужайралар ёки улардан ажратиб ажритиб олиган, қисман тозаланган ферментларни, эримайдиган ёки ташувчиларга боғлаш, уларни ион алмашувчи полимер ташувчиларга адсорбция қилиш ёки синтетик полимерларни структурасига киритиш. Бу методни асосий мақсади-ферментларни чидамлилигини ошириш ва улардан қайта фойдаланишни ташкил қилишдан иборат. 58-жадвалда энг муҳим саноат ферментларини продуцентлари келтирилган.

58-жадвал

Муҳим саноат ферментларини синтез қилувчи продуцентлар

Продуцент	Фермент	Продуцент	Фермент
<i>Aspergillus oryzae</i>	α-амилаза	<i>Aspergillus niger</i>	Гемицеллюлаза,
<i>Penicillium sp.</i>	Декстраназа		β-галактозидаза,
<i>Aspergillus niger</i>	β-глюканоаза		пектиназа, протеаза
<i>Aspergillus niger</i>	Глюкоамилаза (амилоглюкозидаза)	<i>Aspergillus sp.</i>	Инвертаза, липаза,
<i>Actinoplanes mis-souriensis</i>	Глюкозоизомераза	<i>Klebsiella pneumo-niae</i>	целлюлаза
			Пуллуланаза

Жадвалдан кўриниб турганидек ферментларни продуценти сифатида саноатда кўпроқ мицелиал замбуруғлар ишлатилади. Амалиётда фақат биргина грамманфий бактерия *Klebsiella pneumoniae* ишлатилган, бу эса бундай бактериялар орасида ҳақиқий хужайрадан ташқарига чиқадиган ферментлар жуда ҳам кам ҳамда периплазматик ферментларни саноат шароитида олиш қиммат ва қийин эканлигидан хабар беради.

Саноат шароитида хилма-хил ферментлар ишлаб-чиқариш учун *Aspergillus* дан ташқари *Trichoderma*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor* авлодларига мансуб бўлган замбуруғлар ҳам жадал ўрганилмоқда, уларни фермент синтез қилиш системаси чуқур ўрганилиб, кўплаб патентлар олинган. Шунингдек бошқа авлодларга мансуб бўлган продуцентлар (*Allescheria*, *Geotrichum* ва х.к.) ҳам борлиги аниқланган.

59-жадвалда ферментлар ишлатиладиган технологик жараёнлар келтирилган.

Саноатда ишлатиладиган ферментлар.

№	фермент	Таъсир принциплари	ишлатиш соҳаси
1.	Микроблардан олинадиган протеиназалар, липазалар, амилазалар.	Кир ювиш воситалари сифатида суюқ фазада, крахмал, ёғ ва оксилдан тозалашда.	Биологик детергентлар
2.	Замбуруғлардан олинадиган α -амилаза, протеиназа	Ун таркибидаги крахмални парчалаб, шакар олиш учун; оксил миқдори кам бўлган курук нон тайёрлашда	Нон пиширишда
3.	Арпа ферментлари	Бижғийдиган шакар моддалари, аминокислоталар ва пептидлар олиш мақсадида крахмал ва оксилларни гидролизида	Пиво тайёрлашда
4.	Протеиназа, глюканоаза, аминоглюкозидаза	Полисахаридлар ва оксилларни қисман гидролиз қилиш, паст калорияли пиво тайёрлашни фильрлаш жараёнини такомиллаштириш, қуйқаларини ажратиш жараёнларида	Пиво тайёрлашда
5.	Ренин (қурилган фермент), микроблардан олинадиган липаза ва лактаза ферментлари	Пишлоқ тайёрлашда сут оксиллини специфик гидролиз қилиш, пишлоқни тезроқ пишириш (“Рокфор”), лактозани глюкоза ва галактозага парчалашда	Сут маҳсулотларини қайта ишлаш
6.	α -амилаза глюкоамилаза	Крахмални глюкозага ва бошқа энгил бижғийдиган шакарларга парчалашда	Крахмални қайта ишлаш
7.	Глюкозоизомеразани иммобилланган шакли	глюкозани фруктозага айлантириш, юқори концентрацияли фруктоза шарбати тайёрлашда	Шарбат тайёрлашда
8.	Замбуруғ ва бактериялардан олинадиган амилазалар	Газламалардан крахмал қолдиғини ҳайдашда (олдин ишлатилган кимёвий моддалар ўрнига)	Ипакчилик ва тўқимачилик саноатида
9.	Ит ва кабутарларни ахлатларидан олинадиган протеаза ферментлари	Тери ошлаш ва оксилни парчалашда	Тери тайёрлашда
10.	Трипсин ва шунга ўхшаш ферментлар	Тери тайёрлашда ишлатиладиган протеолитик ферментларни ўрнига	Тери тайёрлашда

Юқорида келтирилган мисолларга бироз изоҳ беришга тўғри келади. Масалан, биологик детергентларни ишлаб чиқаришда, шу жараёнда қатнашадиган ишчиларга ферментларни аллергик таъсирини олдини олиш учун, уларни капсулаларга жойлаштиришга тўғри келган. Қари

молларнинг ошқозонидан ренин манбаи сифатида фойдаланиш мумкин эмас, аммо ундан бошқа протеолитик фермент-пепсин олиш мумкин.

Охирги йилларда пишлоққа бўлган талаб ошиб кетмоқда, шунинг учун ренинга етишмовчилик сезилиб қолган, бу эса пишлоқни тижорат баҳосини кўтарилиб кетишига олиб келмоқда.

Юқорида келтирилган мисоллар билан ферментларни ишлатиш соҳаси чегараланиб қолмайди, албатта. Анъанага кўра ферментларни техник препаратлари крахмал, пектин, целлюлоза, гемицеллюлоза, (ксилан) ва дисахаридлар (сахароза, лактоза) молекулаларидаги гликозид боғларни парчалаш билан алоқадор бўлган соҳаларда кенгроқ ишлатилиб келинмоқда.

Шунингдек, оксил молекулаларидаги пептид боғларни парчаловчи протеазаларга талаб ҳам ошиб бормоқда.

Ферментлардан амалиётда фойдаланиш соҳаси иккига бўлинади: биринчи-саноатни ҳар-хил соҳалари, бу жараёнларда асосан техник препаратлар ишлатилади;

Иккинчи-клиник тиббиёт ва илмий текшириш соҳаси-бу жараёнларда ишлатиладиган фермент ёки уларни иммобилланган шакллари оксилни тозалиги талабларига жавоб бериш керак.

Ферментларни техник препаратлари оксиллар аралашмасидан иборат бўлиб, улардан асосийси препаратни номига чиқарилган бўлади. Асосий оксилни (ферментни) миқдори умумий оксилни 10-15% дан кам бўлмаслиги керак. Бундай препаратни 1 кг 30-500 доллар туради. Кўпинча техник препаратга нейтрал қўшимчалар, масалан ксилоза қўшилади. Стандартлаш мақсадида қўшиладиган қўшимчалар асосий ферментни каталитик хоссаларига таъсир кўрсатмаслиги керак.

Юқори тозалikka эга бўлган фермент препаратларида, асосий ферментни миқдори, умумий оксилга нисбатан 60-70% ни ташкил этади. Бундай препаратларни тайёрлаш анчагина қийин бўлганлиги сабабли, тозаланган ферментларни баҳоси ҳам анча баланд бўлади. (1кг 100000 доллардан кўпроқ).

Саноатда ферментлар ўн ва ундан ҳам кўпроқ ксилограммлаб ишлатилса, тиббиётда бу миқдор бир неча миллиграммлар билан ўлчанади.

Инсон организмидаги деярли барча функционал ўзгаришлар ферментларни фаоллигини ўзгариши оқибатида содир бўлади дейилса, муболаға бўлмайди. Ферментатив фаолликни аниқлаш учун қон зардобини, сийдик, қон хужайралари (эритроцитлар, лейкоцитлар) ишлатилади. Диагностика мақсадида, α -амилаза, креатинкиназа, фруктозодифосфатаальдолаза, нордон ва ишқорий фосфатаза, лактотдегидрогеназа каби ферментларни фаоллигини аниқланади. Ферментлар шунингдек, ошқозон-ичак фаолиятини яхшилаш учун ҳам ишлатилади. Бу мақсадда кўпроқ протеаза, амилаза, целлюлаза, липаза ва бошқа ферментлардан фойдаланилади.

Яқин орада фермент ишлаб чиқариш тубдан ўзгариб кетмасада, шу мақсадда ген-муҳандислиги, хужайра-муҳандислиги, селекция ва танлов асосларида олинган, юқори фаолликка эга бўлган ва технологик жиҳатдан қулай бўлган штаммлар асосида ҳар хил фаолликка эга бўлган ферментпрепаратлари ишлаб чиқариш давом этади.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ.

1. Ферментлар биосинтезини бошқаришни тушунтириб беринг.
2. Транскрипция нима?
3. Трансляция нима?
4. Индукция нима?
5. Продуцент нима?
6. Табиий манбалардан культура ажратиш чизмасини чизиб беринг.
7. Изоэлектрик нуқта нима?
8. Ферментларни тозалаш усуллариини тушунтириб беринг.
9. Гидрофоб хроматография нима?
- 10.Аффин хроматография нима?
- 11.Гельфльтрация нимага асосланган?

АДАБИЁТ.

- 1.Остерманн Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот.М.:»Наука»,1985.536с
- 2.Скаупс Р. Методы очистки белков. М.: Мир, 1985.358с
- 3.Виестур У.Э, Кузнецов А.М, Совенков В.В. Системы ферментации. Рига: Зинатие, 1986.258с
- 4.Бейли Дж, Оллис Д. Основы биохимической инженерии: в 2т.м: Мир, 1989
- 5.Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. М.:Мир 1978
- 6.Штросберг А.Д. Практическая химия белка.ред. А.Дарбре. М.:Мир, 1989.с.180-196
- 7.Хроматография.ред. Э.Хертман. М.:1986. Т.1.335с.; Т.2.420с.
- 8.Практическая химия белка.ред. А.Дарбре. М.:Мир 1989. 621с
- 9.Turkova J.Affinity chromatography. Amsterdam: Elsevier, 1979.352p.
- 10.Love C.R. An introduction to affinity chromatography. Amsterdam: North Holland, 1979. vol. 7.pt.2
- 11.Франфелдер Д. Физическая биохимия. М.: Мир,1980.582с.

22. БИОТЕХНОЛОГИЯ ВА БИОХАВФСИЗЛИК

Биотехнология ва унинг фундаментал, стратегик ядроси бўлган биомухандислик-тирик организмларнинг асосий хусусиятлари-авлоддан-авлодга ўтиш, ўзгарувчанлик, мослашувчанлик, чидамлилиқ, энергия ва масса алмашинуви, ҳосилдорлик ва сифат сингари хусусиятларини ҳосил бўлиш механизмларини ўрганади ва шу механизмларга таяниб иш тутади. Биологик объектларни хусусиятларини ўзгартириш мақсадида уларни генетик тузилишига ташқаридан “таъсир кўрсатиш”, уларни модификация қилиш йўлидаги ҳаракатлар объектларнинг тузилиши ва асосий вазифаларини қайта қурилишига олиб келади. Бундай ўзгаришлар олдиндан башорат қилиб бўлмайдиган воқеаларга сабаб бўлиши мумкинлиги, кўпчилик инсонларни ташвишга солиб келмоқда. Табиатни, қолаверса, инсониятнинг ҳар хил генетик ўзгартирилган, ўсимликлар, ҳайвонлар ва микроорганизмлардан ҳимоя қилувчилар ҳаракати йилдан-йилга кўпайиб бориши биотехнологиянинг, айниқса, унинг стратегик ядроси бўлган биомухандислик фанининг ривожланишига салбий таъсир кўрсатиши, иқтисодий зарарга олиб келиши мумкин. Биотехнология ва биомухандислик фани эришган ютуқларни ҳамда ХХІ асрда амалга оширилиши лозим бўлган лойиҳаларни бу йўналишда содир бўладиган ҳатти-ҳаракатларни қиёсий ўрганиш натижасида дунёнинг кўпчилик олимлари илмий ва иқтисодий асосланган, реал воқеяликка эга бўлган ишонч билан, биотехнология - бу ХХІ асрда ривожланиши зарур бўлган, инсоният учун хизмат қиладиган асосий фанлардан бири эканлигини хитоб қилмоқдалар. Бу ҳақда замонавий биотехнология ва биомухандислик фанлари пайдо бўлгандан бери ўтган ярим аср давомида эришилган ютуқлар ҳам гувоҳлик бериб турибди. Шундай экан, бундан кейин биотехнология ва биомухандисликни ривожлантириш ҳамда бу ривожланиш натижасида инсоният ва атроф-муҳит учун хавф туғилмаслигига қандай илмий асослар бор?

22.1. ХАВФСИЗЛИК ҲАҚИДА УМУМИЙ ТУШУНЧАЛАР

Табиий, технологик ва бошқа омиллар инсон ва уни ўраб турган муҳитга доимий равишда таъсир кўрсатиб туради. Бундай таъсир фойдали ёки зарарли бўлиши мумкин. Фан, жамият, давлат, инсон ва атроф муҳитга салбий таъсир кўрсатувчи омиллардан ҳимоя қилишни ҳар томонлама асосланган тизимини ишлаб чиқиши ва ундан унумли фойдаланмоғи лозим. Инсон, жамият ва давлат борлиги ҳамда уларнинг фаолияти ҳар қандай ички ва ташқи таъсирлардан муҳофаза қилинмоғи керак. Ҳар қандай жамият ва давлатни олдида турган асосий вазифалардан бири ана шундан иборатдир. Мана шу умумий ҳолатлардан инсон, жамият ва давлат хавфсизлигининг асосий тушунчаси ва ундан ҳар бир инсон, жамият ва давлат қизиқишларини ташқи ва ички хавфдан ҳимоя қилиш зарурлигининг асл маъноси келиб чиқади. Хавфсизликнинг бош мезони

бу-инсондир. Инсон хавфсизлигини, унинг ҳаёт фаолияти, инсон яшаб турган жамият хавфсизлигини, атроф-муҳитни ҳимоя қилмасдан туриб, тўлақонли ижтимоий-иқтисодий фаолиятни амалга ошириб бўлмайди.

Хавфсизликнинг асосий принципларидан бири-инсон, жамият ва давлат ўртасидаги ўзаро жавобгарликдир. Хавфсизликка эришиш - бу ҳаётий зарур қизиқишларни ички ва ташқи хавфдан мустаҳкам муҳофаза қилишга қодир бўлган тизимни ишга солишдир. Хавфсизлик - инсон, жамият, давлат ва бутун борлиққа тегишли биологик, экологик, ижтимоий, иқтисодий, озиқ-овқат, ҳарбий ва бошқа омиллар бўлиши мумкин. Хавфсизликни ҳар хил турлари ва уларни биотехнологияга таъсирини Т.Е.Попова томонидан яратилган қуйидаги жадвалда кўриш мумкин.

60-жадвал.

Биотехнологияни ҳарбий бўлмаган хавфсизлик аспектларига ижобий таъсири

Соғлиқни сақлаш	дори-дармонлар, вакциналар, диагностика препаратлари
	инсон репродукциясидан фойдаланиш (сунъий уруғлантириш), ирсий касалликларни олдиндан диагностика қилиш ва бошқалар
	ген оркали даволаш
	ксенотрансплантология
Озиқ-овқат	Озиқа маҳсулотларининг сифатини яхшилаш, парҳез ва озиқа препаратлари ишлаб чиқиш (қандсимон моддалар, аминокислоталар, витаминлар ва ҳ.к.)
	Озиқ-овқат саноатида (нон, пишлоқ, вино, пиво, таъм ва ҳид берувчи моддалар ва ҳ.к.) фойдаланиш
Қишлоқ хўжалиги	ўсимликлар ва ҳайвонларни ҳимоя қилиш воситалари, биологик ўғитлар
	олдиндан хусусиятлари белгиланган, трансген ўсимликлар ва ҳайвонлар яратиш
	ем хашак сифатини яхшиловчи маҳсулотлар ишлаб чиқариш
	ҳайвонларни сунъий урчитиш ва эмбрионларни ажратиш
	элита ўсимликларни тезлатиб ўстириш, вируссиз ўсимлик кўчатларини етиштириш
	қишлоқ хўжалик, саноат ва маиший хизмат чиқиндиларини қайта ишлаш
Экология	секин парчаланадиган, ифлослантиручи маҳсулотлар (нефть, пестицидлар, полимерлар ва ҳ.к.) дан тозалаш
	атроф-муҳитни ифлослантирувчи моддалар ўрнини босадиганларини (биопестицидлар, пластмассалар ва ҳ.к.) тез парчаланувчи маҳсулотлар яратиш
	ҳар хил соҳаларда ўринбосар (альтернатив) технологиялар яратиш
	ёпиқ занжирли чиқиндисиз технологиялар яратиш
	биологик хилма-хилликни, ноёб ўсимликлар ва ҳайвонларни асраш, популяцияларини қайта тиклаш
Табиий ресурсларни қазиб олиш муаммолари	қазилма бойликлардан фойдаланиш, шунингдек, ташландиқ материаллар ва чиқиндилар (биометаллургия, нефть қудуқларини тиклаш ва ҳ.к.)
	биоэнергетика (биогаз, техник спирт, водород ва ҳ.к.)
	табиий маҳсулотлардан кимёвий моддалар ишлаб чиқариш

22.2. БИОМУХАНДИСЛИК ВА ТРАНСГЕНОЗДА БИОЛОГИК ХАВФСИЗЛИК ВА ГЕНЕТИК ХАВФ

Реципиент (асосий қабул қилувчи) хужайра ДНК сига бегона (донор) генни қўшилиши маълум қийинчиликлар билан амалга ошади. Қийинчиликларни энг асосийси генни ёки генларнинг керакли манзилга жойлашиши, ҳамда уларни нормал фаолият кўрсатиши-экспрессиясини таъминлашдир. Бу муаммо доимо бор ва унинг ечилиши ҳозирча кўпроқ тасарруф билан боғлиқ.

Яна бир катта муаммо - бу ҳам бўлса инсон ҳаёти учун заҳарли бўлган токсин ёки аллерген моддалар синтез қилувчи мутантларни пайдо бўлиши билан боғлиқ бўлган генетик хавфдир. Асосий хужайрага киритилган бегона геннинг фаолияти билан боғлиқ муаммолар ҳамиша бўлиши мумкинлигини тахмин қилиш унчалик муаммо эмас.

Энг аввало, бундай муаммо генларни бир-бирларига ўзаро таъсири ёки ўзаро алмашинуви жараёнида пайдо бўладиган плейотроп таъсир натижасида пайдо бўлади. К.Г.Газарянни фикрича трансгенозда геном мўътадиллигини бузилиши, нафақат дастлабки геномни янги генлар билан тўйиниши ёки киритилган янги генларни мутантлик хусусиятлари билан, балки рекомбинациядаги эндоген тизимни кучайиши ва “ухлаб ётган” генларни фаоллигининг уйғониши билан ҳам боғлиқдир.

Буларнинг барчаси трансгенозда инсон ҳаётига хавф соладиган генотиплар пайдо бўлиши мумкинлигини илмий асослашга имкон яратади.

Бундай хавф, айниқса, хусусиятлари олдиндан белгиланган ўсимлик, ҳайвон хужайра ва тўқималари ҳамда, микроорганизмларни мутантларини олишда сунъий генлардан фойдаланганда кучаяди. Мана шунинг учун ҳам кўпчиликни трансген организмлар яратиш, айниқса, улар ёрдамида инсон учун озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқаришга қарши чиқишлари, ҳеч бўлмаганда, генетикаси ўзгартирилган ўсимликлардан, ҳайвонлардан ёки микроорганизмлардан олинадиган маҳсулотларни алоҳида белгилар (нишонланган) орқали сотиш учун қўйиш ҳақидаги талаблари тўғридай кўринади.

Булардан ташқари, бир ўсимлик гул чангидан ген-модификаторларини (ўзгартирувчиларни) бошқа ўсимликка ўтиши, уларни учинчи генотип генлари билан ўзаро таъсири натижасида инсон ва атроф-муҳит учун зарарли бўлган янги генотипларни пайдо бўлиши ҳам ўта хавфлидир.

Маълумки, фанда ва жамиятда биологик хавфсизлик муаммосини дастлаб, фаннинг янги йўналиши-биомухандисликни асосчиларининг ўзлари кўтариб чиққанлар. 1974 йилда ген мухандислиги фанининг отаси ҳисобланган, ДНК нинг рекомбинат молекуласини яратган америкалик олим *П.Берг* бошчилигида ген мухандислиги бўйича ўн бир нафар дунёнинг энг йирик олимлари “*Science*” (илм, фан) журнали орқали, рекомбинат ДНК яратиш борасидаги илмий изланишларини токи шу муаммога бағишланган бутун-жаҳон конгресси ўтказилгунича тўхтатиб

туриш лозимлиги тўғрисидаги очик хат билан чиқадилар. Аммо, бир йил ўтар-ўтмас 1975 йил Асиломар (АҚШ) да ўтказилган халқаро конференцияда олимлар ген муҳандислиги бўйича олиб борилаётган ишлар бошқа, шунга ўхшаш ишлардан хавфли эмаслиги, фақатгина биологик хавфсизликни сақлаган ҳолда назорат ўрнатилиши (ўтказилиши) лозим - деган фикрга келдилар.

1976 йилда АҚШда рекомбинат микроорганизмлар билан олиб борилаётган тадқиқотларни бир қолипга солиш бўйича дастлабки қоида қабул қилинди. Бу қонунга асосан рекомбинат микроорганизмлар лабораториядан ташқарига чиқмаслиги ҳақида кўрсатмалар берилган. 1970 йилларни охирига келиб кўплаб мамлакатларда бу соҳага оид қонунлар яратилди. Секин-аста бу қоидалар, дастлабки қўйилган қаттиқ талабларни юмшатиш томонига ўзгартириб берилди.

Дунёда 30 йил мобайнида энг янги биотехнология-ген муҳандислиги соҳасида олиб берилган илмий изланишлар бу йўналишни хавфсиз эканлигини тасдиқлади.

Инсон ва табиатни заҳарловчи моддалар яратишга мўлжалланган илмий изланишлардан ташқари, илмий лабораторияларда ген муҳандислиги йўли билан инсон ҳаётига хавф солувчи бирорта ҳам микроорганизм штамми, ўсимлик нави ёки ҳайвон турлари яратилмаган.

Олимлар микроблар, бактерияларнинг вирулентлигини ошириш ёки камайтириш, мамлакатни бактериологик қурол ва агрессиядан муҳофаза қилиш бўйича мақсадга йўналтирилган илмий изланишлар олиб бормоқдалар. Афсуски, жаҳон терроризми ўзларининг қонли жиноятлари учун ҳар қандай жирканч ҳаракатлардан қайтаётганлари йўқ. Шу мақсад йўлида биоресурслардан ҳам фойдаланиб келмоқдалар. Шундай бир пайтда дунё ҳамжамияти олдида террористларни биология фани ютуқларидан фойдаланишга йўл қўймасликдек энг муҳим вазифа турибди. Бунинг учун ген-муҳандислиги бўйича олиб бориладиган тажрибалар давлат назоратида бўлмоғи лозим. Кўпчилик кўзга кўринган олимларни фикрича трансген ҳайвонларни яратиш бўйича олиб бориладиган тажрибалар унчалик мукамал эмас. Бегона генларни кўчириб ўтказиш оқибатида башорат қилиб бўлмайдиган натижаларга эришиш мумкинлиги, чорвачиликда ген муҳандислиги фани ютуқларидан кенгрок фойдаланишни чегаралаб келмоқда.

Балким, биомуҳандислик марказлари олимлари, бу фаннинг усуллари, асбоб-ускуналари, технологияси, биологик хавфсизлик критерияларини сифатини, уларни аниқлиги ва сезгирлигини ошириши бўйича бош қотиришлари лозимдир.

Фикримизча фақатгина шу асосда мазмунан янги, ҳосилдор, тезпишар, шўр ва бошқа заҳарли моддаларга бой бўлган тупроқларда ҳосил бераоладиган ўсимлик навларини яратишлари мумкин.

22.3. ГЕНЕТИК МОДИФИКАЦИЯ ҚИЛИНГАН ОРГАНИЗМЛАР ВА УЛАРДАН ОЛИНАДИГАН МАҲСУЛОТЛАРНИ БИОЛОГИК ХАВФСИЗЛИККА ТАЪСИРИ

Генетик модификация қилинган организмлар ва улардан олинадиган маҳсулотларни биологик хавфсизлик нуқтаи назаридан баҳолашни энг асосий босқичларидан бири - уларни санитария-гигиена экспертизасидан ўтказишдир.

Мамлакатимизда бундай марказларга ҳозирча эҳтиёж сезилгани йўқ. Бунга асосий сабаб, юқорида айтиб ўтилган мақсадларнинг йўқлигидир. Россияда бу вазифани Россия тиббиёт академиясига қарашли Озиқ-овқат институти бажаради. Бундай ихтисослашган марказлар барча ривожланган мамлакатларда (АҚШ, Англия, Франция, Канада, Германия, Италия, Хитой ва ҳ.к.) ташкил этилган бўлиб, уларнинг асосий вазифаси қуйидагилардан иборат:

- *бирламчи трансген ўсимликларни кимёвий таркибини ўрганиш;*
- *генетик модификация қилинган ўсимликлар ва улардан олинган маҳсулотларнинг биологик баҳосини ва организмда сўрилиши хусусиятларини таққослаб ўрганиш;*
- *уларни аллергия хусусиятларини ва инсон иммун тизимига таъсирини ўрганиш;*
- *уларни заҳарлилигини, канцерогенлигини ва мутагенлигини ўрганиш;*
- *уларнинг инсон ва ҳайвонларни авлод қолдириш хусусиятларига таъсирини ўрганиш.*

Бундан ташқари, Россияда генетик модификация қилинган организмларнинг биологик хавфсизлигини таъминлаш мақсадида, ҳар бир янги штамм, тур ёки навлар Россия қишлоқ хўжалик академиясига қарашли Фитопатология институтида ва Ўсимликларни ҳимоя қилиш институтида ҳамда Россия Фанлар Академиясига қарашли Биомухандислик марказида синовлардан ўтказилади. Бу илмий марказларнинг асосий вазифалари:

- ✓ *ўсимлик геномига киритилган ДНК ни ўрганиш;*
- ✓ *янги киритилган ген бошқа организмларга ўтиши ёки ўтиб кетмаслигини синовлардан ўтказиш;*
- ✓ *мазкур хусусиятга эга бўлган ўсимликни кейинги авлодларга ўтиши ўтмаслигини назорат қилиш;*
- ✓ *янги ўсимликни касалликка муносабати ва тупроқ микрофлорасига таъсирини ўрганишдан иборатдир.*

Генетик модификация қилинган организмлардан олинадиган озиқ-овқат маҳсулотлари, албатта, медицина-биология баҳолаш тизимидан ўтказилиши шарт. Бунинг учун, энг аввало махсус услубий кўрсатмалар ишлаб чиқарилиши лозим. Бундай услубий кўрсатмаларда гигиена экспертизасидан ўтказиш тартиблари ва генетик модификация қилинган организмлардан олинган маҳсулотни давлат рўйхатидан ўтказиш

тартиблари келтирилган бўлиши зарур. Мисол учун, Россияда генетик-модификация қилинган организмлардан олинган озиқ-овқат маҳсулотларини тиббий-гигиеник, тиббий-биологик, клиника синовларидан ўтказиш услублари яратилган бўлиб, мамлакат Соғлиқни Сақлаш Вазирлиги ҳамда тегишли адлия ва ҳуқуқ органлари томонидан тасдиқланган.

22.4. ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ, ГЕНЕТИК ЎЗГАРТИРИЛГАН ОРГАНИЗМЛАР ВА УЛАРДАН ОЛИНГАН МАҲСУЛОТЛАР УСТИДАН ДАВЛАТ НАЗОРАТИ ВА БОШҚАРУВИ

Ривожланган ген-муҳандислик инфратузилмасига эга бўлган барча мамлакатларда ҳозирги вақтда ўзининг замонавий биотехнология ва биомуҳандислик бўйича амалга оширувчи ишларни ҳуқуқ ва меъёрини белгилаб берувчи қонунлари ва бошқа давлат ҳужжатлари қабул қилинган.

Бундай ҳужжатларни тайёрлашда кўпчилик мамлакатларда БМТ, ФАО ва бошқа халқаро бирлашмалар томонидан тайёрланган халқаро талаблар асос қилиб олинган. Шунинг учун ҳам, бундай қонун ва қонун остидаги ҳужжатлар ҳар-хил мамлакатларда қабул қилинганлигига қарамасдан, бир-бирларига жуда ўхшаб кетади.

Қонунларда у ёки бу мамлакатда ген-муҳандислик фаолиятини амалга оширишда давлат бошқаруви ҳамда хавфсизлик тизимининг асосий вазифалари белгиланган.

Масалан, Россияда 1996 йил 5 июнда қабул қилинган 86 ФЗ сонли “ген-муҳандислиги фаолиятида давлат бошқаруви ҳақида” деб аталган қонунда 4 босқичдан иборат тахминий хавф борлиги ва шунинг учун ҳам ген-муҳандислиги бўйича иш олиб бораётган ходимлар бу қонун доирасида иш юритишга мажбур эканлиги кўрсатиб ўтилган:

Биринчи босқич (хавф) - *инсон саломатлигига зарар етказиш кўрсаткичи бўйича патоген бўлмаган микроорганизмлар билан ишлаш хавфига тўғри келади.*

Иккинчи босқич - *инсон саломатлигига унча кўп бўлмаган (жиддий бўлмаган) хавф келтириб, у шартли патоген микроорганизмлар билан иш олиб бораётган ходимлар учун тугиладиган хавфга тўғри келади.*

Учинчи босқич - *хавф секин аста, аммо доимий равишда хавф солиб келаётган ишларга тўғри келиб, уни хавфи юқумли касалликлар қўзғатадиган микроорганизмлар билан ишлашга тенгдир.*

Тўртинчи босқич - *хавф инсон организми учун жуда хавфли бўлиб, унинг кўрсаткичи ўта хавфли касалликларни қўзғатадиган микроорганизмлар билан ишлаётган ходимлар хавфига тенгдир.*

Очиқ тизим шароитида ген-муҳандислиги учинчи ва тўртинчи босқич хавфига тўғри келади. Ушбу қонун ген-муҳандислик муаммолари билан шуғулланадиган ходимлар олдида махсус талаблар қўйган:

Биринчиси - мажбурий мутахассислик, тайёргарлик ва ген-муҳандислик фаолиятига тўғри келадиган саломатлик ҳолати;

Иккинчиси-тажриба олиб бориладиган хоналарни қоида талабларига тўғри келиши;

Учинчи-хавф билан ишлайдиган ишлар учун албатта рухсатнома (лицензия) бўлиши шарт ва ҳ.к.

Қонунда ген-муҳандислик маҳсулотларини стандартлаш ва сертификациялашдан ўтказиш бўйича талаблар аниқланган. Бундай маҳсулотлар экологик хавфсизлик талабларига, санитария меъёрларига, фармакология бандларига ҳамда давлат стандартлаш талабларига тўлиқ жавоб беришлари керак.

Ген муҳандислик усуллари билан модификация қилинган организмлардан олинган маҳсулотлар ва бу бериладиган хизматлар албатта сертификатланган бўлиши, улар албатта сифат сертификати ва ўхшашлик белгисига эга бўлиши шарт.

Биологик хавфсизлик устидан Давлат назорати шунингдек, генетик модификация қилинган ва бошқа биологик объектлардан янги озиқа маҳсулотлари, материаллар ва буюмларни ишлаб чиқариш ва ишлатишни ҳам камраб олади.

22.5. АҚШДА ГЕНЕТИК ЎЗГАРТИРИЛГАН ОРГАНИЗМЛАР БЎЙИЧА БИОЛОГИК ХАВФСИЗЛИКНИ НАЗОРАТ ҚИЛИШДА ДАВЛАТ БОШҚАРУВИ

АҚШ биотехнология, хусусан, биомуҳандислик бўйича етакчи ўринда туради. Энг аввало бундай ҳолат ген муҳандислиги, биомуҳандислик борасидаги илмий ҳамда илмий ишлаб чиқариш ишларини Давлат томонидан кучли муҳофазасида эканлиги билан тушунтирилади. Бундан ташқари, бу мамлакатда ген модификация қилинган организмлардан ишлаб чиқаришда фойдаланиш бўйича конгресс қонунлари ва президент фармон ва фармойишлари қабул қилинган. АҚШда экиладиган соянинг ярми, маккажўхорининг $\frac{1}{4}$ қисмини трансген ўсимликлар ташкил этади. АҚШ генетик модификация қилинган маҳсулот ишлаб чиқариш бўйича биринчи ўринда туради.

АҚШнинг ген модификация қилинган организмларни яратиш ва улардан фойдаланишни Давлат томонидан назорат қилиш тизими бошқа мамлакатлардан (масалан, Россиядан) тубдан фарқ қилмасда ўзига хос бўлган томонлари бор.

АҚШда генетик модификация қилинган организмларни Давлат рўйхатидан ўтказиш уч вазирликка, яъни Соғлиқни сақлаш, Қишлоқ хўжалиги ва Экология вазирликлари жавобгарлигига топширилган. Бундай организмларни рўйхатга олиш ёки олмасликни айтиб ўтилган вазирликларнинг ҳар-бири мустақил равишда, бир-бирларининг ишларига аралашмасдан ҳал қилишлари мумкин. АҚШнинг Қишлоқ хўжалик

департаменти (USDA), унинг ветеринария ва ўсимликларни ҳимоя қилиш (APHIS) инспекциялари тасдиқланган шартлар ва тартибларга биноан (нотификация), генетик модификация қилинган организмларни штатлар орасида юритишига, уларни импорти ёки атроф-муҳитга чиқариш ҳақида рухсат беради. Бу шартлар АҚШда 1993 йилда ишлаб чиқилган ва ҳозиргача ўз кучини йўқотгани йўқ.

АҚШда биотехнология ва биомухандислик бўйича аниқ ва равшан меъёрий ҳуқуқий ҳужжатларни ўз вақтида ишлаб чиқарилиши ва уларни фаолият кўрсатишини таъминланиши, мамлакатда бу соҳани ривожланишига олиб келди. АҚШда биомухандисликни бош йўналиши-соя, ғўза, маккажўхори, қанд лавлаги, картошка, помидор, рапс ва бошқа ўсимликларни раундап (глифосат) номли гербицидга, замбуруғ касалликларига ва ҳашоратларга чидамли бўлган навларини яратишга қаратилган. Шунингдек, бу мамлакатда буғдойнинг вирусли касалликларига чидамли гибрид навларини яратиш бўйича фаол илмий изланишлар олиб борилмоқда. Чидамли гибридлар ва навлар яратиш бўйича катта муваффақиятларга Миссури штатидаги Сент-Луис шаҳрида жойлашган “Монсанто” фирмаси эришган. Бу фирма маҳсулотлари бутун жаҳонга яхши танишдир.

Шуни ҳам айтиб ўтиш лозимки, АҚШ фермерлари гибридларни экиш, улардан ҳосил олиш, уруғларини ёки улардан ишлаб чиқариладиган маҳсулотларни сотиш бўйича ҳеч қандай муаммога дучор бўлмайдилар. Гибридлардан фойдаланган фермерлар гербицид ва пестицидларга кетадиган харажатлар ҳисобидан жуда катта фойда топадилар.

АҚШда генетик модификация қилинган ва гибридлардан олинадиган озиқа маҳсулотларини махсус белгилар билан белгилаб қўйиш бўйича қарорлар қабул қилинмаган. Харидорларнинг хоҳиш истакларидан келиб чиққан ҳолда, белгиларни ҳоҳлаган вақтда, ҳоҳлаган сотув тармоқларида қўйиш мумкин. АҚШда биотехнология бўйича махсус тарғибот маркази ташкил этилган ва фаолият кўрсатиб келмоқда. Бу марказнинг асосий вазифаси энг янги ахборот тизимидан фойдаланиб, биотехнология ва биомухандислик бўйича ахборотларни излаш, йиғиш ва сақлашдан иборатдир.

АҚШда биотехнологияни ривожлантириш бўйича Миллий қўмита ва генетик модификация қилинган организмлар ва улардан олинган маҳсулотларни баҳолаш бўйича эксперт кенгаши ҳам фаолият кўрсатиб келмоқда. Шунингдек, АҚШ ҳукуматида биотехнология муаммолари ва ютуқларини муҳокама қилиш, бу соҳага ёрдам кўрсатишда Миллий стратегия ишлаб-чиқувчи махсус комиссия фаолият кўрсатади.

Бу комиссиянинг аъзолари қилиб, қишлоқ хўжалиги, савдо-сотиқ, мудофаа, энергетика вазирлари, шунингдек, озиқ-овқат маҳсулотлари ва дори-дармонлар комитети раислари, экология агентлиги раҳбари, миллий-илмий фонд директори, қатор илмий текшириш институт директорлари,

хар-хил департаментларнинг бўлим бошлиқлари ҳамда биотехнология соҳаси бўйича йирик олимлар киритилган.

Комиссия, ҳукуматнинг биотехнология ва биомухандислик бўйича дастур ва умумий фаолиятини ўрганиб, керак бўлганда мамлакат Президенти ҳамда конгрессга ўз фикр-мулоҳазалари билан чиқиш ҳуқуқига эга.

АҚШ, Россия ва бошқа мамлакатларда биологик хавфсизлик бўйича халқаро Картоген Протоколига асосан (*Cartogena Protocol of Biosafety*) ҳамда Монреалдаги биологик хилма-хиллик конвенцияси доирасида генетик модификация қилинган организмлар ва улардан олинган маҳсулотларни транспортировка, маркетинг қилиш ва улардан фойдаланиш бўйича келишув тайёрланиши ва ротификация қилиши лозим.

Америка ва Европанинг қатор мамлакатларида генетик модификация қилинган организмларни кўпгина ўсимлик ва ҳайвонлар маҳсулотларини ҳаракатини назорат қилиш тизимини мониторинг қилиш бўйича комиссия фаолият кўрсатиб келмоқда.

Биотехнология ва биомухандислик ишларида биологик хавфсизликни таъминлаш борасида ягона халқаро тизим ташкил этилса ва уни доимий равишда мукаммаллаштириб бориш асосида замонавий талабларнинг шароитларига мослаштириб бориб, барча мамлакатларда бир-бирига ўхшаган қонун ва қонуности ҳужжатлар қабул қилинса, чиқарилган давлат ҳужжатларини ҳаётга тадбиқ этилишини назорат қилувчи ва уларни амалга оширувчи тегишли ташкилотлар ташкил этилса мақсадга мувофиқ бўлар эди.

22.6. БИОТЕХНОЛОГИЯ ВА БИОМУҲАНДИСЛИКДА СТАНДАРТЛАШ

Мамлакатга киритилган ёки шу мамлакатда ишлаб чиқарилган, шу жумладан, генетик модификация қилинган организмлар иштирокида ишлаб чиқилган ёки улардан олинган маҳсулотларни тайёрлаш ва сотувга қўйиш, албатта стандартлаштирилган бўлиши шарт.

Россия Давлат стандарти “Генетик модификация қилинган манбалардан озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш ва сотиш муаммолари” номли давлат дастури зарурлиги ҳақидаги таклиф билан чиқди. Бу ҳужжатни асосий вазифаси ген модификацияси орқали ишлаб чиқарилган озиқа маҳсулотлари ва хом ашёлари сифатини ҳамда генетик хавфсизлигини стандартлаштириш ҳужжатлари, ишлаб чиқаришни назорат қилиш, синов, сақлаш ва сотиш усуллари, шарт-шароитларини белгилаб берувчи тегишли меъёрий ва меъёрий-услубий ҳужжатлар орқали таъминлашни белгилаб беради.

Россия Давлат стандарти бу соҳадаги илмий изланишларнинг асосий устивор йўналиши “Генетик модификацияланган маҳсулотларни стандартлаш концепцияси” бўлиши керак деб ҳисоблайди. Концепциянинг асосий мазмуни меъёрий ҳужжатлар, синов усуллари ва услубларига

ўзгаришлар киритиш, уларга генетик софликни аниқлаш, маркировка қилиш ишлари бўйича қўшимчалар лозимлиги кўрсатиб ўтилган.

22.7. БИОТЕХНОЛОГИЯ ВА БИОМУҲАНДИСЛИКНИ РИВОЖЛАНТИРИШ БЎЙИЧА ОЛИБ БОРИЛАЁТГАН ИШЛАРГА ЖАҲОН ҲАМЖАМИЯТЛАРИНИНГ ҚАРАШЛАРИ

Европа иқтисодий ҳамжамиятининг (ЕЭС) бир қатор мамлакатларида, биотехнологияга, айниқса, генетик модификация қилинган организмлар яратишга нисбатан салбий қарашлар пайдо бўлган. Европарламент ва ЕЭС ҳукумати генетик модификация қилинган ўсимликларни яратишни чеклаб қўйиш, ҳатто бундай ишларни тақиқлаб қўйиш бўйича махсус ҳужжатлар қабул қилганлар.

Шундай бир вақтда, АҚШ, Буюк Британия, Франция ва Шарқий Европа мамлакатларида бу соҳани янада тезроқ ривожлантириш бўйича қатор ҳужжатлар қабул қилинган ва уларни ҳаётга тадбиқ этиш бўйича Давлат дастурлари қабул қилиниб, унга катта миқдорда маблағлар ҳам ажратилган.

Россияда ген муҳандислик фаолиятини бошқариш бўйича қонун ва қатор меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатлар қабул қилинган. Ген муҳандислик ишларига қарши турганлар орасида олимлар йўқ. Уларнинг кўпчилиги мухбирлар, сиёсатчилар ва ишбилармонлардир. Бундай ишларни зарарини кўрсатиб берадиган илмий асосланган фикрлар ҳам йўқ. Трансген организмлар муаммосига оид илмий асосланган башоратлар жамоатчилик томонидан бу масалага нисбатан салбий қарашлар охирлашиб бораётганлигига гувоҳлик қилмоқда.

Кўзга кўринган биотехнолог мутахассисларнинг фикрича бу масалага қаршилиқ қиладиган мамлакатлар иқтисодий инқирозга учрашлари аниқ, чунки дунё бўйича трансген организмлардан олинадиган маҳсулотларни миқдори йилдан-йилга ошиб бормоқда ва ошиб бораверади ҳам, биотехнология фани ривожланмаган мамлакатлар эса бу маҳсулотларни валютага сотиб олишга мажбур бўлмоқдалар.

Инсонларни ва ҳатто баъзи-бир мамлакатларнинг биотехнологияга, айниқса, трансген организмларга бўлган муносабатлари нима учун қарама-қарши эканлигини тушунтириб, Нобел мукофоти совриндори “Яшил революция” нинг муаллифларидан бири, Техас университети Халқаро қишлоқ хўжалиги кафедраси профессори *Норман Берлаук* шундай дейди:

“Баъзи бир мамлакатларда нотўғри ахборотга эга бўлган, атроф муҳитни муҳофаза қиладиган кишилар чуқур тушунмасдан туриб, фан ва технологияга ҳужум қиладилар. Бундай одамларнинг фикрича қишлоқ хўжалигида юқори ҳосилдор технологиялар жумладан, генетик модификация қилинган ўсимликлардан олинадиган маҳсулотлар уларни истъеомол қилган кишиларни гўёки заҳарлар эмиш.

Ўз-ўзидан савол туғилади, нима учун кўпгина бир кўринишда “саводхон” бўлиб кўринган кишилар фанга нисбатан саводсизлик кўрсатадилар? Балки, бундай кишиларда фан, айниқса тез ривожланиб бораётган фан техника ютуқлари олдида қандайдир қўрқув ҳисси пайдо бўлади.

Биз бундай боши берк кўчадан чиқишимиз лозим. Биз дунёда тез орада тўпланадиган 10-11 миллиард одамларни боқиш йўлини топмоғимиз керак. Бундай инсонларнинг кўпчилиги, балки, шу жумладан, биз билан яшаб турган кишиларнинг кўпчилиги камбағалчиликдан ҳаётларини бошлагандирлар.

Бугунги кунда бизнинг авлодимиз 10 миллиард инсонни боқишга мўлжалланган технологияни яратганлар ёки уни яратишга жуда ҳам яқин турибдилар. Бугунги куннинг энг долзарб масаласи, яратилган технологиялардан фермерлар фойдалана оладими йўқми деган масала”.

Бу сўзларни хитоб қилган *Норман Берлаук* биринчи навбатда озиқ-овқат ва қишлоқ хўжалик биотехнологиясини ҳисобга олган эди.

Дарҳақиқат, бугун инсонларни кўпчилиги трансген ўзадан олинган пахтадан кийим кийиб, трансген соя, буғдой, лавлаги ва бошқа қатор ўсимликлардан олинадиган озиқ-овқат маҳсулотларини (ёғ, оксил, углевод ва ҳ.к.) истеъмол қилсаларда, шу туфайли касалланган ёки зарар кўрган инсонларни мисол қилиб кўрсата оладиган, илмий асосланган кўрсаткичлар йўқ.

Шундай экан, фан, айниқса бутун Сайёрамиз инсонлари умид билан қараётган биотехнология фанини, айниқса озиқ-овқат биотехнологиясини ривожлантириш ва унинг ютуқларини ҳаётга тадбиқ этиш йўлида бош қотириб, хизмат қилишимиз лозим.

НАЗОРАТ САВОЛЛАРИ

1. Хавфсизлик деганда қандай тушунчаларга эгасиз?
2. Биологик хавфларга қандай омиллар сабаб бўлиши мумкинлигини изоҳлаб беринг?
3. Хавфсизликнинг асосий принципларига изоҳ беринг?
4. Биотехнологиянинг ҳарбий бўлмаган хавфсизлик аспектларига ижобий таъсирлардан нималарни биласиз?
5. Генетик хавф ҳақида нималарни биласиз?
6. Ривожланган мамлакатларда ГМО лардан фойдаланиш ва уларни ишлаб чиқариш масалалари бўйича қандай маълумотларни биласиз ва унга сизнинг муносабатингиз?
7. Биохавфсизликни таъминлаш учун нималарга эътибор қаратилиши ва амалга оширилиши лозим бўлган асосий ишларга нималар киради?
8. Ген муҳандислиги, ГМО ва улардан олинадиган маҳсулотлар устидан давлат назорати қандай бўлиши лозим?

9. Биотехнология ва биомухандисликда стандартлаш ва патентлаш юзасидан қандай маълумотларни биласиз?
10. Биотехнология ва биомухандисликни ривожлантириш бўйича олиб борилаётганишларга жаҳон ҳамжамиятларининг қарашларини изоҳлаб беринг.

АДАБИЁТЛАР:

1. Наука и безопасность России. М: Наука. 2000г.
2. Филимонов П.И. О национальной безопасности и пути державного возрождения России. М.: 2000.
3. Шевулуха В.С. Биотехнология и безопасность // Природно-ресурсные ведомости. № 25 (80) 2001.
4. Медико-биологическая оценка пищевой продукции, полученной из генетически модифицированных источников методические указания. МЗ России. М.: 2000.
5. Федеральный Закон «О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности» Российская газета. Июль 1996. № 86-93.
6. Transgenic plant world agriculture. Information note. Plant varieties and skeds. 13. 2000.
7. Борлауг Норманн Е. Зеленая революция вчера, сегодня и завтра / Экология и жизнь. № 4 (21) 2001.

23. БИОТЕХНОЛОГИЯ ВА ТАЪЛИМ

23.1. БИОТЕХНОЛОГИЯ СОҲАСИДА МАЛАКАЛИ КАДРЛАР ТАЙЁРЛАШ ТАРИХИ, БУГУНИ ВА ИСТИҚБОЛЛАРИ

Биотехнология изланишларни ривожланиши, уларни ишлаб чиқаришга тадбиқ этилиши ва биотехнологиянинг бошқа тармоқларида рўй бераётган юксалишлар натижасида юқори малакали кадрларга эҳтиёж сезилиб қолди. Бу муаммони дастлаб биологиянинг ҳар хил соҳаларидан (микробиология, генетика, молекуляр ва ҳужайра биологияси, энзимология, ҳужайра физиологияси, иммунология, фармакалогия ва ҳ.к.) кадрларни таклиф қилиб ечишга ҳаракат қилинди. Булардан ташқари бу соҳага муҳандис кадрлар, хусусан: муҳандис (инженер) кимёгар, биокимё муҳандиси ҳатто агрономлар ҳам таклиф қилинди.

Кўрсатиб ўтилган мутахассислар илмий лабораторияларда янги ихтисослик асосларини ўрганишга ўқидилар; оқибатда кимёгар-муҳандис биокимёни, микробиологлар эса тиббиёт учун зарур бўлган препаратларни катта масштабларда ишлаб- чиқариш техникаси ва жараёнларини ўрганиб олишга эришди. Биринчи биотехнологик компанияларни илмий текшириш бўлимлари бошида энг йирик олимлар, жумладан, Нобел мукофоти совриндорлари турдилар. Бу фаолиятни олимлар университетлар лабораторияларида илмий изланишлар олиб бориш, кафедраларда маърузалар ўқиш билан бирга олиб бордилар. Йирик компаниялар орасида энг яхши мутахассислар ва олимларни таклиф қилиш бўйича очик рақобатлар бошланди.

1981 йилнинг октябр ойини охирида Буюк Британияда илмий ва муҳандислик текширувлар кенгашида янги директорат ташкил этилди. Кенгашни асосий вазифаси қилиб, ишлаб-чиқариш билан биотехнология соҳасида ишлайдиган академик институтлар орасидаги алоқани кучайтириш масаласи қўйилди. Кенгашни яна бир вазифаси ҳар хил сабабларга кўра мамлакатни тарк этиб кетаётган англиялик олим ва мутахассисларни сақлаб қолиш деб белгиланди. Директоратнинг ташкил бўлиши, йирик олим Спиксни “Янги ишлаб-чиқариш технологияларини яратишда малакали муҳандис кадрларни тайёрлаш қийинлиги ҳақида” номли маърузасини тайёрлаб топширишни тезлаштирди.

Гап шундаки, дастлаб микробиологлардан фарқли ўлароқ, муҳандислар биотехнология соҳасида ишлаш таклифига унчалик қизиқиш билан қарамас эдилар. Шунинг учун ҳам янги ташкил бўлган директорат англиялик мутахассислар ва муҳандисларни фаолият кўрсатишлари учун имтиёзли имкониятлар яратиб беришни, иложи борича чет эл компанияларида ишлайдиган англияликларни ҳам мамлакатга таклиф қилиш ўринли эканлигини тушунтириб бера олдилар.

Кадрларни мамлакатдан чиқиб кетиши қироллик жамиятини ҳам безовта қилган эди. Жамиятнинг ишчи гуруҳи 1980-1990 йилларда Англия биотехнологияси учун қўшимча 1000 нафар олий маълумотли мутахассис ва 4000 муҳандис кераклигини асослаб, махсус маъруза эълон қилди. Бу жамиятни фикрича, бакалаврлар учун биотехнологиядан махсус курс ўқитиш, магистрлар учун қўшимча ўқитишни сақлаб қолиш, бунда кўпроқ биология ва муҳандис кимёгар мутахассислар тайёрлаш бўйича фанларга эътибор бериш масалалари кўрсатиб ўтилган эди. Қироллик жамияти Спинксни маърузасидаги Англия университетларида энг камида 20 та янги ўқув-изланиш марказлари ташкил этиш ҳақидаги фикрларини мақуллади.

1978 йилда Францияда биотехнология муаммолари билан ишлайдиган бор-йўғи 200 нафар мутахассис бор эди, холос. Мамлакатда малакали мутахассислар тайёрлаш орқали, АҚШ ва Япония мамлакатлари билан бўлган рақобатни муваффақиятли енгиб ўтиш учун чора тадбирлар ишлаб чиқиш имконияти яратилди. Бу интилишлар бекорга кетмади, бугунги кунда Франция фундаментал тадқиқотлар ва улар асосида биотехнологик жараёнлар яратиш бўйича Европада етакчи ўринда турибди. Хаттоки баъзи-бир муҳандислик мактабларида, биоиндустриянинг гуркираб ривожланишига асосий сабаб, биотехнологик курсларни ташкил этилиши бўлди. Бундан ташқари, мамлакатда ихтисослашган марказлар ташкил этилди. Масалан, Тулузадаги амалий изланишлар бўйича Миллий институт, Компьендаги технологик университет, Лиллдаги миллий олий саноат мактаби (у агрономик изланишлар миллий институти билан ҳамкорликда фаолият юритади) шулар жумласидандир.

Германияда Берлин, Геттинген, Тюрингенда фаолият кўрсатиб келган умумий ва амалий микробиология лабораторияларидан ташқари, 1974 йилдан бошлаб, янги институтлар ва университетлар қошида бўлимлар ташкил этила бошланди. Бундай марказлар Мюнстер, Хогенхейм, Бохум ва Зиген шаҳарларида ташкил этилди. Марказлар фаолияти асосан биотехнология муаммолари билан шуғулланадиган илмий ва техник ходимлар тайёрлашга йўналтирилган эди.

Кадрларни олдиндан режалаб қўйиш албатта ўзига хос қийинчиликлар туғдирди. Бунга асосий сабаб, биотехнология янги соҳа бўлганлиги, унинг йўналишларини олдиндан белгилаш имконияти йўқ эди. Бу масалада нафақат тайёрланажак ходимларнинг сонини ошириш, балки, доимий равишда ўзгариб турадиган шароитга кадрларни ўз вақтида мослана олиши билан ҳам боғлиқ эди.

Мана шундай ўзгариб турадиган шароитга тезкорлик билан олий даражада мослашиш Японияга хос бўлди. Чунки бу мамлакатда, инсон фаолиятини нақадар хилма-хиллиги, компанияларни ривожланиш қонунлари устиворлиги, озиқ-овқат саноатидан фаолият кўрсатиб турган етакчи илмий ва мутахассис ходимларни янги соҳа бўлган - микробиология саноатига кириб келишини таъминлай олди. Бу мамлакатда ҳозиргача олий ўқув юртларида таълим олаётганларни кўпчилигини

микробиология ва энзимология бўйича мутахассислар ташкил этади. Шунинг ҳам айтиб ўтиш лозимки, Япониянинг Киото, Осака ва Токио шаҳарларида бу соҳа муаммолари бўйича 1910-1920 йиллардаёқ шуғулланиш бошлаб юборилган эди. Япониядаги университетлар билан саноат компаниялари орасидаги узвий боғлиқлик туфайли, 1981 йилга келиб, бу мамлакатда 12000 дан кўпроқ олий маълумотли микробиологлар тайёрланган эди. Улардан 70 фоизи хусусий биотехнологик фирмаларда, 20-25 фоизи университетларда ва хусусий илмий текшириш лабораторияларда фаолият кўрсатсалар, 10-15 фоизи эса ҳукумат институтларида (1970-1980 йилларда Япониядаги илмий ходимларни умумий сони 158000 дан 272000 га кўтарилган ёки 72% га ошган) хизмат қилар эдилар.

АҚШда биологияни ўқитиш қуйидагича ташкил этилган: талаба, асосий курсни ўтиб бўлганидан кейин ёки тиббиёт ёки шаклцевтика саноати бўйича ихтисослашган курсларда таълим олишлари мумкин. Шунингдек, бир соҳадан иккинчи соҳага ўтишга ҳам рухсат этилган. Бунинг устига олий таълим билан саноат кундан – кунга яқинлашиб бораётганлиги сабабли, ўқиш давомида талабалар ўзига маъқул йўналишни танлаш имкониятига ҳам эга бўладилар. Шунга қарамасдан, мамлакатда ферментацион жараёнларни илмий ишлар даражасидан, ишлаб-чиқаришга тадбиқ эта оладиган даражага кўтара оладиган инженер-биокимёгарлар сони жуда ҳам кам.

Ихтисослашган компанияларда биологларни сони инженерлар сонига қараганда жуда ҳам кўпчилиكنи ташкил этади. 1980 йилгача АҚШда биотехнологлар тайёрлайдиган курс бўлмаган. Шунинг учун ҳам бу мамлакатда дунёни ҳар томонидан таклиф этилган етакчи олимлар ва мутахассислар шартнома асосида фаолият кўрсатадилар. 1981 йилдан бошлаб баъзи-бир университетлар, шулар жумласидан Балтимор университети ҳам бўлажак магистрлар дастурига биотехнология дарслиги асосида ўқитишни киритишди.

Малакали кадрлар тайёрлаш илмий ходимлар ва инженерлар тайёрлаш билан чегараланиб қолмади. Булар қатори, биотехнологик жараёнларда ишлатиладиган асбоб-ускуналарни ишлатишдан бошлаб, уларни янги конструкцияларини ярата оладиган техник маълумотга эга бўлган ходимлар ҳам керак. Айнан шундай мутахассисларнинг малакаси, кенг маънода биотехнологик жараёнларнинг ривожланиши ва унинг истиқболларини белгилаб беради.

23.2. УНИВЕРСИТЕТЛАР БИЛАН ИШЛАБ-ЧИҚАРИШ КОРХОНАЛАРИ ОРАСИДАГИ ЯНГИ МУНОСАБАТЛАР

Ривожланган мамлакатларда биотехнологиянинг ривожланиши илмий даргоҳлар билан ишлаб-чиқариш орасида янгича муносабатлар бўлиши зарурлигини таққоза қилди. Бу эса, ўз навбатида академик институтларни вазифалари, уларнинг тутиши лозим бўлган ўрни ва уларни бизнес оламига

бутунлай қарам бўлиб қолмасликлари ҳақида мунозаралар олиб боришни келтириб чиқарди.

Мунозараларда бир-бирига қарама-қарши фикрлар, яъни узвий алоқалардан бошлаб, фаолият доирасини аниқ ажратиб олишгача бўлган фикрлар айтилди.

Мана шунинг учун ҳам, энди ривожланиб келаётган саноат тармоғида ишлаш учун кўзга кўринган олимлар таклиф қилинган эдилар. Натижалар ишлаб-чиқариш билан академия оламини симбиозда фаолият кўрсатиши ҳар иккала тармоқни ривожланиши учун ҳам фойдали эканлигини кўрсатди. Нима бўлганда ҳам, ишлаб-чиқариш билан фундаментал фан орасида қандайдир оралиқ бўлиши шарт, чунки фаннинг ривожланиши ўзининг ички мантиғига эга бўлиб, ўзига хос динамикага эгадир. Бошқача қилиб айтганда, фан муаммолари фақатгина ишлаб-чиқариш талабларидан келиб чиқмаслиги керак. Шунинг билан бирга илмий изланишлар фанни ўзи аниқлаган, уни қизиқтирган масалалардан бошлаб, ташқаридан келадиган вазифаларни ҳам ечадиган ҳолатда бўлмоғи лозим ва унинг ривожланиши мана шу мақсадга йўналтирилган бўлиши керак. Биотехнология мана шундай мураккаб вазифаларни мувоффиқиятли ечиш имкониятини яратади.

Иккинчи жаҳон урушигача америкалик олимлар ўзлари яратган патентларини ўз хоҳишларига қараб ишлатиш ҳуқуқига эга бўлсаларда, устиворлик янгилик яратилган институтга кўпроқ имтиёз берилар эди. Бу фикрни тасдиғи учун қуйидаги мисолларни келтириш мумкин: 1970 йилда Берклидаги Калифорния университетининг физикавий-кимё мутахассислиги бўйича профессори Коттрелл «Дюпон» фирмасининг кимё заводлари оқава сувларини тозалаш усулини яратган эди. Олим мана шу янгилик бўйича барча ҳуқуқларни Калифорния университетига бермоқчи бўлганида, қандайдир сабаблар билан бу мақсад амалга ошмасдан қолди. Ўшанда профессор Коттрелл университетини қолдириб, ўзларини илмий ғояларини ишлаб-чиқаришга тадбиқ этмоқчи бўлган олимларни хизматини қиладиган илмий текшириш корпорацияси ташкил қилди ва ўзи яратган патентни бу корпорацияга топшириб, Гарворд, Станфорд, Калифорния университетлари ҳамда Массачусетининг технология институти билан қуйидагича шартнома тузди: «университетлар ўзларида яратилган патентларини ўзлари хоҳлаган корпорацияга берадилар ва улар патентларни ишлаб-чиқаришга жорий қилинишдан келадиган даромадга шерик бўладилар».

1945 йилга келиб, 50 дан ортиқ институтлар кенг миқёсли ракета қурилишидан, витаминлар синтезигача бўлган илмий лойиҳалари учун ёрдам маблағ (субсидия) олишга эришдилар. Яна бир мисол: Висконсин университети биокимё факультети, профессори Стинбок таркиби Д витамини билан бойитилган озиқа маҳсулотларини тайёрлаш бўйича патент яратди. Олим ўзи яратган патентдан келиб тушган маблағни бир қисмини университетга бериш истагини билдирди. Стинбок яратган

янгилик, маргарин тайёрлаш учун ўта зарур бўлиб, шу патент асосида тайёрланган янги маҳсулот ўзининг сифати ва хусусиятлари бўйича сариёғдан ҳам баланд турар эди. Шунинг учун ҳам патентдан фойдаланиш тобора кенгайиб кетди. Бу янгиликни ишлашнинг назорат қилиш учун махсус фонд – «Висконсин алюминий рисола фонд» ташкил этилди. Фонднинг 1930 йилда топган бир йиллик тоза фойдаси 100000 АҚШ долларига тенг бўлди. Келиб тушган маблағ ҳисобидан биокимё факультети кенгайди. 1951 йилга келиб, америкалик биохимикларнинг 30% ни Висконсин университетини тугатган мутахассислар ташкил этар эди. 1981 йил фонд университетда, фундаментал тадқиқотларни қўллаб - қуватлаш учун 100 млн. доллар маблағ ажратди. Бу маблағ университетни бошқа саноат корхоналари билан алоқа қилиш имкониятларини янада кенгайтди. Оқибатда Висконсин университети М.Эдисон марказидаги ўзига тегишли ерда хусусий фирмаларни буюртмаларини бажарувчи илмий текшириш лабораторияси куриб ишга туширди.

Америкалик олимларнинг университетларда ўзлари яратган янгиликларини ишлаб-чиқаришга жорий қилиш орқали қўшимча ҳақ олишни ҳар хил йўллари бор. Америкадан фарқли ўлароқ (Англияда патент эгалари ўзлари яратган янгиликларни ишлаб чиқаришга жорий қилиш учун илмий изланишларни ривожлантириш бўйича миллий корпорация(ҳозир бу корпорация Британиянинг технология гуруҳига қўшилиб кетган)га мурожат қилишга мажбур). АҚШда янгилик яратган олимлар бевосита корпорациялар билан шартномалар тузиш имкониятига эгадир. Американинг йирик университетлари, масалан Станфорд ёки Лос-Анджелесдаги Калифорния университети ўз штатида юқори малакали юристлар сақлайдилар. Юристларнинг вазифаси шартномаларни тўғри тузиш, айниқса кўпроқ фойда келтирадиган ишланмалар асосида шартномалар тузилганда, йилма-йил қандай қўшимчалар олинишини аслия нуқтаи-назаридан тўғри ташкил қилиб беришдир. АҚШда федерал бюджетдан молиялаштирилган ҳар қандай изланишлар натижасида келтирилган фойдадан қўшимча даромад олиш конгресс томонидан рухсат этилган.

Давлат томонидан молиялашни камайтирилиши, университетларни бошқа молия манбаларини ахтаришга мажбур қилди. Бундай манбалардан энг яқини ишлаб-чиқариш фирмалари эди. Америка давлатининг ҳукумати бундай яқинлашишга эътироз билдирмаган бўлсада, олимларнинг фикри бу масалада ҳар хил бўлиб чиқди. Масалан, «Биоген» компаниясининг директори Вейсманнинг фикрича у бошқараётган Цюрих университети генетика факультетининг интерферон ишлаб-чиқариш бўйича дастлабки ген муҳандислиги ишларининг мустақил олиб бориш имкониятлари бор, аммо бу ишнинг саноат миқёсида йўлга қўйиш учун албатта «Биоген»га ўхшаган йирик биотехнологик компанияларнинг миллион долларлаб ёрдами керак бўлади. Коэн таъкидлаганидек, бунга ўхшаш ҳамкорлик керак албатта, аммо битта компанияга муҳтож бўлиб қолмаслик учун университетлар бир

неча компаниялар билан алоқа қилишлари керак. Рокфеллер университетининг профессори Циндер университет фанини ҳар қандай ишлаб-чиқариш корхона ёки компаниялари томонидан молияланишига танқидий фикр билдирди. Унинг ўхшатишича *“ҳамкорлик асосида олинган маблағ бамисоли вирусга ўхшайди, у аввало ўз хўжайинини семиртиради, оқибатда ўлимга олиб келади”*.

Олимлар билан ишлаб – чиқариш компаниялари орасидаги ҳамкорлик қатор муаммоларга олиб келишини ҳам инкор этиб бўлмайди. Энг аввало бу илмий изланишлар натижасини яшириш (сир сақлаш), устиворлик учун кураш, фундаментал тадқиқотлар ва ишлаб-чиқариш бўйича фаолият кўрсатадиган ходимлар орасида келишмовчилик, уларни маошлари орасидаги тафовут, уларни ёрдамчи студентлар билан таъминланиши бўйича фарқ ва ҳ.к.

«Говорд Хьюз медикал институт» томонидан ҳомийлик қилиниб турилган Сан-Францискодаги Калифорния университетининг генетика факультетини бўлиниб, кетиши бунга яққол мисол бўла олади. Шу университет профессори Ямамотонинг фикрича бундай ҳодисалар факультет учун жуда катта салбий таъсир кўрсатиши муқаррар, чунки ҳар қандай илмий изланишлар, ғоялар ва тажриба натижалари эркин, озод ўртага ташланиб, муҳокама қилингандагина бойийди ва ўз мақсадига етиб боради.

Келтириб ўтилган далиллар қайтарилмаслиги учун Гарвард университетида низо комиссияси тузилган. Комиссия, ходимларни четдан келадиган буюртмачилар олдидаги фаолиятини очиқ-ойдин кўрсатиш лозимлигини, бу фаолият учун иш вақтининг 20% ини сарфлаши кераклигини маълум қилган. 1980 йиллар ўрталарида Гарвардда ген муҳандислиги бўйича университетда қилинган ишларни яратилган янгиликларни ишлатиш бўйича махсус компания тузиш зарурлиги масаласи кўриб чиқилди. Бундай таклиф билан фибробластли интерферонни клонлашни янги усулини яратган (Канагуши билан ҳамкорликда *E.coli* дан экспрессия қилиш орқали клон ажратиб олган), биокимё ва молекуляр биология бўйича профессор Пташне чикди. Пташне ўз фикрини Гарвардга кўшимча маблағ зарурлиги билан ҳамда ўзининг касбдоши Нобель мукофоти совриндори Уолтер Гилбертни «Биоген» компаниясини ташкил қилишда қатнашганлиги, бу компания энг йирик ишлаб-чиқариш базасига айланиб кетганлиги билан асослади. Аммо, Гарвард университети президенти бу фикрни маъқулламади ва шу туфайли компания очилмасдан қолди.

Америка тарихида бундай мисоллар кўплаб учрайди. Нима бўлганда ҳам бу мамлакат биотехнология соҳасида ҳам энг йирик мамлакат бўлиб қолди.

23.3. ТИРИК МИКРООРГАНИЗМЛАРНИ ПАТЕНТЛАШ МУМКИНМИ?

АҚШ нинг патент тўғрисидаги қонуни Томас Джефферсон томонидан ишлаб чиқилган бўлиб, ҳозиргача катта ўзгаришларга учрагани йўқ. Бу қонунга асосан, патентга асос бўлиб, ҳар қандай янги ва фойдали жараёнлар, машиналар ёки фабрикада чиқадиган маҳсулотлар хизмат қилишлари мумкин. 1930 ва 1970 йилларда Америка конгресси маданий ўсимликларни ҳар хил турларини янгиларини патентлаш тўғрисида қонун лойиҳасини қабул қилган. 1980 йил июнда АҚШ олий суди ҳукми қуйидагиларга асосланган эди: патентлаш учун манбаларни тирик ёки тирик эмасга бўлиш эмас, балки уларни инсонларни ихтирочилик фаолияти натижасида яратилган табиий маҳсулотларга ажратиш керак дейилган. Чакрабартти ажратган бактерия олий суднинг кўпчиликлари аъзоларининг фикрича, инсонни мақсадга йўналтирилган фаолияти натижаси бўлганлиги учун ҳам у патентга лойиқ деб топилди. Шунинг ҳам эслатиб ўтмоқ лозимки, бу микроорганизмлар учун берилган дастлабки патент эмас эди (биринчи патент 1873 йил Луи Пастерга пиво ачитқилари учун берилган). Судни бу ҳукмига норози бўлганлар ҳам бўлган. Уларни фикрича гуёки тирикликни патентлаш мумкин эмас эмиш. Олий суд ҳукмига танқидий нуқтаи назар билан қарашни асосий сабаби, микроорганизмларни патентланиши ген муҳандислиги усулларида коммерция учун фойдаланиш тезлашиб кетишидан ҳавотирланиш билан боғлиқдир.

Баъзиларда Олдос Хаксли баён қилган *“Ажойиб янги дунё яқинлашиб қолганлиги, бу дунёда қонунлар ҳимоясида, илмий лабораторияларда ҳаётни ҳар хил ўзгаришларга олиб келиши муқаррар”* - деган фикрлардан кўрқинч ҳисси ётса, бошқаларда олий суд, тирикликга енгилтаклик билан қараганлиги, ҳаётга физик–кимёвий жараён сифатида қарайдиганларнинг фикрларига қўшилганлигидан норозилик пайдо бўлган эди.

1946 йилда физикадан Нобел мукофоти совриндори Шрёдингер *“биологик материя бошқа барча шаклдаги материялардан фарқ қиладиган хоссаларга эга”* - деган эди. Молекуляр биология фанини ривожланиши, генетик тизимда ахборот узатишни чуқур ўрганилиши, бу фикрни қанчалик тўғри эканлигини кўп марта баҳолаб исбот қилди.

Аммо, АҚШнинг патент хизматини Олий суд ҳукми билан боғлиқ бўлган бошқа бир нарса қизиқтирар эди, у ҳам бўлса патентланадиган микроорганизмларни қандай характерлаш лозим: ўсиш шароитлари, метаболик хоссалари ёки синтез қиладиган маҳсулотлари асосидами? Ўз-ўзидан пайдо бўлаётган ёки ташқи таъсир натижасида ҳосил бўладиган, қандай қилиб бўлса ҳам микроорганизмларни фойдали хусусиятларини ўзгартирадиган мутацияни қандай қилиб ҳисобга олмоқ керак? Патентланадиган микроорганизмларни мутлақо янги эканлигига, улар аввал патентланмаганлигига ким жавоб беради? Бу саволлар нафақат АҚШ

Патент хизматини, бошқа мамлакатларни ҳам қизиқтириб келган ва ҳозир ҳам шундайлигича қолмоқда.

1973 йилдаги Мюнхен конвенциясига асосан патент ҳуқуқига кўпгина муҳим ўзгартиришлар киритилган. 1978 йил 1 июнда бу конвенцияни Европанинг 11 мамлакати ратификация қилган ва ундан кейин қатор ривожланган мамлакатлар мана шу конвенция асосида ўз патент қонунларини яратганлар.

Ўзбекистонда ҳам мустақилликка эришгандан кейин бу соҳада анчагина ижобий ишлар қилинди. Мамлакат мустақил патентлаш муассасасига эга. Микроорганизмларни янги штаммларини, шу жумладан ўз-ўзидан ёки мутаген факторлар таъсирида пайдо бўлган, хусусиятлари ўзгарган штаммларни патентлаш йўллари ҳам ишлаб чиқилган. Бунинг учун штаммни хусусиятларига қараб, уларни сақлаш имкониятларига ёки ҳуқуқларига эга бўлган институтларга барча керакли ҳужжатлар билан бирга топширилиб, бу ҳақда маълумотнома тегишли ҳужжатларга қўшиб патент бюросига топширилгандагина, бу илтимоснома кўриб чиқилади.

Патентлаш алоҳида фан бўлганлиги сабабли юқорида биз биотехнологияга оид баъзи мисоллар келтириш билан чегараландик. Бу соҳа билан қизиққан талабалар учун ушбу бобни охирида махсус адабиётлар рўйхати келтирилган. Улардан ҳамда интернет тармоғини патент янгиликлари қисмидан фойдаланиш орқали барча қизиқтирган саволларга жавоб топилади деган умиддамиз.

Биотехнологияни ривожланиши натижасида яқин келажакда амалга оширилиши лозим бўлган энг долзарб масалалар қуйидагилардан иборат:

- ✓ *озик-овқат ва озиқа маҳсулотлари ишлаб чиқаришда барча зарурий талабларга жавоб берадиган биотехнологияларни ишлаб чиқиш ва амалиётга жорий этиш;*
- ✓ *зараркунанда хашаротлар ва касалликларга, сувсизлик ва шўрга чидамли, эртапишар, серҳосил, азотфикация қилиш хусусиятига эга бўлган ва бошқа қатор нодир хусусиятларга эга бўлган янги ўсимликлар яратиш;*
- ✓ *баъзи бир генетик касалликларни даволашда (масалан, ўроқсимон – ҳужайра ва анемияси) ген терапиясидан фойдаланиш;*
- ✓ *нефтехимикатларни ўрнини боса оладиган маҳсулотлар синтез қиладиган бактериялар яратиш;*
- ✓ *герантология (организмнинг тузилиши ва умрни узайтириш муаммолари билан шугулланадиган фан) ни янада ривожланиши;*
- ✓ *иммунология жараёнларини янада чуқурроқ тушуниш ва ҳ.к.*

Адолат нуқтаи назаридан шуни таъкидлаш лозимки, баъзи бир ишланмаларни лаборатория шароитидан ишлаб-чиқаришгача ўтиши шубҳасиз бажарилиши мумкин бўлган масалалардир. Ривожланиб келаётган мамлакатлар учун, жумладан бизнинг мамлакатимиз учун ҳам биоэнергия (метан, этанол, ацетон ва ҳ.к), чиқиндиларни ферментация орқали қайта ишлаш, вакциналар чиқаришга ўхшаш биотехнологияларни

жорий қилиш унчалик кўп маблағ сарф қилмасдан, катта даромад берадиган жараёнлар сирасига киради. Бошқа соҳаларда, масалан, фармацевтика соҳасидаги ишлар кўпроқ вақт (узоқ вақт синаш жараёнини ўтиши сабабли) ва катта маблағ талаб қилади. Мисол тариқасида АҚШда бир дона фармацевтика препаратини патентлаш учун 3 йилдан 8 йилгача вақт кетади. Чунки, соғлиқни сақлаш соҳасида ишлатиладиган препаратларга қўйиладиган талаблар йилдан-йилга мукаммаллашиб бормоқда.

Интерферон мисолида янги биотехнологик жараёнларни тиббиётга тадбиқ этишда қанчалик қийинчиликларга тўғри келишни кўрсатиб ўтиш мумкин. 1980-1982 йилларда турли мамлакатларда бу препарат шишга қарши восита сифатида синаб кўрилганда, қатор камчиликлардан холи эмаслиги сезилиб қолди. Баъзи бир олимларни қизиққонлик билан тезлатиб чиқарган фикрига қарши ўлароқ соғлиқни – сақлаш органлари биров шомасдан иш тутишга чақирди. Узоқ давом этган муҳокамалар натижаси сифатида ҳеч қандай триумф (тантана) га ўрин йўқлиги, шу йўлда энг каттиқ шароитда, чуқур кузатишлар ва текширишлар орқали олинган натижалар асосидагина фикр қилиниши лозимлиги айтиб ўтилди. Бу препаратни синов жараёнида қатор муаммоларга дуч келинди:

Биринчидан, *препаратни жуда ҳам қимматлиги (ишлаб – чиқариладиган интерферон миқдорини камлиги билан тушунтирилди) алоҳида касалларни даволашга тўсқинлик қилди ва шу туфайли катта, кенг ҳажмда назорат тажрибалари ўтказишда қийинчилик туғдирди. Масалан, 1978 йилда Финляндиянинг барча лабораторияларида ишлаб-чиқарилган интерферон миқдори бор йўғи 0,1 г ни ташкил этган эди. Бу миқдор атиги 200 нафар вирус билан сурункали оғриб турган касални даволашга етар эди, холос. 1980 йилда бутун дунёда интерферон билан даволаниб турган онкологик беморларни умумий сони 150 нафардан ошмас эди. Агар рақни даволаш учун 500 млн.дан – 1 млрд гача бирликдаги интерферон зарурлигини, ҳар бир беморни даволаш учун фақатгина интерферон учун 20000 дан 40000 гача америка доллари керак бўлишини ҳисобга олинса, ҳар қандай беморда ҳам бундай препаратдан фойдаланиш имконияти йўқлиги яққол намоён бўлади.*

Иккинчидан - *онкологик касалликларни интерферон билан даволашда тез-тез салбий натижалар кузатиб турилгани, бу препаратни фақатгина тажриба препарати деб қарашга, ҳамда у билан даволашни ихтисослашган касалхоналардагина катта назорат остида олиб бориш заруриятини тақоза қилди. Интерферон оддий препарат эмас, бу ном тагида қатор моддалар ётганлиги, улардан бир нечтасигина тўлиғича ўрганиб чиқилганлигини ҳам эслаб қолиш зарур.*

Учинчидан - *интерферон ишлаб-чиқаётган ҳужайраларда, ҳамда шу ҳужайра ташқарисидан интерферонни физиологик вазифаси*

нималардан иборат эканлиги ҳозиргача тўлиқ ўрганилганича йўқ. Адолат нуқтаи назаридан интерферон эукариот ҳужайраларда вирус репликациясини бошқаришда маълум вазифаларни бажариши аниқланганлигини эслатиб ўтиш ўринли бўлади.

Интерферонни иккинчи даражали таъсири нималардан иборат эканлиги ҳам охиригача ўрганиб чиқилгани йўқ эди. Онкологик беморларни даволашда химиотерапияга нисбатан камроқ зарар келтириши аниқланган эди, холос.

Мана шундай шароитда соғлиқни-сақлаш органлари олдида танлов турар эди: ёки интерферонни ракка қарши препарат сифатида бозорга чиқаришга рухсат бериш ёки уни терапевтик таъсирини чуқурроқ ўрганиш. Яхшиямки, иккинчи йўл танланиб, унинг таъсир механизмини аниқлаш мақсадида қўшимча маблағ ажратилди.

Бундай мисолларни илмий адабиётларда кўплаб учратиш мумкин. Ўзбекларда “*етти ўлчаб, бир кес*” деган мақол бор. Фан ютуқларини ишлаб-чиқаришга жорий қилишда ҳеч ҳам шошма – шошарликга йўл қўймаслик керак. Ҳар томонлама, чуқур ўрганиш асосида қилинган фикрни, яратилган технология ёки препаратнинг умри боқий бўлади.

Фанда таваккалчиликка ҳеч ҳам ўрин йўқ. Хўш шундай экан, таваккалчиликни олдини олиш учун нималар қилмоқ керак?

Маълумки, ген муҳандислиги усуллари, оддий патоген (касал қўзғатувчи) микроорганизмларни манипуляция (ўзгартириш) қилишдан биров фарқ қилади.

Бунга асосий сабаб барча ген – муҳандислиги усуллари инсон ичагида фаолият кўрсатувчи, табиатда кенг тарқалган бактерия - ичак таёкчасида – *E.coli* асосида яратилган.

Шунинг учун ҳам янги яратилган штаммлар тез тарқалиб, жиддий оқибатларга олиб келиши муқаррар. Шунинг билан бирга барча бошқа техник янгиликлар каби, ген-муҳандислиги ҳам, ижобий ёки салбий натижаларга олиб келишини эсдан чиқармаслик лозим. Масалан, микроорганизмлар ёрдамида азот ютувчи генни бошоқлиларга ўтказиш, фақат фойда келтириши ҳеч кимда шубҳа уйғотмайди, аммо бундай микроорганизмларни тупроқда кўпайиб кетиши бошқа ўсимликларни ҳам ривожланиб кетишига олиб келади, бу эса ўз навбатида ҳам ўсимликлар орасидаги биологик мувозанатни, ҳамда ҳайвонлар орасидаги биоценозни бузилишига олиб келиши мумкин. Бошқа томондан, баъзи – бир биологик препаратларга бўлган нисбий тақчиллик (масалан, гормонлар) трансген микроорганизмлар ёрдамида кўплаб чиқрилиши мумкин, бу эса препаратлардан асоссиз фойдаланиш имкониятини яратади.

Бунинг оқибатида нима бўлади? Шундай таваккалчиликни олдини олиш мақсадида 1974 йилда кўпчилик олимлар ген муҳандислиги бўйича олиб бориладиган экспериментларни чегаралаш таклифи билан чиққан эдилар. Аммо, орадан кўп ўтмай 1975 йил феврилида Калифорниянинг Асиломар шаҳрида ўтган конференцияда 140 нафар илмий-изланувчилар

Ўзлари қабул қилган мораторияни бекор қилиш таклифини киритдилар. Ўшандан бошлаб, АҚШда бундай ишлар алоҳида назорат остида бўлса ҳам, тобора кенгайтирилиб келинмоқда.

23.4. ОДОБ ВА КАСБГА ОИД МУАММОЛАР

Биотехнология масалалари билан шуғулланувчи илмий-текшириш гуруҳлари, ҳамиша коммерция ва илмий нуқтаи – назарлар бир-бирлари билан чамбарчас боғланиб кетган рақобат атмосферасида яшаб ижод қиладилар. Фундаментал фан билан ишлаб-чиқариш ва коммерция ўртасида иккиланиб турадиган ҳолатни эгаллаб турган илмий ходимлар қатор муаммоларга дуч келадилар: бир томондан илмий ходимлар олган илмий натижаларини тезроқ чоп этишга интилсалар, иккинчи томондан улар патент доирасида олинган натижаларни сир сақлашлари зарур.

Шунинг учун ҳам ҳамкасблардан орқага қолиб кетмаслик мақсадида, кўпчилик илмий ходимлар даврий нашрлардан фойдаланмайдилар. Бошқа бир хил илмий ходимлар ўзлари олган илмий натижаларни ҳамкасбларидан бекитишга ҳаракат қиладилар (интерферон ҳақида узок вақт хабар бермаслик мана шунга мисол бўла олади).

Илмий текшириш институтлари (Фанлар академияси, университетлар, илмий марказ, лабараториялар ва ҳ.к.) билан ишлаб-чиқарувчи ёки фан ютуқларини ишлаб чиқаришга жорий қилувчилар орасида ҳамиша ҳам очикдан-очик фикр алмашувчилар бўлавермайди. Бунинг учун янгилик яратган олимни ёки уни тарғибот қилган корхона ёки шахсни қизиқишларини ҳимоя қилувчи махсус қонунлар яратилмоғи керак. Тўғри бундай ҳолатлар хўжалик шартномалари, шартномалар ёки ҳар иккала томонни вазифаларини белгилаб берувчи бошқа ҳужжатларда акс эттирилади, аммо бундай ҳужжатлар маълум бир вақт чегарасида белгиланади, масалан бир йилга, икки йилга ва ҳ.к. Хўш ундан кейинчи?

Илмий лабараторияларда яратилган технологияларни маълум корхоналарда ишлаб чиқаришни йўлга қўйиб, уни яхшилаб ўрганиб олган баъзи бир шахслар, ҳар хил баҳоналар қидириб топиши турган гап. Бир томондан институт ёки алоҳида олинган олим, иккинчи томондан коммерция қилувчи фирма, тузилган келишувлар асосида бемалол ғоялар алмашиш мумкинми? Албатта йўқ, чунки бозор иқтисоди даврида ўсиб бораётган рақобат мавжуд.

Ривожланган мамлакатларда (АҚШ, Япония, Италия, Франция, Германия ва ҳ.к.) биотехнология муаммолари билан шуғулланадиган университетлар билан ишлаб-чиқариш корхоналари орасидаги ўзаро алоқаларни белгиловчи баъзи бир принциплар ишлаб чиқилган. Афсуски, бу масалада мамлакатимизда махсус ҳужжатлар қабул қилинмаган. Шунинг учун ўз –ўзидан куйида келтирилган муаммолар келиб чиқиши муқаррар. Фанлар академиясининг институтида, ёки университетларнинг илмий лабараториясида ишлаб турган икки олим, бир вақтда икки

коммерция фирмасига маслаҳатчи бўлса нима бўлади? Ёки бир-бири билан фикр алмашиб, юрган икки олим, бир-бирига рақобат асосида фаолият юритиб келаётган икки фирмага консультантлик қилишсачи? Ёки илмий лабораторияда яратилган янгиликни, яратилишига молиявий ёрдам кўрсатган фирма орқали патентламоқчи бўлса нима қилиш керак? Янгилик яратган олим, янгилиги учун патент олган, аммо баъзи-бир сабабларга кўра ўша университетда ишламаса-ю, университет бу патентдан фойдаланиб, қўшимча маблағ топса, олим нима қилиш керак? Кўплаб бошқа саволлар жавобсиз қолаверади. Шунинг учун ҳам барча ҳамкорлик ҳақида илмгоҳда тўла ахборот бўлиши шарт (бирор бир фирма билан ҳамкорлик қилаётган олим бу ҳақида ўзини асосий ишидаги ҳамкасбларини хабардор қилишлари керак); фақатгина мана шу йўл билан илмий изланишларни ўзига хос бўлган характерларини сақлаш, ҳамда ҳар хил муаммо туғдирувчи тортишувларнинг олдини олиш мумкин бўлади.

Бу жойда ҳам савол туғилади: ким ва қандай ҳолатда бундай ахборотни олиши керак? Агар факультет раҳбарлари ёки институт директорлари ахборот йиғишга масъул бўлсалар, улар олган ахборотларини бошқаларга етказишлари ва шу орқали олимларни қўшимча қизиқишларини уйғотишлари мумкинми? (масалан Калифорния университетида қуйидаги одат қабул қилинган: саноат компанияларидан қўшимча ҳақ оладиган барча илмий гуруҳ бундай алоқани мазмун-моҳиятини, оладиган қўшимча ҳақни бошқа компаниялардан кўра тузукроқ эканлигини асослаб беришлари шарт. Шунингдек, улар ўзларининг илмий лойиҳаларини университет кўмитасига тадбиқ этишлари ҳам шарт).

Ишлаб-чиқариш билан университетлар (илмий марказлар) орасидаги муаммолар барча фанлар учун умумий бўлсада, биотехнологияда бироз ўзига хослик кузатилиб турилади. Фикримизни далили сифатида бир мисол. Биология фанлари номзоди Н.М.Лабутовани ўз илмий кузатишлари натижасида ёзган бир мақоласининг мазмунига мурожаат қиламиз. Япониялик олимлар қишлоқ хўжалиги учун ажойиб бир биотехнологияни ихтиро қилганлар. Бу биотехнологияни асосида 80 дан ортиқ микроорганизмлар ассоциацияси, шунга қараб улар истеъмол қиладиган озиқа муҳитлари, микроорганизмларни бир-бирига зарарсиз бўлган микдорий муносабатлари ва бир қатор, фақатгина ихтирочилар биладиган «Нау-Хау» ётади. Бу препаратни Россияни бир гуруҳ «ишбилармонлари» Москванинг «Эм - технология» деб номланган фирмаси «Байкал» номи билан чиқариб, ишлаб-чиқаришга тадбиқ қилмоқчи бўлдилар. Бу препарат афсуски, бизнинг мамлакатимизда ҳам минг тонналаб ҳарид қилинди. Аммо, ҳеч қандай самара бермади. Хўш бунга сабаб нима? Н.М.Лабутовани фикрича «Байкал»да нафақат 80 та, балки 10 та ҳам микроорганизм йўқ. Бунинг устига препарат таркибида топилган микроорганизмлар ачитқилар, сут ачитувчи бактериялар холос. Албатта

бундай препаратни тупроққа солиш нафақат фойда келтирмасдан қолмай, балки зарарли ҳамдир.

Биотехнологик ишланмаларни коммерсализация қилиш бошқа соҳага қараганда бироз камроқ вақт эгаллайди, масалан кимёвий муҳандисликга нисбатан. Иккинчи томондан, университет илмий лабораторияларида бажарилган илмий ишланмалар саноат ривожланиши учун улкан хисса қўшиши мумкин, бундай ҳолатда мана шу йўналишда ишлаган олимлар ўзларининг улушлари асосида қўшимча молиявий ёрдам олишлари муқаррар.

Бундай ҳолатда университет билан саноат корхонаси орасидаги келишувни очиқ муҳокама қилиниши, ҳар хил тармоқ орасидаги гап-сўзларга йўл қўйилмаслиги, университетга нисбатан бўлган анъанавий ишончни йўқотмаслик ва илмий ишда қатнашганларни университетга нисбатан муносабатини ўзгартирмаслик катта аҳамиятга эгадир.

Яна бир масала, у ҳам бўлса йилдан-йилга ривожланиб келаётган биотехнологияни коммерция билан аралашиб кетиши, асосий механизмларни тушунишга қизиқмайдиган, муайян мақсад учун муҳандислик ишлари билан кўпроқ банд бўлган, “янги авлод биологларнинг етишиб чиқишига олиб келмайдими? Худди шунингдек, ҳаёт ҳақидаги фаннинг қўлланилиши жараёнида фанлар ёки фан ва ишлаб-чиқариш оралиғида янги фанлар пайдо бўлиши мумкинлиги ҳақида фикр юритиш ҳам ортиқча бўлмаса керак!

Фикримизча, мамлакатда ишлаб-чиқариш масалаларини ечиш мақсадида биологлар ва муҳандислардан иборат бўлган биотехнологлар уюшмасини ташкил этиш зарурияти пайдо бўлди. Шунингдек, фундаментал вазифаларни ечиш имкониятига эга бўлган биомуҳандислик гуруҳини ташкил этиш ҳам мақсадга мувофиқдир.

Ривожланиб келаётган биотехнология, фан олдида “эволюция ва биологик изланишлар” каби муҳим бир муаммони қўйди. Бошқа фанлар каби (физика, кимё ва бошқалар) яқин келажакда биологик изланишларни ҳам янги шакллари келиб чиқиши, изланишлар билан ишлаб-чиқариш орасида янги алоқалар пайдо бўлиши, фанни ўзига хос тармоғи билан шуғулланувчи янги лабораториялар ташкил этилиши зарур бўлиб қолса ажаб эмас.

Фаннинг бир соҳаси иккинчисига нисбатан жадалроқ ривожланмоқда. Биологик тадқиқотларни эволюцион ривожланиши энг аввало биолог олимларни ўзларига боғлиқ. Саноат корхоналарининг молиялаштириши ҳисобидан фан соҳасидаги бутун бошқарувни ўз қўлларига оладиларми, ёки олимлар илмий изланишларни устиворлигига эришадиларми, фундаментал тадқиқотларни ривожланишига бўлган ҳуқуқни сақлаб қоладиларми, йўқми? – бу саволарга жавобни фақат биологларни ўзлари бераладилар.

24. ХОТИМА

Биотехнология бугуннинг ўзидаёқ катта иқтисодий ва ижтимоий аҳамият касб этмоқда. Қўлингиздаги китобнинг ушбу бўлимини асосий вазифаси, йўналишнинг ривожланиш истиқболларини таҳлил қилиб чиқиш ва янги биотехнологияни механизмларини тавсифлашдан иборат.

Ҳозирги даврда биотехнологиянинг ютуқларидан қуйидаги соҳаларда фойдаланиш истиқболли ҳисобланади:

Озиқ-овқат саноати, фармацевтика, кимёвий ва нефт-газ саноати соҳаларида-янги моддаларнинг биосинтези ва биотрансформацияси жараёнларида, хоссалари (хусусиятлари) олдиндан белгиланган бактериялар, ачитқи ва мицелиал замбуруғларнинг трансген штаммларидан фойдаланиш;

Қишлоқ хўжалигида – энг муҳим ўсимликларнинг трансген навларини яратиш, ўсимликларни ҳимоя қилувчи биологик воситалар, бактериал ўғитлар, биогулмус, тупроқни қайта тикловчи воситаларда микробиологик тавсиф;

Чорвачиликда – ўсимлик, микроб массалари ва қишлоқ-хўжалиги чиқиндилари асосида самарали озиқа моддалари тайёрлаш, (ЭМ)бриогенетик усуллар асосида чорва молларининг янги зотларини яратиш;

Энергетикада – микробиологик синтез ва фотосинтетик жараёнларнинг янги турлари асосида биоэнергиянинг янги манбаларини яратиш, биогаз тайёрлашда биомассанинг биоконверсияси;

Тиббиётда – тиббиёт биопрепаратлари, моноклонал антителлар, диагностика учун препаратлар, вакциналар, иммунобиотехнологияни ривожланишига хизмат қилувчи рақобатбардош биопрепаратлар яратиш;

Экологияда – оқова сувларни тозаловчи ва агросаноат чиқиндиларини қайта ишлатадиган экологик хавфсиз технологиялар яратиш, экотизимини тузиш ва ҳ.к.

Охирги йилларда биология соҳасида амалга ошган инқилобий ўзгаришлар, биотехнологиянинг ривожланишида ҳам катта роль ўйнади ва унинг янги, истиқболли йўналишларини очилишига, биологик жараёнлардан ишлаб чиқаришда фойдаланиш чегараларининг кенгайишига олиб келди.

Бир сўз билан айтганда “Замонавий биотехнология” - инсон ва ҳайвон, ўсимлик ва микроорганизмларнинг ҳужайра ва тўқималарини ёки уларнинг алоҳида қисмларини утилизация (қайта ишлаш, фойдаланиш) қилиш мақсадида, биокимё, микробиология, молекуляр биология ва муҳандислик фанларининг имкониятларини ишлатиш орқали пайдо бўлган илмий ва амалий аҳамиятга эга бўлган истиқболли йўналишдир. У оддий шароитда осон топиладиган ва қайта тикланадиган манбалардан, инсон

ҳаёти ва саноат учун зарур ва муҳим бўлган моддаларни кам энергия сарф қилган ҳолда, ишлаб чиқариш имконини беради.

“Замонавий биотехнология” деганда ҳозир бу соҳанинг икки йирик йўналиши кўзда тутилади: - ген ва ҳужайра муҳандислиги. Дарҳақиқат, бу икки йўналиш ушбу мураккаб ва кўплаб фанлар оралиғидаги технологиянинг энг катта қисмини ташкил қилади ва жуда ҳам кенг бўлган, ишлатилиш имкониятларига эгадир.

Ўтган асрнинг охириги йигирма йилларида айнан мана шу соҳада, биологик фаол моддалар ишлаб чиқариш бўйича катта муваффақиятларга эришилди. Энг аввало, бу инсулиннинг ген муҳандислик препаратлари, инсонни ўстириш гормони, интерферонлар, интерлейкинлар, эритропоэтин, тўқима плазминогенларининг активатори, қатор моноклонал антителлар ва вакциналар ишлаб чиқаришнинг саноат технологиясининг яратилганлигидир.

Замонавий биотехнологиянинг усулларида фойдаланиб, доривор моддалар ишлаб чиқариш бўйича илмий ва амалий ишлар АҚШ, Япония ва Ғарбий Европанинг баъзи мамлакатларида фаол олиб борилмоқда. Бу малакатларда биотехнологияни ривожлантириш учун ажратилган маблағнинг учдан икки қисми сарфланмоқда. Бу мамлакатларнинг деярли барчасида, биотехнологик лойиҳаларни қўллаб-қувватловчи давлат дастурлари қабул қилинган ва муҳим фундаментал тадқиқотлар ҳамда янги биотехнологик маҳсулотларни халқ хўжалигида фойдаланиш бўйича фаол амалий ишлар олиб борилмоқда.

Замонавий биотехнология соҳасида етакчи мамлакат АҚШ да фундаментал ва амалий тадқиқотларни олиб бориш мақсадида кўплаб ихтисослашган биотехнологик фирмалар ташкил қилинган ва улар Давлат ҳамда хусусий маблағлардан фойдаланиб, энг йирик мутахассисларни жалб этиб, қисқа муддатда тиббиёт учун қатор оқсил маҳсулотлари ишлаб чиқариш технологияларини яратишга эришдилар.

Биотехнологиянинг ривожланиши бўйича Япония жаҳонда иккинчи ўринда туради. Агар, биотехнологияни анъанавий соҳалари – ферментлар, антибиотиклар, аминокислотлар ишлаб чиқариш бўйича Япония жуда ҳам кучли бўлса, замонавий биотехнология маҳсулотлари яратиш соҳасида, уларни ривожлантиришга киришилган. Бу мақсадда Япониянинг ривожланиши учун анъанавий йўл танланган, яъни илмий-техникавий ахборотдан амалиётда фойдаланиш ва ген муҳандислиги технологиялари бўйича патент ва лицензияларни ва микроорганизмлар штамmlарини четдан сотиб олиш мўлжалланган. Шунинг билан бир қаторда Япониялик мутахассисларни тез муддатда чет элларда малакаларини ошириш ҳам университетлар ва саноат фирмалари лабораторияларида ген муҳандислиги бўйича ўзларининг илмий ва амалий ишларини кенгайтиришга ҳам алоҳида эътибор берилган.

АҚШ ва Япония қатори, биотехнология Ғарбий Европа мамлакатларида ҳам тезкорлик билан ривожланиб бормоқда. Бу

мамлакатлар яқин келажакда биотехнологик маҳсулотлар бозорида катта таъсирга эга бўлишлари кутилмоқда.

АҚШ га ўхшаб, Ғарбий Европа мамлакатларида ҳам ўтган асрнинг 80-йилларидан бошлаб, кичик биотехнологик фирмалар сони кескин ошиб кетди. Улар, асосан авваллари фундаментал тадқиқотлар олиб борган лабораториялар асосида ташкил этилди. Улардан кўпчилиги ҳозирги вақтда саноат корпорациялари ва молия идоралари томонидан молиялаштирилган ёки ҳукумат томонидан молиявий муҳофаза қилинган.

Буюк Британияда ҳам биотехнологиянинг ривожланиши анча сезиларли даражада, уларда асримизнинг бошига келиб, шу соҳада фаолият кўрсатувчи 58 та фирма рўйхатдан ўтказилган эди. Бундай фирмаларнинг сони Францияда 51 та, Германияда 48 та эди.

Шунингдек, биотехнология Голландия, Италия, Дания, Швеция ва бошқа мамлакатларда ҳам жуда тез суръатларда ривожланиб бормоқда.

Биотехнологик жараёнлардан фойдаланиш кейинги йилларда айниқса, Хитой ва Ҳиндистонда ўта даражада ривожланиб бормоқда. Ишчи кучини, энергияни, сувни ва бошқа керакли омилларни Европа мамлакатларига нисбатан арзонлиги Осиё мамлакатларида қўшма корхоналар яратиш имконини яратди. Биотехнологик усуллар асосида дори-дармонлар (антибиотиклар, витаминлар, органик ислоталар ва ҳ.к.), озиқа оқсиллари ишлаб чиқариш йўлга қўйилган. Бу мамлакатларда биологик газ тайёрлаш жуда ҳам сифатли йўлга қўйилган.

Ният қиламизки, мамлакатимизда ҳам биотехнологик жараёнлардан фойдаланиш тез орада кенгрок йўлга қўйилади ва жаҳон стандартлари асосида ривожланган давлатлардаги каби ишлай бошлайди. Бунинг учун энг аввало билимдон инсонлар, иқтисодчилар ва етук малакали биотехнологлар керак бўлади. Ҳар қандай фан тармоғини ривожлантириш энг аввало иқтисодий асосланган бўлмоғи лозим.