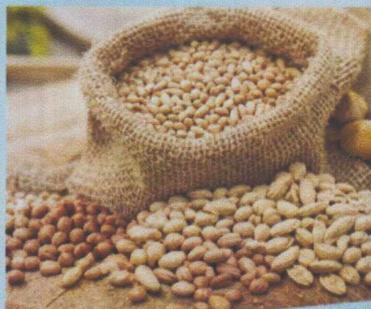
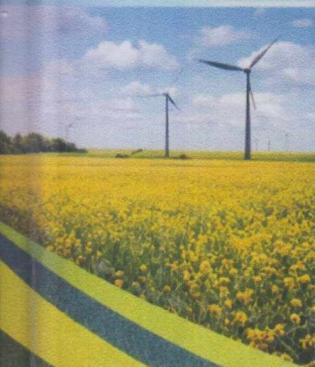
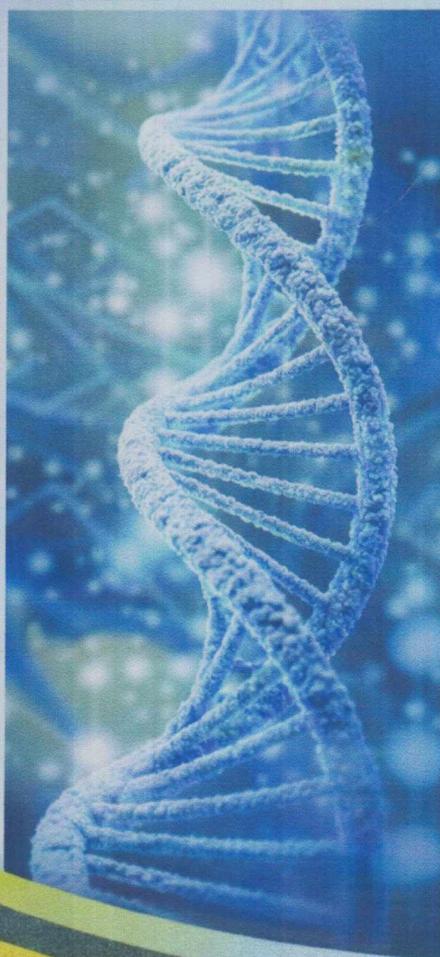


ҚИШЛОҚ ХҲЖАЛИК ЭКИНЛАРИ СЕЛЕКЦИЯСИ ВА УРУҒЧИЛИГИДА НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАР



**Ўзбекистон Республикаси
Олий ва урта махсус таълим вазирлиги
Тошкент давлат аграр университети**

Раҳманкулов М.С.

**ҚИШЛОҚ ХУЖАЛИК ЭКИНЛАРИ
СЕЛЕКЦИЯСИ ВА УРУҒЧИЛИГИДА
НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАР**

ДАРСЛИК

**Қишлоқ хўжалиги олий ўқув юртлири 70811201 – Селекция ва
уруғчилик (экинлар гуруҳи бўйича)
магистратура мутахассислиги учун**

Тошкент – 2022

УЎК: 636. 084 (075.8)

КБК: 45.4уа72

Раҳманкулов М.С.

Қишлоқ ҳужалиқ экинлари селекцияси ва уруғчилигида
ноанъанавий усуллар. Дарсдик / М.С.Раҳманкулов – Т. Lesson press
нашриёти, 2022. 164 бет.

УЎК: 636. 084 (075.8)

КБК: 45.4уа72

Тақризчилар:

С.А.Эгамбердиева – Пахта селекцияси, уруғчилиги ва етиштириш
агротехнологиялари илмий-тадқиқот институти
лаборатория мудири, к.х.ф.д., профессор.

М.Н.Аберкулов – Тошкент давлат аграр университети кафедра доценти,
б.ф.н., доцент.

Ўзбекистон Республикаси Олий ва о'рта maxsus та'лим вазирлигининг 2022-йил
19-йил 23-июл buyrug'iga asosan darslik sifatida nashr etishga ruxsat etilgan.

ISBN 978-9943-8-1177-8

© Раҳманкулов М.С., 2022

СУЗ БОШИ

“Таълим тугрисида” ва “Кадрлар тайёрлаш миллий дастури тугрисида”ги Ўзбекистон Республикаси қонунларига мувофиқ Олий таълимнинг асосий мақсади – замон талабларига жавоб бера оладиган малакали, рақобатбардош, юксак билимли, олий таълим мутахассиси талабларига ҳамда ўзи танлаган йўналиши юзасидан талабга жавоб бера оладиган республиканинг илм-фан, маданият, иқтисод, ижтимоий соҳаларини ривожлантиришда ўз ҳиссасини қўшадиган, мустакил фикрлай оладиган, юксак маънавиятга эга бўлган юқори салоҳиятли мутахассисларни тайёрлашдир. Олий таълимнинг асосий вазифаларидан бири давлат таълим стандартига мувофиқ замонавий дастурлар асосида тузилган давлат тилида ёзилган замонавий ўқув адабиётларини яратишдир.

Шунга қўра мазкур дарслик таълим тизимини тубдан ислоҳ қилиш ва Кадрлар тайёрлаш Миллий моделини шакллантириш мақсадларига хизмат қилади деб ҳисоблаймиз. Дарслик Тошкент давлат аграр университетининг 70811201 – Селекция ва уруғчилик (экинлар гуруҳи бўйича) мутахассислиги бўйича магистрларига “Қишлоқ хўжалик экинлари селекцияси ва уруғчилигида ноанъанавий усуллар” фани бўйича қўп йиллар мобайнида ўқиб келинаётган маърузалар асосида ёзилган ҳамда маъруза дарсларида машғулотнинг мақсади, ноанъанавий усулларни ривожланиши ва уларнинг хиллари, улар ёрдамида қишлоқ хўжалик экинлари янги навларини яратиш, ривожланган мамлакатларда биотехнологиянинг ривожланиши ва унинг ютуқлари, вируссиз материални ноанъанавий усуллар ёрдамида қўпайтириш йўллари, ҳар бир мавзу учун назорат саволлар, глоссарий, тавсия қилинаётган тест, якуний назорат саволлар ва фанни ўзлаштириш учун тавсия этиладиган адабиётлар рўйхати каби маълумотлари билан ҳам таъминланган.

Дарсликдаги мавзулар қишлоқ хўжалик экинлари селекцияси ва уруғчилигида ноанъанавий усуллар бўйича ўрганилиши керак бўлган асосий билимларни ўзига жамлаб олган бўлиб, магистр талабалари учун мўлжалланган. Лекин ундан нафақат магистрлар, балки ўз билим ва қўпикмаларини оширувчи бакалавр, таянч

докторантлар ва докторантлар ҳамда мустақил изланувчилар ҳам фойдаланишлари мумкин.

Муаллиф томонидан яратилган мазкур дарслик “Қишлоқ хужалик экинлари селекцияси ва уруғчилигида ноанъанавий усуллар” фанидан асосий назарий билимларни олиш учун илмий маъна бўлиб хизмат қилади ва ўзбек тилида таълим олаётган талабаларга билим олиш самарадорлиги ва талабанинг фанга бўлган кизиқиши ортишига ёрдам беради. Дарсада талабаларни фаоллаштириш мақсадида турли топшириқларни қўллаган ҳолда ҳар бир мавзу охирида дарсни ўзлаштиришга оид саволлар келтирилган бўлиб бу нафақат мавзунини ўзлаштиришга, балки талабаларни мустақил фикрлаш, ўз устида ишлаш қобилиятини ривожлантиришга ҳам ёрдам беради.

1-МАВЗУ: РЕСПУБЛИКАМИЗДА СЕЛЕКЦИЯ ВА УРУҒЧИЛИҚДА НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАРНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА УЛАРНИНГ ХИЛЛАРИ

«Селекция ютуқлари туғрисида» ва «Уруғчилик туғрисида»ги Ўзбекистон Республикаси қонунларида ҳамда бошқа эътиборли ҳукумат ҳужжатларида қўйилган вазифаларни ечиш мақсадида тезпишар, ҳосилдор, ташки муҳитнинг биотик ва абиотик нуқулай омилларга чидамли, юқори тола чикими ва сифатига эга бўлган қишлоқ хўжалик экинлар янги навларини яратишга биологик ва қишлоқ хўжалик фанларининг барча имкониятларини қаратиш лозим.

Шу билан бирга, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сонли “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Харакатлар стратегияси туғрисида”ги Фармонининг 3.3 бўлимида “қасаллик ва зарарқундаларга чидамли, маҳаллий ер-иқлим ва экологик шароитларга мослашган қишлоқ хўжалиги экинларининг янги селекция навларини яратиш ва ишлаб чиқаришга жорий этиш бўйича илмий-тадқиқот ишларини кенгайтириш” каби долзарб вазифалари белгилаб берилган.

Юқоридагиларни амалга оширишда физиология, биокимё, иммунокимё, биотехнология каби соҳалар ва бошқа сунгги илмий ютуқларига асосланган селекциянинг янги усулларни қўллаб барча қимматли-хўжалик белгилар мажмуасига эга бўлган янги донорларни, навларни яратиш жараёнига жалб этиш орқали эришиш мумкин. Жумладан, биокимёвий ва молекуляр маркерларга асосланган селекциянинг ноанъанавий усуллар билан селекция жараёнини икки-уч мартагача тезлаштириш мумкин.

Модел тизимларини, яъни каллус ва суспензион культуруларини қиёсий ўрганиш катта аҳамиятга эга. Бу ўсимликларни ҳаёт фаолиятига туз таъсирининг баъзи жиҳатларини очиб беради, шўрга чидамли ўсимликларни яратишда ва лаборатория шароитида коллекцион манбаларни шўрланишга чидамликни баҳолашда селекция-генетик изланишлари учун хужайра ва туқималар культурурасини қўллаш имкониятларини аниқлайди.

Ғуза геномидан турли агрономик аҳамиятга эга кимматбаҳо генлар тўпламларини генетик карталаштириш асосида ғуза селекциясида замонавий маркерларга асосланган селекция (МАС) дастурлари амалга оширилмоқда. Ғузада МАС ёрдамида генларни пирамидалаш технологияси йўлга қуйилди.

Натижада, ғузада хужайра ва генлар инженерлиги тадқиқотларини жадаллаштириш ҳамда “ген-нокаут” технологияси ёрдамида юқори сифатли, касалликларга ва зараркунандаларга чидамли “генетик бойитилган” трансген усимликлар олинмоқда

Биринчи маротаба сунъий шароитда яшашга мажбур қилинган хужайра хайвон хужайраси бўлиб, бу туғрисидаги маълумот 1907 йилда маълум қилинган. Бунда бака нейробласти танадан ажратиб олинган ва сунъий шароитда бир неча hafta яшаган. Усимлик хужайрасини сунъий шароитда сақлаш анча вақт давомида натижа бермаган, фақат утган асрнинг 30 йилларига келиб бу йўналишда маълум даражада муваффақиятга эришилган. Ҳозирги пайтда усимлик туқималарини сунъий муҳитда устириш алоҳида аҳамият касб этмоқда. Чунки улардан селекцияда фойдаланиш мумкин. Бу усул уч йўналишда олиб борилади.

1. Биринчи йўналиш ажратиб олинган усимлик хужайраларини сунъий муҳитда (*in vitro*) устириб тиббиёт, парфюмерия ва бошқа саноат тармоқлари учун зарур моддалар олишда ишлатилади, яъни алкалоидлар, стероидлар, глюкозидлар, гармонлар, эфир мойлари, инсектицидлар ва ҳакоза олинади.

2. Иккинчи йўналиш сунъий муҳитда устирилган туқималардан клонал микро усимликлар ва экиш учун тоза (вирус ва бошқа зараркунандалардан тозаланган) кучат етиштириш. Клонал микроусимлик етиштириш усули ёрдамида бир меристемадан йил давомида, ташки муҳит таъсиридан қатъий назар миллионлаб усимлик ва улардан маҳсулот олиш мумкин.

3. Ажратиб олинган хужайралардан селекция мақсадида, яъни турли таркибга эга сунъий муҳитда устирилган хужайраларнинг ирсий муҳитдан ҳар хил бўлиш хусусиятидан фойдаланилади. Бунда хужайралар орасидан қурғоқчиликка, шурланишга, паст ҳароратга,

фитогенларга ва юкори махсулот берувчи шаклларни танлаб олиш имконияти туғилади. Ғуза усимлиги асосий экинлардан бири бўлиб, уз-узидан чангланадиган қобилияти 5-25 фойзгача ва ундан кўпроқни ташкил этади.

Тўқималарни сунъий кўпайтириш усули яхши навлар яратишда селекция жараёнига юкори самара беради. Ҳозирги пайтда усимликлар турлари, органлари ва ривожланиш фазаларидан қатъий назар улардан тўқималар олиниб сунъий кўпайтириш имконияти бор.

Алоҳида ҳужайралардан усимлик регенерациялаш анча мураккаб жараёндр. Айниқса донли экинларда бу ишни амалга ошириш анча қийин. Шунинг учун *in vitro*да морфогенез, регенерация ва улар асосида ётувчи жараёнлар механизмини аниқлаш муҳим аҳамиятга эга.

Усимликдан алоҳида ажратилган тўқималарни културалашга анча йиллардан буён ҳаракат қилиб келинган ва бу усулнинг ривожланиш тарихи бир неча босқичларни уз ичига олади.

1. I – босқич (1882 – 1902 йиллар) Г. Хаберланд, Фёхтинг, Рехингер каби немис тадқиқотчилари номлари билан боғлиқ. Улар томонидан сахароза эритмасида турли усимликларни културалашга ҳаракат қилинган. Қоқиут ва терак пояси сегментларида биринчи каллус тўқималари олинган ва ҳосил қилишга қобилияти сегментларнинг минимал улчами аниқланган. Усимликнинг кейинги бўғинларидаги улчами, шакллари, ранги ва композиция ўзгаришлари ёки генетик аралаш популяциянинг ривожланиши авлоддан-авлодга берилувчи сабаблар натижаси ҳисобланади ва наслга берилади.

II – босқич (1902-1922 йиллар) ҳайвон тўқималарини културалаш учун озика муҳити яратилди. Бу озика муҳитлари табиий келиб чиқишга эга бўлиб, таркиби кон плазмаси ва эмбрион (пушт) суюқлигидан иборат бўлган. Бу даврда ажратилган усимлик тўқималарини усимлик экстракти тугувчи сунъий озика муҳитларда ўстиришга бўлган уринишлар муваффақиятсиз чиқди, чунки

тажрибалар учун юксак усимликларнинг усиш фаоллигини кам намаён қиладиган хужайра ва туқималари танланган эди.

III – боскич (1922-1932 йиллар). Бу даврда америка олими В.Робинсва немис олими Котте бир – бирига боғлиқ бўлмаган ҳолда помидор ва маккажухори илдиз мерисистемаларини каттик озика мухитларида культурлаш имкониятининг мавжуд эканлигини аниқлашди. Аммо маълум вақт утгандан сунг усимлик туқималари кунгир ранга кириб нобуд бўлган. Усимлик туқималарини культурлаш усулининг хақиқий ривожланиш даври 1932 йилдан бошланди.

IV – боскич (1932 – 1940 йиллар) Француз олими Р.Готре номи билан боғлиқ. У усимлик туқималарини *in vitro* шароитида узок вақт культурлашга туқималарни вақти – вақти билан янги озика мухитга кучириб утказиш орқали эришиш мумкинлигини исботлади. Бу кашфиёт туқималар культураси буйича янги ишларнинг бошланишига олиб келди.

V – боскич (1940 – 1960 йиллар) 1955 йилда цитокини фитогормонларининг янги синфи, аникроғи кинетиннинг кашф этилиши муносабати билан тамакининг утказувчи туқималари ва камбийдан ҳоли қилинган узак паренхима туқима хужайраларининг булишини стимуллаш имконияти пайдо бўлди.

Усимлик стимуляторнинг миқдори ва нисбатига боғлиқ ҳолда эксплантдаги хужайралар булинишини тезлаштириш, каллус туқимаси усишини давом эттириш ва морфогенезини индуцирлаш мумкинлиги аниқланди.

VI – боскич (1960-1975 йиллар). Бу даврда Ноттингем университети профессори Э.К.Кокнинг томонидан ферментатив йул билан протапластларнинг ажратилиши муҳим воқеа бўлди. У хужайралар деворини гидролизловчи ферментлар ёрдамида помидор меваси ва илдизидан протапластларни ажратиб олди ва культурлади. 1970 йилда шу лабораторияда Пауэр ва унинг шогиртлари томонидан протапластларни қушиш орқали, соматик дурагайлар олишнинг янги усули яратилди.

VII – босқич (1975 йилдан hozirgi кунга кадар) *in vitro* техникаси модернизация қилинди, культурланаётган объектлар биологияси урганилди, ажратилган протопластларни электр токи ёрдамида қушиш, хужайралар селекцияси ва мутагенези, гаплоид усимликлар олиш усуллари ишлаб чиқилди. Шундай қилиб, кейинги йилларда усимлик хужайраси ва туқималари билан ишлашнинг техникасига янгиликлар киритилди. Лекин, бу ишларда тадқиқот объекти сифатида асосан бир ва икки паллали ўтсимон ва айрим ҳолатларда дарахтсимон усимликлардан фойдаланилди.

Ажратилган туқималар культураси билан ишлашнинг асосий шarti стерилликка катъий риоя қилишдир. Озиқа мухитининг бой таркиби микроорганизмлар ўсиши учун ҳам яхши субстрат ҳисобланади. Микроорганизмлар озиқа мухитда ўстириляётган усимлик қисмларини (эксплантлар) осон зарарлайди. Шунинг учун эксплант ҳам, озиқа мухит ҳам стерилланган бўлиши шарт. Ажратилган туқималар билан олиб бориладиган барча ишлар (культурага ўтказиш, янги озиқа мухитига кўчириш) стерил хоналарда (ламинар боксларда) стерил асбоблар ёрдамида амалга оширилади. Ажратилган туқималарни ўстириш даврида ҳам стерилликни сақлаш лозим, чунки ҳорарат пасайганда ёки намлик юзага келганда идишнинг нам тигини орқали пробирка ичига микроорганизмлар кириши мумкин.

Ўстириш учун олинган усимлик эксплантлари олдин совунли сувда ишлаб ювилади ва дистрланган сувда чайилади, сўнг бир неча секундга 70% ли этанолга солинади, уруғлар эса 1-2 минутга спиртга солиб қўйилади. Спирт туқималарни стериллаш билан бирга асосий стерилловчи эритманинг стериллаш самарасини ҳам оширади. Спиртдан сўнг туқималар стерил сувда ҳам чайилади.

Каллус – қадок маъносини билдириб, усимликларнинг шикастланган жойида ва *in vitro* культурланаётган усимлик туқималарида (эксплантларда) хужайраларнинг бетартиб бўлиниши на ўсишидан ҳосил бўлган кабарикдир.

Каллус хужайралари *in vitro* шароитида усимлик организмнинг меъёридаги хужайраларига ҳос бўлган барча

физиологик ва биокимёвий хусусиятларига эга булади. Улар иккиламчи метаболитлар синтез қилиш қобилиятини ҳам саклаб қолади. Совуқ ҳароратга чидамли усимликлардан олинган каллус туқималари совуқка чидамлиликини намоён қилади. Тропик ва субтропик усимликлардан олинган каллус туқималари эса бундай хусусиятга эга эмас. Демак, ҳужайранинг паст ҳароратга чидамлилики хусусияти каллус туқимаси ҳосил бўлганда ҳам сакланиб қолар экан. Шу билан биргаликда каллус ҳужайралари меъёридаги ҳужайралардан фарқланувчи куйидаги бир қатор хусусиятларга ҳам эгадир. Уларда баргнинг фотосинтезловчи ҳужайраларига хос бўлган оксилларнинг миқдори ўзгариб туради, ёки умуман йўқолиб кетади. Каллус ҳужайралари генетик гетерогенлиги ва физиологик асинхропчилиги билан ҳам фарқ қилади.

Каллус ҳужайралари организм назоратидан чиқиб кетиши туфайли уюлмаган ҳолда асинхрон равишда чексиз кўпайишга ўтади. Р.Горге томонидан олинган сабзи каллус туқимаси культураси янги озика муҳитига мунтазам ўтказилиб туриши сабабли 60 йилдан буён ҳозирги кунга қадар туқималар тупламида ўсиб турибди. Каллус ҳужайраларнинг ҳужайра цикли очик ердан ўсаётган усимлик ҳужайралариникига нисбатан давомийдир.

2. Каллуснинг асосий хусусияти, ҳужайранинг ёшига нисбатан гетерогенлигидадир. Каллус туқималарида бир вақтнинг ўзида G1-фазадаги ёш ҳужайралар, G2 фазадаги қари ҳужайралар ва S-фазадаги ҳужайра бўлиниши давридаги ҳужайралар ҳам иштирок этади. Каллус ва суспензия культураларида бошланғич усимликга хос хромосомаларнинг диплоид тупламига эга ҳужайраларнинг гуруҳи шунингдек 3, 4, 5 ва ундан ортиқ хромосомалар тупламига эга полиплоид ҳужайраларни ҳам учратиш мумкин. Каллус туқималари культурасида полиплоидия билан бир қаторда анеуплоидлар (бир ёки бир неча жуфт гомологик хромосомалари қамайган ёки қўпайган организмлар) ни ҳам кузатиш мумкин. Каллус ҳужайралари *in vitro* қанча узоқ вақт культураланса плоидлик бўйича шунчалик фарқ қилади. Селекционерларнинг асосий муаммоси усимликлар белгиларининг ўзгариши қанча даражада

ирсий ва генлар таъсири натижасида эканлигини аниқлаш ва канча даражада атроф-муҳитнинг кулай ёки нокулай даражада таъсири натижасини аниқлашдан иборат. Бу фарқ одатда мураккаб бўлиб, агар белгилардаги ўзгаришларни дақиқасига миқдор бирлигида ўлчасак, ўсимликларнинг оддий ҳамда миқдорий белгилари ўлчамларига нисбатан экологик стресслар (нокулайлик) таъсири натижаси юқори даражага етади. Культурлаш натижасида хромосомалар аберациясини ҳам кузатиш мумкин. Бунинг натижасида культурланаётган туқиманинг хусусияти, ташқи кўраниши, моддалар алмашиниши, ўсиш тезлиги ўзгаради. Бу ўзгаришлар хромосомаларнинг баъзи қисмларига, шунингдек генлар структурасига ҳам таъсир кўрсатиши мумкин. Генлар мутациясини хужайраларнинг морфологик, физиологик ва биокимёвий хусусиятларининг ўзгариши орқали аниқлаш мумкин.

Каллус хужайраларнинг генетик хилма-хиллиги уларни хужайралар селекциясида кулаб, атроф-муҳитнинг нокулай омилларига, фитопатогенларга чидамли, ҳосилдорлиги юқори хужайралар олиш имконини беради.

Каллус хужайралари сунъий озика муҳитларида фақат гормонлар иштирокидагина бўлиниши мумкин. Аммо, баъзи ҳолларда, улар узок вақт культурланганда ҳам гармонсиз муҳитларда ўсиш хусусиятини пайдо қилади яъни ауксинлар ва цитокининларга “мослашган” хужайралар дейилади. “Мослашган” хужайраларда ҳосил бўлган туқималар кимёвий шишлар деб юритилади. “Мослашган” туқималар шиш туқималар каби нормал регенерацияланмайди ва фақат тератомлар ҳосил қилади, камдан кам ҳоллардагина нормал регенерантларни пайдо қилади.

Каллус туқималар тўртинчи марта қайта экилгандан сўнг регенерацияланиш қобилиятини йўқотади. Қари каллус туқималари ҳам регенерацияланмайди.

Хужайралар суспензиясини олиш учун, каллус автоматик равишда аралаштирилган суюқ озика муҳитга ўтказилади. Пектиназа ферменти ёрдамида эксплант туқималардан (барг, поя, илдиз ва бошқалар) суспензияли юзасидан каллус туқимаси пайдо

булади, сунг ундан хужайра агрегатлари ажралади ва натижада хужайралар суспензияси ҳосил булади.

Биотехнологияда хужайралар суспензиясида қимматли дори препаратлари учун иккиланиши метаболитлар олишда, хужайралар биомассасини уситиришда ва хужайралар селекциясида фойдаланилади. Шу билан биргаликда хужайралар суспензияси ажратилган пропластлар олиш учун бошланғич материал сифатида ҳам қулланилади. Генетика ва физиологик изланишлар шунингдек хужайралар селекцияда амалий фойдаланиш учун якка хужайраларни культурлаш муҳим аҳамият касб этади.

Якка хужайраларни хужайралар суспензиясидан, усимлик туқималаридан, масалан, барг мезофилидан ферментлар ёрдамида мацерация қилинганидан сунг, алоҳида протопластлардан эса хужайра девори тиклангандан сунг ажратилади. Хужайра ва туқималар культураси соҳасида эришилган ютуқлар асосида усимликларни вегетатив қўпайтиришнинг янги усули – клонли микро қўпайтириш усули яратилди.

Клонли микро қўпайтириш жараёнини 4 та босқичга бўлиш мумкин.

1. Донор – усимлик танлаш, эксплантларни усимликдан алоҳида ажратиш ва стерил культурда яхши ўсадиганини ажратиб олиш;

2. Максимал миқдорда мериклонлар олишга эришилгандан сунг хусусий микроқўпайтириш;

3. Қўпайтирилган ниҳолларнинг илдиз отиши ва тупроқ шароитига қўниқиб амалга ошириш, зарур ҳолатда регенерант усимликни паст ҳарорат (-2%, -19% С) да сақлаш;

4. Усимликларни несикхона шароитида устириш ва уларни сотишга ёки далага экишга тайёрлаш.

Экологик ўзгаришлар усимликлар ўртасидаги ривожланиш ёки уларнинг улчами, шакли, ранги, композициясидаги ўзгаришларда кузатилиб, турли интенсивликдаги экологик стрессга (ноқулайликларга) жавоб ҳисобланади. Экологик ўзгаришлар

усимликларнинг киёслаш йули билан аҳолининг генетик униформасида кузатилиши мумкин.

Хужайралар технологияси йуналишларидан бири - бу улардан селекцияда фойдаланиш орқали, усимликларни янги шакллари ва навларини яратишдаги анъанавий селекцион жараёнларни тезлаштириш. Ажратилган хужайра ва туқималарни *in vitro* культурлаш усулларини шартли равишда икки гуруҳга бўлиш мумкин.

Биринчи гуруҳ - бу ёрдамчи технологиялар бўлиб, селекциянинг ўрнини боса олмайди, лекин унга хизмат килади. Бунга: *in vitro* уруғлантириш, уруғ куртакларни ва етилмаган дурагай куртакларни культурлаш (протгам чатишмасликни енгиш), чангдон ва микроспораларни устириб гаплоидлар олиш, алохида ажратилган хужайра, туқима ва органлари криосақлаш, узок турлар дурагайларни клонли микрокулайтириш усулларини киритиш мумкин.

Иккинчи гуруҳ усуллари мустақил равишда селекциянинг анъанавий усулларига боғлиқ бўлмаган ҳолда, каллус туқималарини қуллаш орқали хужайралар селекциясини амалга ошириш, соматик дуруғайлаш (алохида ажратилган протопластларни бир-бирига қушиш ва жинсиз дурагайлар олиш, ген муҳандислиги усуллардан фойдаланиб, усимликларнинг янги шакллари ва навларини олишга қаратилгандир).

Одатдаги селекция усуллари усимлик белги ва хусусиятларини комбинациялаш ва рекомбинацияга ҳамда танлашга асосланган бўлиб, бу албатта генетик ўзгарувчанликнинг чегараланишга олиб келади. Селекция самарасини ошириш учун эса генетик ресурсларни доим кенгайтириб боришга тўғри келади. Маданий усимликлар генетик баъзасини кенгайтириш учун турлараро ва авлодлараро чатиштириш, аллоплоидлар олиш қўл келади.

Узок шаклларни чатиштиришда ажратилган туқималар культурасини *in vitro* уруғлантириш, эбриокультура (алохида ажратилган муртакларни сунъий озука муҳитларда устириш),

кимматли дурагайларни *in vitro* гаплоидларини олиш, клонли микрокупайтириш ва криосаклаш каби усулларидан фойдаланилади.

Агар табиий шароитда танланган жуфтликлар орасида уругланиш имконияти бўлмаса *in vitro* уруглантириш амалга оширилади. Бу бир неча сабабларга боғлиқ бўлиши мумкин:

1. Чанг етилиш вақтининг мос келмаслиги ва бошқа физиологик омиллар:

2. Чангдон найчасининг қисқалиги ёки ривожланишининг турли даврларида унинг ўсишининг тўхташи ва бошқа морфологик омиллар.

Бу камчиликлар икки хил йул билан тузатилади:

А) тугунча устига етилган чанг дончалари кўйилиб, сунъий агарли озика муҳитларда ўстирилади:

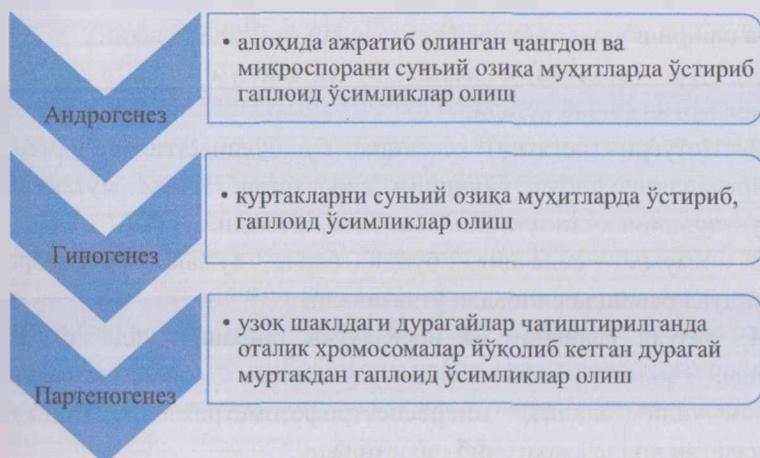
Б) тугунча ёрилади ва уруғ куртак билан планцента булаг и озика муҳитига ўтказилади, унинг атрофида ёки бевосита муртак туқимасида етилган чанг ўстирилади. Уруғ куртаклар ўлчамига қараб уругланиш амалга ошганлигини аниқлаш мумкин. Уруғланган уруғмуртаклар ўлчами катталаша бошлайди.

Узоқ шакллар чатиштирилганда постгам чатишмаслик юзага келади, натижада пуч, унмайдиган уруғлар ҳосил бўлади. Бунинг сабаби муртак ва эндоспермнинг ривожланиш вақтидаги тафовут бўлиши мумкин. Эндоспермнинг ривожланиши сустр бўлганда муртак меъёрида ўсишга қодир эмас. Бундай ҳолларда етилган пуч уруғлардан муртаклар алоҳида ажратиб олинган ва сунъий озика муҳитида ўстирилади. Муртакларни сунъий озика муҳитида ўстиришга эмбриокультура деб аталади. Етилган муртаклар физиологик фаол моддалар иштирокисиз факат минерал тузлар ва сахароза тутувчи оддий таркибдаги озика муҳитларида ўсади (Уайт озика муҳити). Ҳозирги вақтда эмбриокультурларни селекцияда қўллаб, донли, бошқоқли экинлар узоқ шаклларидан дурагайлар олиш муҳим аҳамиятга эга. Бу усул сабзавот экинларини узаро чатиштиришда тобора кенг қўлланилмоқда. Эмбриокультура тулик ривожланмаган муртаклардан дурагай ўсимлик олиш имконини беради.

Лекин дурагайлардан ўсимлик олиш камдан-кам ҳолатларда юз беради, купгина дурагайлар стерил булади, масалан гречиха ўсимлиги четдан чангланиши туфайли керакли генотиплар олиш кийин. Дурагайлар яширин куртакларининг ривожланишини фаоллаштириш орқали (стерил ниҳолларни каламчалаш) адвентив куртаклардан ёки каллус туқималаридан ўсимликларни регенерациялаш орқали купайтирилади.

Гаплоид ўсимликларнинг селекциядаги ўрни катта. Уларни қўллаш орқали керакли комбинацияни тезроқ топиш нав яратиш муддатини қисқартиради. Гаплоидлардан барқарор гомозигот тизимлар олишда фойдаланилади.

Мутагенез учун ҳам гаплоидлардан фойдаланиш қулай, чунки гаплоидлар даражасида рецессив мутацияларни тавлаш осон кечади. Гаплоид асослар стерилдир, лекин уларнинг хромосомалар тўпламини колхицин ёрдамида икки хисса купайтириш ва диплоид гомозигот ўсимликлар олиш мумкин. Ажратилган туқималар культураси усулини қўллаш орқали гаплоидлар олишнинг учта усули мавжуд:



Турлар ўртасидаги ирсий узгарувчанликни кўздан кечирганимизда ўсимликнинг маълум персонажининг контраст шакллари билан иш олиб борамиз. Ўсимликнинг белгилари ёки

маълум бир қисмлари хромосомалардаги генларнинг таъсири натижасида ва уни қайта ишлаш жараёнида завод ва атроф-муҳитнинг узаро таъсири натижасида ривожланади.

Усимликлар соматик ҳужайраларини суюқ азотда (-196° хароратда) сақлаш биотехнологияда янги йуналиш бўлиб, XX асрнинг 70 йилларидан бошлаб кенг ривожлана бошлади.

Криоконсервация жараёни ҳужайралар культурасини музлатишга тайёрлашдан бошланади. Бунинг учун ҳужайралар культураси турли осмотик фаол моддалар: 2-6 % концентрациядаги маннит ёки сарбит, аминокислоталар, улардан усимликлар ҳужайрасидаги сувни ўзига тартиб олиш хусусияти билан маълум бўлган пролин, шунингдек У-аминомой кислота тутувчи озика муҳитларда культурланади. Шубҳасиз, бу технология ўзининг келажагига эга, бутунги кунда криобанклар селекционерлар ишларини энгиллаштирмақда, уларга усимликларнинг турли навлари, ёввойи турларини, шунингдек йуқолиб бораётган турлар генлари билан ишлаш имкониятларини яратиб бермоқда.

Ҳужайралар селекциясини соматик клонлар олиш билан биргаликда қўллаш муҳим аҳамиятга эга. Ҳужайра селекциясини амалга ошириш учун қуйидаги усуллардан фойдаланилади:

1. Тўғри (позитив) селекция, бунда маълум типдаги мутант ҳужайраларгина яшаб кетади.

2. Нотўғри (негатив) селекция, бу бўлинаётган чидамсиз ҳужайраларнинг нобуд бўлишига асосланган. Бунда мутацион ўзгарувчанликни қўшимча аниқлаш талаб этилади.

3. Умумий селекция, бунда барча ҳужайра клонлари индивидуал равишда синондан утказилади.

4. Визуал селекция ва носелектив танлаш. Бунда визуал равишда, яъни биокимёвий усуллардан (хроматография, радиоиммуноли анализ, микроспектрофотометрия ва бошқа) фойдаланган ҳолда ажратилиб ишлатилади.

Бу усуллардан кенг тарқалгани тўғри селекция бўлиб, бундан гербицидлар, антибиотиклар, токсинлар, оғир металллар, тузлар ва бошқа антиметаболитларга чидамли регенерант усимликларни

ажратишда ишлатилади. Албатта, селекцияни якка хужайралар даражасида (суспензия культураси, протопластлар) ўтказиш мақсадга мувофиқдир. Лекин, ўсимлик турлари учун якка хужайраларни культурлашнинг самарали технологиялари ва усуллари ишлаб чиқилган. Шунинг учун, каллус туқималари юкоридаги камчиликларга эга бўлсада, баъзи ўсимлик турлари учун ягона усул ҳисобланади.

Ирсий ўзгаришлар селекционерлар учун муҳим аҳамиятга эга, уларсиз турғун генетик яхшиланишлар мумкин эмас. Селекционерларнинг асосий вазифаси ўсимликларнинг ҳосилдорлиги ва сифатини оширишга ҳисса қўшадиган ҳар қандай ижобий белгини аниқлаш ва исталган ушбу белгиларни мукамаллашган навнинг генлариши йиғишдан иборат.

Молекуляр биотехнология – биотехнология фанининг янги йўналиши бўлиб, 1970-йилларда шакллана бошлади ва у рекомбинант ДНК олиш ва саноат микробиологияси оралигида мужассамланди. Бу йўналиш илмий изланиши жуда кизикарли бўлиб, молекуляр биотехнологиянинг пайдо бўлиши инсон ва табиат ўртасидаги муносабатни тубдан ўзгартирди. Бу йўналиш асосида ирсиятнинг моддий асоси бўлмиш геннинг ген муҳандислиги усулида бир организмдан иккинчисига ўтказилиши таъминланди. Бунга рекомбинант ДНК технологияси дейилади. Гени бундай трансплантация қилиш натижасида янги маҳсулот олинадн ёки мавжуд бўлган маҳсулот саноат асосига ўтказилади.

Гени бир организмдан бошқасига ўтказишни Америка олимлари Стенпи Козн ва Герберт Бойер 1973-йилда ишлаб чиққан. Лекин бу технологияни давом эттириш ва шу асосида янги тажрибалар ўтказиш тўғрисида дунё олимлари ўз фикрларини билдиришди. Козн ва Бойер ҳамда бир гуруҳ молекуляр биологлар бундай тадқиқотларни тўхтатиш керак деган фикрларни билдиришди. Уларнинг фикрича иккита ҳар хил организмлар генларини бир генотипда жамлаш тўсатдан янги организмда инсон учун ҳавfli хусусият пайдо бўлишига олиб келиши мумкин. Индивидуал ўсимликнинг хусусиятларининг тараққий этиши унинг

авлодларини кузатиш ва ўстиришда маълум бўлади. Буларни синов ва тажрибалар натижасида кузатилаётган ўсимлик белгилари учун аллеллар гомозигота ёки гетерозигота эканлигини аниқлаш мумкин. Бир қанча вақт ўтиши билан янги технология иш услуги бўйича тажриба ортди ва олдинги қарашлар ижобий томонга ўзгарди.

Бу технологик усул барча биологик фанларнинг ривожланишига катта ҳисса қўшди. Жумладан ҳайвонлар ҳулк-атворини, ривожланиш биологияси, молекуляр эволюция, ҳужайра биологияси ва одам генетикаси фанларига, айниқса биотехно-логияга.

1970-йилларнинг бошида мавжуд бўлган биотехнология алоҳида фан сифатида унчалик кенг тарқалмаган эди. Бу йўналишда алоҳида кимё муҳандислиги ва айрим ҳолларда микробиологик тадқиқотлар олиб борилар эди.

Биотехнология атамаси 1917-йилда Венгер муҳандиси Карл Эрик томонидан чучкаларни катта масштабда қанд лавлаги билан боқиш ҳисобига ўстириш жараёнида қўлланилган. Эрик таърифлашча биотехнология б у хом-ашё материалдан тирик организмлар ёрдамида у ёки бу маҳсулот ишлаб чиқаришдаги барча ишлар.

Биотехнологиянинг sanoatлаштирилган жараёни, яъни бунда маҳсулот ишлаб чиқаришда микроорганизмлар ишлатилади ва бу уч асосий босқичдан иборат.

1. Мавжуд хом-ашёга ишлов берилиб, уни микроорганизмлар озиқа сифатида ишлатиши мумкин даражага келтирилади.

2. Ферментация ва биотрансформация: бунда биореакторда микроорганизмлар ўстирилади (қўпинча 100 литрдан ортиқ) ва улардан керакли метаболитлар, яъни антибиотиклар, аминокислоталар ёки оксиллар ҳосил бўлади.

3. Охириги ишлов беришда асосан ҳужайра массаси ёки култураланган муҳитдан керакли моддалар ажратиб олинади.

Рекомбинант ДНК технологияси. Бу технологияни молекуляр клонлаш ёки ген муҳандислиги деб ҳам юритилади. Булар маъноси тажрибада генетик материални (ДНК ни) бир организмдан иккинчисига ўтказиш жараёни бўлиб, бунда ҳеч қандай бир хиллик

ёки универсал методикалар тўплами мавжуд эмас. Шу билан биргаликда рекомбинант ДНК олиш кўпинча галма-галликда амалга оширилади:

1. Донор организмдан керакли генлар табиий ДНК дан экстракция қилинади ва янги ДНК клони яратилади.

2. Бу конструкция реципиентга киритилади. У ерда репликацияланади ва наслга берилади. Бу жараён трансформация дейилади.

3. Хужайралар идентификация қилинади ва рекомбинант ДНК ли хужайра ажратиб олинади.

4. Махсус оксил маҳсулоти бериладиган хужайра шаклланса, демак ген клони амалга ошган ҳисобланади.

Рекомбинант ДНК олиш технологиясини яратишда молекуляр биология, нуклеин кислоталар энзимологияси ва бактерия ҳамда вируслар молекуляр генетикаси, бактериялар хромосомасидан ташқаридаги элементлар (плазмидалар) туғрисидаги янги ахборотлар асос бўлди. Рекомбинант молекулаларни конструкция қилишда бир қанча ферментлар ишлатилади ва улар бу жараённинг барча босқичларида бўлиши шарт. Бундай ферментлардан биринчи навбатдагиси рестрикция ферментлари (рестрикция эндонуклеаза, рестриктазалар) бўлиб, улар нуклеотидлар галма-галлигини аниқлаб уларнинг қайси жойидан кесиш керак бўлса шу жойидан кесади.

Молекуляр клонлашдаги муҳим нарса донор ва вектор ДНК лар парчаланиши аниқ бир қисмда (сайтда) амалга ошириши ва ҳосил бўлган булаклар кўпайиши хусусиятига эга бўлиши керак. Агар хромосома ДНК сини нинаси кичик диаметрда бўлган шириц орқали ўтказсак ёки уларга ултразувук орқали ишлов берсак, унда биз 0,3 дан 5 т.п.н ораллигида булакларни оламыз. Бундай парчаланиш тасодий характерга эга ва ҳар бир ДНК га ишлов беришда янги ўлчамдаги булакларни оламыз. Шунинг учун ҳам молекуляр клонлашни амалга ошириш юқори даражада тозаланган бактерия ферментларини ажратиб олиш мумкин бўлгандан кейин бажарила

бошланди. Бундай ферментлар рестриктазион эндонуклеаза 2 типдаги ферментларидир.

Оқсил ва нуклеон кислоталарни ажратиб олишда гель-электрофорез кенг қўлланилади. Унинг моҳияти шундан иборат. Аниқланадиган препарат (оқсил суюқлиги ДНК ёки РНК) гел ёриқларига қўйилади. Бу ёриқчалар электрофарезнинг анод қисмда бўлади. Гендан ток ўтказилганда бир хил катталиқдаги ва бир хил зарядли молекулалар ҳаракати ўхшаш бўлади ва улар кўринмас чизиқчалар ҳосил қилади. Агар молекулалар кичик бўлса уларнинг ҳаракати тез бўлади. Шундай қилиб препаратдаги барча молекулалар зоналарга бўлинади. Электрофарез тугагач, гел маҳсус бўёқ билан бўялади ва натижада молекулалар катта кичиклигига ва зарядига қараб аниқ зоналарга бўлинади.

Плазмидлар хромосомадан ташқарида автоном репликация бўладиган икки занжирли ДНК молекуласидир. Плазмидлар барча бактерияларда мавжуд. Плазмидларнинг айримларида ўзларини бир хужайрадан бошқасига (γ- плазмидлар) кўчирадиган ахборот бўлса бошқа плазмидлар эса антибиотикларга чидамлилиқ (Р-плазмидлар генлари) ёки маҳсус генлар йиғинга эга бўлинади. Маҳсус генлар одатдан ташқаридаги метаболитларни утилизация қилишда хизмат кўрсатади.

Генларни клонлаш тажрибада қўйидаги босқичлардан иборат.

1. Рестриктаза ёрдамида ДНК ни булақларга бўлиш, бу булақларда керакли ген бўлиши керак.

2. Векторни клонлаш учун ишлов бериш (одатда плазмидларни) натижада улар киритилган хужайрада репликацияланади. Бунда донор ДНК ни булақларга бўлишда иштирок этган рестриктазалар қатнашади.

3. ДНК нинг икки бўлагини қўшиб ва уларни ДНК - лигаза фаги билан т4 билан тикиш.

4. Тикилган молекуларни хужайин хужайрага трансформация қилиш. У ерда рескомбинант ДНК ни амплификация қилиш.

Рекомбинант ДНК ни сакловчи хужайраларни ажратиб олишда алохида услублардан фойдаланиш. Доира шаклидаги плазмид молекулалари сонини камайтириш учун (улар ДНК булаklarини тикишда пайдо булади) рестриктозаланган ДНК плазмидаси ишкорий фосфатаза билан ишлов берилади. Улар 51-фосфат гурухи охирини йукотишда ёрдам беради. Дурагай плазмидалар сакловчи трансформация қилинган хужайраларни танлаш учун куйидаги ишлар бажарилади.

1. Маълум бир антибиотик ёки колиметрик реакцияга резистентликни аниқлаш учун тест утказиш.

2. Клон генининг махсулоти бўлмиш иммунологик тест ёки махсус оксилларни аниқлаш.

3. Зонд оркали дурагайлаш.

2-МАВЗУ: БИОТЕХНОЛОГИЯ ҲАҚИДА ТУШУНЧА ВА УНИНГ АҲАМИЯТИ

Биотехнология – тирик организмларни, уларнинг тизимларини ёки ҳаётий фаолиятининг махсулотларини технологик вазифаларни счиш учун фойдаланиш имкониятларини, шунингдек, ген муҳандислик усули билан керакли хусусиятларга эга бўлган тирик организмларни яратиш имкониятларини ўрганадиган фан.

Замонавий биотехнология бу учта асосий йуналишда ривожланадиган фан ва ишлаб чиқариш соҳасидир:

- молекуляр биология ва генетик муҳандислиги;
- микробиология ва микробиологик саноат;
- *in vitro* хужайра ва туқима культураси.

Биотехнология ўсимлик объектларига нисбатан анъанавий равишда куйидаги йуналишларда курилади:

1. Усимликлар хужайралари, туқималари ва органлари культурасини ишлаб чиқариш биотехнологияси;

2. Организмларнинг микроклонал кўпайтириш биотехнологияси;

3. Ген муҳандислиги;

4. *In vitro* банки ва криоконсервация; усимликлар генофондини сақлаб қолиш учун уларнинг аҳамияти.

1. Усимликлар хужайралари, туқималари ва органлари культурасини ишлаб чиқариш биотехнологияси.

Юқори усимликларнинг органлар, туқималар, хужайралар ва ажратилган протопластларини *in vitro* етиштиришга асосланган хужайра технологиялари янги навлар ва турларни яратишнинг анъанавий жараёнини осонлаштириши ва тезлаштириши мумкин. Улар соматик вариация, хужайра даражасида мутагенез, хужайра селекцияси, соматик дурагайлаш каби тубдан янги усулларни генетик хилма-хилликни яратиш ва керакли белгиларга эга шаклларни танлаш учун таклиф қилишади. Бундан ташқари, хужайра технологиялари вегетатив купаядиган усимликларнинг вируссиз материални яратишда самарали ҳисобланади.

Клонал микрокупайтиришнинг кашфиётчиси француз олими Жан Морель бўлиб, 1950-йилларда орхидеянинг биринчи регенерант усимликларини олган. Бу вақтда апикал меристемаларни *in vitro* етиштириш техникаси яхши ишлаб чиқилган эди. Одатда тадқиқотчилар ўтсимон усимликларнинг: чиннигуллар, хризантемалар, кунгабоқар, нухат, маккажўхори ва х.к. апикал меристемаларини асосий эксплантат сифатида фойдаланишган. Россияда микроклонал купайтириш буйича ишлар 1930-йилларда Россия Фанлар академияси Усимликлар физиологияси институтининг туқима культураси ва морфогенез лабораториясида бошланган. Р.Г.Бутенко бошчилигида картошка, қанд лавлаги, чиннигул, гербера ва бошқа усимликларни микрокупайтириш шароитлари урганилиб саноат асосида технологиялари таклиф қилинди. Кейинчалик, микроклонал купайтириш буйича тадқиқотлар ёғочли усимликларни ҳам қамраб олди.

Ёғочли усимликларнинг туқима культураси буйича биринчи ишлар 1920 йилларнинг ўрталарида нашр этилган ва Готре номи билан боғлиқ бўлиб, у баъзи усимликларнинг камбиал туқималари *in vitro* ҳолда каллусогенезга қодир эканлигини кўрсатди. Аммо тупрок культурага олиб келинган тоғтеракнинг биринчи регенерант-

усимликлар фақат 60-йилларнинг ўрталарида Матсес томонидан олинган.

Узоқ вақт давомида *in vitro* игнабаргли турларнинг туқималарни етиштириш тадқиқот объекти сифатида камдан-кам ишлатилган. Бу усимликдан ажратилган туқималарни етиштиришдаги ўзига хос кийинчиликларга боғлиқ эди. Маълумки, ёғочли ва айниқса игнабаргли усимликлар секин ўсиши билан ажралиб туради, илдиз отиши кийин, таркибида кўп миқдордаги иккиламчи бирикмалар (феноллар, терпенлар ва бошқалар) мавжуд бўлиб, улар ажратилган туқималарда фаолишади. Оксидланган феноллар хужайранинг булиниши ва ўсишини одатда секинлаштиради, бу эса бирламчи эксплантат ўлимига ёки ёғочли усимлик туқималарининг адвентив куртакларни регенерациясини пасайишига олиб келади, бу эса донор усимликнинг ёши ошиши билан деярли бутунлай йўқолади. Ҳозирги вақтда, юқоридаги кийинчиликларга қарамасдан, *in vitro* кўпайтирилган 40 та оилага мансуб 200 турдан ортиқ ёғочли усимликлар (каштан, эман, қайин, чинор, қарағай, арча, секвойя ва бошқалар) мавжуд.

2. Микроклонал кўпайтириш биотехнологияси

«Микроклонал кўпайтириш» атамаси усимликнинг *in vitro* оммавий жинссиз кўпайишини англатади, унда ҳосил бўлган усимлик намуналари генетик жиҳатдан асл намунага айнан ухшашдир.

Хужайра ва туқима культура соҳасидаги ютуқлар вегетатив кўпайишнинг тубдан янги усули – микроклонал кўпайишни яратишга олиб келди. Микроклонал кўпайиш – генетик жиҳатдан асл усимлик намунасига айнан ухшаш, *in vitro*, жинссиз йули билан олиш. Усул усимлик хужайраларининг ўзига хос тотипотенциясини амалга оширишнинг ноёб қобилиятига асосланган. Илмий терминологияга кура, клонлаш битта хужайрадан бир хил организмларни олишни англатади. Ушбу усул мавжуд анъанавий кўпайиш усулларидан бир нечта афзалликларга эга:

- генетик жиҳатдан бир хил экиш материални олиш;

- меристем культурасидан фойдаланиш ҳисобига усимликларни вируслардан холи қилиш;
- юқори кўпайиш коэффициенти;
- селекцион жараёни давомийлигини қисқартириш;
- усимликларнинг усмирлик давридан репродуктив ривожланиш фазасига ўтишини тезлаштириш;
- анъанавий усуллар билан кўпайиши кийин бўлган усимликларни кўпайтириш;
- нафақат вегетация даврида, балки бутун йил давомида иш олиб бориш имконияти;
- усини жараёнини автоматлаштириш имконияти.

Микроклонал кўпайтиришнинг бир нечта моделлари мавжуд, уларнинг ҳар бири ўзига хос афзалликлари ва камчиликларига эга: а) адвентив новдаларнинг ривожланиш индукцияси туғридан-туғри эксплант тўқимадан амалга ошириш, усул жуда самарали, кўпайтириладиган намунанинг барча белгилари тулик сақланиб қолинади; б) қўлтиқ новдаларининг ривожланиши апикал доминантликни олиб ташлашга асосланган, бу энг ишончли усул бўлиб, у олинган новдалар массасини микрокаламчаларга бўлишни ўз ичига олади, улар кўпайиш циклини такрорлаш учун иккиламчи эксплантлар сифатида ишлатилади, цитокинин фаоллиги бўлган моддаларни озуқа муҳитига киритиш кичик новдалар туپламини ҳосил бўлишига олиб келади, қўлтиқ новдалари янги куртакларни ҳосил қилади, усул бир хил авлод олиш учун минимал хавф даражасига эга деб ҳисобланади; в) каллус тўқимасини кейинги органогенез индукцияси билан олиш, назарий жиҳатдан бу усул кўпайиш коэффициенти нуқтаи назаридан энг истиқболли ҳисобланади, аммо дифференциация жараёнида вегетатив наслини тахмин қилинган шакллар билан олиш хавфи мавжуд, шунинг учун узоқ муддатли каллус культурасини олиб бориш тавсия этилмайди ва регенерант усимликлар устидан мажбурий цитологик назоратни ўтказиш тавсия этилади.

3. Генетик муҳандислик

Генетик муҳандислик – функционал жihatдан фаол генетик тузилмаларни *in vitro* шароитида куриш (рекомбинант ДНК) ёки бошқача қилиб айтганда – сунъий генетик дастурларни яратиш (Баев А.А.). Э.С.Пирузяннинг айтишларича генетик муҳандислик – бу рекомбинант ёки дурагай ДНК молекулалари шаклида сунъий генетик тузилмаларни лабораторияда (пробиркада) куриш имконини берадиган экспериментал усуллар тизими.

Генетик муҳандислик – бу нуклеин кислоталар молекулалари билан хужайрадан ташқарида манипуляция қилиш ва яратилган ген конструкцияларини тирик организмга ўтказиш орқали генетик материалнинг янги комбинацияларини олиш, бунинг натижасида уларнинг ушбу организмда ва унинг авлодида қушилиши ва фаоллигига эришилади. Бу йўналтирилган, олдиндан белгиланган дастурга мувофиқ организмдан ташқарида молекуляр генетик тизимларни куриш, кейинчалик уларни тирик организмга киритиш. Бундай ҳолда, рекомбинант ДНКлар рсепиент организмнинг генетик апаратини таркибий қисмига айланади ва унга янги ноёб генетик, биокимёвий ва кейинчалик физиологик хусусиятларни узатади.

Амалий генетик муҳандисликнинг мақсади шундай рекомбинант ДНК молекулаларини яратишки, улар генетик аппаратга киритилганда организмга инсон учун фойдали хусусиятларни берадиган булиши лозим. Масалан, одамлар учун фармакологик аҳамиятга эга булган моддаларни ишлаб чиқарадиган «биологик реакторлар» – микроорганизмлар, усимликлар ва ҳайвонларни олиш, одамлар учун маълум қимматли хусусиятларга эга усимлик навларини ва ҳайвон зотлари яратиш. Генетик муҳандислик усуллари генетик паспортизация, генетик касалликларга ташхис қўйиш, ДНК-вакциналарни яратиш ва турли касалликлар учун ген терапиясини амалга оширишга имкон беради.

Рекомбинант ДНК технологияси куйидаги усуллардан фойдаланади:

- айрим генларни ажратишини ва улар билан манипуляцияни тезлаштирадиган чеклаш нуклеазалари билан ДНКнинг узига хос парчаланиши;

- тозаланган ДНК фрагментидаги барча нуклеотидларнинг тез аниқланиши, бу эса ген четгараларини ва у томонидан кодланадиган аминокислоталар кетма-кетлигини аниқлашга имкон беради;

- рекомбинант ДНКни куриш;

- нуклеин кислоталарнинг комплементар кетма-кетлигини боғлаш қобилиятига асосланган ҳолда аниқроқ ва сезгирлик билан РНК ёки ДНКларнинг махсус кетма-кетликларини аниқлашга имкон берадиган нуклеин кислоталарини дурагайлаш;

- ДНКни клонлаш: полимераза занжирли реакциясидан фойдаланган ҳолда *in vitro* амплификация қилиш ёки бактерия хужайрасига ДНК фрагментини киритиш, бундай трансформациядан сунг бактерия ушбу фрагментни миллионлаб нусхада қўпайтиради;

- рекомбинант ДНКни хужайралар ёки организмларга киритиш.

4. *In vitro* банки ва криосаклаш; Усимликлар генофондини сақлашда уларнинг ахамияти.

Фойдали хусусиятларга эга булган хужайра тизмаларини олишда ушбу белгиларни сақлаб қолиш муаммоси пайдо булади. Усимликлар генетик маълумотни уруғларда сақлаши мумкин, аммо бу манба гулик ишончли эмас, чунки вақт ўтиши билан мутациялар туфайли уруғларнинг униб чиқиши пасаяди. Бундан ташқари, баъзи ўсимликлар фақат вегетатив йўл билан қўпаяди. Бу эса материалнинг бир қисмини *in vitro* сақлаб қолишни талаб қилади. Бошқа томондан, баъзи ҳолларда иккиламчи метаболитларни қўп миқдорда синтез қиладиган янги хужайра тизмаларини олиш мумкин, яъни махсулдорлиги юқорироқ булганларни, улар ҳам сақланишга муҳтож.

Туқималарда кечадиган физиологик ва биокимёвий жараёнларни урганиш учун стандарт бошланғич культуралари ҳам талаб қилинади, бу эса материални, кетма-кет экспериментлар ўтказилаётганда, маълум вақт давомида сақлашни талаб қилади. Буларнинг барчаси генофондни сақлаш муаммосини жуда долзарб қилади.

Албатта, хужайра культураларни пассаж ва кайта пайванд қилиш мумкин. Аммо, бундай ҳолда сомаклонал узгарувчанлик, мутацияларни тулланиши, контаминация жараёни (бегона генетик материал билан зарарланиш) хавфи юзага келиш мумкин. Бундан ташқари, маълум молиявий ва меҳнат харажатлари (тез-тез трансплантация қилиш зарурати, озука билан боғлиқ харажатлар ва бошқалар) талаб этилади. Культураларни сақлашда турли хил ёндашувлар мавжуд: криосаклаш, усишни секинлаштириш, лиофил қуритиш ёки музлатиш (микрорганизмлар хужайралари учун).

Криосаклаш – ута паст ҳароратларда музлатиш. Одатда, суюқ азотда, -196°C ҳароратда амалга оширилади.

Паст ҳароратда консервациянинг муваффақияти бир қатор омилларга боғлиқ:

- хужайралар тури ва хили,
- уларнинг суспензиядаги концентрацияси,
- консервация қилиш учун озуканинг таркиби,
- криопротекторнинг тури ва концентрацияси,
- совутиш ва иситиш режими,
- иситилгандан кейин хужайраларни реабилитация қилиш усули.

Хужайраларни муваффақиятли музлатишида уларнинг морфофизиологик ҳолати муҳим рол ўйнайди: стационар ўсиш фазасидаги хужайралар паст ҳароратда консервациялашнинг зарарли таъсирига экспоненциал ўсиш босқичидаги хужайраларга нисбатан камроқ чидамли. Музлатиш учун хужайралар ўсиш эгри чизигининг экспоненциал фазаси уртасида танланади.

Музлатиладиган суспензиянинг зичлиги ҳам муҳим аҳамиятга эга. Хужайранинг тикланиши буйича оптимал натижалар хужайралар зичлиги 1 мл да $1 \cdot 10^5$ - $5 \cdot 10^6$ булган хужайра суспензиясини музлатишда олинган. Усимлик хужайралари учун кўпинча махсус шароитларда дастлабки етиштиришни талаб қилинади. Муҳитга турли хил моддалар қўшилади, масалан:

- вакуодалар ҳажмини камайтириш учун 2-6% маннит ёки сорбит;

- аминокислоталар, биринчи навбатда хужайрадаги сувни бириктиришга хизмат қиладиган пролин (концентрацияси 1 мол ёки 11,5% гача), аспарагин, γ-аминомой кислота;

- цитоплазматик мембрананинг ўтказувчанлигини ошириш учун предкультивация (культивациядан олдин) қилинадиган муҳитга 2,5 дан 10% гача концентрациясида 48 соат давомида диметилсульфоксид (ДМСО) қушилади:

- ундан ташқари, совуқка сунъий чиниктириш қўлланилади, бунда етиштириш ҳарорати пасайтирилади, яъни кишнинг тиним даврига тайёргарликнинг кузги табиий жараёнига ухшатиш учун (фақат муътадил иқлимли ўсимликлар учун қўлланилади). Хужайра культураларни бир неча кун давомида +8 +10°C ҳароратда, сўнгра +2 +5°C да 1-6 ҳафта давомида сақланади.

Ўсимлик хужайраларини ҳайвон хужайраларидан музлатиш жараёни асосан дастлабки етиштириш босқичининг мавжудлиги билан ажралиб туради.

Криопротекторлар – криоконсервация пайтида физик-кимёвий омилларнинг зарарли таъсирини камайтирадиган моддалар. Буларга сахароза, декстран, этиленгликоль, поливинилпирролидон, диметилсульфоксид (ДМСО), глицерин киради. Криопротекторнинг токсиклигини аниқлаш учун хужайралар хона ҳароратида унинг ҳар хил концентрацияларда 30-50 дақиқа давомида ушлаб турилади, шундан сўнг уларнинг ҳаётчанлиги аниқланади. Шу билан бирга культураларни музлатиш ва эритиш билан унинг химоя хусусиятлари баҳоланади. Қўнича криопротектор сифатида глицерин ва ДМСО ишлатилади. Криопротекторни қушишдан олдин хужайра суспензияси центрифугада концентрацияланади, чўкма тепасидаги суюқлик тукилади. Музлашдан бир соат олдин криопротекторлар культурага киритилади, бу эса мембрана ўтказувчанлигининг ўзгаришига, музлаш ва эритиш нуқталарининг ўзгаришига олиб келади.

Совитиш дастурлари турли хил бўлиши мумкин, аммо уларнинг барчаси секин совитиш тезлигига эга. Музлатилганда хужайралар ичида ва ташқарисида муз ҳосил бўлади. Ушбу

Узгаришларнинг табиати Урганилаётган намунага ва криопротекторлар билан ишлов беришга боғлиқ, лекин, асосан, совитиш тезлигига боғлиқ. Секин совитилганда хужайрадан ташқаридаги муз пайдо бўлиб, цитоплазманинг музлаш нуктасига етгунча хужайранинг сувсизланишига олиб келади. Тез совитиш натижасида хужайралар ичкаридан тезроқ музлайди, сувсизланиш секинлашади, бу эса хужайра ичида муз кристаллари ҳосил бўлишига олиб келади. Бундай ҳолда хужайралар шикастланади. Одатда совитиш икки босқичда амалга оширилади:

- биринчи босқич – +20 дан -28°C гача, 1 дақиқада 1 даража тезлигида (ўсимлик хужайралари учун музлаш тезлиги дақиқада 0,5 даража -35°C гача), бу ҳароратда 15 дақиқа ушлаб турилади;

- иккинчи босқич: суёқ азотга жойлаштириш (бир зумда -196°C гача совитиш).

Музлаш маҳсус аппаратларда амалга оширилади. Улар йўқ бўлганда – спиртли ҳаммомда (0,5-1 литр спиртни металл қолбали термосга қуйилади, унга ампулалар 15 дақиқага жойланади ва донмо аралаштириб туриб суёқ азот ёки курук муз қушилади; ҳарорат -32°C га етказилади (ҳарорат -28 дан юқори ва -32°C дан паст бўлмаслиги керак)). Кейин ампулалар суёқ азотга ўтказилади.

Эритиш пайтида ампулани пинцет билан +37 +40°C ҳароратли сув ҳаммомига ўтказилади, 1 мл ҳажмдаги ампула 0,5-1 дақиқа давомида эритилади.

Эритилгандан сўнг ўсимлик хужайралари 3-10% сахароза эритмаси билан ювилади.

Кейинчалик, хужайралар, улик хужайраларни бўяйдиган маҳсус бўёқлардан фойдаланиб, ҳаётчанлигини текширади. Охириги мезон – ушбу культура учун ишлатиладиган стандарт озудада ўсишни аниқ тиклаш.

Эритгандан сўнг, қайта-қайта экиладиган ҳайвон хужайралари культураларининг вирусларга нисбатан сезгирлиги юқори бўлади, бу дастлабки икки пассаж давомида ўзини намоён қилади. Кейинчалик, сезгирлик аслига қайтади.

Ўзбекистонда биотехнология молекуляр биология ва генетика соҳалари ривож билан ўз ифодасини топмоқда. Биотехнологиянинг таракқиёти кўплаб амалий муаммоларни ечимини топиш билан боғлиқдир. Улар орасида тиббиёт учун керакли препаратлар ишлаб чиқариш, одам ирсий касалликларини олдини олиш, кишлоқ хўжалиги экинларининг қимматли хўжалик аҳамиятига эга бўлган янги навларини яратиш, микроорганизмларнинг янги штаммларидан фойдаланиш асосида атроф-муҳитни зарарли моддалардан тозалаш ва ҳоказо борасида илмий изланишлар олиб борилмоқда.

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

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

Бу борада ЎЗР ФА Микробиология институти Давлат илмий-техникавий ва фундаментал тадқиқотлар дастури доирасида минтақамизда биотехнология, айниқса, микроб биотехнологиясида микроорганизмлар тарқалиши қонуниятларини урганиш, улар орасидан халқ хўжалиги учун ута зарур бўлган турлари ва туркумларини ажратиш олиш орқали микроорганизмлар тупламини яратиш, энг фаол турларидан янги биотехнологик имкониятлар яратиш, микроблар синтез қиладиган физиологик фаол моддаларни (антибиотиклар, витаминлар, оксил моддалар, ферментлар, фитогормонлар ва ҳ.к.) соф ҳолда ажратиш олиш, уларнинг физик-кимёвий хусусиятларини урганиш бўйича чуқур илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Жумладан:

- *пахтачилик ва тупроқ биотехнологияси;*
- *озика моддалари биотехнологияси;*
- *ферментлар ва бошқа физиологик фаол моддалар биотехнологияси;*

- ошқозон-ичак фаолиятини яхшилашга ҳамда касалликларни олдини олиш ва даволашга мўлжалланган биотехнологиялар;
- ноёб, рангли ва нодир металллар биотехнологияси;
- атроф-муҳитни микроорганизмлар ёрдамида тозалаш ва унинг ифлосланишини олдини олишга мўлжалланган биотехнологиялар эътиборга лойиқоир.

Пахтачилик ва тупроқшунослик биотехнологияси йўналиши бўйича ҳам бир катор янги, экологик, импорт ўрнини боса оладиган, экспортга мўлжалланган, рақобатбардош биологик ўғитлар “Ер малҳами”, “Биоўғит”, “ФМКГ”, “Микробли ўғит” каби биопрепаратлар ишлаб чиқариш технологиялари яратилди ва улар мамлакатимизда кенг сировдан ўтказилиб, катор ижобий натижаларга эришилди.

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

Ўсимликларни зараркунанда ҳашаротлардан асраш бўйича, колорадо кўнғизи, барг ўровчи ҳашаротлар, америка оқ капалаги, ҳар хил куялар, утлоқ парвонаси каби ундан ортик ҳашаротларга қарши биоинсектицидлар ишлаб чиқарилган ва сировдан ўтказилган.

Маълумки, мамлакатимизда чорвачиликни ривожлантириш, чорва маҳсулотлари сифатини ошириш долзарб масалалардан биридир. Шу мақсадда ҳам сезиларли ишлар амалга оширилмоқда. Масалан, ғўзапоя, сомон, ҳазон ва бошқа ўсимлик қолдиқлари ва ишлаб-чиқариш чиқиндиларини микробиологик қайта ишлаш ва уларнинг озика бирлигини ошириш туфайли чорвачилик учун оқсилга бой, сервитамин маҳсулотлар олиш биотехнологиялари яратилган бўлиб, бу асосида Қашқадарё вилояти Яққабўғ туманида ва Тошкент вилояти Қибрай туманида маҳсус цехлар ташкил қилинган.

Институт тажриба ишлаб-чиқариш лабораториясида яратилган озик-овқат, ёғ - мой, фармацевтика саноат чиқиндилари асосида юкори сифатли озика моддалари ишлаб чиқариш технологияси Республика, Россия , Украина давлат патентлари билан химоя қилиниб қорвачилик ва паррандачилиқ учун қатта самара бериши тажрибаларда тасдиқланган.

Минтақамиз иқлим шароити, овқатланиш маданиятининг узига ҳослиги ва бир қанча бошқа сабаблар ёз ойларида ошқозон-ичак фаолиятининг узғаришига олиб келиши мумкин. Бунга уз вақтида эътибор берилмаса, жигар ва қон -темир ҳасталиқлари келиб чиқиши маълум. Шунинг учун ҳам олимларимиз олдига қўйилган асосий вазифалар олдини олиш ёки уз вақтида ва сифатли даволашга шароит яратиш йўллари ни излаб топишга қумаклашишдан иборат. Бу мақсадда бир қатор янги биотехнологиялар яратилган бўлиб, улар асосида “Лактобактерин”, “Қолибактерин”, “Ором-1”, “Ором-2”, “Ором-3”, “Биофиқол”, “Биофиқол-М” каби ундан зиёд биопрепаратлар ва 20 дан ортиқ ачитқи препаратлари тайёрланиб, ҳаридорларга етказиб берилмоқда.

Жумладан, даволашда парҳезга мулжалланган “Ором-1” биопрепарати Олмония ва Буюқ Британия патентларига эга. Бу биопрепаратнинг қақалоклар ва кекса кишилар организмиде яхши фаолият қўрсатиши ҳамда минтақамиздаги экологик вазиятга қулай ва чидамлилиги бошқа биопрепаратлардан устундир. Қолаверса, бу препаратларнинг арзонлиги ҳориждан валютага келтириладётган хиллари ўрнини боса олиши уларнинг бир қатор афзал томонларини белгилайди.

Академик М.Э.Мавлоний раҳбарлигида қон ва қон маҳсулотлари сифатини ошириш бўйича бир қатор илмий ишлар амалга оширилмоқда. Унинг илмий тақлифлари асосида ачитқи замбуруғлари сифатли, ҳушбуй таъмли қон ва қон маҳсулотлари ишлаб чиқаришда қенг қўламда қўлланилмоқда.

Ҳозирги вақтда экология муаммоларига боғлиқ бўлган бир қатор рақобатбардош биотехнологиялар яратилган. Нефть ва нефть маҳсулотлари билан ифлосланган тупроқ ва оқова сувларини

тозалаш, гербицидлар, пестицидлар, дефолиантлар ва бошқа захарли кимёвий препаратлар ва усимликлар қолдиқлари (масалан, хазон) ва бошқа чиқиндиларни микробиологик йул билан парчалаш буйича олиб берилаётган ишлар шулар жумласидандир.

Биотехнология усимликлар селекциясининг асосий усуллари билан бирга замонавий усуллар, ген муҳандислиги, молекуляр хариталаш, хужалик учун кимматли генларни ажратиб олиш, хужайра ва тукималар культураси каби соҳалар асосида ривож топмокда.

Ўзбекистонда олиб борилаётган биотехнологияга оид тадқиқотларда ғуза усимлиги асосий уринни эгаллайди. Бу борада мазкур усимликнинг уругмуртак ва хужайралар культурасидан фойдаланиб *in vitro* шароитида янги самарадор навларини олишда фундаментал, амалий тадқиқотлар амалга оширилмокда. Ғуза усимлигига хужалик аҳамиятига молик кимматли белгиларини киритиш оркали куйидаги вазифаларни ечиш масаласи куйилган:

1. Ғузанинг алоҳида хужайралари ва каллус тукималарини олиш учун ген муҳандислигидаги реципиент тизимларини яратиш.

2. Регулятор элементларни аниқлаш учун ғуза геномининг молекуляр генетик тизимини тадқиқ этиш. Бу максатда ғузанинг бир неча минг алоҳида генлар банки олинган. Ғуза геномининг клонлардан иборат муайян ДНК булақларининг нуклеин кислоталари кетма-кетлиги аниқланган.

3. Кимматли хужалик аҳамиятига эга белгиларни кодирлайдиган нишон белгиларни молекуляр клонлаш борасида ҳам бир қанча ютуқларга эришилган.

4. Ғуза усимлигига трансформация қилиш учун бир қатор вектор молекулалари конструкцияси тузилиши ва T⁻бактерия транспозонини клонлаш. (У усимликлар трансформациясида маркер сифатида фойдаланилади, шунингдек баъзи генларнинг терминатор ва промотор қисмлари учун ҳам маркер бўлиб хизмат қилади).

Шунингдек, ғуза усимлигига А.Штейннинг канамицинга чидамлилик генини сакловчи T₁ плазмидаси асосидаги векторлар трансформация қилинган.

Ҳозирги вақтда трансформация қилинган каллус туқимасини ва хужайра суспензиясини селектив шароитларда устириш борасида тадқиқотлар олиб борилмоқда.

Генетика ва ўсимликлар экспериментал биологияси институтида ғузанинг турли навлари геноми фрагментларига тегишли ДНК булакларини киритиш мақсадига рекомбинант молекулаларнинг бир қанча вариантлари конструкцияси тузилди ва тузилмоқда.

Бир неча йиллардан бери ғузанинг трансформант хужайраларини етук даврига қадар устириш борасида изланишлар олиб борилмоқда.

Ќуза ўсимлиги геномидан микросаттелитларни ажратиб олиш, уларнинг тузилишини урганиш ва клонлаш борасида ҳам замонавий селекцияга асосланган илмий тадқиқот ишлари устида изланилмоқда. Шунинг учун кейинги ўн йиллар давомида ғузанинг ассоциатив селекцияси учун маркер сифатида микросаттелитларнинг янги коллекциясини яратиш амалга оширишга эътибор қаратилмоқда.

Бу борада ғузанинг *G.hirsutum* L. геномидан ажратиб олинган янги микросаттелитлар, уларнинг нуклеотид кетма кетликлари аниқланган, уни молекуляр клонлаш ишлари амалга оширилган.

Ќуза янги микросаттелитларининг нуклеотид кетма-кетликлари модел ўсимлик *Arahidopsis thaliana* нинг илгари тулиқ урганилган геноми билан таққослаш ишлари олиб борилмоқда.

Шунингдек ғуза геномини таҳлил қилиш учун ҳар бир микросаттелит учун ПЗР специфик жуфт праймерларни тузиш борасида ҳам изланилмоқда. Энг йирик ютуқлар сифатида ғуза геномидан ўн мингдан ортиқ фрагментларни ажратиб олинганлиги, уларнинг баъзилари махсус векторларда клонланганлигини кўрсатиш мумкин.

Биотехнологияда бир қатор қишлоқ хужалиги экинлари: бўғдой, шоли, помидор, сабзи, сабзавот- полиз экинларининг янги навларини яратиш борасида тадқиқотлар олиб борилмоқда.

Ўзбекистон биотехнологиясининг олдида турган истикболли муаммолар асосий кишлок хўжалиги экинларининг генофондини тузиш, уларни саклаш усулларини ишлаб чиқариш, турли хил касаллик ва зараркунанда хашаротларга чидамлилик ташки муҳитнинг турли хил стресс омиллари: кургоқчилик, шурланиш, юкори ва паст ҳароратга чидамлилик каби комплекс белгиларга эга трансген навларни яратишдан иборат.

Ўзбекистонда биотехнологиянинг ривожланиш тарихи

Озик-овқат ва озука маҳсулотлари биотехнологияси Ўзбекистон учун энг кенжа фанлардан бўлиб, унинг тарихи узокка бормайди (қадимий биотехнологиялар нон ёпиш, қатиқ 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 ачатки замбуруғларни таҳлил қилиб, уларни нонвойчилик, виночилик ва чорвачиликка қўл келадиган турларини топди ва улар асосида махсус хамиртурушлар ва виночилик учун ачатки тайёрлаш технологияларни яратди.

Профессор Қ.Д.Давранов МДХ мамлакатларида биринчилардан бўлиб, ёғ парчаловчи липаза ферментини тайёрлаш технологиясини яратди. Бу ферментни кўп шаклилиги 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 кишлок хўжалигида кенг қўлланилмоқда. Бундан ташқари Қ.Д.Давранов раҳбарлигида З.Р.Аҳмедова табиий целлюлоза-лигнин биокаркасини (ғўзапоя, сомон, каноп пояси, қипик ва бошқалар) шу мақсад учун махсус тайёрланган базидиомицетларнинг ферментлари иштирокида парчаланиш шароитларини ишлаб чиқдилар.

Б.ф.д. Ж.Ташпулатов (1938-2005) сомон ва ғузаяпояни парчалашда “триходерма харзианум” деб аталмиш замбуруғ ферментларидан фойдаланиш мумкинлигини илмий асослаб берди ва бу технологияни амалиётга куллаш буйича таклиф ва мулохазаларни чоп этди. Ж.Ташпулатов яратган бу технология кулланилганда сомонда шакар микдори 6-7% га етгани, унда витаминлар, аминокислоталар пайдо булганлиги ва шу туфайли сомоннинг озика-бирлиги бир неча баробар ошганлиги исботлаб берилган.

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

Ўзбек олимларидан Т.Г.Гулямова, А.Х.Ваҳобов, Х.А.Бердикулов, Р.Шаякубов, З.Р.Аҳмедова, 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 уринда, Ўзбекистонда биотехнологиянинг ривожланишига катта ҳисса қушган айрим йирик олимлар ҳақида қисқа маълумотлар бериб ўтишни лозим топдик. Зероки уларнинг улкан меҳнатлари туфайли маҳаллий биотехнология соҳаси пайдо булган.

Холмуродов Аскар Ганиевич (1939-1997) – Қашқадарё вилоятида туғилган. 1960 йилда Урта Осиё Университетини тамомлаган. Сунгра Украина фанлар академиясига қаршли Биокимё институтида номзодлик (1965) ва докторлик диссертациясини (1976) химоя қилган ва ушбу институтда йиғирма йил давомида фаолият олиб борган. 1980 йилдан бошлаб профессор. 1986-1997 йиллар давомида ЎзФА Микробиология институти

директори ЎзРФА мухбир аъзоси (1987) ва ҳақиқий академиги (1989) шунингдек, ЎзРФА 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 микёсида аҳамиятга эга бўлган капитал ишланма ҳисобланади, бу қўлланма АҚШ да чоп этилган. Биринчи маротаба қишлоқ хўжалик ҳайвонлари ва паррандалар учун никотин кислотаси ўрнини босувчи “Корник” номли озуқа препаратини яратган ва амалиётга жорий этганлиги учун собик иттифокнинг ХХЮК бронза медалига сазовор бўлган. Бундан ташқари ЎзРФА сининг академик А.В.Палладин номидаги мукофотига 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 Аҳрор Музаффарович (1909- 1987) – ботаника, экология, алькология, гидробиология, гидроэкология ва сув ўтлари биотехнологияси соҳалари бўйича фаолият олиб борган йирик олим. ЎзРФА нинг ҳақиқий аъзоси (1960). Ўз Фа Ботаник институтининг

директори (1956-1960), УзРФА Президиуми аъзоси ва кимё-технология ва биология фанлари булими академик-котиби (1966-1970), УзРФА Микробиология булими раҳбари (1970-1977) кейин эса шу булим асосида микробиология институтини ташкил этиб унга раҳбарлик қилган (1977-1985). Мамлакатнинг кўплаб орден медаллари ва мукофотларига сазовор бўлган. Марказий Осие сув хавзаларининг экологик ва типологик узига ҳослигини чуқур ўрганиб, улардан сув утларининг серҳосил штамmlарини ажратиб, уларнинг очиқ хавода ва бекиг ускуналарда ўстириш усулларини яратган ва улар асосида янги биотехнологик жараёнларнинг яратилишига раҳбарлик қилган. Унлаб монографиялар ва 200 дан ортиқ илмий мақолалар чоп эттирган. Уларни ҳаёти ва илмий-педагогик фаолияти ҳақида ундан ошиқ китоблар ва мақолалар тайёрланган. Абу Райхон Беруний номидаги давлат мукофоти совриндори (1979). Ўзбекистонда хизмат кўрсатган фан арбоби.

Аскарова Салима Аскаровна (1922-1997) – УзРФА қошидаги институт мақомига эга бўлган Микробиология булимининг ташкилотчиси ва биринчи директори. Асосий илмий йўналиши микроорганизмлар физиологияси ва биокимёсига бағишланган. Республикамизда қишлоқ хўжалик экинларини микробиологик усулда химоя 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. Маориф аълочиси, биология фанлари доктори, профессор. Унинг раҳбарлигида йиғирмадан ортиқ фан докторлари ва фан номзодлари тайёрланган.

Ибрагимов Аҳмад Поччаевич – 1928 йил 12 декабрда қуҳна Туркистон шаҳрида туғилган. 1950 йилда Тошкент Фармацевтика институтини тамомлаган. 1954 йилда УзРФА Кимё институтининг аспирантурасида таҳсил олиб, кимё фани бўйича номзодлик диссертациясини химоя қилди. 1954-1957 йиллар давомида Самарқанд Давлат Қишлоқ хўжалик институтида Органик ва

биологик кимё кафедраси мудири. 1957 йилдан бошлаб ЎзРФА Ядро физикаси институтининг радиоцион кимё лабораториясини бошқарди. 1966 йилда “Ўза уругида физик-кимёвий, биокимёвий ва гамма нурлари таъсирида айрим муҳим биологик моддаларнинг ўзгаришини тадқиқ этиш” мавзусидаги докторлик диссертациясини химоя қилди. 1967 йилда ЎзРФА Биокимё институти директори муовини ва айни пайтда Нуклеин кислотлар биокимёси лабораториясини бошқарди. 1969 йилдан профессор. 1976 йилда у бошқараётган лаборатория ЎзРФА Ўсимликлар экспериментал биологияси институти таркибига ўтказилиб “Молекуляр генетика” лабораторияси номи билан атала бошланди. 1984 йили ЎзРФА мухбир аъзоси. Асосий илмий йўналишини ўсимликлар ҳужайрасининг ташкилий тузилиши, генетик ахборот функцияси ҳамда ушбу жараёнларнинг онтогенетик ва ревалюцион кўриниши, стресс омиллар – ионлаштирувчи нурлар ва ҳар хил касалликлар таъсирига генетик ахборот системаларининг чидамлилиги масалаларини ечишга бағишлаган таъниқли молекуляр генетик, биокимёгар олим, биология фанлари доктори, профессор, ЎзРФА 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 ЎзРФА Ботаника илмий ишлаб чиқариш марказида ўсимликлар молекуляр биологияси лабораториясини ташкил этиб ўза молекуляр генетикаси соҳасида олиб борилаётган илмий тадқиқотлар ишларига раҳбарлик қилиб келмоқда.

Рахимов Мирзаатхам Мирзахакимович - 1943 Тошкентда туғилган. Олий маълумотни М.В.Ломоносов номидаги Москва Давлат Университетида олган. Ушбу олийгоҳда аспирантурада таҳсия олиб кимё фанлар номзоди илмий унвонига сазовор бўлган (1972). Ўзбекистонда биотехнология фанининг ташкилотчиларидан бири ҳисобланади. Ўзбекистон Миллий Университети ва бошқа катор олий ўқув юрларида биотехнология кафедралари ва марказларини ташкил этган. Асосий илмий йўналиши ферментатив

катализ асосида биотехнологик жараёнлар яратиш бўлсада, биология, тиббиёт, кимё, озик-овқат ва бошқа йўналишларда ута кенг фаолият қўриштириб келаётган йирик олимдир. Юзга яқин фан докторлари ва фан номзодларига устозлик қилиб келмоқда. 500 дан ортиқ илмий мақолалар, ўқув қўлланмалар, дарсликлар ва патентлар муаллифи.

Абдукаримов Абдусаттор Абдукаримович – 04.04.1942 йилда Тошкент вилоятида туғилган. Олий маълумотни Тошкент Давлат Университетида олган (1966). 1961-1967 йилларда ЎзРФА Ядро физикаси институтида фаолият юритган. 1967-1969 йилларда ЎзРФА Биокимё институти аспиранти, шу институтда 1967-1992 йилларда шу институт кичик, катта илмий ходими ва лаборатория мудири. 1982 йилда республикада илк бор ген муҳандислиги лабораториясини ташкиллаштирган. 1979 йилда академиклар Ё.Х.Туракулов ва Д.Х.Хамидовлар раҳбарлигида фан доктори илмий даражасига эришган. 1992 йилдан ЎзРФА Генетика ва усимликлар экспериментал биологияси институт директори лавозимида фаолият олиб борган. 1994 йилдан ЎзРФА муҳбир аъзоси, 2000 йилдан ЎзРФА академиги. Илмий фаолияти ген муҳандислиги ва молекуляр генетикага асосланган биотехнология фанини ривожлантиришга бағишланган. Ген муҳандислиги бўйича ЎзРФА ва ДФТК сининг трансген усимликлар яратиш бўйича қўшма дастури “Генинмар” нинг илмий раҳбари, илмий техник кенгаш раиси, институтнинг молекуляр генетика бўлими мудири, айна пайтда ЎзР усимлик генетик ресурсларини сақлаш ва урганиш бўйича ДФТК таркибидаги мувофиқлаштирувчи кенгаш раиси. Усимлик генетик ресурсларини сақлаш бўйича ФАО халқаро институти (IPGRI) нинг Марказий Осиё мамлакатлари бўйича мувофиқлаштирувчи кенгаш раҳбари. Унинг асосий илмий йўналиши Республикада экиладиган гўза навларини ген муҳандислиги усули билан янада яхшилаш муаммоларига бағишланган. Шу билан бир пайтда гўзанинг 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. Айти 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 ЎзФА Микробиология институти, М.Улугбек номидаги Ўзбекистон Миллий Университети, биология ва тупроқшунослик факультети-нинг Биотехнология кафедраси, Тошкент кимё-технология институтининг Биотехнология кафедраси ва Тошкент давлат аграр университети, қишлоқ хўжалик биотехнологияси ва фитопатоло-гияси кафедраси, Усимликлар 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, айти кунларда республикамізда 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 урнини босадиганлар);*
 - *Антибиотиклар (биринчи навбатда 4-5 авлодга мансуб антибиотиклар);*
 - *Витаминлар;*
 - *Усимликларни ҳимоя қилиш воситалари ишлаб чиқариш ва*
- ҳ.к.

Афеуски, юқоридагилар ҳозиргача мамлакатимизга ташқаридан, валютага келтирилади. Олимларимизнинг қолаверса бугунги кунда таълим олаётган талабаларнинг олдидарига куйиладиган куп сонли масалаларнинг энг долзарблари юқоридагилардан иборат.

Ҳозирги вақтда қайси продуцент (микроорганизм) дан фойдаланган ҳолда фойдали маҳсулотлар сингез қилиш мумкинлигини аниқ курсатиб бериш мумкин. Агарда бундай продуцент булмаса, қай тариха ва қандай паройтда юқори даражада, исталган турдаги маҳсулотни олиш хусусиятини намоён қилувчи продуцентни яратиш мумкинлигини олдидан айтиб бериш имкониятлари мавжуддир.

Биотехнологик ишлаб чиқаришда бугунги кунда микроорганизмларни минглаб штаммларидан фойдаланилмоқда.

Озиқ-овқат саноати 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, қучиб юрувчи генетик элементлар-транспозонлар, плазмидалар, вируслар, бактериофаглар, рестриктазалар, рекомбинант ДНК олиш, генларни клонлаш, хужайра муҳандислиги, хужайра ва туқималарни сунъий шаройтда ўстириш технологияси;

генетик муҳандисликнинг озиқ-овқат саноатида, ҳайвонлар ва усимликлар селекциясида қўлланилиши;

ген муҳандислигига асосланган биотехнологиянинг озиқ-овқат саноатидаги илмий-техник тараққиётни тезлаштиришдаги роли;

гибридомалар олиш технологияси ва унинг юқорида келтириб утилган маҳсулотларни ишлаб чиқаришда қўллаш ва ҳамда генетик муҳандисликнинг истиқболлари ҳақида аниқ билимларни узлаштиришдан иборат.

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

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

➤ продуцентларнинг алоҳида олинган генларини ўзгартириш, уларни керакли функцияларини кучайтириш, яъни янги генетик ахборот киритмасдан, ўзида мавжуд иншакляцияни 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 зардоб, 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;

➤ қушила олмайдиган микроорганизмларга қушилишини таъминлаб берувчи плазмидалар киритиш ва шу тўғрисида штаммларнинг хоссаларини яхшилаш мақсадида рекомбинация усулларидан фойдаланиш;

➤ бошқа гуруҳ организмлар генини киритиш ва шу орқали киритилган ген маҳсулотини олиш. Масалан, усимликлардан ширинлиги сахарозадан 3000 маротоба ортик бўлган полипептид

генини *E.coli* га ёки *Sacch.cerivisiae* культураларига утказиш ва шу орқали ширин таъм берувчи махсулотлар тайёрлаш;

➤ янги ген конструкция қилиб, янги оқсил олиш, кейинчалик оқсил молекуласини "архитектураси" (бирламчи, иккиламчи, учламчи ва тўртламчи структуралари) ва уларнинг биокимёвий хоссалари аниқ булгандан 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 кобиқларининг оқсиллари, - улардан ута хавфли касалликлар – кутириш, оксим, гепатит В, шунингдек, ҳозирги вақтда паррандаларга киргин солаётган парранда гриппининг кўзгатувчиси H5N1-вируси ва бошқа юқумли касалликларга қарши эмлан (вакцинация) воситалари олишда фойдаланилмоқда.

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

Бу усул ген фаоллигини бошқариш, унинг функциясини, тузилишини урганиш, прокариот ва эукариот организмларда генетик материалларни ташкил қилиш масалаларида чегараланмаган имкониятларни очиб беради. Тирик организмлар ирсий ахборотини сунъий йул билан маълум мақсадга мувофиқ ўзгартириш жараёни генетик муҳандислик фанининг асосий усткурмаси ҳисобланади. Генетик муҳандислик ҳужайра, хромосома ва ген даражасида амалга оширилади:

1. Ҳужайра даражасидаги генетик муҳандислик - икки ҳужайрани узаро

қўшиш йули билан амалга оширилади.

2. Хромосома даражасидаги генетик мухандислик – ҳужайра ядросига қўшимча хромосомалар киритиш орқали амалга оширилади.

3. Ген даражасидаги генетик мухандислик ёки ген мухандислиги – энг мураккаб бўлиб, қўйидаги босқичлар асосида амалга оширилади:

а. аниқ мақсаддан келиб чиққан ҳолда, шу мақсадга жавоб бераоладиган ген, унинг функциясини ўрганиш орқали қидириб топилади, ажратиб олинади, клонланади ва тузлиши ўрганилади.

б. ажратиб олинган ген хромосома ДНК си билан рекомбинацияланувчи бирор фаг геноми, транспозон ёки плазида ДНК си билан бириктирилиб вектор конструкция яратилади.

с. вектор конструкция трансформация усули билан ҳужайрага киритилади ва трансген ҳужайра олинади.

Трансген ҳужайрадан сунъий равишда етук организм ўстирилади. Ушбу усулдан фойдаланиб усимлик, хайвон ва микроорганизмлар ҳужайраларидан трансген шакллар олиш мумкин. Ҳужайра мухандислиги усулларида фойдаланиб, тирик организмлардан гибрид ҳужайралар 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 (1-жадвал).

1-жадвал.

Замонавий биотехнологиянинг дастлабки асосий босқичлари

Кашф этилган вақти	Бажарилган ишлар
1973 йил	Биринчи ген клонланган
1974 йил	Биринчи бактерия генларини клонлаш экспрессияси амалга оширилди
1975 йил	Биринчи гибридома 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 тупламларидан фойдаланиш мумкинлиги туғрисидаги қарор қабул қилинган. Биринчи марта генларни автоматик синтезатори сотувга чиқарилди
1982 йил	Тиббиётда рекомбинант ДНК - инсулини ва ҳайвонлар учун биринчи рекомбинант ДНК дан фойдаланишга руҳсат берилди
1983 йил	Биринчи маротоба ген экспрессиясидан бир усимликдан бошқа турида фойдаланиш мумкинлиги исботланди

Илмий ишлар давом эттирилмоқда. Ҳозирги вақтда кун тартибда ОИТС (СПИД) ва парранда гриппининг кўзгатувчиси H5N1 вирусига қарши вакцина яратиш масаласи кўндаланг турибди.

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 захарли пестицид қолдиқларини парчалайдиган микроорганизмларни трансген штамmlари олинган, атмосфера азотини ўзлаштирувчи микроорганизмлар генлари асосида тупроқни азотли ўғитлар билан бойитиш муаммоси ечилмоқда, зарарли ҳашаротларга ва патоген микроорганизмларга чидамли, экологияни асровчи трансген усимлик навлари етиштирилмоқда, ирсий касалликларни тезкор ташхис қилиш учун диагностикаумлар тайёрланмоқда, шунингдек, ген терапия усуллари такомиллаштирилмоқда.

Бугунги кунда генетик муҳандисликка асосланган биотехнология тезкор ошиб бораётган, инсон эҳтиёжларини

кондириш учун классик технологиялардан ута самарали эканлигини тула намоён қилмоқда.

3-МАВЗУ. РИВОЖЛАНГАН МАМЛАКАТЛАРДА БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ РИВОЖЛАНИШИ ВА УНИНГ ЮТУҚЛАРИ

Бир сўз билан айтганда “Замонавий биотехнология”, - инсон ва хайвон, усимлик ва микроорганизмларнинг хужайра ва туқималарини ёки уларнинг алоҳида қисмларини утилизация (қайта ишлаш, фойдаланиш) қилиш мақсадида, биокимё, микробиология, молекуляр биология ва муҳандислик фахларининг имкониятларини ишлатиш орқали пайдо бўлган илмий ва амалий аҳамиятга эга бўлган истиқболли йуналишдир. У оддий шароитда осон топиладиган ва қайта тикланадиган манбалардан, инсон ҳаёти ва сапоат учун зарур ва муҳим бўлган моддаларни кам энергия сарф қилган ҳолда, ишлаб чиқариш имконини беради.

“Замонавий биотехнология” деганда ҳозир бу соҳанинг икки йирик йуналиши кўзда тутилади: - ген ва хужайра муҳандислиги. Дарҳақиқат, бу икки йуналиш ушбу мураккаб ва куплаб фанлар оралигидаги технологиянинг энг катта қисмини ташкил қилади ва жуда ҳам кенг бўлган, ишлатилиш имкониятларига эгадир. Утган 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 устириш гормони, интерферонлар, интерлейкинлар, эритропоэтин, туқима плазминогенларининг активатори, катор моноклонал антителлар ва вакциналар ишлаб чиқаришнинг саноат технологиясининг яратилганлигидир.

Замонавий биотехнологиянинг усулларида фойдаланиб, доривор моддалар ишлаб чиқариш бўйича илмий ва амалий ишлар АКШ, 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 хужалигида фойдаланиш бўйича фаол амалий ишлар олиб борилмоқда.

Замонавий биотехнология соҳасида етакчи мамлакат АҚШ да фундаментал ва амалий тадқиқотларни олиб бориш мақсадида қўллаб-қувватловчи биотехнологик фирмалар ташкил қилинган ва улар Давлат ҳамда хусусий маблағлардан фойдаланиб, энг йирик мутахассисларни жалб этиб, қисқа муддатда тиббиёт учун катор оксил 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 каторда 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 катори, 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 купчилиги 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.), озуқа оксиллари 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.

4-МАВЗУ. БИОТЕХНОЛОГИК УСУЛЛАР ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ

Мустақиллик йилларида селекционерларимиз томонидан гузапинг турли зараркунанда ва касалликларга чидамли, мамлакатимизнинг тупроқ-иклим шароитига мос, эртапишар ва серҳосил, толаси узун ва янги навлари яратилмоқда. Кейинги йилларда ана шундай хусусиятларга эга 20 хил янги нав районлаштирилди, улар жаҳон бозорида талаб этилган асосий сифат кўрсаткичларидан бири булган микронейр кўрсаткичига тўла жавоб беради.

Мамлакатимизда геномика ва биоинформатика фанларининг ривожланишига қаратилаётган алоҳида эътибор туфайли дунё фанида уз урнига эга нуфузли илмий мактаб ва муҳит шакллантирилди, замонавий лабораториялар ташкил этилиб, кенг миқёсда халқаро илмий алоқалар йулга қуйилди. Юртимиз олимлари эришган энг сунгги ютуқлардан бири – бу улар томонидан гуза учун яратилган дунёдаги илк ген-нокаут технологиясидир.

Соҳада олиб борилаётган гадкикотларни янада чуқурлаштириш, орттирилган тажрибани бошқа экинларга ҳам уз вақтида татбиқ этиш ва рақобатдошлигини оширишда Ўзбекистон Фанлар академияси Геномика ва биоинформатика марказининг муҳим ҳиссаси бор.

Марказ илмий жамоаси ханузгача ноаниқ бўлган гуза геномидаги рекомбинацион блоклар (яъни, авлоддан-авлодга кучиб ўтадиган ген аллеллари туплами) улчамларини топиб, замонавий тезкор “ассоциатив карталаштириш” усулини кашф этди. Натижада гуза геномидаги генлардан фойдаланишнинг янги имкониятлари очилиб, гузада замонавий маркерларга асосланган селекция усуллари ишлаб чиқилди. Бу янги хусусиятларга эга туркум «Порлок» навларини яратиш имконини берди. Масалан, 2013 йилда йигирмадан ортик фермер хужалиги далалари ҳамда марказнинг махсус уруғчилик хужалигида ген-нокаут усулида яратилган гузанинг янги – “Порлок-1”, “Порлок-2”, “Порлок-3”, “Порлок-4” навларини етиштириш ишлари бошлаб юборилди.

Ген-нокаут ёки РНК интерференцияси молекуляр генетика усули бўлиб, организмнинг белгиланган генлари фаоллигини тўхтатиш имконини беради. Шу туфайли генлари “учирилган” (нокаут қилинган) организм вужудга келади. Бу нуклеотид кетма-кетлиги маълум бўлган генларнинг функциясини аниқлашга ёрдам беради. Нокаут қилинган ва нормал организм намуналари орасидаги фарқлар, урганлаётган ген функциясини кўрсатиб беради. Қишлоқ хужалиги экинларининг биологик курсаткичлари – ҳосилдорлик, эртапишарлик, зараркунанда ва ҳашаротларга чидамлиликнинг намоён бўлишида иштирок этувчи геннинг таркиби ва функцияси

аниклангандан сунг мақсадга мувофиқ равишда ушбу ген фаолиятини кучайтириш ёки аксинча уни тўхтатиш мумкин.

Масалан, усимликнинг пишиб етилиши жараёнини секинлаштирувчи генлар фаолиятини сусайтириб ёки бутунлай тўхтатиб, эртапишарликка эришиш ёки, аксинча, улар фаоллигини кучайтириб, пишиб-етилишни кечиктириш мумкин. Мазкур янгилик бутун дунёда катта кизиқиш уйғотмоқда. Ушбу технология Ўзбекистонда, АҚШда ва халқаро миқёсда патентлаш учун топширилди.

Аслида ғузада ишлаб чиқилган ген-нокаут технологияси жуда оддий биологик ҳодисага ўхшайди. Маълумки, қоронғида етиштирилган усимлик ёруғликдаги турдошига нисбатан тезроқ ўсади. Сояда ўсган усимликлар одатда “соялаш синдроми” эффекти туфайли, яъни вегетация даври охираётганидан хавотирланиб, узидан авлод колдириш мақсадида тез гуллайди. Бунинг сабаби молекуляр соатларни бошқарувчи рецептор генларнинг фаоллигида бўлиб, ривожланаётган ғуза толаси қоронғи жойга қўйилса, тез узая бошлайди.

Шунга қура, табиий дала шароитида устирилаётган ғуза усимлигидаги тола хужайралари ёруғлик спектридаги муайян нурга суғ жавоб берадиган этиб қўйилса, яъни “соялатилса”, тола нисбатан узайиб, усимлик тез гуллайди. Бу назарияни технологияга айлантириш учун 2003-2009 йиллар мобайнида амалга оширилган халқаро ва маҳаллий фундаментал лойиҳалар самарасида ғузанинг ёруғлик нури спектрларини ютувчи рецептор генлар оиласи Ўзбекистонда клонланди ва тавсифланди. Кейинги босқичларда эса ғузада бу генларнинг фаоллигини “генни учуриб” қўйиш орқали бошқариш технологияси ишлаб чиқилди.

Бугунги илм-фан тараққиёти ғуза геномикасини ўрганишда классик усуллардан биотехнологияларга асосланган янги усулларга ўтиш имконини бермоқда. Масалан, усимликнинг эртапишарлиги, толанинг сифат кўрсаткичлари, гуллаш даврини аниқлашда нафақат анъанавий кузатув, балки молекуляр анализ усулидан, яъни

генларнинг таркибидан ҳам фойдаланиш мумкин. Бундай усул тадқиқот натижалари аниқ ва ишончли бўлишини таъминлайди.

2009-2013 йилларда аввал лабораторияда, кейин дала тажрибасида олиб борилган генетик таҳлил маълумотларига кура, ген-нокаут технологияси ёрдамида олинган ғуза амалдаги усимликларга нисбатан, тезлашган вегетатив ўсиш хусусиятига ва 2-3 баробар узун илдиз тизимига эга эканлиги маълум бўлди. Бундай навли пахта 5-10 кун аввал етилади, ҳосилдорлиги 18-30 фоиз ошади, толасининг узунлиги 40 миллиметргача, микронейр курсаткичи 4,2 миллиметргача етади. Айни пайтда мазкур технологияни бошқа кишлоқ хужалиги экинларида ҳам қўллаш борасида изланишлар олиб борилмоқда.

Ўзанинг ген-нокаут шаклларида қурғоқчиликка, шўрланишга ва совуқ хароратга чидамлик курсаткичлари нисбатан юқори. Мухими, яратилган навлар экологик жиҳатдан хавфсиз бўлиб, дунёда мавжуд биотехнологик ғузалардан фарқли равишда ҳеч қандай “бегона” ген ишлатилмаган. Аксинча, бунда ғузанинг ўзидаги генлар фаолияти сусайтирилган, ҳолос.

Геномика ва биоинформатика марказида айни пайтда кишлоқ хужалиги экинларининг хашаротларга, патоген омилларга ҳамда шўрланишга чидамлилигини белгиловчи бошқа генларни аниқлаш ва улар асосида янги биотехнологик навлар яратиш бўйича илмий тадқиқотлар ўтказилмоқда.

Ўзада учрайдиган вилт ва нематода касалликлари борасида жуда кизикарли тадқиқотлар олиб борилмоқда. Асосан чувалчанглар келтириб чиқарувчи нематода касаллиги тропик ўлкаларда экиладиган пахта навларида кенг тарқалган бўлиб, усимлик тапасини озуқа моддаларидан узиб қўяди. Вилт эса мамлакатимизда етиштириладиган қўплаб экинларга зарар етказди. Селекционерларимиз ғузанинг бу касалликларга чидамли бир қанча навларини яратган бўлса-да, улар шўрланиш ва қурғоқчиликка чидамсиз. Шу боис тадқиқотларимиз доирасида ушбу навларнинг геномикаси, аниқроғи, юқоридаги хусусиятлар учун “жавобгар” генлар урганилмоқда. Ушбу генларни ген нокаут технологияси

ёрдамида бошқариш орқали ғузанинг турли табиий таъсирларга чидамли истикболли навлари яратилмоқда.

Ҳозир марказда ғузада вилт касаллигини келтириб чиқарувчи замбуругларнинг махсус генетикасини аниқлаш юзасидан тадқиқотлар давом эттирилмоқда.

Ҳозирга қадар вилт касаллигининг 120 тури аниқланган. Албатта, усимликнинг қайсидир касалликка мойиллиги унинг генларига ҳам боғлиқ. Вазифа – ғузада касаллик қўзғатувчи патогенларнинг табиатини ўрганиш ва шу орқали уларни бартараф этиш усулини топишдан иборат. Вилт касаллигини чақирувчи патогенларни аниқлаш енгилашса, ғузанинг зарарланиш хавфини олдиндан башорат қилиш ҳамда касалликка чидамли навларни яратиш имконияти янада ошади.

Геномика ва биоинформатика марказида эришилган бундай қўлаб ютуқлар орасида ғуза навларининг молекуляр-генетик паспорти яратилгани алоҳида аҳамиятга эга. Молекуляр-генетик паспорт навнинг софлиги ҳамда бир турга мансублигини кўрсатувчи ноёб белгилар мажмуини ифода этиб, ғуза навлари хилма-хиллигини баҳолаш ва улар ичидан энг ҳосилдор навларни аниқлаш имконини беради. Қолаверса, ушбу усулни иктисодий аҳамиятга эга бошқа қишлоқ хўжалиги экинларида ҳам қўллаш мумкин.

Ғуза геномикаси ва биотехнологияси мамлакатимиз пахтачилигининг келажаги билан узвий боғлиқ бўлиб, ўзбек пахта толасининг дунё бозоридаги нуфузини янада оширишга хизмат қилади.

5-МАВЗУ. ХУЖАЙРА СЕЛЕКЦИЯСИ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ

Хужайра технологиясининг яна бир йўналиши бу хужайра технологиясидан селекциядан фойдаланишдир. Бу усулдан фойдаланиб, селекция жараёнларини тезлаштириш ва осонлаштариш, усимликларнинг янги шакллларини ва навларини яратиш мумкин.

Ажратилган ҳужайра ва туқималарни *in vitro* ўстаришни иккита гуруҳга бўлиш мумкин.

1-гуруҳ. Бу ёрдамчи технология бўлиб, селекциянинг урнини боса олмайди, лекин унга хизмат қилади.

Бунга *in vitro* уруғлантириш, уруғмуртакни ва етилмаган гибрид муртакларни ўстириш, чангдон ва микроспораларни ўстириб гаплоид олиш, ажратилган ҳужайраларни криосақлаш, алоҳида гибридларни клонал микроқупайтиришни киритиш мумкин.

2-гуруҳ селекциянинг апанавий услубларидан фарқ қилувчи услублар билан ўсимликларнинг янги шакл ва навларни олиш: каллус туқмасидан фойдаланиб ҳужайра селекцияси, соматик гибридизация, ген муҳандислиги услубларини қўллаш.

***In vitro* уруғлантириш.** Таълашган жуфтларни табиий шароитда уруғлантириш мумкин бўлмаган ҳолларда бу усулдан фойдаланилади.

***In vitro* уруғлантиришни икки хил йўл билан амалга ошириш мумкин.**

а) Тугунча сиртига чанг куйилган ҳолда суний агарли муҳитларда ўстирилади.

б) Тугунчани ёриб озуқа муҳитга уруғмуртакли плацента бўлаги жойлаштирилади унга яқинроқ жойда ёки плацента туқимасида тайёр чанг ўстирилади. Уруғланиш кетган-кетмаганлигини уруғмуртаклар ўлчамининг тезикда ўсишидан аниқлаш мумкин. Шакилланган муртак тинч ҳолатга ўтмасдан, тезликда ўсиб гибрид авлоднинг ўсиши бошланади.

Постгам чатишмасликни енгиш. Постгам чатишмаслик чанглангандан гулг келиб чиқади. Бунда ривожланмаган, пуч, унмайдиган уруғлар ҳосил бўлади. Бунга сабаб муртак билан эндосперманнинг ривожланиш вақтининг тўғри келмаслиги бўлиши мумкин. Эндос перма ёмон ривожланганида муртак нормал усмайди. Бундай ҳолларда етилган пуч уруғлардан муртак ажратиб олинадиган ва озуқа муҳитда ўстирилади.

Муртакларни суний озуқа муҳитларда ўстириш **эмбриокультура** деб аталади. Етилган муртакларни минерал тузлар

ва сахароза тутувчи физиологик актив моддалар солинмаган оддий озуқа муҳитларида ўсгириш мумкин. Ҳозирги кунда эмбриокультураларни селекцияда қўллаш, қишлоқ хўжалик ўсимликларини узок формаларини чапиштириб янги дурагайлар олишда катта аҳамият касб этмоқда.

Ажратилган муртақлар культураси ёрдамида нафакат узок дурагайлашда ёки постгам чапишмасликни енгишда балки қимматли дурагайларни микроқўпайтиришда ҳам фойдаланилади. Микроқўпайтириш каллус тўқималаридан каллусогенез, морфогенезнинг индукцияси ва регенерант - ўсимлик олиш йўлини беради

In vitro гаплоидлар олиш, уларни селекцияда қўллаш. Гаплоид ўхшашликлардан фойдаланиб керакли комбинацияларни тезрок топиш ва қиска вақт ичида нав яратиш мумкин. Гаплоидлар стабил гомозигот тизимлар олишда ишлатилади. Гаплоид асослар стерилдир, лекин уларнинг хромосомалар тушамини колхицин ёрдамида икки марта қўпайтириш мумкин ва диплоид гомозигот ўсимликлар олиш мумкин.

Ажратилган тўқималар культурасидан фойдаланиб гаплоид олишнинг *учта* усули бор:

Андрогенез - Ажратилган чангдои ва микроспоруларни сунъий озуқа муҳитларида ўстириб гаплоид ўсимликлар олиш.

Гиногенез - Ажратилган уругмуртақлардан сунъий озуқа муҳитида ўстириб гаплоид ўсимликлар олиш.

Партеногенез - Дурагай муртақдан гаплоид олиш.

Каллус тўқимасидан регенерант-ўсимлик олиш технологияси ишлаб чиқилгандан сўнг бошланғич ўсимликдан фенотипик ва генотипик хусусиятлари билан фарк қилувчи ўсимликларнинг янги шакллари яратиш имконияти пайдо бўлди. Бу «сомаклон» деб атала бошланди. Сомаклон ўзгарувчанликнинг генетик табиати ва самаклонал ўзгарувчанликнинг механизми кам урганилган.

Дифференцияланган хужайралар, нормал ўсимликларда турли даражадаги пloidликка эга лекин айрим турларгина диплоид хужайраларга хосдир. Онтогенез жараёнида турли пloidли

хужайралар келиб чиқиши мумкин. Сомаклонал вариантлардан кишлоқ хужалиги амалиётида қўлланилади. Буларга, оталик ва оналик ўсимлигидан биохимиявий, цитогенетик хусусияглари билан фарқ килувчи шаклларнинг пайдо бўлиши киради.

Сомаклонларни олишни хужайра селекцияси билан бирга олиб борилса яхши натижаларга эришиш мумкин. Хужайра селекциясини куйидаги услублар билан амалга ошириш мумкин.

**туғри селекция (позитив), бунда хужайранинг маълум мутантлари яшаши керак.*

**нотуғри селекция (негатив), бунда бўлинаётган ёввойи тип хужайраларни танлаб йўқотишга метаболитик фаол бўлмаган хужайраларнинг яшаб кетишига, лекин уларда мутацион ўзгаришларнинг қўшимча идентификациясига асосланган.*

**умумий селекция, бунда ҳамма хужайра клонлари алоҳида урганилади.*

**юзак селекция ёки носелектив танлаш, бунда тизим вариантлари ҳамма популяциялир ичидан кўринишига қараб ёки биохимиявий усуллар орқали аниқланади.*

Туғри селекция купроқ тарқалган усуллардан бўлиб, гербицидларга, антибиотикларга, токсинларга, оғир металлларга, тузларга ва бошқа антиметаболитларга чидамли регенерант (янги) ўсимликлар олишда фойдаланилади.

6-МАВЗУ. ХУЖАЙРА СЕЛЕКЦИЯСИ ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ

Каллусни суюқ озука муҳитига утказиб, автоматик равишда аралаштириш орқали хужайра суспензияси олиш мумкин. Ферментлар ёрдамида. Масалан пектиназа ферменти ёрдамида туғридан-туғри эксплант туқималардан (барг, поя, илдиз ва х.к) ҳам хужайра суспензияси тайёрлаш мумкин. Дастлаб, эксплант юзасида каллусли туқима пайдо бўлади, кейин ундан хужайра ва хужайра агрегатлари ажралади ва оқибатда хужайра суспензияси олинади.

100 мл хужайра суспензияси олиш учун 2-3 г каллусли туқима керак бўлади. Хужайра суспензиясини тайёрлаш учун энг зарур

шароит – бу домий равишда аралаштириб ёки чайкатиб туришдир. Агар хужайра суспензияси қимирламай турса, ундан бўлиниш натижасида каллусли туқималар ҳосил бўлади.

Суспензион хужайраларни бўлиниши ауксинлар ва цитокининлар, яъни каллус хужайраларни ўсиши ва индукцияси учун зарур бўлган гормонлар ёрдамида химоя 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 пукак хужайрадан яхшироқ ҳосил бўлади. Муҳит таркибидан кальций олиб ташланса, суспензия ҳосил бўлиши енгиллашади. Озуқага пектиназа ферменти аралаштирилса (бу фермент озуқа таркибидаги алоҳида хужайраларни бир-бирига боғлаб тувчи пекрат кальцийни парчалайди) суспензия янада енгилроқ ҳосил бўлади.

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

Суспензион культуралардан иккиламчи метаболитлар продуценти сифатида фойдаланилганда, даврий ёки оқова усулида очик ёки ёпик тизимда хужайраларни қўпайтириш усуллари ишлатилади. Ёпик тизимда хужайра суспензиясига тоза озуқа муҳити киритилмайди, тизимда домий режимда ўстирилганда эса озуқа муҳити тозасига алмаштириб турилади.

Даврий режимда ҳам, оқова режимда ҳам очик тизимда, ўстирилганда хужайралар озуқа муҳитида, уни (озуқа муҳитини) алмаштирилганда ҳам қолади. Аммо, очик тизимда ўстирилганда, озуқа муҳити алмаштирилганда (домий ёки даврий режимда) суспензион хужайрани бир қисми муҳит билан бирга утади.

Суспензион хужайралар билан ишлаганда уларни характеристикасини билиш шарт: тириклиги, хужайраларни суспензион культурада куп ёки камлиги, агрегация даражаси, ўсиш тезлиги ва х.к.

Хужайраларни тирик ёки тирик эмаслиги уларни бўяш (кўк метилен ёки Эванс кўки) орқали аниқланади. Тирик хужайрлар, хужайра мембранаси буёқни ўтказмаслиги сабабли бўялмайди. Улик хужайра қобиғидан буёқ тез ўтади ва шунинг учун ҳам кўк рангга бўялади. Хужайра суспензиясини асосий курсатгичларидан бири, хужайра популяциясини каллинлигидир. Хужайра сони Фукс-Розентал ҳисоб камерасида микроскоп остида мацерациядан кейин (хужайраларни ажратилгандан кейин) аниқланади. Мацерация қилувчи модда сифатида хром кислотасини 10-20% ли эритмасидан фойдаланилади. Бу кислота, хужайраларни бириктириб турувчи ўртадаги пластинкани эритиб (гидролиз қилиб) юборади.

Яхши ривожланувчи суспензия, каллусли культурага ўхшаб, S-симон ўсиш чизигига эга. Одатда, пассажни давомийлиги 14-16 кундан иборат. Бунда суспензиянинг каллинлиги 5×10^4 дан 5×10^6 хужайра 1 мл гача ошади. Хужайра сонини кўпайиши, уларни курук ва ҳўл массаси- суспензион культуранинг асосий ўсиш критериясини ташкил этади.

Суспензияни сифати, хужайраларни агрегация даражасига боғлиқ. Агрегатлар 10-12 хужайрадан куп бўлмаслиги керак. Шунинг учун ҳам йирикроқ агрегатлардан кутулиш мақсадида суспензияни марля, найлон ёки метал филтрдан ўтказилади. Бу операция бир вақтни ўзида эксплантлар қолдиғидан ёки каллус туқималарни булакчаларидан кутулиш имконини беради.

Иккиламчи синтез маҳсулотларини саноат шароитида олиш учун катта ҳажмдаги (20 м³ ва ундан ҳам каттароқ) ферментерлардан фойдаланилади ва хужайралар доимий режимда ўстирилади. Суякликда ўстиришни эпг куп тарқалган режими хужайра суспензиясини ёпик даврий тизимда ўстиришдир. Суспензияни аэрацияси ва аралаштирилиши учун (качалка) тебратгичлардан фойдаланилади. Шунингдек бу мақсадда механик ёки магнит

аралаштиргич урнатилган ферментлардан, ёки барбатация (хаво ёрдамида аралаштириб туриш) дан ҳам фойдаланса бўлади.

Хужайра суспензиясида кимматбаҳо иккиламчи метоболитлардан ташкари янги ажойиб бирикмалар: компототетин, хиррингтонин каби антиканцерогенлар, ҳар хил пептидлар (протеаза ферменти ингибитори, фитовируслар ингибиторлари) ва бошқа бирикмалар синтез бўлиши ҳам кузатишган.

Шуни алоҳида таъкидлаш лозимки, хужайраларни бўлиниши оқибатида хужайра биомассасини қупайиши ва иккиламчи метоболитларни синтез бўлиши ҳар хил вақтга тўғри келади. Иккиламчи метоболитлар синтез бўлишини максимуми, ўсишни стационар фазасига тўғри келади.

ЯГОНА ХУЖАЙРАЛАР КУЛЬТУРАСИ

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

Пропластлардан ажратилган алоҳида (ягона) гибрид хужайра кейинги бўлинишларида гибрид хужайрадан ташкил топган клон яратиш имконини беради. Бу эса изланувчиларни ишларини энгиллаштиради, чунки ажратилган пропласт культураларда гибрид бўлмаган хужайралардан пайдо буладиган янги хужайраларни алоҳида ажратиш каби машаққатли ишдан озод қилади. Бундан ташкари алоҳида ажратиб олинган хужайраларни протопластларини урганилганда соматик гибридизация жараёнини ўзини кузатиш ҳам яхшироқ бўлади. Алоҳида (ягона) хужайралар хужайра суспензияларидан, ўсимлик туқималаридан, масалан барг мезофиллидан уни ферментлар ёрдамида мацерация қилингандан

кейин, алоҳида ажратиб олинган пропластлардан уларда хужайра қобиғи пайдо бўлганидан кейин ажратиб олинади.

Бир хужайрали фракция олиш учун баъзида суспензион культурани қолбада 15-30 мин тиндириб қўйиш кифоя бўлади. Бунда йирик агрегатлар чуқмага тушадилар. қолдиқ устки суюқликда эса фақат бир хужайрали культура ёки кичик агрегатлар бўладилар. Агар бу йўл билан бир хужайрали фракция олиш имконияти бўлмаса, фёрдамида мацерация қилиш, сахароза градиентида центрифуга қилиш ёки ҳар хил элақлардан утказиш усулларидан фойдаланилади.

Ягона хужайраларни ўстиришда бироз кийинчиликлар сезилади, чунки алоҳида хужайра қалшусли туқима ўсган шароитда яхши бўлинмайди. Ягона хужайраларни бўлинишига мажбур қиладиган маҳсул усуллар яратилган. 1960 йилда Джонсон «энага» усулини тадқиқ қилган эди. Бу усулда «энага» функциясини бир қисм қалшусли туқима бажаради ва улоҳида хужайрани бўлинишига мажбур қилади ва уни алоҳида хужайрадан филтёр қоғози ёрдамида ажратиб олинади. Бундай шароитда («энага» ҳузурида) алоҳида хужайра бўлиниб, хужайрани индивидуал колонияси – клон ҳосил қилади.

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

Ягона хужайраларни бўлинишини қучайтириш учун «озикқлайдиган қават»дан фойдаланиш мумкин («Озикланадиган қават»- ягона хужайра олинган ўсимлик турини фаол бўлинувчи хужайра суспензияси).

Хужайрани бўлиниши муҳитни кондицирлаш ҳам тезлатади, бунинг учун унга (муҳитга) тез бўлинадиган хужайра культурасини озуқа муҳити қўшилади. Кондиция қилувчи фактор хужайра суспензиясини ўсишни экспоненциал фазасида бактериял

филтрдан утказиш даврида пайдо бўлади (олинади). Мохияти буйича юкорида зикр этилган барча усуллар ҳам булинадиган хужайралардан чиқадиган кондиция қилувчи фактордан фойдаланишга асосланган.

Ҳозирча бу факторни таъсир механизми ва уни кимёвий табиати аниқ эмас. Аммо, бу фактор иссиқка чидамли, сувда эрувчан, паст молекулали модда ҳамда фитогормонлар билан алашиб бўлмаслигини айтиш мумкин. Шунингдек, бу модда тахминан 700 Дальтон молекуляр оғирлигига эга бўлган рН 4-11 да мутадил модда эканлиги ҳам аниқланган. Шундай қилиб, бу модда тоза кимёвий модда булмасдан, хужайрадан ажраладиган факторлар йиғиндиси булса ҳам ажаб эмас.

7-МАВЗУ. ҲУЖАЙРА МУХАНДИСЛИГИ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ

Хужайра биотехнологияси – хужайра, туқима ва протопластларни ишлатишга асосланади. Хужайраларни манипуляция (фаолиятига қандайдир ўзгаришлар киритиш) қилиш учун, уларни усимликдан ажратиб олиш усимлик организмдан ташқарида яшаши ва қупайиши учун шароит туғдириб бериш лозим. Ажратиб олинган хужайра ва туқималарни сунъий озук муҳитида, стерил шароитда (*in vitro*) ўстириш усули ажратилган туқималар культураси деб ном олди ва уларни биотехнологияда ишлатиш мумкинлиги сабабли катта аҳамият касб этди.

Биотехнология узок - узоклардан маълум булсада, алоҳида амалий фан сифатида ўтган асрни иккинчи ярмидан бошлаб, инсоният энг аввало ўзи учун ута зарур бўлган яъни озик-овқат, энергетика, захира (ресурс), атроф – муҳит муҳофазаси ва ҳ.к. муаммоларни тубдан янги асосда ечиши зарурлигини сезганидан кейин мужассамлана бошланди. Биотехнологик жараёнлар сунъий озук муҳитида ўстирилган микроорганизмлар, усимлик ва ҳайвон туқималари, хужайралари ва органеллаларидан фойдаланишга асосланади. Ҳозирги вақтда дунёни қуплаб мамлакатларида

биотехнологияни ривожланишига алоҳида эътибор беришмоқда. 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 жихозлардан ва препаратлардан фойдаланади ва иклим шароитига қарамадан ҳамда қуп майдон эгалламаган ҳолда жараёнларни йил буйи утказишга асосланади. Айтиб утилган устунликлар, усимликларни ва ҳайвонларни ҳужайралари, туқималари ва органларига ҳам тегишлидир.

Ажратиб олинган ҳужайралар ва туқималарни биотехнологиядаги рольини уч йуналишда куриш мумкин:

Биринчи йуналиш - ажратиб олинган усимлик ҳужайрасини тиббиёт, ветеринария, косметика ва бошқа соҳалар учун зарур бўлган иккиламчи метаболитлар: алколоидлар, стероидлар, глюкозидлар, гормонлар, эфир мойлари ва бошқа биологик фаол моддалар синтез қилиш имконияти билан боғлиқ. Маълумки, иккиламчи метаболитлар қаттиқ (агарли) ёки суюқ озуқа муҳитида устирилган каллус туқималардан олинади. Ҳужайра технологияси асосида диосгенин – диоскоре ҳужайрасидан; аймолин – илон рацвольфи ҳужайрасидан; умумий куч берувчи моддалар – женьшен ҳужайрасидан ажратиб олинади ва тиббиёт ҳамда парфюмерияда ишлатилади. Шунинг эътиборга олиш керакки, устириладиган ҳужайраларни ҳосилдорлиги, бутун усимликни ҳосилдорлигидан анча баланд. Бундай усул билан иккиламчи метаболитлар ажратиб олишни яна бир устунлик томони шундаки, муайян шароитда усимликни узини устириш имконияти бўлмаган шароитда (совуқ ёки иссиқ иқлимли минтақаларда), уларни ҳужайраларини бутун йил мабойинида устириш мумкин.

Иккинчи йуналиш – ажратиб олинган ҳужайраларни, усимликлар селекциясида ишлатиш ва шу орқали тез ривожланувчи, ҳар хил ташқи муҳит таъсирига чидамли (иссиққа, совуққа, шурланишига, оғир металлларга, қурғоқчиликка, касалликка ва ҳ.к.) усимликлар яратиши. Шунинг билан бирга бу йуналиш, ажратилган

протопластларни қўшилиши орқали янги усимликлар яратиши ҳамда ноэписий (сомотик) гибридлар олишни ҳам уз ичига олади. Ажратиб олинган протопластларга ген мухандислиги усуллари ёрдамида бегона генларни киритилиши, кейинчалик янги, мерос қоладиган хоссаларга эга бўлган усимлик яратишга ҳам олиб келади. Ажратиб олинган чангдон ва уруғ куртакни сунъий озуқа муҳитида ўстириши, гаплоидлар олиши имконини берса, муртакларни ўстириши – усаолмайдиган (эндоспермаси ёмон ривожланган) усимликлардан гибрид уруғлар етиштириши имконини беради.

Учинчи йўналиши – ажратиб олинган туқималарни кўпайтириши ва экув материалларини вируслар ҳамда бошқа патогенлардан соғломлаштириши мақсадида ишлатиши. Бу усул, усимликларни **клонал микрокўпайтириши** дейилади ва битта меристемадан йилига юз минглаб усимлик олиши имконини беради.

Хужайра ва туқималар культураларини ишлатишдаги натижалар биринчи навбатда хужайраларни бўлиниши, уларни табақаланиши ва улардан усимлик ўсиб чиқишини белгиловчи, физиологик жараёнларни оптимизациясига боғлиқ. Энг мураккаб томон бу алоҳида хужайрадан усимлик регенерация қилиши. Биринчи навбатда бу бошоқли усимликларга тегишли. Шунинг учун ҳам *in vitro* шароитда морфогенез, регенерация ва уларни асосида ётган жараёнларни механизмларини аниқлаш энг муҳим аҳамиятга эгадир.

Усимликлардан ажратиб олинган туқималарни ўстиришга ҳаракат анча узоқлардан маълум. Бу усулнинг ривожланиш тарихини бир неча боскичларга бўлиб урганиш мумкин:

I-босқич (1892–1902 йиллар) – **Хаберландт, Фехтинг, Рехтигер** каби немис олимларини номлари билан боғлиқ. Улар сахароза эритмасида ҳар хил усимликлар туқималарини ўстиришга уриниб кўришган, ammo усимликларни ўсиши қузатилмаган. Фақатгина қоқи ўтинини ва тол дарахтини пояларини сегментлари 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

масдигини топган. Масалан, *Хаберландт* ҳар қандай тирик усимлик ҳужайрасини тотипотентлиги яъни ҳужайраларни маълум шароитда устирилганда узини ривожланиш потенциалини намоён қилиши ва бутун усимлик ҳосил бўлишига бошлаши ҳақида гипотеза эълон қилган эди.

II-босқич (1902-1922 йиллар) – ҳайвон туқималарини устириши учун биринчи озуқа муҳити яратилганлиги билан нишонланади. Бу озуқа муҳитлари табиий бўлиб, таркибида қон плазмаси (қонни суюқ қисми) ва қуртак суюқлиги сақлаган. Ажратиб олинган усимлик туқималарини усимлик экстрактлари сақлаган сунъий озуқа муҳитида устириб кўриш мувоффақиятсиз чиққан, чунки экспериментларда юксик усимликларни усиш фаоллигини намоён қилишига тўғри келмайдиган ҳужайра ва туқималаридан фойдаланилган.

III-босқич (1922 – 1932 йиллар). Бу даврда бир-бирлари билан боғлиқ бўлмаган ҳолда Америкалик олим *В.Робинс* ва немис олими *Котте* қаттиқ озуқа муҳитида помидор ва маккажўхори илдизи учидаги меристемаларни устириши мумкин эканлигини намоён қилганлар. Аммо, маълум вақт утгач, усимлик туқималари кўнғир ранга кириб, халок бўлганлар. Усимликларни туқималарини устириши усулининг ривожланиши – 1932 йилдан бошланган.

IV-босқич (1932–1940 йиллар), француз олими *Р.Готре* номи билан боғлиқ. У, *in vitro* шароитида усимлик туқималарини вақти-вақти билан тоза озуқа муҳитига кучириб туриш орқали узоқ вақт устириши мумкинлигини намоён қилган. Бу янгилик, туқималар технологиясини ривожланишига катта ҳисса қўшди ва устиришига қўйиладиган усимликлар сони жуда ҳам кўпайди.

V-босқич (1940–1960 йиллар). 1955 йилда янги синфга мансуб фитогормон – цитокининларни ихтиро қилиниши, (хусусан кинетинни) ҳужайраларни бўлинишини кучайтириши имконини яратди. Усини кучайтирувчи моддаларни миқдори ва уларни нисбатига қараб, эксплант ҳужайрасининг бўлинишини кучайтириши, каллус туқималарни усини муҳофаза қилиши, морфогенезни кучайтириши мумкин эканлиги намоён этилди. Шу

даврда какос ёнгогини, каштан, маккажухори ва бошқа усимликлар эндоспермаларини ҳужайрани усиши, морфогенез жараёнлари (калус туқима 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 йул билан помидорини илдизи ва мевасидан протопластлар олиниши ва уларни назорат қилиниб турилган шароитда устирилганлиги булган. Кейинроқ шу лабораторияда Пауэр узини шогирдлари билан протопластларни сунъий қўшилиши шароитларини яратмишган. Бу эса, сомотик гибридлар яратишда янги йул булиб хизмат қилган. Уша даврда яратилган яна бир усул – бу усимликларни *in vitro* шароитида меристема культуралар ишлаиб микро купайтиришидир. Дастлаб бу усул француз олими Ж.Морел томонидан орхидей усимлигини соғлом кучатини олиши мақсадида яратилган.

VII-босқич – (1975 йилдан ҳозирги вақтгача). *In vitro* техникасини жадаллик билан ривожланиши, устириладиган манбаларни биологиясини ўрганиш давом этмоқда. Ажратилган протопластларни электро қовуштириши усуллари ишлаб чиқилмоқда, мутагенез ва ҳужайра селекцияси усуллари, гаплоидли усимликлар яратиши усуллари, ҳужайраларни ажратилган протопластлар ва *Ti* ва *Ri Agrobacterium tumefaciens* ва *Agrobacterium rhizogenes* асосида тайёрланган *Ti* ва *Ri* плазмид векторларни ишлаиб суюқликда устириши усуллари мукамаллаштирилмоқда. Ген мухандислиги усуллари ёрдамида икки паллали усимликларни генларини кучириб ўтказишни самарали усуллари ишлаб чиқилди.

Шундай қилиб, охириги йилларда ажратиб олинган усимлик ҳужайралари ва туқималари билан ишлаш техникаси такомиллаштирилди. Аммо, бу ишларда асосий манба булиб, бир паллали ва икки паллали ўтлик усимликлар хизмат қилган. Дарахтларни ўрганиш буйича олиб борилган ишлар унчалик куп эмас.

8-МАВЗУ. ХУЖАЙРА МУХАНДИСЛИГИ ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ

Хужайра биотехнологияси – хужайра, туқима ва протопластларни ишлатишга асосланади. Хужайраларни манипуляция (фаолиятига қандайдир узғаришлар киритиш) қилиш учун, уларни ўсимликдан ажратиб олиш ўсимлик организмидан танқарида яшаши ва қупайиши учун шароит туғдириб бериш лозим. Ажратиб олинган хужайра ва туқималарни сунъий озуқа муҳитида, стерил шароитда (*in vitro*) ўстириш, усули ажратилган туқималар культураси деб ном олди ва уларни биотехнологияда ишлатиш мумкинчилиги сабабли, катта аҳамият касб этди.

Биотехнология узок - узоклардан маълум булсада, алоҳида амалий фан сифатида ўтган асрни иккинчи ярмидан бошлаб, инсоният энг аввало ўзи учун ўта зарур булган яъни озиқ-овқат, энергетика, захира (ресурс), атроф – муҳитни муҳофазаси ва х.к. муаммоларни тубдан янги асосда ечиши зарурлигини сезганидан кейин мужассамлана бошланди. Биотехнологик жараёнлар сунъий озуқа муҳитида ўстирилган микроорганизмлар, ўсимлик ва хайвон туқималари, хужайралари ва оргаларидан фойдаланишга асосланади. Хозирги вақтда дунёни қуплаб 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 х.к. Шунинг билан бир қаторда, биотехнология стандарт жиҳозлардан ва препаратлардан фойдаланади ва иқлим шароитига қарамасдан ҳамда қуп майдон эгалламаган ҳолда жараёнларни йил буйи ўтказишга асосланади. Айтиб ўтилган устунликлар, ўсимликларни ва хайвонларни хужайралари, туқималари ва органларига ҳам тегишлидир.

Ажратиб олинган хужайралар ва туқималарни биотехнологиядаги ролини ўч йўналишида қуриш мумкин:

Биринчи йўналиш ажратиб олинган усимлик ҳужайрасини тиббёт, 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 озуқа муҳитида устирилган каллус туқималардан олинади. Ҳужайра технологияси асосида диосгенин – диоскоре ҳужайрасидан; аймолин – илон рацвольфиди ҳужайрасидан; умумий куч берувчи моддалар – женьшен ҳужайрасидан ва х.к. ажратиб олинади ва тиббиёт ҳамда парфюмерияда ишлатилади. Шунинг эътиборга олиш керакки, устириладиган ҳужайраларни ҳосилдорлиги, бутун усимликни ҳосилдорлигидан анча баланд. Бундай усул билан иккиламчи метаболитлар ажратиб олишни яна бир устунлик томони шундаки, муайян шароитда усимликни ўзини устириш имконияти бўлмаган шароитда (совуқ ёки иссиқ иқлимли минтақаларда), уларни ҳужайраларини бутун йил мабойинида устриш мумкин.

Иккинчи йўналиш – ажратиб олинган ҳужайраларни, усимликлар селекциясида ишлатиш ва шу орқали тез ривожланувчи, ҳар хил ташқи муҳит таъсирига чидамли (иссиққа, совуққа, шурланишга, оғир металлларга, қурғоқчиликка, касалликка ва х.к.) усимликлар яратиш. Шунинг билан бирга бу йўналиш, ажратилган протопластларни қушилиши орқали янги усимликлар яратиш ҳамда ножинсий (сомотик) гибридлар олишни ҳам уз ичига олади. Ажратиб олинган протопластларга ген муҳандислиги методлари ёрдамида бегона генларни киритлиши, кейинчалик янги, мерос қоладиган хоссаларга эга булган усимлик яратишига ҳам олиб келади. Ажратиб олинган чангдон ва уруғ қуртакни сунъий озуқа муҳитида устриш, гаплоидлар, олиш имкониши берса, муртакларни устриш – усаолмайдиган (эндоспермаси ёмон ривожланган) усимликлардан гибрид уруғларетиштириш имкониши беради.

Учинчи йўналиш – ажратиб олинган туқималарни қупайтириш ва экув материалларини вируслар ва бошқа патогенлардан соғломлаштириш мақсадида ишлатиш. Бу усул, усимликларни

клонал микрокупайтириш дейилади ва битта медистемадан йилига юз минглаб усимлик олиш имконини беради.

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

Усимликлардан ажратиб олинган туқималарни ўстиришга ҳаракат анча узоклардан маълум. Бу методни ривожланиш тарыхини 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 усимликлар туқималарини ўстиришга уриниб кўришган, аммо усимликларни ўсиши кузатилмаган. Фақатгина қоқи ўтинини ва тол дарахтинини пояларини сегментлари учун бирламчи каллус олинган ва каллусгенезга айланиши мумкин бўлган сегментини энг кичик размери аниқланган. Экспериментал муваффақиятларга етаолмасдан бу олимлар қатор гоё ва гипотезалар яратганлар. Бу гоё ва гипотезалар анча кечироқ ўз тасдиқини топган. Масалан, Харерландт ҳар қандай тирик усимлик хужайрасини тотипотентлиги яъни хужайраларни маълум шароитда ўстирилганда ўзини ривожланиш потенциалини намоён қилиши ва бутун усимлик ҳосил бўлишига бошлаши ҳақида гипотеза эълон қилган эди.

II-босқич (1902-1922 йиллар) – хайвон туқималарини ўстириш учун биринчи озуқа муҳити яратилганлиги билан нишонланади. Бу озуқа муҳитлари табиий бўлиб, таркибида қон плазмаси (қонни суюқ қисми) ва куртак суюқлиги сақлаган. Ажратиб олинган усимлик туқималарини усимлик экстректлари сақлаган сунъий озуқа муҳитида ўстириб кўриш муваффақиятсиз чиққан, чунки

экспериментларда юксак усимликларни усиши фаоллигини намоён қилишга тўғри келмайдиган ҳужайра ва туқималаридан фойдаланилган.

III-босқич (1922 – 1932 йиллар). Бу даврда бир-бирлари билан боғлиқ бўлмаган ҳолда Америкалик олим В.Робинс ва немис олими Котте қаттиқ озуқа муҳитида помидори ва маккажўхори илдизи учидаги меристемаларни устириши мумкин эканлигини намоён қилганлар. Аммо, маълум вақт утгач, усимлик туқималари қунғир ранга кириб, халок бўлганлар. Усимликларни туқималарини устириши методи ривожланиши – 1932 йилдан бошланган.

IV-босқич (1932 – 1940 йиллар), француз олими Р.Готре номи билан боғлиқ. У, *in vitro* шароитида усимлик туқималарини вақти-вақти билан тоза озуқа муҳитига кучириб туриши орқали узоқ вақт устириши мумкинлигини намоён қилган. Бу янгилик, туқималар технологиясини ривожланишига катта хисса қўшди ва устиришига қўйиладиган усимликлар сони жуда ҳам кпайди.

V-босқич (1940 – 1960 йиллар). 1955 йилда янги синфга мансуб фитогормон – цитокининларни ихтиро қилиниши, (хусусан кинетинни) ҳужайраларни бўлинишини кучайтириши имконини яратади. Усини кучайтирувчи моддаларни миқдори ва уларни нисбатига қараб, эксплант ҳужайрасини бўлинишини кучайтириши, каллус туқималарни усини муҳоаза қилиши, морфогенезни индуцироват қилиши мумкин эканлиги намоён этилди. Шу даврда какос ёнгогини, каштан, маккажўхори ва бошқа усимликлар эндоспермаларини ҳужайрани усини, моргенез жараёнлари (каллус туқима ва ҳужайра суспензиясида)га ижобий таъсир кўрсатиши аниқлашган.

VI-босқич (1960 – 1975 йиллар). Бу даврни энг муҳим воқеаси Ноттинген университети профессори Э.К.Коккинг томонидан ферментатив йул билан помидорини илдизи ва мевасидан протопластлар олиниши ва уларни назорат қилиниб турилган шароитда устирилганлиги бўлган. Кейинроқ шу лабораторияда Пауэр узини шогирдлари билан протопластларни сунъий қушилиши шароитларини яратишган. Бу эса, соматик гибридлар яратишида

янги йул булиб хизмат қилган. Уша даврда яратилган яна бир усул – бу усимликларни *in vitro* шароитида меристин культуралар ишлатиб микро кўпайтиришидир. Дастлаб бу усул француз олими Ж.Морел томонидан орхидей усимлигини соғлом кўчатини олиш мақсадида яратилган.

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

Шундай қилиб, охириги йилларда ажратиб олинган усимлик ҳужайралари ва туқималари билан ишлаш техникаси такомиллаштирилди. Аммо, бу ишларда асосий манба булиб, бир паллали ва икки паллали ўтлик усимликлар хизмат қилган. Дарахтларни урганиш буйича олиб борилган ишлар унчалик кўп эмас.

2. УСИМЛИКЛАРДАН АЖРАТИБ ОЛИНГАН ХУЖАЙРА ВА ТУҚИМАЛАРИНИ ЎСТИРИШ ТЕХНИКАСИ

Ажратиб олинган туқималар билан ишлашни асосий шarti – стерилликга катъий риоя қилишдир. Таркиби бой булган озука муҳити микроорганизмларни ривожланиши учун ҳам жуда яхши субстрат ҳисобланади, усимликлардан ажратиб олинган фрагментлар (эксплантлар) озука муҳити билан аралаштирилганда микроорганизмлар таъсирига тез учрайдилар. Шунинг учун ҳам экслантни ҳам, озука муҳитини ҳам стерилизация қилиш керак. Ажратилган ҳужайралар ва туқималар билан қилинадиган барча

нозик ишлар (манипуляция) асептик шароитда (ламинар-боксларда) стерилланган ускуналар ёрдамида бажарилади. Ажратилган тўкималарни ўстириш даврида ҳам стерилликни сақлаш керак, айниқса ҳарорат ва намлик узгарганда, 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 характерига ҳамда эритмани стерилизация қилиш хусусиятига боғлиқ. Одатда уруғ 10-20 мин, вегетатив қисмлар эса 5-10 мин. давомида стерилизация қилинади. Стерилизация қилувчи эритмаларга мисоллар 1-жадвалда курсатилган.

Эксплант олинмокчи бўлган ўсимлик органи, дастлаб совуқли сув билан шеткалар ёрдамида яхшилаб ювилади ва дистилланган сув билан чайиб ташланади, кейин эса бир неча секунд давомида 70 % ли этанолга ботириб олинади. Уруғлар спиртда 1-2 мин. ушлаб турилади. Тўкималарга спирт билан ишлов бериш, уни стерилизация қилиш хоссасидан ташқари, асосий стерилизация қилувчи эритмани таъсирини кучайтириши билан ҳам боғлиқ.

Стерилизация кейин ўсимлик объектлари стерилланган сув билан тозалаб ювиб ташланиши керак. Сиртки стерилизация эксплантни факат ташқи инфекциядан озод қилади. Агар эксплант тўкималари ички инфекцияга эга бўлсалар, уларга антибиотиклар билан ишлов беришга тўғри келади. Айниқса ички инфекцияга йирик томирли тропик ва субстроник ўсимликлар бой бўлишади. Культураларни замбуруғлар ёки бактериялар билан ифлосланиши эқилгандан 1-14 кун ўтганда кузга ташланади. Ёруғлик хонасидаги ҳавони ифлосланишдан сақлаш учун, ифлосланган культурани дарҳол йукотиш керак.

1-жадвал.

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

Манба	Стерилизация вақти, мин			
	0,1% ли диацид	0,1% ли кумуш хлорид (AgCl ₂)	5-9 % ли гипохлорит- лар (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
Туқималар				
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

Озуқа муҳитларини автоклавда, 1200С да 0,75 – 1,0 атм. босимда 20 минут давомида стерилизация қилинади. Агар озуқа муҳити таркибига юкори ҳароратда парчаланадиган моддалар кирса, уларни алоҳида совуқ стерилизация қилинди. Уларни тешиқлар диаметри 0,22 – 0,45 мкм, булган бактериал филтърлардан ўтказилади ва автоклавдан чиққан озуқа муҳитини 400 С гача совутиб, кейин уларни аралаштирилади. Олдиндан фольгача ёки ўрайдиган қоғозга ўралган идишларни қурук иссиқ билан, қуритгич шкафларида 1600С да икки соат давомида стерилизация қилинади.

Озуқа муҳити ажратиб олинган хужайралар ва туқималарни ўстириш учун мулжалланган озуқа муҳитлари, ўсимликларни яхши ўсиши учун керак булган 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 озуқа муҳитлари аминокислоталар, казсин гидролизоти, ЭДТА (этилендиаминтетрасирка кислота) ёки уни натрийли тузи (бу туз

темирни хужайра киришига ёрдам беради) ва бошқа керакли моддалар саклайди.

Каллус тукима олиш учун, алохида ҳолларда озика муҳитига кокос ёнгоғини (какос сути), каштан дарахтини эндоспермасини қўшилади. Карбон сувлар озука учун энг керакли компонентлар ҳисобланади. Бунга сабаб, кўп ҳолларда ажратиб олинган хужайра ва туқималарни автотроф озикланишга қурблари етмайди. Карбон сув сифатида кўпрок 2-3 % ли сахароза ёки глюкоза эритмасидан фойдаланилади.

Фитогормонлар хужайраларни табакаланиши (дедифференцировка) ва хужайра бўлинишини кучайтириш (индукция) учун керак. Шунинг учун ҳам каллусли туқималар олиш учун мулжалланган озука муҳити таркибида албатта ауксинлар (хужайра бўлинишини кучайтирувчи) булиши шарт. Поя морфогенезини индукция қилганда муҳит таркибидаги ауксинлар микдорини камайтириш ёки бутунлай олиб ташлаш мумкин.

Гормон сакламайдиган озука муҳитида шиш ва «ўрганган» туқималар усади. Ҳар икки гуруҳ гормонларига ёки улардан бирортасига автономлик, бу хужайраларни узларини гормон синтезқилиш хусусияти билан боғлиқ.

Ауксин манбаи сифатида озука 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 кўпрок 2,4-Д дан фойдаланилади, чунки ИУК, 2,4-Д га нисбатан 30 мартаба кучсиздир.

Сунъий озука муҳитига қўшиш учун, цитокинин манбаи сифатида, кинетин, 6-бензиламинопурин (6-БАП) ва зсатин ишлатилади. 6-БАП ва зсатин ажртилган туқималарни ўсишига оргоногенезни индукциясига кинетинга нисбатан фаолроқ таъсир кўрсатади. Баъзи бир озука муҳитлар таркибига аденин ҳам қўшилади.

Ҳозирги пайтда жуда кўп сонли озука муҳитларни таркиби аниқ бўлсада, ажратиб олинган ўсимлик туқималарини *in vitro* шароитида ўстириш учун Т.Мурасига ва Ф.Скуга муҳитлари

ишлатилади. Бу муҳитни таркиби биринчи марорта 1962 йилда эълон қилинган ва у жуда яхши балансланган озукка моддалари таркибига эга ва бошқалардан аммонийли ва нитратли азотни нисбати билан фарқ қилади (2-жадвал).

Қаттик озукка муҳит тайёрлаш учун агар-аграр ишлатилади. Агар-агар денгиз сув утларидан олиннадиган полисахариддир. Вақтдан унумли фойдаланиш мақсадида, макро- ва микроэлементлар эритмалари ҳамда витаминлар ва фитогормонлар қуюқроқ қилиб тайёрланади ва совуқ шароитда сақланади ҳамда керак бўлганда суюлтирилиб ишлатилади.

Устириш шароити

Усимликлардан ажратиб олинган хужайралар ва туқималарни яхши устириш учун, устиришни маълум шартларига роия қилиш кера. Кўпчилик каллус туқималари ёруғликга эҳтиёжи йўқ, чунки уларни хлоропластлари бўлмасдан, гетероторф озикланадилар. Баъзи-бир яшил рангдаги каллус туқималар бундан мустасно. Баъзи бир ҳолатларда каллус туқималар автотроф озикланишига қобилиятли эмас, буларни доимий ёруғлик шароитида устирилади, бу эса мувоффақиятли морфогенез учун мажбурий шароитдир кўпроқ каллус туқималар қоронғиликка олинади.

2-жадвал.

Усимликларни ажратиб олинган туқималарини устириш учун ишлатиладиган озукка муҳитларини таркиби

Озука муҳити компонентлари	Микдори, мг/л			
	Мурасига-Скуга	Гамборга	Шенка-Хильдебрандта	Грессхофф-Доу
NH_4NO_3	1650	2500	2500	-
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	-	-	300	-
KNO_3	1900	-	-	1000
CaCl_2 + $2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150

$\text{Mg SO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	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
$\text{FeSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	27,95	27,85	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	-	150	-	90,0
H_3BO_3	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
$\text{CoU}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,1	0,25
Глицин	2,0	-	-	2,0
Мезоинозит	100	100	1000	10
Никотин кислотаси	0,5	1,0	5,0	1,0
Пиридоксин-НСI	0,5	1,0	0,5	0,1
Тиамин НСI	1,0	10,0	5,0	-
2,4-Д	-	0,1-1,0	-	-
Кинетин	-	0,1	0,1	-
Глутамин	-	-	-	2,0
Сахароза	30000	30000	30000	20000

Морфогенезга аниқланган (детерминированные) туқималар ёруғликга утказилиб, кейин 1000-4000 Лк ёруғликда устирилади. Ажратиб олинган меристемлар ва уларни микроқупайтириш ҳам сруғликда утади. Ёруғ уйчани ёруғлиги 1000 – 10000 лк булиши

керак ва ёруғликни кучи усимликни хусусиятларига боғлик. Устриладиган объектни фото даврини ҳам ҳисобга олиш керак.

Устриладиган хонада намлик 60-70 % булиши керак. Ундан курукроқ хаво озика мухитини куришиб юборади, агар пробирка пахтали тикин билан бектилган бўлса, озука моддаларни концентрацияси узгариб, устириш шароити бузилади.

Купчилик туқималарни устириш учун оптимал ҳарорат 25-26°C. Агар тропик усимликларни туқималари бўлса 29-30°C да устрилади. Морфогенез индукция қилинганда ҳарорат 18-20°C гача туширилади. Одатда климатик камералардан фойдаланилади.

9-МАВЗУ. СОМАТИК ДУРАГАЙЛАШ ҲАКИДА ТУШУНЧА, УНИ ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШДА ҚЎЛЛАНИЛИШИ

Протопласт олиш. 1892 йили Дж Клерк томонидан биричи марга плазмолизни (цитоплазмани хужайра деворига якин :қаватини хужайранинг қаттиқ қобигидан ажратилгани) ўрганиш мақсадида протопласт ажратиш олган. У сув усимлиги телоферезниш барг туқималарини плазмолизлаган. Бунда протопласт ҳосил бўлган. Протопласт олишнинг бир неча усуллари мавжуд:

Протопластларни механик тарзда ажратиш. Масалан: пиз энидермисини юпка қатламини 0,1 м сахарозага солиб қуйилади, сўнгра устара ёрдамида кесилади. Усимлик протопластларини ажратиш соҳасида олиб борилган изланишлар натижазда механик усулни такомиллаштириб янги услубларнинг юлага келишига сабаб бўлди. Бунга ферментлар ёрдамида хужайра деворини парчалашни мисол қилиб келтириш мумкин. Бактериялар хужайра деворини *лизоцим ферменти* ёрдамида парчалаш мумкин. Е. Кокин юқори усимликлардан ферментлар иштирокида протопласт олишни йўлга қўйди.

Ферментлар ёрдамида протопласт олишнинг механик тарзда протопласт олишдан устунлик томони шундаки:

1) Бир вақтнинг ўзида куп микдорда протопласт ажратиш мумкин

2) Протопластларни кучли осмотик сиқишнинг хожати йук

3) Хужайра тоза ва зарарланмаган булади

4) Услуг нисбатан тезроқ бажарилади

Хужайра деворини парчалаш учун уч хил целлюлоза, гемицеллюлоза ва пектиназа ферментларидан фойдаланилади. Бу ферментларнинг таъсири хужайра девори компонент-ларини парчалашга йуналтирилган булади. Бу компонентларга целлюлоза, гемицеллюлоза ва пектин моддалари киради.

Протопластларни ажратишда хужайраларнинг тузилиш хусусиятларига қараб фермент препаратлари танланади. Масалан, мевалардан протопласт олиш учун хужайрадаги пектиннинг миқдори юкори булганлиги сабаби пектиназа ферментидан фойдаланилади. Мевалардан протопласт олиш учта жараённи уз ичига олади:

1) ферментлар билан ишлов бериш

2) протопластларин оллаш

3) хужайра кобикларидан интакт протопластларни ажратиш.

Баргдан протопласт олишда барг туқималари эпидермисдан хали этилади, нектиназа фермент билан биргаликда целлюлоза ферменти (хужайра деворининг целлюлозали компонентларини парчалайди) билан ишлов берилади.

И. Такебе асосан тамаки барги учун протопластларни ажраташ услубини ишлаб чиқди. 50-70 кунлик соғлом усимликдан тула шакиллаган барг олиниб, 70% ли этанолга солиниб, сунг 15-20 дақиқага 10% ли кальций гинохлорид эритмасига солинади ва дистилланган сув билан бир неча марта ювилади. Пинцет ёрдамида баргдан эпидермис олиниб, скальпел билан 4 см² катталикдаги булакларга булинади.

Эпидермисдан тозаланган барг туқималарига биринчи босқичда нектиназа ферменти иккинчи босқичда целлюлоза ферменти билан ишлов берилади.

Оптимал шароитлар протопластларни олишда турли туқималар индивидуал танланади. Яшашга мослашган, натив протопластлар олишда осмотик стабилизаторларни танлаш муҳим омиллардан

ҳисобланади, бу ўсимликларнинг физиологик ҳолатига қараб танланади.

Протопластлар қоронғу ёки ярим қоронғу жойларда ажратилади, бунда рН 5,4-6,2 бўлиши керак. Протопластларнинг турғунлиги СаС12 ва Mg С12 нинг юқори микдори ушлаб туради.

Протопластларни олишда, шунингдек хужайра суспензияси ва каллус культураларидан ҳам фойдаланиш мумкин.

Каллусни суюқ озуқа муҳитига солиб, доимий чайқатиб аралаштириш йўли хужайралар суспензияси билан олинади. Пектиназа ферментидан фойдаланиб эксплантдан суспензион культура олиш мумкин. Олдин эксплант юзасида каллус чуқимаси ҳосил қилинади, сўнг ундан алоҳида хужайралар ва хужайра агрегатлари олинади натижада хужайра суспензияси ҳосил бўлади. 100 мл суспензия олиш учун 2-3 г янги каллус туқимаси керак бўлади.

Суспензия хужайраларнинг бўлиниши каллус хужайралари индукцияси ва ўсиши учун зарур бўлган гармонлар ауксин, цитокининлар иштирокида боради. Суспензия 2,4Д ли озуқа муҳитида ўстирилган пук каллусдан яхшироқ ҳосил бўлади.

Хужайра суспензиясидан биотехнологияда иккиламчи бўлган метоболитлар яни доривор моддалар олишда, хужайра биомассасини ўстиришда ва хужайра селекциясида фойдаланилади. Хужайра суспензияси билан ишлашда уларнинг ҳарактеристикасини, яшаш қобилиятини, суспензион культурадаги зичлигини агрегирланиш даражасини, ўсиш тезлигини билиш зарур. Уларнинг яшаш қобилиятини буюб аниқланади. Бунда метил кук ёки Эвакс кук бўғидан фойдаланилади. Бунда тирик хужайралар бўялмайди, нобуд бўлган хужайралар кук рангга бўялади. Генетик ва физиологик изланишлар учун, шунингдек хужайра селекциясида фойдаланиш учун алоҳида хужайраларни ўстириш катта аҳамиятга эга. Алоҳида хужайралардан олинган клон-авлодлар генетик бир хил эмасликнинг сабабларини билишда ёрдам беради. Ажратилган протопластдан олинган якка гибрид хужайра кейинги бўлинишида гибрид хужайралардан иборат клон олиш имкониятини беради.

Алоҳида хужайралар ўсимлик туқимаси хужайра суспензиясидан ферментлар билан мацерацияланганидан сўнг, ажратилган протопластлардан хужайра девори тикланганидан сўнг ажратиб олинади. Бир хужайрали фракциялар олиш учун, қолбадаги суспензияни тиндириб қўйиб, устки суюқ қисмидан олса бўлади. Бунда йирик агрегатлар қолба тагига чуқади. Бундан ташқари алоҳида хужайраларни мацерацияловчи ферментлардан фойдаланиб, сахароза градиентида центрифугалаб, ёки металл элакдан филтрлаб олиш мумкин.

Алоҳида хужайраларнинг бўлиниб қўпайиши учун махсус услублар ишлаб чиқилган, 1950 йил Джонсон «энага» услубини таклиф этди, бунда «энага» вазифасини филтър қоғоз билан, ундан ажратилган каллус туқимаси бўлаги бажаради. «Энага» иштарыкида алоҳида хужайра бўлишиб, хужайра-клон индивидуал колония беради. Хужайра бўлинишининг индукцияси учун «озукалантирувчи қатлам» дан фойдаланиш мумкин. Хужайра бўлинишини стимуллаш ва муҳитни кондиционирлаш учун интенсив бўлинаётган хужайра культураси ўсаётган озуқа муҳитдан қўшилади.

10-МАВЗУ. ГЕН МУҲАНДИСЛИГИ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ

Ген муҳандислиги генотипга янги генлар киритиш орқали организм генотипини муайян йўналишда қайта қуриш (рекомбинант ДНК яратиш) билан шугулланадиган молекуляр генетика бўлидир. Ген муҳандислиги ёрдамида нуклеотидлар тартиби ўзгарган ДНК молекуласи ҳосил қилинади ва уни ишлаб турган хужайра геномига утказилади ва шу билан янги ирсий белгилар хужайралар олинади.

Бу усул ҳозирги кунда организмлар ирсиятини ўзгартиришнинг энг қулай воситасидан бири бўлиб қолди.

Ген муҳандислиги одатда 3 та босқичда олиб борилади:

1. Керакли генни ажратиш ёки уни синтез қилиш;

2. Шу керакли ген булган ДНК ни кучирувчи (вектор) ДНК сига улаш;

3. Керакли ген уланган вектор ДНК сини хужайрага ёки организмга утказиш.

Кузланган мақсадга кўра керакли генни хужайрадан ажратиб олиш ёки сунъий синтез қилиш мумкин.

Биринчи рекомбинант (дурагай) ДНК 1972-йилда Станфорд университети (АҚШ) лабораторияларидан бирида профессор П. Берк томонидан лямда фаги ДНК сининг бир булагини ичак таёқчаси ДНК сига киритиш орқали олинган.

Трансген усимликлар олишнинг илк боскичларида бегона генлар экспрессиясининг нишон белгилари яъни репортёр генлардан фойдаланилган. Одатда, репортёр генларнинг маҳсулотлари оддий усуллар билан осон аниқланади.

Қишлоқ хўжалик экинлари маҳсулотларининг сифатини ошириш ҳозирги пайтда долзарб ҳисобланади. Сифат белгилар ҳам ҳар бир тур усимлигида, селекция йўналишига қараб белгиланади. Масалан, арпа усимлигида селекция йўналишига қараб маҳсулот сифати дондаги оксил ёки углеводлар миқдори билан белгиланади.

Усимликлар сифатини ген – муҳандислик технологиялари ёрдамида яхшилаш ва улардан сифатли маҳсулотлар олиш бир неча боскичларни ўз ичига олади:

1. Захира оксиллар генларини клонлаш:

2. Оксилларнинг тукимага ҳослиги ва вақтинча экспрессия механизмини ўрганиш ва бундай махсус экспрессияни бошқарувчи ва белгиловчи ДНК изчиллигини аниқлаш:

3. Аминокислоталар таркибини яхшилаш мақсадида захира оксиллар генлари нуклеотид кетма-кетлигини мақсадли ўзгартириш:

4. Ўзгартирилган ген тутувчи векторлар яратиш:

5. Такимиллашган генларни усимликларга киритиш:

6. Генлар экспрессиясини ва маҳсулот сифатини синондан утказиш:

Соҳа олимлари томонидан донли, бошқокли ва бошқа бир қатор усимликлар захира оксилларининг ўнлаб генлари ўрганилган.

Ҳозирги кунда таджикотчилар томонидан арпа горденни, бугдой α ва β - глиадинлари ва глюитенини, маккажухори зиени, дуккаклилар легуминлари, картошка пататини ва бошқа оксилларнинг 10 га яқин генлари клонланган. Баъзи генларнинг нуклеотид кетма-кетликлари аниқланган. Захира оксиллар ажратишнинг умумий режаси куйидагиларни ўз ичига олади: 1) м-РНК ни олиш ва қисман тозалаш; 2) комплементар К-ДНК синтезлаш ва клонлаш; 3) генлар банкидан захира оксиллар генининг нуклеотид кетма-кетлигини ажратади.

Захира оксиллар генларини урганиш, улар тузулишининг умумийлигини ва ўз урпиди уларнинг бир хил функцияларни бажаришини кўрсатади.

Модификация қилинган оксил трансген маккажухори ўсимлигини уруғларида фаол синтезланади. Натижада донининг сифати яхшилашган маккажухори тизимларини олишга муваффақ бўлинади. Кейинчалик бу трансген тизимлар анъанавий селекция усуллари ёрдамида янги нав ва дурагайлар олишда қўлланилиши мумкин.

Трансген бугдой ўсимликлари ҳам шу каби усуллар ёрдамида олишган. Ўсимлик гепомига глютенин оксиди юқори молекуляр суббирлигининг нуклеотид изчиллигини ўзгартирилиб модификация қилинган гени киритилганда, модификацияланган оксиллар синтезини фаолаштиради ва тегишли захира оксиллар таркиби ва даражасига таъсир этиб, бу бугдойнинг дон сифатини янгилашга олиб келади.

Оксиллар таркибини яхшилашнинг яна бир усули бу бир паллали ва икки паллалиларнинг захира оксиллари генлари изчиллиги асосида химер генларни конструкциялашдир.

1999-2000-йилларда трансген ўсимликлардан фойдаланиши рухсат этилган АҚШ, Канада ва яна бир қанча мамлакатларда ҳосилдорликни оширувчи ва ҳосил бўлган маҳсулотнинг сифатини яхшиловчи турли хил генлар трансформация қилинган маккажухорининг еттига, бугдойнинг битта трансген навлари дала

синовларидан утказилиб, кишлок хужалик ишлаб чиқаришида фойдаланилмоқда.

Усимликлар ва бактерияларнинг стресс таъсирга жавоби ухшашлиги аниқланган: иккала ҳолатда ҳам хужайрада осмопротектор молекулалари синтез бўлиб, унинг таъсир механизми цитоплазма ва атроф-муҳит уртасида осмотик тенгликни юзага келтириш, бундан ташқари, стресс таъсирлар шароитида оксилларни қисман мутадиллаштиришдан иборатдир. Осмопротектор молекулалари синтезининг биокимёвий йўли ухшашлиги стрессларга бардошли, трансген усимликлар олишда бактерия генларидан фойдаланиш имконини беради.

Оддий ирсийланиш билан бериладиган белгилар аллел бир ген назорати остида ривожланади. Шунга карамай агрономликдаги куплаб муҳим персонажлар билан селекционерлар ишлаб, масалан: улчам, ташки кўриниш, белгилари, қишга чидамлилиги, яшовчанлиги каби кўрсаткичлари ёки сифати бўйича бир канча кумулятив самарага эга куплаб генлар таъсири остида бўлади.

Ген муҳандислиги усулларини қўллаб, зарарқунанда хашоратларга қарши курашишда чидамлилиги юқори бўлган усимликларни конструкция қилиш мумкин.

Гербицидларга чидамли трансген усимликлар олишда гербицидларга чидамлилиқни юзага чиқаришнинг молекуляр механизмлари, бу хусусиятни белгиловчи бактерия усимлик генларини ажратиб олиш туғрисидаги маълумотлар назарий асос бўлиб хизмат қилади.

Ҳозирги пайтда шимолий Америка ва Европада гербицидларга чидамли, маккажўхори, гўза, шоли, соя, бугдой, картошка ва помидор, зиғир каби экинларнинг 20 га яқин трансген навларидан фойдаланишга руҳсат этилган. Дунё бўйича гербицидларга бардошли трансген усимликларнинг нав ва дурагайлари 34 млн. гектар ерга экилади. Бу умумий экинлар майдонининг 80 % ни ташкил қилади. Ҳозирги пайтда умуман 78та трансген усимликларга фойдаланиш учун руҳсат этилган. Усимликларда ген муҳандислиги тобора тараккий этиши билан бир қаторда, бир канча муаммолар хал этилмай келмоқда. Бундай муаммолардан бири – усимликлар геномига ўлчам катта бўлган генларни (10 м.н. ш. дан куп) ёки бир

некта фукионал генларни бир пайтнинг узида киритишнинг кийинлиги билан боғлиқдир.

Вируслар билан прокариот хужайралар орасидаги материалнинг кучирилишини, табиий шароитда бактерияларда утадиган рскомбинация механизмларини урганиш, плазмидалар ва муътадил фағларнинг хужайрадаги ҳаётини тушуниш генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш имкониятини беради. Олимлар кулида ДНКнинг керакли бир қисмини бактерия хужайрасига кучириб ўтказадиган система -плазмидалар ҳам бор. Бундай трансмиссив кучириб ўтказувчи халқали молекулалар - плазмидалар ва муътадил вируслар **вектор** деб аталади (1-жадвал).

1-жадвал

Биотехнологияда кенг қўлланиладиган баъзи бир векторлар тавсифи

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

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

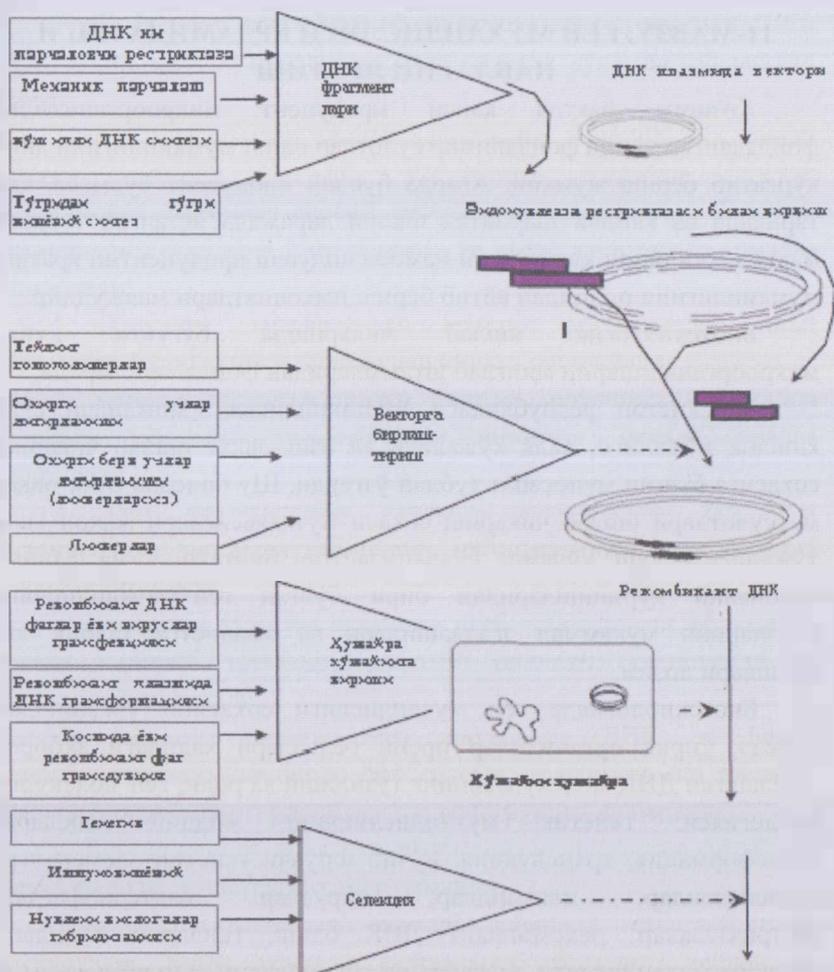
Бу ғояларнинг амалда юзага чиқиши ген муҳандислиги ёки генетик муҳандислик деб аталадиган ва катта истикболга эга булган янги соҳани дунёга келтирди.

Ген муҳандислиги қисқача айтганда, генлар устида турли манипуляциялар ўтказиш, уларни тула урганиш асосида фукионал

қисмларга бўлиш, керакли жойидан кесиш, керак бўлмаган қисмини олиб ташлаш, керак бўлган қисмларини бошқа генлардан ёки синтез йули билан олиб улаш ва шу усулда тайёрланган дурагай ёки рекомбинант гени мувофик организмга киритиб (Масалан, одамнинг инсулин генини микроб хужайрага ёки сичконнинг ўсиш гормони генини каламушга), зарур турларни ёки препаратларни синтез қилиш ва ҳақозо ғоялар ва технологияларнинг йиғиндисидир (1-расм).

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

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



1-расм. Ген мухандислиги манипуляциялари механизми

11-МАВЗУ. ГЕН МУХАНДИСЛИГИ ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ

Ҳозирги вақтда қайси продуцент микроорганизмдан фойдаланган ҳолда фойдали маҳсулотлар олиш мумкинлигини аниқ курсатиб бериш мумкин. Агарда бундай продуцент бўлмаса, қай тарикада ва қандай шароитда юқори даражада исталган турдаги маҳсулотни олиш хусусиятни намоён қилувчи продуцентни яратиш мумкинлигини олдиндан айтиб бериш имкониятлари мавжуддир.

Биотехнологик ишлаб чиқаришда бугунги кунда микроорганизмларни минглаб штаммларидан фойдаланилмоқда.

Ўзбекистон республикаси мустақилликка эришгандан сўнг қишлоқ хўжалиги, халқ хўжалиги ва озиқ-овқат ишлаб чиқариш соҳасига бўлган муносабат тубдан ўзгарди. Шу боисдан озиқ-овқат маҳсулотлари ишлаб чиқариш соҳаси мутахассислари жаҳон халқ хўжалигида кенг қўламда қўлланилаётган биотехнология фанини замонавий кўринишларидан бири бўлган ген муҳандислиги усуллари мукамал эгаллашилари ва амалиётга тадбиқ эта олишлари лозим.

Биотехнологияда ген муҳандислиги соҳасини ўрганишдан мақсад, тирик организмлар ирсий белгилари ҳақидаги ахборот жойлашган ДНК молекуласининг тузилиши ва роли, ген молекуляр биологияси; генетик муҳандисликнинг моддий асослари: трансформация, трансдукция, кучиб юривчи генетик элементлар-транспозонлар, плазмидлар, вируслар, бактериофаглар, рестриктазалар, рекомбинант ДНК олиш, генларни клонлаш, хужайра муҳандислиги, хужайра ва туқималарни сунъий шароитда ўстириш технологияси; генетик муҳандисликнинг усимликлар селекциясида қўлланилиши; ген муҳандислигига асосланган биотехнологиянинг аграр саноатдаги илмий-техник тараққиётни тезлаштиришдаги роли; гибридомалар олиш технологияси ва унинг қишлоқ хўжалигида ва чорвачилиқда қўлланилиши ҳамда генетик муҳандисликнинг истиқболлари ҳақидаги аниқ билимларни ўрганишдан иборат.

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

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

1. Хужайра даражасидаги генетик муҳандислик икки хужайрани узаро қушиш йўли билан амалга оширилади.

2. Хромосома даражасидаги генетик муҳандислик хужайра ядросига қўшимча хромосомалар киритиш орқали амалга оширилади.

3. Ген даражасидаги генетик муҳандислик ёки ген муҳандислиги энг мураккаб бўлиб, қуйидаги босқичлар асосида амалга оширилади:

а) Қимматли хўжалик аҳамияти касб этадиган ген функцияси орқали қидириб топилади, ажратиб олинади, клонланади ва тузилиши урганилади.

б) Ажратиб олинган ген хромосома ДНК си билан рекомбинацияланувчи бирор фаг геноми, траспозон ёки плазмид ДНК си билан бириктирилиб вектор конструкция яратилади.

с) Вектор конструкция трансформация усули билан хужайрага киритилади ва трансген хужайра олинади.

Трансген хужайрадан сунъий равишда етук ўсимлик устирилади. Ушбу усулдан фойдаланиб ўсимлик, хайвон ва микроорганизмлар хужайраларидан трансген формалар олиш мумкин.

Биотехнологияда ген муҳандислиги ютуқларини чуқур урганиш ва улардан оқилона фойдаланиш трансген ўсимликлар ва хайвонлар олиш биотехнологиясининг юзага келишида асосий омил бўлиб хизмат қилди. Бу усул билан қимматли хўжалик аҳамиятига эга бўлган бир қатор ўсимликлар ва наслдор қорамол клонлари яратилди.

Ген мухандислиги биотехнологиясининг ютуқлари саноат куламида ва кишлок хужалигида кенг қулланилмоқда. Хусусан, антибиотиклар, аминокислоталар, витаминлар ва гормонлар ишлаб чиқарилмоқда, наслдор қоромол клонлари яратилмоқда, тупроқда ва сувда захарли пестицид қолдиқларини парчалайдиган микроорганизмларни трансген штаммалари олинмоқда, атмосфера азотини ўзлаштирувчи микроорганизмлар генлари асосида тупроқни азотли ўғитлар билан бойитиш муаммоси ечилмоқда, зарарли хашаротларга ва патоген микроорганизмларга чидамли, экологияни асровчи трансген ўсимлик навлари етиштирилмоқда, ирсий касалликларни тезкор таъхис қилиш учун диагностикалар тайёрланмоқда, шунингдек, ген терапия такомиллаштирилмоқда.

Бугунги кунда генетик мухандисликка асосланган биотехнология тезкор ошиб бораётган, инсон эҳтиёжларини қондириш учун классик технологиялардан ўта самарали эканлигини тула намоён қилмоқда.

12-МАВЗУ. ГЕН МОДИФИЦИРЛАНГАН ОРГАНИЗМЛАР ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УЛАРНИ ҚИШЛОҚ ХУЖАЛИГИДА ҚУЛЛАНИЛИШИ

Ўсимлик хужайраларига генларни киритиш

Ўсимлик хужайраларига генлар турли усул билан киритилади:

Икки паллали ўсимликлар учун табиий вектор, яъни агробактериялар плазмидаси мавжуддир. Бир паллали ўсимликлар учун ҳам ушбу усулдан фойдаланилади, лекин бу усул озрок кийинчиликлар тугдиради.

Агробактерияларга нисбатан чидамли булган ўсимликларда эса генлар бевосита физик йул билан киритилади. Булар: микроразрачалар билан «хужум» қилиш ёки балластик метод; электропорация, полиэтиленгликол билан ишлов бериш; ДНКни липосома таркибида ўтказиш ва б.

Энг қулай метод микроразрачалар билан «хужум» қилиш методи ҳисобланади. Юқори тезликда заррачалар ядрога бевосита

кириб, трансформация самарадорлигини оширади. Шу усул билан ДНКга эга бўлган ҳужайранинг бошқа органеллалари – хлоропластлар ва митохондрияларни ҳам трансформациялаш мумкин.

Охирги вақтларда комбинацияланган трансформация методи – агролистик методи ҳам яратилиб, амалда қўлланилмоқда. Бунда бегона ДНК туқимага бирор-бир физик йул, масалан баллистик йул билан киритилади. Киритилаётган ДНК да Т-ДНК вектор ва маркер гени, ҳамда вирудентликнинг агробактериал гени бўлиши керак. Усимлик ҳужайрасида вирулентлик генини вақтинчалик экспрессияси оксиллар синтезига олиб келади. Бу оксиллар плазмидадан Т-ДНКни туғри кесиб, уни агробактериал трансформациядаги сингари ҳужайин геномига жойлаштиради. Сунг *in vitro* да таркибида ҳужайраларнинг қупайиши учун зарур бўлган фитогормонли озука мухитига экилади. Озука мухитида одатда трансген усимликлар чидамлиликка эришиши учун селектив маркер бўлиши керак.

Регенерация купрок каллус боскичидан сунг руй беради. Сунгра мухит туғри танлай олинса органогенез бошланади. Униб чиққан куртаклар илдиз бериши учун бошқа мухитга ўтказилади.

Трансген усимликларга генетик материалларни экспрессияси.

Олимлар усимлик ҳужайрасига бегона генларни киритишда буйича олиб борган тадқиқотларида янги ҳодисаларга гувоҳ бўлганлар. Аниқланишича, бир тажрибанинг ўзида бир хил ДНК конструкцияси билан трансформацияланган трансген клонлар киритилаётган ген экспрессияси буйича фаркланар экан. Экспрессия даражаси купгина омиларга боғлиқ бўлиб, у айниқса киритилаётган геннинг ядро хроматинини қайси қисмига тушишига боғлиқ экан. Бундан ташқари, ядро геномига ДНК конструкцияланганда бир канча узғаришларга учрайди (дупликация, инверсия ва б.) ва бу экспрессиянинг пасайишига олиб келади. Яна аниқланишича, қўлланилаётган трансформация процедуралари ҳужайин геноми учун ҳам бефарқ эмасдир.

Биринчидан, трансгенни жойлашиши қайсидир хужайин генини бирламчи структурасини бузиши билан биргаликда уни инактивациялайди.

Иккинчидан, усимлик геномига генлар агробактериал ёки физик утказилганда турли курунишдаги қайта тузилишлар, хатто хромосома фрагментларининг транслокациясигача кузатилади. Буларнинг барчаси усимлик геномини нормал фаолият курсатишини узгартиради.

Усимликка керакли генни тутувчи *Ti*-плазида кетма-кетлигини киритишнинг 2 хил методи яратилган:

Биринчи метод — «оралик векторлар» методи (коинтегрив векторлар) — pBR 322 ичак таёкчасидан фойдаланишга асосланган (расм).

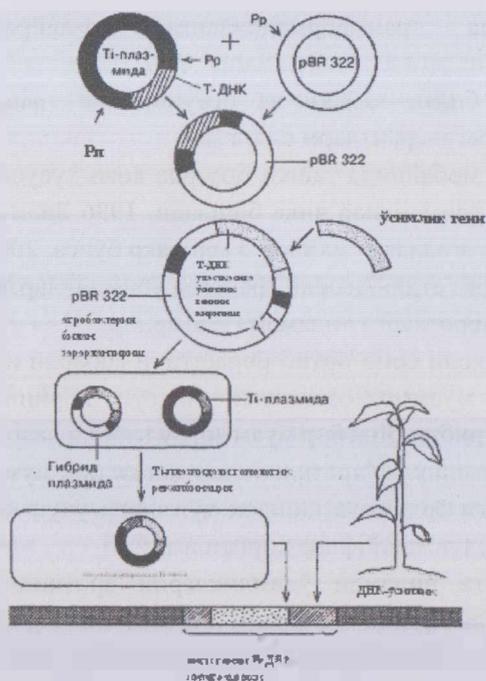
Ti-плазмидадан Т-ДНК рестриктазалар ёрдамида кесилади ва *E. coli* да клонлаш учун pBR 322 плазмидасига жойлаштирилади. Т-ДНК плазмидали бактериялар купайтирилади ва плазида ажратиб олинади. Сунгра клонланган Т-ДНКга рестриктаза ёрдамида керакли ген жойлаштирилади. Ҳосил булган Т-ДНКли рекомбинант молекула яна бир бор катта микдорда купайтирилади, яъни ичак таёкчасида клонланади. Шундан кейин конъюгация ёрдамида тулик *Ti*-плазмидани ташувчи агробактерия хужайрасига киритилади. Натив *Ti*-плазмидасининг Т-сегментлари ва оралик векторлар уртасида гомологик рекомбинация рўй беради. Бунинг натижасида ген жойлаштирилган Т-ДНК нормал ДНК урнига натив *Ti*-плазмидага киради. Т-сегментга керакли генлар жойлашган *Ti*-плазмидани ташувчи *A. Tumefaciens* хужайралари ҳосил булади. Уларнинг навбатдаги кучирилиши агробактерияларга хос булган оддий йул билан амалга оширилади.

Иккинчи метод бинар (қуш) векторлар системасини яратишга асосланган.

Охириги тадқиқотлардан маълум булишича, зарарлаш ва трансформация учун яхлит *Ti*-плазида керак эмас, балки Т-ДНК нинг чекка участкаси ва *Ti* -плазмиданинг вирулентликка жавобгар бир участкасининг узи етарлидир. Бу иккала участка бир плазмидада булиши ҳам шарт эмас. Агар агробактерияда *vir* сегментли *Ti*-плазида ва Т-ДНКли бошка плазида булса, бу бактериялар

усимлик хужайрасини трансформациялаши мумкин. Бундай холда исталган ген жойлаштирилган Т-ДНК усимлик геноми билан интеграцияланади. Бунинг учун бактерия хужайраларида гомологик рескомбинация содир булиши керак эмас. Бегона генлар экспрессияси учун Т-ДНКнинг махсус промотори, масалан нопалинсинтеза промотори керакдир.

Усимлик хужайрасига конструкцияланган Тi-плазмидани киритишнинг бир нечта методлари бор. Булардан энг оддий табиий усул – конструкцияланган штаммларни усимликнинг зарарланган кисмига киритишдир.



Расм. Тi-плазмида асосида коинтегратив векторни яратилиши. Pp - рестриктаза ёрдамида парчаланиш.

Бошқа метод – протопластларни агробактериялар билан кокультивациялаш йули билан трансформациялаш. Агробактериялар янги ажратиб олинган ёки бир кунлик

протопластларга қушилса, бактериялар бирлашмайди ҳам, трансформацияланмайди ҳам. Трансформациялаш учун 3 кунлик протопластларда хужайра девори қайтадан ҳосил булган булиши керак. Бу ҳол хужайра деворини ҳосил қилувчи ва бактерияларни бирлаштирувчи ингибиторларни қушиш билан исботланган. Кокультивациялаш даври (бу даврда протопластлар агробактериялар билан агрегацияланади), яъни бир суткадан ортиқ вақтдан сўнг бирлашмаган бактериялар қайта ювиш билан олиб ташланади. Сўнг ўсимлик хужайралари гормонлар қушилган муҳитда ўстирилади. 3-4 ҳафтадан сўнг колониялар гормонсиз муҳитга ўтказилади. Бу муҳитда фақатгина трансформацияланган хужайраларнинг колониялари ўсади.

Шундай усул билан тамаки ва пстуниннинг трансформацияланган ўсимлик-регенерантлари олинган.

Охирги 10 йил мобайнида тапқи бозорда янги хусусиятларга эга булган трансген ўсимликлар чиқа бошлади. 1996 йили АҚШда трансген ўсимликлар эгаллаган майдон 3 млн. акр булса, 2002 йилга бу майдон 80 млн акрга етди. Асосий трансген ўсимликлар: жўҳори, соя, гербицид ва ҳашоротларга чидамли гузалардир.

Кундан-кунга аҳоли сони ортиб бораётгани сабабли инсоният олдида муҳим бир муаммо, озик-овқат маҳсулотларини ишлаб чиқариш масаласи турибди. Яна бир муаммо, бу тиббий даволашдир. Буларни трансген ўсимликлар яратиш билан ҳал қилиш мумкин.

Ген инженерлиги ёрдамида кишлоқ хўжалиги учун қуйидаги ўсимликлар яратиш учун таклифлар киритилган:

1. Ҳашоротларга чидамли ўсимликларни яратиш. Уларни яратиш учун ўсимликларнинг геномига *Basillus thuringiensis* (бу микроорганизм ҳашоротлар организмида ривожланиб тангақанот-пиларда касаллик келтириб чиқаради, одамларга таъсир қилмайди)дап ажратиб олинган токсин гени киритилади. Токсинни синтез қиладиган ўсимликлар айрим зараркундаларга нисбатан чидамли бўлади. Буларнинг бари далаларда пестицидларни ишлатишни ва атроф-муҳит ифлосланишини камайтиради.

2. Озиқ-овқат маҳсулотларини сифатини яхшилаш. Маълумки, кишлоқ хўжалиги экинларининг ҳаммасининг таркибида ҳам алмашмайдиган аминокислоталар ва витаминлар етарли миқдорда бўлмайди. Буларнинг урнини тўлдириш учун усимликларга витамин ёки аминокислоталарни синтезлайдиган генлар киритилади. Ҳозирда таркибида карагиноид кўп бўлган трансген гуруч ва оксилга бой соя усимлиги олинган.

3. Товар сифатини яхшилаш. Гулларга пигмент синтезловчи генлар киритилиб ажойиб рангли гуллар ёки оксилларни флуоресценцияловчи генларни киритиб қоронғуда нур берувчи декоратив усимликлар олинган.

4. Гербицидларга чидамли усимликларни яратиш.

5. Усимликларнинг чидамлилигини ошириш. Маълумки, айрим балик ва хашоротлар гидрофил оксиллар ажратади. Бу оксиллар гени иссиқсевар усимликларни совуққа чидамли қилиш учун уларга киритилади.

13-МАВЗУ. МАРКЕРЛАРГА АСОСЛАНГАН СЕЛЕКЦИЯ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ

1.1. ДНК маркерларининг турлари

ДНК маркерлари ўзининг юқори информативлиги, спецификлиги, полиморфиклиги ва фойдаланиш қулайлиги сабабли молекуляр-генетик тадқиқотларда мустаҳкам урин эгаллаб келмоқда. Қуйида уларнинг баъзилари ҳақида мисоллар келтирилган.

RFLP – Restricted Fragment Length Polymorphism (Бўлакланган Фрагментлар Узунликлари Полиморфизми - БФУП). RFLP таҳлили илк бор Жеффрис томонидан 1985 йил олиб борилган [34].

Бу усулда рестриктазалар ДНКни махсус участкаларда, одатда палиндром кетма-кетликларда парчалайди. Мутация натижасида шундай кетма-кетликларнинг асосларидан бири ўзгариб қолган бўлса бу участкалар рестриктазалар ёрдамида парчаланмайди. Аксинча мутация натижасида рестриктазаларга чидамли бўлган

бошқа янги участкалар пайдо булиши мумкин. Холбуки гипервариабел участкалар геномнинг транспозиция, нотенг рекомбинациялар ва ДНК-полимераза комплексининг "сирғалиши" каби анчайин мураккаб таркиб топишидан келиб чиққан. Натижада эса икки генетик ноухшаш индивидлардан келиб чиққан бир-бирига мос келувчи ДНК фрагментлари тез-тез ҳар хил узунликда рестрикция фрагментларни юзага келтиради. Бу маркер тизимининг бир қанча камчиликлари мавжуд, жумладан юкори меҳнат, қимматлилиги шунингдек ирсийланишнинг доминант куриниши (гетерозигота генотипини аниқлаш имконияти йук).

RAPD маркерлари (Random Amplified Polymorphic DNA - Тасодифий Амплификацияланган ДНКлар Полиморфизми) ПЗРга (Полимераза Занжир Рсакцияси) асосланган булиб, усулнинг асосий моҳияти ДНК регионларининг қисқа (10 нуклеотидгача) эркин олигонуклеотидлар томонидан тасодифий амплификация-ланиши билан белгиланади. Праймерларнинг керакли участкаларга бориб (гибридизация) жуда юмшоқ шароитда амалга оширилади. RAPD праймерлари ДНКнинг узига комплекситар булган участкаси билан боғланади ва амплификация иккала занжирда икки йуналиш буйлаб амалга ошади. Праймерланиш уртача ҳолда ҳар бир миллион жуфт асосга бир марта тўғри келади [36]. Битта праймер тегишли тур ёки индивидуум ДНК ухшаш учаскасига боғлиқ ҳолда бир неча ПЗР маҳсулотлари бериши мумкин. RAPD маркерлари одатда популяциянинг генетик структурасини урганишда ёки генетик карталантиришда фойдаланилиши мумкин.

RAPD-маркерлари бошқа тип маркерларига нисбатан анча арзон, содда ва қулайлиги билан ажралиб туради. Бу усулда радиоактив моддалар ишлатилмайди, пробаларни тайёрлаш учун маҳсус таёргарлик талаб қилинмайди ва ҳаттоқа ДНК кетма-кетлигини ҳам олдиндан билиш шарт эмас. Бироқ бу маркерлардаги камчилик уларнинг доминатлигида ва бу гетерозигота ни гомозиготадан фарқлаида ва бунинг натижасида эса аллеллар частотасини аниқлашда анча қийинчиликлар келтириб чиқаради.

AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism (Амплификацияланган Фрагмент Узунлиги Полиморфизми). Бу усул амплификация ва рестрикция этапларидан ташкил топган бўлиб энг аввало геном ДНКси рестриктазалар набори (одатда, икки 4 ва 6 нуклеотидлар кетма-кетлигини ташкилдиган рестриктазалар жуфтлиги) билан ишланади. Ҳосил булган фрагментларга адаптерлар уланади. Сунгра адаптер праймерлари ёрдамида амплификацияланади ва ундан кейин эса 3' учиди рестрикция сайига тегишли булган уч эркин нуклеотид тутувчи адаптер кетма-кетлигига мос праймерлар ёрдамида селектив амплификация утказилади. Триплетлар амплификацияни рестрикцион фрагментларнинг баъзи қисмлари билан таъминлайди. Бу усул ёрдамида нуклеотид кетма-кетлигини билмасдан туриб ҳам катта миқдордаги SNPларни таҳлил қилиш мумкин [70]. AFLP маркерларини қўллаб Генетика ва УЭБ институтутида [19] бир неча ўзбек навларининг молекуляр-генетик паспорти яратилган.

Микросателлитлар ёки SSR (SSR – Simple Sequence Repeat – Оддий такрорланувчи кетма-кетликлар). SSR маркерлари узининг юқори полиморфлиги билан бошқа маркерлардан ажралиб туради. Микросателлитлар ҳаттоки яқин қариндош булган индивидуумлар локусарида ҳам юқори полиморфизм намойиш этади. [20]. Микросателлит кетма-кетликлари одатда динуклеотид (AC)_n, (AG)_n, (AT)_n; тринуклеотид (CGG)_n, (GCC)_n, (TCT)_n, (TTG)_n; тетра нуклеотид (TATG)_n ва ҳ-о бўлиб, “n” – микросателлит локуслар ичидаги кетма-кетликликлари такрорларининг миқдорини билдиради. Ўсимликларда энг кўп учрайдиган микросателлит такрорлар (AT)_n, хайвонларда эса (AC)_n эканлиги олимлар томонидан қайд этилган [21], [22] и (GT)_n [60]. Микросателлитлар генлар экспрессияси регуляциясида, рекомбинциясида, ген конверсиясида ва жипсинг аниқланишида иштирок этиши тахмин қилинади.

Баъзи олимларнинг таъкидлашича микросателлитларнинг юқори стабиллиги сабаб уларни генетик маркерлашда, популяцион тадқиқотларда ва ҳаттоки геном дактилоскопияси усулидан

фойдаланиб шахсинг идентификациясида ишлатилиши мумкин [24], [31]. Микросателлит маркерлардан фойдаланиб тадқиқотчи ва олимлар томонидан бир қанча илмий тадқиқотлар олиб борилган. Хусусан геномни карталаштириш, усимликларда қимматли хужалик белгиларга жавоб берувчи QTL локусларини аниқлаш, турларнинг бир-бирлари билан филогенетик кардошлигини аниқлаш каби ишлар бунга мисол була олади. Мамлақтимиз олимлари томонидан ҳам ушбу маркерлар тизимидан фойдаланиб бир қанча халқаро даражадаги тадқиқотлар амалга оширилган. Жумладан гўзанинг табиий ҳолдаги барг тукиши, тола чикими, сифат курсаткичлари, фотопериодик гуллаш каби белгилари SSR маркерлари томонидан тадқиқ қилинган [6].

CAPs - (Cleaved Amplified Polymorphism - Парчаланган Ампликонлар Полиморфизми) ва dCAP (ишлаб чиқилган CAP). Полиморфик рестрикция сайтини RFLP усули билан аниқлаш керакли фрагментни ва парчалаш учун унга мос келадиган фермент томонидан ПЦР-амплификациясида амалга оширилади. CAP маркерлари ген-специфик маркерлар ҳисобланиб керакли ген амплификация маҳсулотида мавжуд битта нуклеотид полиморфизмига асосланган. Энг аввал урганилаётган белги учун жавоб берувчи жавоб берувчи ген клонланади ва сиквенс қилинади. Ундан сўнг кетма-кетлиги аниқланган участка интернет маълумотлар базасида мавжуд SNPra ва ушбу SNP рестрикция сайтини аниқлаш учун тешириб қурилади. Назарий томондан ёввойи тип ёки мутант кетма-кетлиги SNP туфайли эндонуклеазаларга таъсирчанлиги билан фарқланиши ва шу сабабли специфик эндонуклеазалар (рестриктазалар) томонидан парчаланиши (кесилиши) мумкин. Агарда SNP мавжуд рестриктазалар билан кесиладиган бўлса маркер яратиш мумкин [35] Аксинча рестрикция сайти маҳсулотда мавжуд бўлмаса у ҳолда SNP ёнига сунъий равишда рестрикция сайти киритилади ва бу dCAP деб аталади [53]. Гарчи биров камчиликлари бўлсада, ўзининг оддийлиги ва ишончлилиги билан бу метод анча кенг тарқалган ва оммабопдир. Унинг камчиликларидан бири рестрикция сайтларида фақат

STS – (Sequence Tagged Site – сиквенс килинган сайтлар). STS – бу ДНКнинг калта (200-500 ж.а.), ноёб кетма-кетликларидир. STS кетма-кетликлари генетик полиморфизмни топиш йўлида ишлатиладиган фрагментлар рестрикцияси, ДНК фрагментларининг, зондларнинг клонланиши каби анализларда фойдаланилади. [31].

1.2. ДНК маркерлари ёрдамида гўзанинг кимматли хўжалик белгиларини молекуляр-генетик карталаштириш

Хромосомаларнинг генетик харитаси деб муайян хромосомада бириктиш гуруҳидаги бириккан генларнинг маълум тартибда ва бир бирдан муайян масофада жойлашганлигини ҳамда генларнинг номларини ифодаловчи символлар акс еттирган схемага айтилади. Генлар хромосомада маълум тартибда чизик бўйлаб жойлашганлиги сабабли кросинговер частотаси бу генлар орасидаги масофани кўрсатади. Шунинг учун олинган далилларга асосланиб, геннинг хромосомада жойлашган ўрнини аниқлаш мумкин. Биринчи бўлиб генетик бирикканлик харитани Стуртэвент (1913) томонидан тузилган бўлиб, бу генетик олимларда генларни аниқлаш ва уларни генетик хариталарга жойлаштириш қизиқишини уйғотди. Бошланғич давр давомида олимлар эътибори ирсийланишни алоҳида шаклини кўрсатувчи морфологик белгиларда эди. Бирок тиббиёт, қишлоқ-хўжалик ва ҳайвонларни тадқиқ қилувчи олимларга қизиқарли бўлган белгиларнинг кўпчилиги доим ўзгариб туришини кўрсатади. Бундай белгилар миқдорий белгилар деб номланади. Кўп омилли ёки полиген хусусиятли мураккаб белгиларнинг ирсийланишини тушуниш билан биолог олимлар бундай белгиларни урганиш қийинчилигини англаб етди. Биринчи бўлиб Карл Сакс (1923) морфологик маркерлар билан миқдорий белгиларни бирлаштирди. Гелдерман (1975) миқдорий белгилар локуси атамасини ўйлаб топди ва бу “миқдорий белгилар таъсири билан бириккан геномнинг бир булагидир” деган маънони англади. Морфологик белгиларни узидан фойдаланиб, юқори даражада генотип, атроф-муҳит ва эпистатик ўзаро таъсирларни намоён қиладиган бундай локусларни аниқлаш жуда қийин, морфологик

белгилар тулик геномнинг атиги 5% ни ташкил қилади, бундан ташқари экспрессияда босқичга боғлиқ ҳисобланади. 1953 йилда Уотсон ва Крик томонидан ДНК структураси кашф қилингандан сўнг молекуляр биология соҳасида қатор кашфиётлар, жумладан, генлар ва генетик хариталар тузилишига олиб келди. Янги ДНКга асосланган маркерлар: RFLP, RAPD, AFLP, SSR ва SNP каби маркерлар генетик бирикканлик анализларини ва қўшича QTL тадқиқотларини олиб боришда фойдаланилди. Дастлаб миқдорий белгилар локусларини (МБЛ/QTL) урганишда F_2 авлод ва бэккросс (BC) популяциялардан кенг фойдаланилган. Бироқ, бундай популяцияларнинг генетик қурилиши ўзига хос гетерозиготалик табиатига эга бўлганлиги учун QTL карталаштиришда ноқулайлик қилади. Бу QTL анализларда улардан кенг фойдаланишга тўсиқлик қилади. Бу тўсиқларни бартараф этиш учун бугунги кунда биологлар рекомбинант инбред линиялар (RILs), бэккросс инбред линиялар (BILs) қўш гаплоидли линиялардан (DH) кенг фойдаланиб келмоқдалар [64]. Бу манбаалар орасидан бир-биридан фарқ қилувчи икки хил гомозиготали ўсимликларни дурагайлашувидан олинган F_2 авлод индивидларининг ягона уруғини такрорий қўпайтиришдан олинган рекомбинант инбред линиялар (RILs/*RIL*) QTL анализларда энг кўп фойдаланилади [39], [41].

Генларнинг хромосомада жойлашган ўрнини яъни локусларини аниқлашдан олдин мазкур ген қайси хромосомада жойлашганлигини аниқлаш лозим. Битта хромосомада жойлашган ва бириккан ҳолда ирсийланадиган генлар бирикиш гуруҳларини ҳосил қилади Бирикиш гуруҳларининг сони ҳар бир турнинг гаплоид сондаги хромосомалар тўпламининг сонига тенг бўлиши керак. Ҳамма гаплоид сондаги хромосомалар бирикиш гуруҳларининг тартиб рақамлари билан белгиланади.

Генетик харита тузиш учун даставвал ҳар қайси хромосома энг камида битта ген билан маркерланган бўлиши керак. Генетик харита тузиш учун кўп сондаги генларнинг ирсийланиш қонуниятларини тадқиқ қилиш керак.

Селекция ёки карталаштириш лойиҳалари учун маркерлар тизимининг афзалликларига эътибор қаратган ҳолда мос келувчи тизимни танлаб олиш зарур. Микдорий ва сифат белгиларини карталаштириш белгиларни бир индивиддан иккинчи индивидга интрогрессия қилиш, гермоплазмани таҳлил қилиш каби тадқиқотлар турли хил услубий ёндашувни (турли маркерлар тизими қўлланилишини) талаб этади. Тадқиқот учун маркерлар тизимининг қўлланилиши ва унинг самара бериши уларнинг икки хил хусусияти билан баҳоланади: биринчиси, маркернинг популяциядаги индивидуумлар ўртасидаги тафовутни намоён қила олиши; иккинчиси, геномдаги маркер частотаси (яъни битта реакцияда маркер томонидан бирваракайига нечта локус таҳлил қилиниши мумкин). SSR маркерлари қолган маркерларга нисбатан юқори гетерозиготалиги сабабли бу тизим индивидуумлар ўртасидаги тафовутни аниқлаш каби мақсадлар учун кенг қўлланилади ва бирмунча самарадор маркер тизими ҳисобланади [4].

Бугунги кунда молекуляр маркерлар технологияси геноми мураккаб ҳисобланувчи ғўза ва шунга ўхшаш бошқа ўсимликлар генетик хариталарини тузишда асосий усуллардан ҳисобланади. Генетик хариталар тайёр сиквенслар билан физик хариталар тузишда ҳамда генларни позицион клонлашда муҳим урин тутади ва натижада эса бутун геном сиквенс қилинади. Ғўзанинг тетраплоид (AADD) $2n = 4x = 52$ хромосома наборига эга бўлиб геномининг улчами тахминан 2200-3000 Мб (миллион жуфт асос) ва у умумий ҳисобда 5200 сМ, ўртача эса 400kb сантиморганга тенг келувчи 26 хромосомларда жойлашган. Бундай улкан геном учун қидириладиган генга яқин турувчи маркерлардан иборат бўлган харита яратишда кўп миқдорда ДНК маркерлари талаб этилади. Бу эса ҳар 1 сМ ни қоплаш учун қарийиб 3000 маркер талаб этилади [55]. Бирок ғўзада бошқа ўсимлик турилари жумладан; шоли [65], помидор [26], соя, жавдар ва бугдой [62] кабиларга нисбатан белгилар билан бириккан маркерлар жуда ҳам камчиликни ташкил этади. RFLP маркерлари ғўза геном ДНК-маркерларини идентификациялашда ва полиморфизми характеристикациялашда

“бошланғич нукта” булган. Reinisch et al. (1994) 705 RFLP маркерларидан фойдаланиб *G. hirsutum* “palmeri” ҳамда *G. barbadense* K101 линияси билан туричи чатиштириш натижасида олинган 57 та F₂ авлод дурагайларида 41та бирикканлик гуруҳини ташкил этувчи харита яратди. Шунингдек бошқа олимлар томонидан ҳам RFLP маркерлари ёрдамида бир нечта генетик хариталар яратилган [67].

Ҳозирги кунда тадқиқотчилар томонидан кишлок хўжалик экинларининг қимматли агрономик белгиларини карталаштириш учун турли хил ДНК маркерларидан фойдаланилмоқда. Zhang ва бошқ. генетик бирикканлик харитаси яратишда соянинг (*Glycine max* L. Merr.) 184та рекомбинант инбред линияларини таҳлил қилишди [37]. Бу тадқиқотчилар гуруҳи 452та RFLP, SSR ва EST SSR маркерлари ёрдамида соя геномидаги 3595.9 сМ қамраб олувчи 21та бирикканлик гуруҳини яратишди. Протсин ва мойлилик даражаси, пишшиш даври ва ўсимлик баландлиги каби 9та қимматли хўжалик белгиларининг 63та миқдорий белгилар локуслари - QTLни (LOD>3) булганда аниқлашган. Маълум бўлишичи бу локусларнинг ҳар бири камида 5та фенотипик белгига таъсир қилиб ушбу QTLларнинг плейотроп эффеқтини намоён этган.

Bronani ва бошқ. [2002] 157та микросателлит маркерларга асосланган молекуляр харита ёртамида шолининг (*Oryza sativa*) 11та агрономик белгиларини урганиб чиқишган. Белгиларнинг 14.5 – 72.9% фенотипик вариациясига жавоб берувчи маркер регионлар шолининг 12та хромосомасидан 9тасида жойлашганлиги аниқланган.

Mokrani ва бошқ. [2002] кунгабоқарнинг (*Helianthus annuus* L.) икки инбред линиясини чатиштириб яратилган F₃ авлод дурагайларида QTL локусларини урганиш бўйича тадқиқотлар олиб борди. Тадқиқот ишларида олимлар ота-она ҳамда F₃ авлод ўсимликларини 276 AFLP ва микросателлит маркерлари билан таҳлил қилишиб 170та маркердан иборат бирикканлик гуруҳларини яратишди. Умумий уруғ сони, ёғлилик даражаси, гуллаш вақти каби белкилари таҳлили қилиниб, ҳар бир QTLнинг фенотипик

узгарувчанлик фоизи 2.6% дан 70.9% гачани ташкил қилганлиги қайд этилган [51].

Ўза усимлигида ҳам олимлар томонидан QTL карталаштириш бўйича бир қатор илмий тадқиқот ишлари олиб борилган. Бундай ишларга тола чикими, сифати каби муҳим агрономик белгилар устида олиб борилган илмий изланишлар яққол мисол бўла олади. АКШлик олим Уллоа NM2401 ва ТМ1 линияларини чапиштириб олинган F_2 авод дурагайлари устида олиб борган тадқиқотлари натижасида ўза геномининг 1058сМ масофасини камраб олувчи 28та бирикканлик гуруҳини ўзида мужассам этган генетик харита яратган. Мазкур харитада F_3 авлод индивидларидан олинган маълумотлардан ҳам фойдаланилган ва шу асосда харитада 7та QTL топилган. Шундан иккитаси 7 ва 25 бирикканлик гуруҳларида жойлашган бўлиб тола узунлигига жавоб берувчи QTLлар ва улар ушбу белгининг 19% вариациясини тамоён этган. Иккита QTL тола ингичкалигига тегишли бўлиб 22% вариацияни ташкил этган бўлса бор йўғи биттагина QTL тола мустақамлигига бириккан қарийиб 6% вариацияни ташкил қилганлиги аниқланган [66].

Хитойлик тадқиқотчилар томонидан ҳам тола сифати ва пишиқлиги белгиларига бириккан QTL топиш мақсадида илмий изланишлар олиб борилган [30]. Генетик тахлиллар ва молекуляр карталаштиришга асосланиб тола сифат анча юқори бўлган 7235 Upland (*Gossypium hirsutum* L.) гермоплазма линиясида асосий тола пишиқлиги QTL аниқланган. Ушбу тадқиқот ишларида олиб борилган илмий изланишлар натижаларига кўра иккита SSR ва олгита RAPD маркерлари QTL билан бириккан.

Толаси жуда калталиги билан ажралиб турувчи *Ligon lintless* (Li_1) моносомик доминант ўза мутанти ТМ-1 нави билан SSR маркерлари ёрдамида таққосланди. Мутант фенотибли Li_1 билан бириккан маркерлар ($LOD \geq 3.0$ га тенг бўлганда) ва уларнинг қайси хромосома жойлашганлиги аниқланган [40].

Шунингдек, Кохелнинг ТМ-1 (*G. hirsutum*) линияни 3-79 (*G. barbadense*) қуш-гаплоидли линия билан турлараро чапиштириш натижасида яратилган популяция устида олиб борган

тадқиқотларида тола ингичкалигига бириккан 13 RFLP ва RAPD маркерларини аниқлашган (Kohel R. et al. 2001).

Илмий манбаларда фақат фотопериодизмнинг молекуляр асосини урганишда қилинган уринишлар ҳақида баъзи маълумотлар келтирилган. Жумладан, иккита *G.hirsutum* L. турининг фотопериодик-узгартирилган линиялари ва туккизта маданий навлар улар уртасидаги генетик масофани аниқлаш мақсадида урганилган [28]. Gutierrez va бошқ., (2002) маълумотларига кура SSRs маркерлардан фойдаланиб аниқланган бу навлар ва фотопериодик-узгартирилган линиялар уртасидаги генетик масофа 0.26 дан 0.34 гача эканлиги курсатилган. Генетик масофанинг энг юқори курсаткичи ($GD=0.34$) АКШнинг ST474 ғуза нави ва *G.hirsutum* L. примитив турининг фотопериодик-узгартирилган линиялари уртасида аниқланган бўлса, энг кичик генетик масофа эса ($GD=0.06$) Австралиянинг икки ғуза нави уртасида кузатилган. *G.hirsutum* L. примитив турининг фотопериодик-узгартирилган линиялари генетик хилма-хиллигини SSRs маркерлари ёрдамида урганган ҳолда Liu va бошқ., (2000) фотопериодик-узгартирилган материал ва стандарт ғуза нави TM1 уртасида юқори генетик ухшашликни (>0.75) топишган. [46]

Бу борада мамлакатимиз олимлари томонидан ҳам бир қанча муваффақиятларга эришилган. Генетика ва УЭБ институти Геном Технологиялари Маркази олимлари томонидан тола чикими, сифати (узунлиги, пишиқлиги) каби ғузанинг қимматли хужалик белгиларини тадқиқ қилиб мамлакат иктисодиётини яхшилашда қолаверса дунё микёсда юксак натижаларга эришиб келинмоқда. Абдурахмонов ва бошқ. [2001] томонидан фитоҳром A (PHYA) генига специфик бўлган CAP маркерларидан фойдаланиб ғузада тола узунлиги QTLини ($LOD>4.0$) аниқлашган. Бошқа тадқиқотларда индуцирланган мутагенез оқибатида фотопериодик гуллаш хусусияти узгартирилган мутант линияларнинг бошланғич манбадан геноми қанчалик даражада узгарганлиги (генетик масофаси) ҳамда филогенетик дивергенциясинини баҳолашда 40та полиморфик SSR дан фойдаланилган [7]. Уртача ҳисобда юқоридаги

40 SSR 141та локусни амплификациялаган. Ғузанинг барча урганилган генотиплари уртасида 141 информатив аллеллар асосида аниқланган генетик масофа 0.09 дан 0.60 гачани ташкил этган. Фотопериодизми ўзгартирилган мутантлар ва уларнинг бошланғич намуналари уртасидаги генетик масофа 0.29 дан 0.50 гачани ташкил қилган. *G.barbadense* ssp.darwinii ва унинг фотопериодизм ўзгартирилган мутантлари уртасида генетик масофа 0.50 ни ташкил этиб, радиоактив мутация натижасида юз берган генетик дивергенциянинг бирмунча юкорилигини кўрсатган. Шунингдек, геномнинг генотипланган регионлари бўйлаб 29 % ўзгариш юз берганлигидан далолат берувчи *G.hirsutum* ssp.purpurascens var.el-salvador ва унинг мутанти уртасидаги генетик масофа ҳам сезиларли даражада (ГМ=0.29) эканлиги маълум бўлган.

Шунингдек EST-SSR маркерларидан фойдаланиб тола ривожланиши инициацияси билан боғлиқ QTL регионлари аниқланган [18],[25] Бундан ташқари SSR маркерларидан фойдаланиб табиий барг тўкилиши каби ғузанинг ноёб хусусияти билан ассоциацияланган QTL аниқланган [42]. Илк бор дунёда биринчи марта Абдурахмонов И. бошчилигида ғуза гермоплазмасининг мингта яқин нав ва нав намуналаридан фойдаланиб ғузада нотенг бирикканликни карталаштириш амалга оширилган.

1.3. Маркерларга асосланган селекция (МАС) усулининг Ўзбекистон ғуза селекциясидаги тадбиқи

Ғузанинг хужалик қимматли бўлган белгиларига асосан хосилдорлик, эртапишарлик, зараркунанда ва касалликларга чидамлилиқ, толанинг технологик кўрсаткичлари (тола узунлиги, ингичкалиги, пишиқлиги, эластиклиги, буралувчанлиги, узилиш узунлиги, микронейр, тола чикими), чигитни сермой бўлишлиги каби белгилар киради. Бу илмий тадқиқот иши ғуза толаси сифат белгилари яхшилаш бўлганлиги учун қуйда уларбилан қисқача танишамиз.

Толанинг узунлиги. Маданий ғузаларда толанинг узунлиги 18—20 мм дан 45—50, ҳатто 55—60 мм гача бўлади. *G.barbadense*

тур ғуза формаларига мансуб Си-Айленд ғузасининг пахта толаси енг узун булади. Бундан кейин еса толасининг узунлиги жихатдан ғузанинг маданий турлари куйидаги тартибда боради: урта толали (*G. hirsutum*), Африка-Осиё ғузаси (*G. herbaceum*), Ҳинди-Хитой ғузасининг (*G. arboreum*) толаси енг киска булади. Республикамиз навларда цахта толасининг узунлиги 30—33 мм, баъзиларида бундан кўра узунрок, ингичка толали ғуза навларида еса 38—40 мм гача боради. Толанинг бошқа хусусиятлари яхши булиши билан бирга, тола анча узун булса, киммати шунча ортади.

Толанинг ингичкалиги. Курук тола диаметри (ени) микрон хисобида белгиланади. Маданий ғуза навларида толанинг диаметри 7—10 микрондан 30 микронгача, кўпинча 15—20 микрон булади. Тола ингичкалигини кўпинча метрик номер билан ифодаланади, метрик номер 1 г толанинг метр хисобидаги ёки 1 мг толанинг миллиметр хисобидаги умумий узунлигини билдиради. Тола анча ингичка булса, унинг метрик номери шунча катта, аксинча тола анча йўгон булса, унинг метрик номери шунча кичик булади. Енг йўгон, дағал толанинг метрик номери 2500, енг ингичка толанинг метрик номери 12000 атрофида булади. Урта толали ғузаларида толанинг метрик номери 5000-5500, ингичка толали ғуза навларида еса 6500-8000, кўпинча 7000-7500 га тенг. Тола қанчалик ингичка булса (тола деворчалари нормал ривожланганда), у шунчалик яхши исобланади.

Толанинг пишиқлиги деб, унинг ўқи буйлаб йўналган узувчи кучга қаршилиқ курсатиш қобилиятига айтилади. Битта толанинг пишиқлиги граммлар билан курсатилади. Битта йетилган толанинг пишиқлик даражаси ғуза навларига қараб хар хил уртача 4-7 г/тексга тенг.

Хозирги урта толали ғуза навларида толанинг пишиқлиги 4-4,9 г гача, кўпинча 4,5-5 г; ингичка толали ғуза навларида еса бироз купрок 4,6—5,2 г, кўпинча 4,6-5,0 г.

Тола пишиқлиги ундаги деворчаларнинг қалинлигига боғлиқ. Шунинг учун клетчага қатламлари тола деворчаларида анча куп булса, яъни тола қанча яхши йетилса, у шунча пишиқ булади. Узундан маълумки, кузги совук тушгунча нормал пишиб очилган

қусакдаги пахта толаси яхши йетилган толага ва қусак пахта толасига караганда пишиқ булади.

Толанинг эластиклиги. Толанинг эластиклиги, яъни чузилувчанлик хусусияти унинг пишиқлиги билан боғлиқ. Ингичка ва пишиқ тола ҳамма вақт эластик булади. Шунинг учун ингичка толали ғуза турига мансуб ҳамда ингичка толали бошка баъзи бир ғуза формаларининг пахта толаси пишиқ ва эластик булади. Бундай толалардан баъзи техник мақсадларда, масалан, автомобил шиналари учун астар (прокладка) қилишда, парашют қилинадиган газмоллар тайёрлашда фойдаланилади ва хоказо.

Толанинг буралувчанлиги. Толанинг энг муҳим хусусиятларидан яна бири, унинг буралувчанлигидир. Бундай толалардан ип йиғирилганда улар узаро яхши бирикиб, ипнинг пишиқлиги, яъни туқима пишиқлиги ортади. Тола анчалик буралувчан бўлса, у шунчалик яхши ҳисобланади.

Толанинг буралувчанлик даражаси унинг бир миллиметрининг қанчалик буралиши билан белгиланади. Нормал ривожланиб пишган толада буралиш даражаси ғузанинг тур ва навига караб турлича булади. Одатда, тола анча яхши буралса, шунча ингичка булади. Масалан, толаси нисбатан дағал жайдари ғузанинг хар 1 мм толаси тахминан 6—8 марта, уртача ва ингичка толали ғузалариники еса 10—12 марта буралади.

Бунда кейингисиники одатда биринчисиникига караганда бир неча марта, кўп буралган булади.

Толанинг неча марта буралишидан ташқари, бу буралишларнинг тола бўйига бир текисда жойлашинининг ҳам ахамияти катта. Тола қанчалик бир текисда буралса, у шунчалик яхши ҳисобланади.

Толанинг узилиш узунлиги. Толанинг метрик номерини пишиқлик (грамм ҳисобидаги) кўрсаткичига қупайтириб 1000 га тақсим қилинса, узилиш узунлиги келиб чиқади. Толанинг бу ҳилда ҳисоблаб чиқилган узилиш узунлиги назарий жихатдан шундай узунликки, агар толалар бир-бири билан учма-уч уланаверса, у маълум узунликка етганда уз оғирлиги билан узилиб кетади.

Хозирги екилаётган урта толали ғузасининг саноатбоп навлари толасининг узилиш узунлиги одатда 23—25 кмга, ингичка толали ғуза навлари толасининг. узилиш узунлиги еса 33—36 км га, баъзи навларда еса 36—37 км га етади. [2]

Толанинг етилганлиги. Толанинг етилганлиги унинг деворчаларида клетчатка қаватларининг пайдо булиш даражасига қараб аниланади ва буни шартли равишда йетилиш коэффициенти деб аталади. Йетилиш коэффициентини аниқлаш учун 250 дона пахта толаси микроскоп остига қуйилиб, поляроид (ИТ-2) деб аталадиган махсус мослама билан махсус ишланган тола йетилиш шкаласига солиштирилади, Шкалада толанинг етилганлиги 0 дан 5 гача 0,5 бирликда 11 даража (градация) га булиб кўрсатилган. Шкаладаги 0 коэффициентини улик толани, 5 коэффициентини ута йетилган, яъни деворчалари жуда қалинлашиб кетиши натижасида буралувчанлиги булмаган толани кўрсатади. Деворчалари нормал ривожланиб, буралувчанлиги бир текисда яхши йетилган тола йетилиш коэффициентини шкаласида 2—2,5 рақами билан кўрсатилади. [1]

Толанинг чиқими. Толанинг чиқиши маълум миқдордаги (чигитли пахта массасидан олинган соф (чигитсиз) тола массасининг шу тола олинган чигитли пахта миқдorigа булган % ҳисобидаги нисбатидир. Бинобарин, толанинг чиқиши бир томондан соф толанинг массасига боғлиқ булса, иккинчи томондан чигит массасига (подпушкаси билан бирга), чигит массаси унинг пуч ёки тулиғ ва йириклигига боғлиқ.

Чигит юзасидаги толаларнинг сони турли ғуза формалари доирасида бир-биридан кескин даражада фарқ қилиши билан бирга, битта турга мансуб бир неча нав доирасида ҳам турличадир. Масалан, ғуза турларида чигит сиртида 7 мингдан 15 мингтагача тола булади).

Маданий ғуза формаларида толанинг чиқиши 20 дан 50 фоиз атрофида ўзгариб туради. Ишлаб чиқариш амалиётида тола чиқиш ҳажмини уч категорияга булиш қабул қилинган: тола чиқиши 30 фоиздан кам булса паст, 30—33 фоиз булса уртача ва 33 фоиздан

юкори булса юкори деб ҳисобланади. Бундай уч категорияга булиш шартли равишда қилинган, лекин селекцияда еришилган ютуқлар ва саноатнинг талабига қараб у ўзгариши мумкин. Лаборатория шароитида ҳар бир чигитли пахта партиясидан тола чиқиши шу партия намунаси 10 аррали жинда ишлаб чиқиб топилади. [2]

Микронейр. Бу ғуза толасининг технологик курсаткичлари ичида ил-йигирув ва туқимачилик саноатида муҳим урин егаллаб, микронейр асбобларда, маълум вазили тола орқали ўтадиган ҳаво оқими босимининг пасайиши билан аниқланадиган курсаткичдир. У толанинг чизикли зичлиги билан узаро боғлиқ микрограммнинг дюмга нисбатини ифодалайди, лекин турли селекция навлари учун турлича бўлади. Тахминий чизикли зичликни олиш учун микронейр курсаткичини 39,37 гс га қупайтириш керак, лекин ҳақиқий қийматга туғри келишига қафолат бермайди. Урта толали ғуза навлари учун курсаткич конда бўйича 2,0 дан 6,5 гача интервалда бўлади. Асосий интервал 3,5 дан 4,9 гача ҳисобланади. Бу қийматлардан паст ёки юкори курсаткичларда фарқ қилиш даражасига қараб нархи ўзгартирилади. Микронейр қийматларини қуйидаги гуруҳлари қурилади:

2,4 ва ундан паст;

2.5- 2,6; 2.6-2.7-2.9; 3.0-3.2; 3.3-3.4;

3.5-4.9 (асос)

5.0-5.2; 5,3 ва ундан юкори.

Микронейр курсаткичи ошганда ҳам, қамайганда ҳам пахта толасининг нави ўзгармайди.

Республикамизда ғуза усимлигини ҳужалик-қимматли бўлган белгиларини яхшилаш борасида МАС усулини жорий қилинганига ҳали қуп вақт ўтмаган бўлсада бир қанча ютуқларга эришилмоқда.

Тола пишиқлигини яхшилаш мақсадида Д.Ж. Комилов ва бошқалар [2011] тола пишиқлик курсаткичи юкори бўлган 37.9 гк/текс донор нав намунаси (Л-Н1) билан республикамиз маҳаллий нави ҳисобланган тола пишиқлик курсаткичи 29 гк/текс тенг Ан-Боёвут-2 навини чапиштириб F1 авлод олинган ва F1 ни ретсипиент Ан-Боёвут-2 нави билан қайта (бекросс) чапиштирилган. Олинган

BC₁F₁ авлод дурагайларида тола пишқлик кўрсаткичи ўртача 35,1 гк/текс ташкил етди. Бу эса донордаги тола пишқлиги билан боғлиқ маркер локуснинг дурагайларга ўтганлигидан далолат беради. [16].

Тола чузулувчанлигини яхшилашда М.М. Дармонов ва бошқалар [2011] тола чузулувчанлик кўрсаткичи 16.4% юқори бўлган Саенр пена-85 донор нав билан ушбу параметр бўйича кўрсаткичи 8.9 % нисбатан паст белгили маҳаллий нав Андижон-35 чагиштирилди. Олинган F₁ авлодни Андижон-35 билан қайта чагиштирилди ва олинган BC₁F₁ авлодни тола эластиклигига жовоб берувчи ДНК маркери БНЛ 3650 билан ПЗР қилиб текшириб 45 та шу белгили ўсимлик олган. Бу кўрсаткич бўйича ўртача натижа 11.8 % (мак.13.8 – мин. 10.4) ни ташкил қилган. [9].

Махкамов А.Х. [2011] тола пишқлиги 29.2 гк/текс ва эластиклиги 8.9% тенг маҳаллий Андижон-35 навида шу кўрсаткичларни яхшилаш мақсадида Л-141 тола пишқлиги юқори 37.9 гк/текс ва эластиклиги 9.8% ҳамда Саенр пена-85 тола эластиклиги юқори 16.4% ва пишқлиги 31.7 гк/текс тенг бўлган тизмаларидан донор сифатида фойдаланган. Бу икки донор тизмани ретсипент Андижон-35 билан чагиштириб F₁ авлодни олган ва F₁xF₁ авлодларини чагиштириб дурагай ўсимликлар олинган. Бу дурагайлар Андижон-35 билан қайта чагиштирилиб олинган дурагайлар шу тола кўрсаткичларига жовоб берувчи ДНК маркерлари БНЛ 1122 ва БНЛ 3650 билан ПЗР қилиниб текширган. Олинган 28 та BC₁F₁ авлодларда тола пишқлиги ўртача 35.3 гк/текс ва эластиклиги 11% тенг бўлган. [12].

Дармонов М.М. ва бошқалар [2012] тола пишқлиги 29.2 гк/текс тенг маҳаллий Андижон-35 навида бу кўрсаткични ошириш мақсадида юқори тола пишқлиги билан генетик боғланган ДНК маркерларини тутган Л-141 линияси билан қайта чагиштириб 120 та BC₃F₁ авлодларини олган. Уларни тола пишқлигига жавоб берувчи БНЛ 1604 ДНК маркерлари билан ПЗР усули ёрдамида текширган ва ўсимликларнинг 46 таси донор тизма аллелини, 57 таси ота она аллеларини, 17 таси фақат ретсипент аллелларини тутганлигини аниқлаган. [10].

Махкамов А. Х. ва бошқалар [2012] гузада тола пишиклиги ва микронейри курсаткичини ошириш мақсадида МАС технологиясининг пирамидалаш усулидан фойдаланиб тола сифат белгиларидан тола микронейри ва пишиклиги юкори бўлган икки хил донор гуза нав намуналари (КК-1795 ва Л-141) билан генетик полиморф бўлган ва тола сифати юкори бўлмаган маҳаллий АнБ-2 гуза навини танлаб олиб, узаро чатиштирди. Улардан олинган икки хил F1(АнБ-2xКК-1795) ва F1(АнБ-2xЛ-141) дурагайлари бир-бири билан чатиштирилиши орали икки хил қимматли ххужалик белгиларга ега бўлган мураккаб F1[F1(АнБ-2 x КК-1795) x F1(АнБ-2 x Л-141)] дурагайлари олди ва уларни АнБ-2 билан бекросс қилиниб 96 та BC1F1 усимликларини олган. Нихоллардан геном ДНК лари ажратиб, толанинг микронейр ва пишиклиги белгиларига генетик боғланган ДНК маркерлари (11АУ2277, БНЛ1604) билан ПЗР усули ёрдамида текширди. ПЗР тахлилига кура усимликларининг 20 таси (21%) ҳам тола микронейри ҳам тола пишиклиги аллелларини тутган бўлса, 44 та (46%) усимликларда еса икки аллелдан бирининг мавжуд эканлиги маълум бўлди. Қолган 32 та (33%) усимликларда мазкур белгилар бўйича ҳеч қандай аллелларга ега бўлмаганлиги ва 100 % ретсипиент АнБ-2 гуза нави билан ўхшаш эканлигини аниқлаган. [13].

Махкамов А. Х. ва бошқалар [2013] гузада тола пишиклиги ва елонгатсия курсаткичини ошириш мақсадида МАС тенологиясининг пирамидалаш усулидан фойдаланиб мураккаб дурагайланиш йули орқали F1(Андижон-35xЛ-141)xF1(Андижон-35xСаснр пена-85) авлодларини олди ва донор линияларга ҳос бўлган тола сифатларининг маркер белгиларидан ташқари бошқа салбий белгилардан холи бўлиш мақсадида Андижон-35 нави билан бекросс ишларини олиб борди. Олинган BC1F1 дурагайлари нинг ниҳоллик даврида ажратиб олинган геном ДНКлари ўрганилаётган тола пишиклиги ва елонгатсия белгиларига генетик боғланган БНЛ1604 ҳамда БНЛ3545 маркерлари билан ПЗР усули ёрдамида скрининг қилди. Олинган талил натижалари кура 135 та дурагайдан 38 таси ижобий натижага ега бўлган. Тола сифат курсаткичлари

ретсипиент Андижон-35 навиянинг тола пишиклиги ўртача 32.1гр/текс ва елонгатсия 8.1%, донор Л-141 линияда тола пишиклиги 39.3гр/текс, елонгатсия 8.6% ҳамда Саенр пена-85 донор линияда тола пишиклиги ўртача 28.4гр/текс, елонгатсияси 10.9% га тенг бўлганда 38 та BC2F1 ўсимликларида еса ўртача тола пишиклиги 32.9гр/текс (мак./мин. 36.2-28.3гр/текс) ва елонгатсияси 9.2%га (мак./мин. 10.5-6.6%) тенг бўлган. [14].

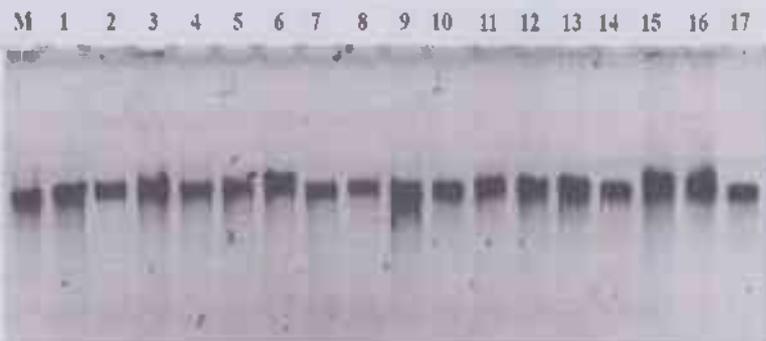
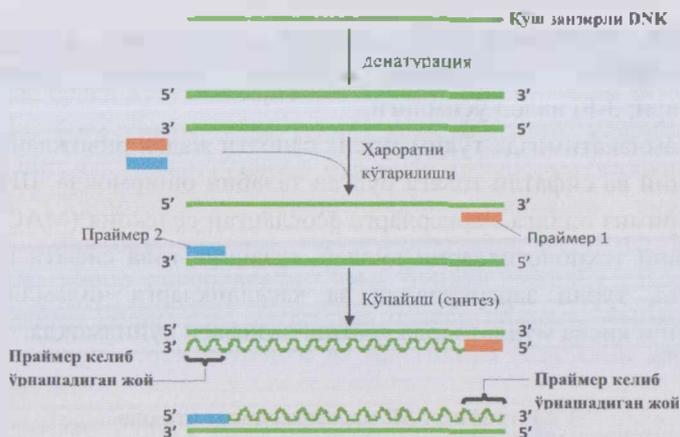
Тола сифати юкори, серхосил, курғоқчиликка, турли хил касалликларга ва ташки мухитнинг ноқулай шароитларига чидамли бўлган ўзанинг янги навларини яратиш бугунги кунда долзарб ҳисобланади. Замонавий молекуляр маркерлар технологияси амалий ўсимликлар селекциясида муҳим агрономик белгилар билан алоқадор бўлган микдорий белгилар локусларини (QTL) карталаштириш, генетик ўзгарувчанликни аниқлаш, тавсифлаш ва манипуляция қилишни осонлаштиргани орқали ўзининг фойдали эканлигини кўрсатди. Утган йишлар давомида бир неча хил янги авлод молекуляр маркерларни яратилиши, ўсимликлар геномини кенг камраб олган генетик бириккан хариталарни тузишга олиб келди. Бу генетик хариталар селекционерларга хужалик учун кимматли бўлган белгиларга генетик боғланган маркерларни аниқлаш ва уларни маркерларга асосланган селекция (МАС) дастурида фойдаланиш имкониятини яратди. Ёза селекциясида молекуляр маркерлардан фойдаланишнинг асосий сабабларидан бири уларнинг 100% ирсийланиши ва иқтисодий тежамкорлигидадир. Шунинг учун ёза гермплазмасидан фойдаланиб ирсийланиши паст бўлган белгиларни танлаш, мураккаб бўлган тола хосилдорлиги ва сифат белгиларини аниқлаш ҳамда уларни МАС дастури орқали элита навларга интрогрессия қилишда молекуляр маркерлар кенг қулланилмоқда. ДНК маркерларидан фойдаланиб кимматли хужалик белгиларга алоқадор QTL локусларини аниқлаш ўсимликлар селекциясида полиген хусусиятга эга бўлган мураккаб белгиларни тавсифлашга катта ҳисса қушади. Утган асрдан туплаб, ривожлантириб ва саклаб келинаётган Ўзбекистон ёза

гермплазмаси 43 авлодга мансуб А-геномдан К-геномгача бўлган ғузанинг 17000 генетик хилма-хил намуналарига эга бўлиб, улардаги 335 та ғузанинг нав ва нав намуналарини иклими жиҳатдан бири-биридан кескин фарқ қилувчи Ўзбекистон ва Мексика шароитида устириб 202 та SSR (Simple Sequence Repeat-оддий такрорланувчи кетма-кетликлар) праймерлари ёрдамида тадқиқ қилиши натижасида тола сифат белгиларига (микронейр, тола узунлиги, пишиқлиги ва элонгация) генетик боғланган бир нечта ДНК маркерлари аниқланди. Узида толанинг сифат белгиларига (микронейр, тола пишиқлиги, узунлиги ва элонгация) генетик боғланган ДНК маркерларини тутган линиялар юртимизда ДНК маркерларига асосланган селекция дастурини бошлашга замин яратди. Бундай донор линиялар ва ДНК маркерларидан фойдаланиб икки ва ундан ортиқ толанинг сифат белгиларини бир маҳаллий навга жамлашни генларни пирамидалан деб номланиб, бундай усуллар MAS тадқиқотининг асосий тажрибаларидан бири қилиб белгиланди.[3]

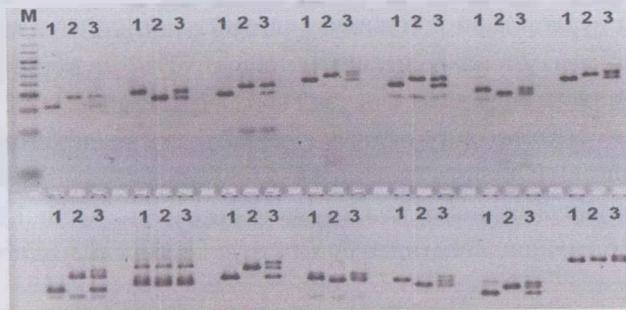
Мамлакатимиз олимлари томонидан ғуза генетикаси ва селекцияси соҳасида ҳосилдор, касалликларга чидамли ва тола сифат кўрсаткичлари юқори бўлган навларни яратиш борасида бир қанча илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Дунёда биринчилардан бўлиб Абдурахмонов ва бошқа., томонидан *Gossypium hirsutum* турига мансуб қишлоқ хўжалик учун зарур ҳисобланган қимматли хўжалик белгиларни узида мужассам этган ғуза гермоплазмасидан фойдаланиб ғузада “нотенг бирикканлик” усулини қўллаш билан тола сифати белгилари билан бириккан ДНК маркерлари идентификация қилинган ва бунинг натижасида ғуза геноми нотенг бирикканлик локуслари даражасини аниқлашга эришилган. Шунингдек, ушбу тадқиқотлар асосида *G.hirsutum* L. тури генетик коллекцияси асосида амалий селекция учун зарур бўлган юқори кўрсаткичли қимматли-хўжалик белгиларга эга бўлган 20 тага яқин донор линиялар ажратиб олинган. Ушбу линиялардаги юқори кўрсаткичли қимматли-хўжалик белгиларни (жумладан микронейр, тола узунлиги, пишиқлиги, элонгацияси)

идентификация қилинган ДНК ва ген-специфик маркерлар ёрдамида ғузанинг янги истиқболли навларини яратишда Маркерларга асосланган селекция (МАС) усули билан селекция жараёнига жалб қилиш имконияти яратилган. Реципиент генотип сифатида эса мамлакатимизда яратилган ва республика ғуза майдонларида экиб келинаётган 11 та нав танлаб олинган. Танлаб олинган реципиент навларнинг қимматли-хужалик белгилари донор генотипларникига нисбатан паст бўлганлиги сабабли ушбу навларни яхшилаш учун 20 тага яқин комбинацияда чатиштириш ишлари олиб борилган. Олинган дурагай авлод усимликлари донор генотипларнинг ярқисиз белгиларини йўқотиш ва реципиент генотипларнинг қолган геномини тиклаш мақсадида ҳар йили реципиент усимлик билан бекросс (қайта) чатиштириш ишлари олиб борилган. Бунда, ҳар бир авлод усимликлари ҳар қайси белги учун тегишли бўлган ДНК маркерлар ёрдамида текшириб селекция қилиш асосида кейинги авлод дурагай усимлигини олиш учун танлаб олинган. Яъни, ҳар бир бекросс авлод усимликларидан ва ота-она линияларидан ниҳол давридаёқ лаборатория тадқиқотлари учун барглар намуналари йиғиб олинган ва намуналардан геном ДНКси ажратилиб ПЗР (Полимераза занжир реакцияси) усули ёрдамида тегишли ДНК маркерлар билан текшириб чиқилган. Танланган маркерлар буйича узида донор локусларини тутган дурагай усимликлар қолдирилиб қолганлари юлиб ташланган. Бундан ташқари вегетация даврида ҳар бир индивиднинг морфо-биологик белгилари ҳам қайд этиб борилган. Ҳар бир усимликдан алоҳида-алоҳида териб олинган ҳосилнинг тола сифати курсаткичларини аниқлаш учун “СИФАТ” марказида таҳлил қилинган. Учинчи-туртинчи авлод бекросс дурагайлари таҳлили қилинганда барча комбинациялардаги дурагайларнинг тола сифат натижалари анча юқори курсаткичларни намоён этган. Масалан, Андижон 35 навининг тола пишиқлиги 32,1 гк/тексни ташкил этган бўлса бекросс дурагайларида бу курсаткич ўртача 37,1 гк/текс ташкил этган. Бу эса донордаги тола пишиқлиги билан боғлиқ маркер локуснинг дурагайларга ўтганлигидан далолат беради.

Натижалар асосида ушбу тола сифат курсаткичлари энг яхши деб топилган дурагайлари индивидуал танлаб олинган. Шундай қилиб мамлакатимиз гуза селекциясига илк бор МАС усули жорий қилиниб молекуляр ва якка танлов асосида Равнак-1 ҳамда Равнак-2 навлари яратилган ва ҳозирда бу икки нав давлат нав синаш комиссиясига топширилган. Юқорида таъкидлаб утилганидек, замонавий МАС дастури бўйича бу ишни амалга ошириш ҳам иктисодий, ҳам кам вақт талаб қилиши жиҳатидан бошқа усуллардан самаралироқдир.



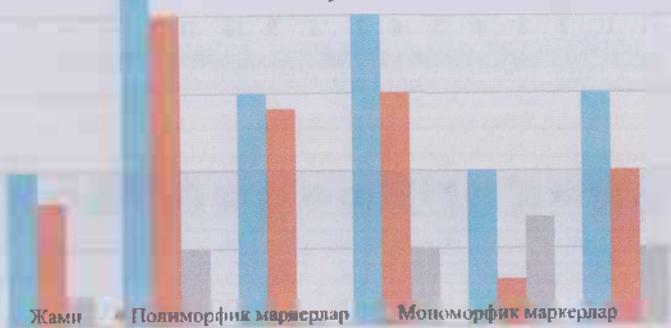
Электрофорез усули ёрдамида геном ДНКсини визуализация қилиш. М-Молекуляр маркер, 1-2, ота-она усимликлари; 3- F_1 авлод усимлиги; 4... 17- F_2 авлод усимликлари.



SSR маркерларнинг ота-она линиялари уртасидаги полиморфизм. М-молекуляр оғирлик маркери; 1-2-ота-она линиялари; 3- F_1 авлод усимлиги.

Мамлакатимизда туқимачилик саноати жадал ривожланмоқда. Бу табиий ва сифатли толага бўлган талабни оширмоқда. Шу боис олимларимиз олдида маркерларга асосланган селекция (МАС) каби замонавий технологияларни қўллаб, ғузанинг тола сифати юқори, серхосил, турли зараркунанда ва касалликларга чидамли янги навларини қисқа муддатларда яратиш вазифаси қўйилмоқда.

3.2.1. график. SSR маркерларнинг ота-она генотиплари уртасидаги полиморфизми ҳақида маълумот



Бу борадаги вазифаларни бажаришда мамлакатимизда геномика ва биоинформатика фанларининг ривожланишига қаратилаётган алоҳида эътибор қўл келмоқда. Таъкидлаш жоизки, бу

соҳада дунё фанида ўз ўрнига эга нуфузли илмий мактаб ва муҳит шакллантирилди, замонавий лабораториялар ташкил этилиб, кенг миқёсда халқаро илмий алоқалар йўлга қўйилди.

Дунёда ғуза майдонининг 95 фоиздан ортиқ қисмига ўрта толали, 3 фоизга яқин қисмига ингичка толали навлар экилмоқда. Ўрта толали ғуза серхосил ва эртапишар ҳисобланади. Лекин унинг тола сифати ўртача. Ингичка толали ғуза навларида тола сифати майинлиги, ўта пишқлиги билан ажралиб туради. Бироқ, ушбу тур ғуза навлари хосили озлиги ва кечпишарлиги сабабли дунёнинг иқлими иссиқ улкаларидагина етиштирилади.

Ўзанинг хромосомаси қайси линия билан алмаштирилса, уша турга хос белги хусусиятларга эга бўлади. Биз қўллаган тажрибада линиялар ўрта толали ғуза турига мансуб бўлиб, уларнинг ҳар бирида ингичка толали ғузанинг бир жуфт хромосома ёки булаклари мавжуд. Хромосомаси алмаштирилган линиялар турлараро дурагайлашишдаги купгина кийинчиликларни бартараф этишда қимматли донор ҳисобланади. Зеро, бундай тажриба самарасида тола чиқими бошланғич материали бўлган линияга нисбатан 2-6 фоизгача ошиб, тола узунлиги ва майинлиги сезиларли даражада ортмоқда.

Олимлар олдида мана шундай қимматли белгиларни ўзида тутган хромосомаси алмаштирилган линиялари билан маҳаллий ғуза навларини дурагайлаб, қимматли хужалик белгиларга жавобгар бўлган генларни хариталашда муҳим бўлган популяцияларни яратиш вазифаси қўйилган. Ушбу илмий топшириққа биноан бу линиялар билан маҳаллий "Ан-Боёвут-2" ғуза навини дурагайлашга эришдик. Ўтган йили марказимизда дунё пахтачилигида биринчилардан бўлиб хромосомаси алмаштирилган линияларга хос бўлган 1 минг 500 га яқин рекомбинант инбред линияларни ўз ичига олган ўндан ортиқ популяция яратишга муваффақ бўлдик.

Мазкур популяциянинг ирсияти мингга яқин ДНК маркерлари ёрдамида тадқиқ қилинди. Натижада толанинг муҳим сифат белгилари – узунлиги, пишқлиги ва чузилувчанлигига жавобгар бўлган ўнга яқин ген йиғиндиси ёки ирсиятнинг муҳим булаклари

билан генетик бириккан бир қатор ДНК маркерларини аниқлашга эришдик.

Олинган натижаларни ғузанинг МАС дастурига қўллаб, тола сифати юқори бўлган ғузанинг янги навларини яратишда қимматли қурилма сифатида фойдаланиш мумкин. Мазкур популяциялар келгусида юртимизнинг турли иқлим шароитида тадқиқ қилиниб, қатор қимматли хўжалик белгиларга алоқадор бўлган генларни аниқлашда ноёб генетик материал ҳисобланади.

Генетик хариталаш натижасида олинадиган хулосалар ғузанинг янги навларини яратиш жараёнини жадаллаштиради. Аслида янги нав яратишнинг анъанавий усули учун ўртача 15-20 йил керак. Энди маркерларга асосланган селекция кумагида бу муддатни икки мартаба қисқартириш имконияти мавжуд. Демак, ўзбек пахта толасининг дунё бозоридаги нуфузи янада ошади.

Пахта яккахокимлигидан воз кечиш уни етиштиришни янада такомиллаштириш, серхосил янги навлар яратиш, тола сифатини яхшилаш имконини берди. Дунё бозорида мамлакатимизда етиштирилган пахтага талаб мунтазам ортиб бораётгани бунинг ёрқин тасдиғидир. Талаб юқори бўлган оппоқ, толаси узун ва пишик пахта навларини етиштиришни мақсад қилган мамлакатимиз олимлари бу борадаги ишларга салмоқли ҳисса қўнмоқда.

Пахтанинг турлари қўшиғига қарамасдан, етиштирилаётган ғуза навлари генетик хилмахиллигининг чекланганлиги дунё пахтачилигининг глобал муаммоларидан бири бўлиб қолаётир.

Жаҳон селекционерлари бир неча ўн йиллардан буён ўрта толали ғуза навини яратиш устида иш олиб бораёпти. Чунки ушбу нав толасининг ҳар бир қўшимча миллиметри унинг қийматини оширади. Бироқ тола сифатини яхшилаш жараёнида унинг эртапишарлик хусусияти ва ҳосилдорлиғига путур етиши мумкин. Бир вақтнинг ўзида ўрта толали пахтанинг сифатини яхшилаш, гуллаши ва очилишини тезлаштириш, шунингдек, ҳосилдорлигини ошириш осон эмас. Ушбу вазифани ҳал этиш қўн вақт ҳамда маблағ талаб қилади.

Мазкур муаммонинг ҳал этилиши кишлок хўжалигида ишлаб чиқариш барқарорлигини, қисқа вегетация даврида кичик экин майдонларида юксак самараларга эришишни таъминлайди. Шунингдек, хўжалик юритиш фаолиятининг атроф-муҳитга салбий таъсирини камайтиради. Айнан шу жиҳатлар олимларимизни “янги авлод инновацион биотехнологияси”ни яратишга ундади.

Мустақиллик йилларида мамлакатимизда кишлок хўжалиги экинларининг ген-хўжайра инженериясини ривожлантиришга алоҳида эътибор қаратилаётгани олимларимизга ғуза геномикаси ва ген инженерияси соҳасида оламшумул янгиликлар яратиш имконини бермоқда. Сунгги ўн йилда Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг Геномика ва биоинформатика маркази олимлари дунё илм-фанида биринчи бўлиб ғузанинг муҳим аҳамиятга эга белгилари, хусусан, тола сифати, гуллаши, тезпишарлиги ва ҳосилдорлиги, турли биотик ҳамда абиотик омилларга чидамлилигини таъминлайдиган генларни тавсифлаб берди. Шунингдек, ғузанинг айрим хўжайраларидан тола қимматга эга усимликлар яратилди ва илк бор Ўзбекистоннинг интеллектуал мулки деб эътироф этилган ғузанинг “ген-нокаут” технологияси ишлаб чиқилиб, амалиётга татбиқ қилинди.

Ушбу янги технология анъанавий пахта селекциясининг асосий вазифаларини ҳал этиш имконини берганини алоҳида таъкидлаш жоиз. Чунончи, пахтачилик тарихида илк мартаба ўрта толали пахта навидан қисқа муддат ичида агрономик муҳим белгиларининг асосий курсаткичлари яхшиланган “Порлок” навлари яратилди. Бу навлар узунлиги 38-42 миллиметр бўлган 1-2 тицдаги юқори сифатли толага эга. Бунинг асосида мамлакатимизда ушбу янги турдаги тола нарҳига ўзгартириш киритилди. У оддий навли толага қараганда 12 фоиз қиммат сотилади.

Халқаро мутахассислар “Порлок” навларининг толасига юқори баҳо бермоқда. Жумладан, “Cotton Incorporated” компанияси вице-президенти Хек Катер (АҚШ) бу борада қуйидагича фикр билдирди: “Порлок” нави толасининг сифатини Калифорнияда етиштириладиган “SJV Acala” ғуза навининг энг яхши толаси билан

такқосласа булади. “Порлоқ-1” нави толасини тараши ва йигириш орқали юкори сифатли калава олиш мумкин”. Бундан ташқари, марказимиз олимлари томонидан дунё илм-фанида илк бор ғуза геномида рекомбинацион блоклар улчами узунлиги аниқланди, тола чиқиши ва сифатига жавоб берадиган ДНК-маркерлар идентификация қилинди.

Ушбу муҳим ютуклар мамлакатимизда усимликларнинг анъанавий селекциясини бир неча марта тезлаштирадиган самарали “маркерларга асосланган селекция” (МАС) технологиясини яратиш имконини берди. *МАС — усимликлар геноми молекуласи (молекуляр маркер) асосидаги муайян белгили селекциядир.* Маркер маълум бир хусусиятни аниқ белгилайдиган маҳсулот ҳисобланади. Масалан, инсон танасига ҳос булган турли чандик, ҳол ва бошқа белгилар шахсни таниш учун “маркерлар” вазифасини уташи мумкин. Бошқача айтганда, бундай молекуляр маркерлар ёрдамида мавсум бошидаёқ энг яхши экинларни саралаб олиш мумкин. Яна бир муҳим жиҳат шундаки, молекуляр маркерлар ёрдамида бир усимликда бир неча фойдали ва зарур генларни жамлаш имконияти мавжуд.

МАС технологияси анъанавий селекциядан фарқли равишда экин майдонида зарарли усимликларга қарши сарф-харажатларни қисқартириш, селекция жараёнини бир неча марта тезлаштириш, унинг самарадорлиги ва аниқлигини оширади. Масалан, селекциячи вилтга чидамлилиқ маркерига эга булса, ғуза баргини синовдан ўтказиш орқали усимликнинг касалликка чидамлилигини аниқлаши мумкин. Бунда касалликка чидамлилиқни ва касаллик аломатларининг пайдо булишини аниқлаш учун бутун ғуза популяциясини вилт билан зарарлантиришга ҳожат йўқ. Энг муҳими, МАС технологияси қисқа муддатда исталган нав ДНКсига бир пайтнинг ўзида генларнинг янги фрагментлари ва гуруҳини киритиш имконини беради. Бунинг самарасида навнинг мослашувчанлиги, барқарорлиги ва чидамлилигини белгилайдиган генетик хилмаҳиллиги янада кенгайди. Утган даврда марказимиз олимлари томонидан ғуза генлари учун дастлабки молекуляр

маркерлар гулами яратилди ва уларнинг хужалик-қиймат белгилари билан генетик боғлиқлик даражаси тадқиқ этилди. Ушбу тадқиқотлар турли мамлакатлардаги ғуза навларини таққослаш ва Ўзбекистон янги навларининг ўзига хослигини молекуляр даражада исботлаш имконини берди. Шу билан бирга, бу борадаги натижалар мамлакатимизда экиладиган навларнинг молекуляр ва генетик хилмахиллигининг камлигини ҳам кўрсатди. Бу келгусида юртимиз пахтачилигида юзага келиши мумкин булган муаммоларнинг олдини олиш мақсадида экиладиган навларнинг генетик базасини кенгайтириш бўйича тадқиқотларни ўз вақтида амалга оширишни такозо этмоқда. Бунинг самарасида қисқа муддат ичида 4-5-типдаги толага эга булган “Андижон-35” ва “Меҳнат” навлари негизида “Равнак-1” ва “Равнак-2” навлари яратилди. Айни пайтда сифатли (3-типдаги) тола ва юқори ҳосилдорлиги билан ажралиб турадиган мазкур навлар давлат томонидан синовдан ўтказилмоқда. Бу нафақат мамлакатимиз, балки бутун дунё пахта селекциясида МАС технологияси муваффақиятли қўлланаётганининг дастлабки самарасидир. “Порлок” навлари ген инженерияси ютуғи булса, “Равнак” навлари ген инженерияси қўлланилмаган, фойдали агрономик белгилар учун жавоб берадиган геном участкаларининг аниқ селекцияси асосидаги замонавий селекциянинг намунаси.

Айни пайтда марказимизда йигирмадан ортиқ янги МАС генотиби яратилди. Улар ўз геномларида тола сифати, эртапишарлиги, юқори ҳосилдорлиги ва вилтга чидамлилиги бўйича пахтачилик селекциясида ҳозирча фойдаланилмаган янги генетик белгиларга эга. ўзунинг ушбу янги навлари босқичма-босқич такомиллаштирилиб, кенг қўламда давлат синовидан ўтказиш учун тақдим этилади. МАС навларининг жорий этилиши эса мамлакатимиз пахтачилигини барқарор ривожлантиришни таъминлаши, шубҳасиз.

Энг муҳими, бундай замонавий технологияларнинг қишлоқ хужалиги селекцияси амалиётига жорий этилиши дунё миқёсида Ўзбекистон селекция илм-фанининг нуфузи ва рақобатбардошлигини оширади. Айни пайтда марказда МАС технологияси

бугдой ҳамда узум навларини яхшилаш учун ҳам қўлланилмоқда. Келажакда қишлоқ хўжалиги экинларининг ген-нокаут ва МАС навларини яратиш учун янги технологияларни жорий қилиш давом эттирилади.

Давлатимиз томонидан бу борадаги ишлар қўллаб-қувватланиб, инновацион фаолиятни янада ривожлантиришга алоҳида эътибор қаратилаётгани ҳамда ушбу йўналишдаги устувор вазифаларни ҳал этишга қодир истеъдодли ёш олимлар етишиб чиқаётгани биотехнологик тадқиқотларни чуқурлаштириш, қишлоқ хўжалиги фанини юксалтириш, халқимиз ҳаёт даражаси ва сифатини ошириш, пировардида Ватанимиз тараққиётига хизмат қилади

14-МАВЗУ. НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАР ЁРДАМИДА ЧАТИШМАСЛИКНИ БАРТАРАФ ЭТИШ ЙУЛЛАРИ

Хужайралар технологияси йуналишларидан бири - бу улардан селекцияда фойдаланиш оркали, усимликларни янги шакллари ва навларини яратишдаги анъанавий селекцион жараёнларни тезлаштириш. Ажратилган хужайра ва туқималарни *in vitro* культурулаш усулларини шартли равишда икки гуруҳга бўлиш мумкин.

Биринчи гуруҳ - бу ёрдамчи технологиялар бўлиб, селекциянинг урнини боса олмайди, лекин унга хизмат қилади. Бунга: *in vitro* уруғлантириш, уруғ куртақларни ва етилмаган дурагай куртақларни культурулаш (протгам чатишмасликни енгиш), чангдон ва микроспораларни ўстириб гаплоидлар олиш, алоҳида ажратилган хужайра, туқима ва органлари криосаклаш, узок турлар дурагайлари клонли микрокупайтириш усулларини киритиш мумкин.

Иккинчи гуруҳ усуллари мустақил равишда селекциянинг анъанавий усулларига боғлиқ бўлмаган ҳолда, каллус туқима-ларини қўллаш оркали хужайралар селекциясини амалга ошириш, соматик дуруғайлаш (алоҳида ажратилган протопластларни бир-бирига қўшиш ва жинсиз дурагайлар олиш, ген мухандислиги усуллардан фойдаланиб, усимликларнинг янги шакллари ва навларини олишга қаратилгандир).

Одатдаги селекция усуллари усимлик белги ва хусусиятларини комбинациялаш ва рекомбинацияга ҳамда танлашга асосланган бўлиб, бу албатта генетик ўзгарувчанликнинг чегараланишга олиб келади. Селекция самарасини ошириш учун эса генетик ресурсларни доим кенгайтириб боришга тўғри келади. Маданий усимликлар генетик баъзасини кенгайтириш учун турлараро ва авлодлараро чатиштириш, аллоплоидлар олиш қўл келади.

Узок шаклларни чатиштиришда ажратилган туқималар культурасини *in vitro* уруғлантириш, эбриокультура (алоҳида ажратилган муртақларни сунъий озука муҳитларда ўстириш),

кимматли дурагайларни *in vitro* гаплоидларини олиш, клонли микрокупайтириш ва криосаклаш каби усулларидан фойдаланилади.

Агар табиий шароитда танланган жуфтликлар орасида уруғланиш имконияти бўлмаса *in vitro* уруғлантириш амалга оширилади. Бу бир неча сабабларга боғлиқ бўлиши мумкин:

1. Чанг этилиш вақтининг мос келмаслиги ва бошқа физиологик омиллар:

2. Чангдон найчасининг қисқалиги ёки ривожланишининг турли даврларида унинг усишининг тухташи ва бошқа морфологик омиллар.

Бу камчиликлар икки хил йул билан тузатилади:

А) тугунча устига этилган чанг доначалари қуйилиб, сунъий агарли озика мухитларда устирилади:

Б) тугунча ёрилади ва уруғ куртак билан шланцента булаг и озика мухитига утказилади, унинг атрофида ёки бевосита муртак тўқимасида этилган чанг устирилади. Уруғ куртаклар улчамига караб уруғланиш амалга ошганлигини аниқлаш мумкин. Уруғланган уруғмуртаклар улчами катталаша бошлайди.

Узоқ шакллар чапиштирилганда постгам чапишмаслик юзага келади, натижада пуч, унмайдиган уруғлар ҳосил булади. Бунинг сабаби муртак ва эндоспермнинг ривожланиш вақтидаги тафовут бўлиши мумкин. Эндоспермнинг ривожланиши суёт булганда муртак меъёрада ўсишга қодир эмас. Бундай ҳолларда этилган пуч уруғлардан муртаклар алоҳида ажратиб олинган ва сунъий озика мухитида устирилади. Муртакларни сунъий озика мухитида устиришга эмбриокультура деб аталади. Этилган муртаклар физиологик фаол моддалар иштирокисиз фақат минерал тузлар ва сахароза тугувчи оддий таркибдаги озика мухитларида ўсади (Уайт озика мухити). Ҳозирги вақтда эмбриокультурларни селекцияда қўллаб, донли, бошқли, экинлар узоқ шаклларида дурагайлар олиш муҳим аҳамиятга эга. Бу усул сабзавот экинларини ўзаро чапиштиришда

тобора кенг қўлланилмоқда. Эмбриокультура тулик ривожланмаган муртаклардан дурагай ўсимлик олиш имконини беради.

Лекин дурагайлардан усимлик олиш камдан-кам ҳолатларда юз беради, купгина дурагайлар стерил бўлади, масалан гречика усимлиги четдан чангланиши туфайли керакли генотиплар олиш қийин. Дурагайлар яширин куртакларининг ривожланишини фаоллаштириш орқали (стерил ниҳолларни қаламчалаш) адвентив куртаклардан ёки каллус туқималаридан усимликларни регенерациялаш орқали купайтирилади.

Гаплоид усимликларнинг селекциядаги ўрни катта. Уларни қўллаш орқали керакли комбинацияни тезроқ топиш нав яратиш муддатини қисқартиради. Гаплоидлардан барқарор гомозигот тизимлар олишда фойдаланилади.

Мутагенез учун ҳам гаплоидлардан фойдаланиш қулай, чунки гаплоидлар даражасида рецессив мутацияларни таплаш осон кечади. Гаплоид асослар стерилдир, лекин уларнинг хромосомалар тўпламини колхицин ёрдамида икки хисса купайтириш ва диплоид гомозигот усимликлар олиш мумкин. Ажратилган туқималар культураси усулини қўллаш орқали гаплоидлар олишнинг учта усули мавжуд:

1. Андрогенез усули-алоҳида ажратиб олинган чангдон ва микроспорани сунъий озика муҳитларда ўстириб гаплоид усимликлар олиш.

2. Гиногенез усули – куртакларни сунъий озика муҳитларда ўстириб, гаплоид усимликлар олиш,

3. Партеногенез усули- узоқ шаклдаги дурагайлар чапиштирилганда оталик хромосомалар йўқолиб кетган дурагай муртақдан гаплоид усимликлар олиш.

Турлар ўртасидаги ирсий ўзгарувчанликни куздан кечирганимизда усимликнинг маълум персонажининг контраст шакллари билан иш олиб борамиз. Усимликнинг белгилари ёки маълум бир қисмлари хромосомалардаги генларнинг таъсири натижасида ва уни қайта ишлаш жараёнида завод ва атроф муҳитнинг ўзаро таъсири натижасида ривожланади.

Ўсимликлар соматик хужайраларини суяк азотда (-196% ҳароратда) сақлаш биотехнологияда янги йўналиш бўлиб, XX асрнинг 70 йилларидан бошлаб кенг ривожлана бошлади.

Криоконсервация жараёни хужайралар культурасини музлатишга тайёрлашдан бошланади. Бунинг учун хужайралар культураси турли осмотик фаол моддалар: 2-6 % концентрациядаги маннит ёки сарбит, аминокислоталар, улардан ўсимликлар хужайрасидаги сувни ўзига тартиб олиш хусусияти билан маълум булган пролин, шунингдек Уаминомой кислота тутувчи озика мухитларда культурланади. Шубҳасиз, бу технология ўзининг келажигига эга, бутунги кунда криобанклар селекционерлар ишларини енгиллаштирмақда, уларга ўсимликларнинг турли навлари, ёввойи турларини, шунингдек йўқолиб бораётган турлар генлари билан ишлаш имкониятларини яратиб бермақда.

15-МАВЗУ. ВИРУССИЗ МАТЕРИАЛНИ НОАҶЪАНАВИЙ УСУЛЛАР ЁРДАМИДА КУПАЙТИРИШ ЙУЛЛАРИ

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

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

Биринчидан, кўпчилик турлар (навлар) ҳаттоки, ювенил босқичда ҳам вегетатив усулда керакли самара билан купаявермайди (эман, тилогоч, ёнгоқдошлар ва бошқалар);

иккинчидан, купчилик дарахтли усимликларни 10-15 ёшдан кейин, аламча ёрдамида купайтириши мумкин эмас;

учинчидан, ҳар доим ҳам стандарт экиш материали олиши мумкин эмас (юқумли касалликлар тулланиши ва ўтиши мумкин);

тўртинчидан, пайванд қилиши орқали катта ёшли (ёғочли) усимликларни купайтириши жуда ҳам қийин ва мураккаб;

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

Ҳужайра ва туқималар культуралари соҳасида эришилган ютуқлар вегетатив купайишни тубдан янги бўлган усули клонал микрокунайтириш (*in vitro* шароитида (пробиркада), жинсий бўлмаган йул билан, усимликларни дастлабки пухласи билан генетик бир хил бўлган навини яратиш) усулининг яратилишига олиб келди.

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

➤ генетик бир хил экув материалнинг олинishi;

➤ меристема туқималари культуралари ишлатилиши ҳисобида усимликларни вирусли ва бошқа юқумли касалликлардан ҳоли бўлиши;

➤ купайиш коэффициентининг юқорилиги (ўтчил ва гулли усимликлар учун 104-105; нинабаргли усимликлар учун –104);

➤ селекция даврининг қисқариши;

➤ усимлик ривожланишидини ювенил даврдан репродуктив фазага ўтишини тезлашиши;

➤ анъанавий йуллар билан қийин купаядиган усимликларни купайтириши;

➤ ишни йил давомида ташиқил этиш имкониятларининг мавжудлиги ва кучат материаллари устириш учун керак бўлган майдонни тежаш;

➤ устириш жараёнини автоматлаштириш имкониятлари ва ҳ.к.

Клонал микрокупайтиришни дастлабки муваффақиятлари утган асрнинг 50-йиллари охирида француз олими Жорж Морел орхидея ўсимлигининг регенерантини яратганда эришилган эди. Бу муваффақиятга ўша вақтларда яратилган, *In vitro* шароитида ўсимликларни апиқал меристемаларини купайтириш техникаси уз хиссасини қушган. Одатда олимлар бирламчи эксплант сифатида утчил ўсимликларни устки меристемаларидан фойдаланадилар, ва озуқа мухити таркибини ўсимликни регенерация ва пайдо булиш жараёнларига таъсирини урганадилар. Худди шу мақсадда чиннигул, хризантема, кунгабоқар, пухат, маккажухори, кокиут ва бошқа ўсимликлар урганиб чиқилган эди.

Ж.Морель уз тажрибаларида худди шундай қилиб, цимбидиум (орхидеялар оиласига мансуб ўсимлик)ни учки қисмини ишлатган. У усиб келаётган конуссимон қуринишдаги ва икки-уч барг олди элементларидан иборат бўлган ва ундан маълум шароитда куббали, юмалок-прокоримлар пайдо булишини кузатган эди.

Ҳосил бўлган (етилган) протокормларни булиш ва уларни кейин алоҳида мустақил равишда, янги тайёрланган озуқа мухитида барг ва илдиз пайдо бўлгунча устиришга эришилган эди. Натижада Ж.Морель бу жараёни чегарасиз эканлигини ва шу йул билан юқори сифатли генетик бир хил, вируссиз экув материални жуда ҳам куп миқдорда тайёрлаш мумкинлигини кузатган эди.

Россияда клонал микрокупайтириш профессор Р.Г.Бутенко номи билан боғлиқ. К.А.Темиряев номидаги ўсимликлар физиологияси институтида бу олима уз шоғирдлари билан, картошка, қанд лавлаги, чиннигул ва бошқа гулларни клонал купайтириш шароитларини ишлаб чиққан.

Мамлақатимизда бу усул илмий лабораторияларда синаб қурилмоқда. Хусусан, Тошкент Давлат Аграр университети

биотехнология кафедраси илмий лабораториясида картошкани клонал микрокупайтириш усуллари оркали касалликларга, иссиққа, шўрланишга чидамли навларини яратиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Шуни ҳам эслатиб ўтиш ўринлики, микрокупайтиришдан фойдаланиш доираси жуда кенг бўлиб, кундан кунга янада ошиб бормоқда. Энг аввало бу *in vitro* шароитида ўсимликларни ёғочли турларини, нина баргли ва айниқса, йуқолиб кетаётган ўсимликлар ҳамда доривор ўсимликларни купайтириш мақсадида бу усулдан фойдаланиш катта самара бериши исботланган.

Ёғочли (дарахтларни) ўсимликларни туқима культураси бўйича биринчи илмий ишлар 1920 йилларда чоп этилган бўлиб, француз олими Готре номи билан боғлиқ. Бу мақолаларда тилогоч дарахти камбиал туқималарини *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 туқималаридан ўсимлик етиштириш мақсадида фойдаланиш анча қийинчиликларга олиб келиши билан боғлиқ.

Маълумки, ёғоч ҳосил килувчи дарахтлар, айниқса, нина баргли ўсимликлар жуда ҳам секин ўсадилар, қийин томир оладилар, жуда кўп микдорда иккиламчи бирикмалар (феноллар, терпенлар ва бошқа моддалар) саклайдилар, бу моддалар эса алоҳида ажратиб олинган туқималардаги фенолаза ферментлари таъсирида оксидландилар. Ўз навбатида фенолларни оксидланган маҳсулотлари одатда хужайрани ўсишини ва бўлинишини ингибирлайдилар, бу эса бирламчи эксплантларни нобуд бўлишига ёки ёғочли ўсимликлар туқимасини регенерация имкониятларини пасайишига ва ёши улғайган сари секин-аста, бутунлай йуқолишига олиб келади. Аммо, қанчалик қийин бўлишига қарамасдан олимлар изланиш манбаи сифатида тез-тез ёғочли ўсимликларни туқима ва

органларидан фойдаланиб келмоқдалар. Ҳозирги вақтга келиб, *in vitro* шароитида кўпайтирилган ёғочли ўсимликлар сони 40 оиллага мансуб бўлган 250 турдан ошиб кетган (каштан, дуб, қайин, заранг, тоғ тераги, толни тоғ тераги билан гибриди, сосна, арча ва х.к.).

Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари.

Клонал микрокўпайтириш жараёнини тўрт босқичга бўлиш мумкин:

биринчи – донор ўсимликни танлаш, эксплантларни ажратиши ва яхши ўсадиган стерил культура олиши;

иккинчи – микрокўпайтиришни ўзи, мериклонларни энг кўп (максимал) микдорини олишига эришилган даврни ва шароитини танлаш;

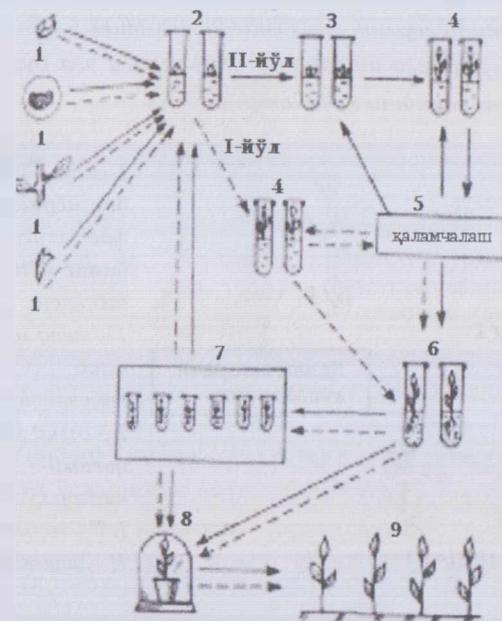
учинчи – кўпайтирилган навдани илдиз олиши ва уларни тупроқ шароитига мослаштириши, керак бўлганда регенерант – ўсимликларни совуқ ҳароратда (+20°C, +100°C) сақлаш;

туртинчи – ўсимликни иссиқхона шароитида ўстириши ва уларни майдонга чиқариб экиш ёки сотишига тайёрлаш (1-расм).

Клонал микрокўпайтиришни кўп усуллари маълум. Кўплаб муаллифлар эксплантларни ўстиришга шароитни морфогенез жараёнига таъсирини ургана бориб, ўстириш шароитини узгаришига ҳар хил морфогенетик реакция бўлишини кузатганлар, бу эса клонал микрокўпайтириш методларини янги классификациясини яратилишига олиб келди.

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

- ўсимликда бор бўлган меристемаларни ривожланишини жсадаллаштириши (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.



1-расм. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш

1-йўл – бор меристемаларни ривожланишини фаоллаштириш усули;

2-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 кўпайтириш (қаламча); 6-микро навдаларни илдиз олиши; 7-регенерант ўсимликни паст ҳароратда сақлаш; 8-ўсимликларни иссиқхона шароитида ўтказиш; 9-регенерант ўсимликларни далага экиш.

Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришда ишлатиладиган асосий усул – бу ўсимликларда бор бўлган меристемаларни ривожланишини фаоллаштириш бўлиб, у апикал устиворликни олиб ташлашга асосланган (2-расм). Бунга икки йўл билан эришиш мумкин:

➤ *пояни тепа меристемасини олиб ташлаш ва кейин навдани in vitro шароитида гормон сақламаган муҳитда микроқаламчалаш;*

➤ *озуқа муҳитига цитокинин таъсирига эга бўлган моддалар қўшиш (навдани ўсишини кучайтириш).*



2-расм. Усимликларни бор меристемааларини фаоллаштириш усули билан кўпайтириш чизмаси:

- 1 – тепа меристемасини юлиб ташлаш йўли;
- 2 – озуқа муҳитига цитокининлар қўшиш йўли;
- Б/Г – гормонсиз муҳит;
- Ц – цитокининлар;

А – ауксинлар.

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

Шундай йўл билан олинган навдаларни бирламчи она експлантидан ажратилади ва қайтадан янги тайёрланган озуқа муҳитида ўстирилади. Ҳозирги вақтда бу усул қишлоқ хўжалик ўсимликларини вируссиз экув материалларини тайёрлашда кенг қулланилади. Шу йўл билан қанд лавлаги, тамаки, хмель, топинамбур, помидори, картошка, бодринг, қалампир, ошқовок ва бошқа ўсимликларни соғломлаштирилган кучатларини тайёрлаш йўлга қуйилган.

Баъзи бир қишлоқ хўжалик ўсимликлари учун (масалан, картошка ўсимлиги) клонал микроқўпайтириш технологияси саноат даражасига кўтарилган. Ўсимликларда бор бўлган меристемаларни фаоллаштириш усулини ишлатилиши бир йилда бир дона картошка меристемасидан 105 дона ўсимлик етиштириш имконини беради,

бундай технология пробиркада микро туганаклар - қимматбаҳо вируссиз уруғлик яратишни ўз олдига қўйган (3-расм).



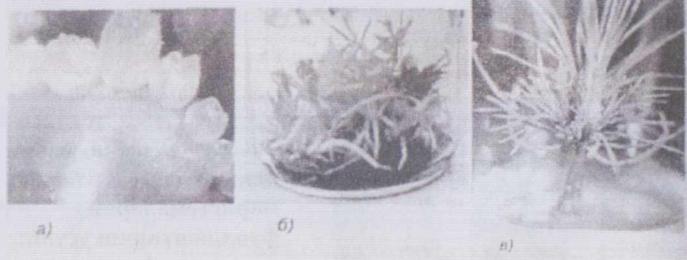
3-расм. Усимликларни *in vitro* шароитида бор булган меристемаларни ўсишни фаоллаштириш усули:
а – стахис; б – анор; в – картошка.

Иккинчи усул – бу эксплант туқималарида туғридан-туғри адвентив куртаклар пайдо бўлишини кучайтириш (индукция қилиш). Бу усул усимликни ажратиб олинган қисмини қулай озука муҳитида етишмаган қисмини (органларини) ҳосил қилишига асосланган, шундай қилиб, бутун усимликни ренерация (ҳосил) қилиш.

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

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

Бу микроқупайтиришни энг кенг тарқалган усули бўлиб, шу усул билан илдиз мевали гуллар (нарцисса, лилия, гиацинт, гладиолус, лолакизғалдоқ); Brassica авлодига мансуб усимликлар (рангли карам) шунингдек пиёз, саримсоқпиез, помидор ва бошқа бир қатор усимликлар қупайтирилган (4-расм).

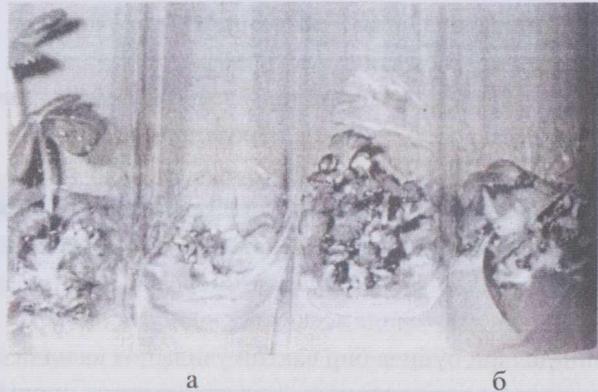


4-расм. Усимликларни адвентив куртакни индукция қилиш орқали қўнайтириш: а – бугдой; б – орхидея; в – сосна.

Ер тутғи (земляника) усимлигини апикалли меристемаларини устиришга

асосланган клонал микроқўпайтириш технологияси ҳам яхши йулга қўйилган (5-расм).

Ёш ва вирус билан касалланмаган, соғлом усимликни юқори меристемасини ажратиб олиб, уни Мурасига ва Скугани модификация қилинган озуқа муҳитида устирилади. Озуқа муҳити 0,1-0,5 мг/л 6- бензиламинопурин (БАП) саклаши керак. 3-4 hafta утгандан кейин меристема майсага айланади ва уни асосида адвентив куртаклар ҳосил була бошлайди, ҳамда тез ривожланиб, янги куртак соладилар. 6-8 hafta мобайнида куртакларни тартибсиз йиғиндиси (конгломерати) ҳосил булади. Бу куртаклар ривожланишни ҳар хил босқичида бўлиб, бир-бирлари билан боғловчи туқималар орқали боғланган булади. Қалта қаламчалардан барглар пайдо булади, уларни тагида эса янги адвентив куртаклар чика бошлайди.



5-расм. Ер тутини клонал кўпайиши
 а – микрокўпайишни ўзи; б – адаптация булган усимлик.

Мана шу куртакларни ажратиб олиб, янги озука муҳитига экилади. Цитокинин сақлаган муҳитда новдаларни пролиферацияси (кўпайиш оркали янги хужайра ва туқималарни ҳосил булиши) давом этади, гормон сақламаган муҳитда эса 4-6 hafta давомида нормал ҳолатдаги, илдиз ва баргли усимлик ҳосил булади. Эксплантни морфогенетик фаоллиги 3-4 йил мобайнида сақланади. Шундай қилиб, битта усимликдан бир йилда бир неча миллион регенерант усимлик етиштириш мумкин.

Табийки, изланувчиларни адвентив куртакларни келиб чиқиши, хусусан меристемани табақаланишида қайси бир хужайра қавати иштирок этиши қизиқтиради. Ҳозирча бу масалада бир хил фикр йук. Масалан, Тран Тан Ван узини тамаки туқималари билан олиб борган ишларида энг фаол туқима эпидерма эканлигини, ундан озука муҳити таркибидаги гормон балансига қараб, куртак, каллус ёки илдиз чиқишлигини курсатиб берган.

Шунингдек, адвентив куртаклар меристематик хужайраларни юқорикатламидан пайдо булиши ҳам курсатиб утилган. Сосна дарахти мисолида адвентив куртакни уруғпалласини ва субэпидермал қаватларида пайдо булиши кузатилган ва бу жараён

сосна учун ишлатиладиган цитокининларга боғлиқ эмаслиги курсатиб утилган (6-расм).

Клонал микрокупайтиришда кулланиладиган учинчи усул. Соматик хужайралардан, ташки куриниши зиготали куртакчага ухшаган куртаксимон структурани табақаланишига (дифференциация) асосланади. Бу усул соматик эмбриогенез деб ном олган. *In vitro* шароитида куртак ҳосил булишини *in vivo* (табiiй) ҳолатдагидан фарқи шундан иборатки, соматик куртаклар, куртак копчасидан ташқарида асексуал ривожланадилар ва узларини ташки куринишлари буйича бир вақтни узиди пая ва илдишни аниқал меристемаларини ривожланиши кузатиладиган икки полярли тузумани эслатадилар.



6-расм. Эксплантни эпидермал ва субэпидермал хужайра қаватида адвентив куртакларни ҳосил булиши

Стевардни тушунтиришича, соматик куртаклар ривожланишни уч босқичини утадилар: глобуляр, юраксимон, торпедосимон ва оқибатда майса булиб униб чиқади. 1950 йилларда сабзи хужайраларида биринчилардан булиб кузатилган бу куриниш ҳозирги даврда *Orchidaceae* ва *Rutaceae* оилаларига мансуб булган, шунингдек, бошқиларни баъзи бирларини (буғдой, арпа) беда, редис, тоқ ва баъзи дарахтлар каби куплаб усимликларни купайтириш учун ишлатилиб келинмоқда.

Туқима культурасида эмбрионидларни пайдо булиши икки босқичда амалга ошади:

➤ Биринчи босқичда хужайра эксплантлари озука муҳити таркибига солинган ауксинлар, энг аввало 2,4 – дихлорфеноксирка кислотаси (2,4 -Д) ҳисобидан эмбрионалга айланади.

➤ Иккинчи босқичда ҳосил бўлган хужайраларни эмбрионидларгача ривожланишига мажбур қилиш керак бу эса, озука муҳит таркибидеги ауксинларни миқдорини камайтириш ёки уларни бутунлай чиқариб ташлаш орқали амалга оширилади.

Соматик эмбриогенезни тўғридан – тўғри бирламчи эксплантлар тўқималарида, ҳамда каллусли культураларда кузатиш мумкин. Шунинг ҳам таъкидлаб ўтиш лозимки, каллусли культуралардан клонал микрокўпайтиришда фойдаланиш камроқ самара беради, чунки шу йўл билан тайёрланган эквивалент материаллари (кучатлар) донор – усимликга нисбатан генетик турғун (муштахкам) бўлмайди. Кўпинча, каллусли хужайраларни суяк озука муҳитида ўстирилганда, соматик эмбриогенез келиб чиқади ва энг кийин операциялардан ҳисобланади. Бунга сабаб, ҳар доим ҳам хужайраларга хос бўлган тотипотентлик амалга ошавермайди.

III. ГЛОССАРИЙ

Ўзбек тилидаги шарҳи	Рус тилидаги шарҳи	Инглиз тилидаги шарҳи
Амплификация - ДНК микдорини, генларнинг копияларининг сонини ошиши.	Амплификация – увеличение количества ДНК, числа копий генов.	Amplification – increase in the quantity of DNA, the number of copies of genes
Андрогенез - алохидаланган чангонлар ёки микроспиралардан сунъий озуқа муҳитида гаплоид усимликларнинг ривожланиши	Андрогенез - развитие гаплоидных растений на искусственной питательной среде из изолированных пыльников или микроспор	Androgenesis – development of haploid plants on an artificial nutrient medium from isolated anthers or microspores
Антигенлар - хайвонлар организмига кирган ва химоя моддаларни (антителаларни) ҳосил қиладиган бегона оксиллар	Антигены - чужеродные белки, вызывающие при попадании в организм животного образование защитных веществ (антител)	Antigens – foreign proteins, causing the ingestion of an animal in the formation of protective substances (antibodies)
Антителалар - бегона моддалар (антигенлар) ҳаракатини тўхтатадиган кон зардобининг оксиллари (иммуноглобулинлар)	Антитела - белки сыворотки крови (иммуноглобулины), блокирующие действие чужеродных веществ (антигенов)	Antibodies – proteins of blood serum (immunoglobulins), blocking action of foreign substances (antigens)
Бактериофаглар (фаги) бактерияларни зарарлайдиган вируслар	Бактериофаги (фаги) - вирусы, поражающие бактерии	Bacteriophages – viruses that infect bacteria
Биотехнология - ишлаб чиқаришни интенсификациялаш ёки турли хил мақсадлар учун маҳсулотларни олишда биотехнологик	Биотехнология - наука о генноинженерных и клеточных методах и технологиях создания и использования биотехнологических объектов для	Biotechnology – the science of genetically engineered and cellular methods and technologies for the creation and use of biotechnological objects for the intensification of

<p>объектларни яратиш ва фойдаланишни ген муҳандислик ва хужайра усуллари ҳамда технологиялари ҳақидаги фан.</p>	<p>интенсификации производства или получения новых видов продуктов различного назначения.</p>	<p>production or for the production of new types of products for various purposes</p>
<p>Ген - ДНКда (айрим вирусларда РНКда) нуклеотидларнинг маҳсул кетма-кетлиги, транспорт РНК ёки рибосомал РНК даги нуклеотидлар кетма-кетлигини ёки оксилда аминокислоталарнинг кетма-кетлигини аниқловчи ирсиятнинг асосий физик ва функционал бирлиги.</p>	<p>Ген - основная физическая и функциональная единица наследственности, специфическая последовательность нуклеотидов в ДНК (у некоторых вирусов – в РНК), детерминирующих или нуклеотидную последовательность транспортных РНК или рибосомальных РНК или последовательность аминокислот в белке.</p>	<p>Gene – the basic physical and functional unit of heredity, the specific consequence of nucleotides in DNA (in some viruses in RNA), the determining or nucleotide sequence of transport RNA or ribosomal RNAs or the sequence of amino acids in the protein</p>
<p>Ген муҳандислиги - рекомбиант молекулалар технологиясини ўз ичига оладиган генетик муҳандислигининг бўлими; янги рекомбиант генларни ажратиш, конструкторлаш ва клонлаш; ген банкини яратиш ва бошқ.</p>	<p>Генная инженерия – раздел генетической инженерии, включающий технологию рекомбиантных молекул: выделение, конструирование и клонирование новых рекомбиантных генов; создание банка генов и др.</p>	<p>Gen engineering – section of genetic engineering, which includes technology of recombinant molecules: isolation, construction and cloning of new recombinant genes; creation of a gene bank, etc.</p>
<p>Генетик код - оксилларнинг тегишли аминокислоталар кодонларини ташкил</p>	<p>Генетический код - система записи наследственной информации в</p>	<p>Genetic code – a system for recording hereditary information in nucleic acid molecules based on</p>

<p>киладиган ДНК ёки РНКдаги нуклеотидлар кетма-кетлигини аниқлашга асосланган нуклеин кислоталар молекуларидаги ирсий ахборотни ёзиш тизими</p>	<p>молекулах нуклеинових кислот, основанная на определении чередования последовательности нуклеотидов в ДНК или РНК, образующих кодоны соответствующих аминокислот белков</p>	<p>the determination of the sequence of nucleotide sequences in DNA or RNA that form the codons of the corresponding amino acids of proteins</p>
<p>Генетик маркер - аниқ фенотипик белгини аниқлайдиган хромосоманинг локуси</p>	<p>Генетический маркер - локус хромосомы, определяющий конкретный фенотипический признак.</p>	<p>Genetic marker – the chromosome locus determining a particular phenotypic trait</p>
<p>Генетик модифицирланган организмлар (ГМО) - трансгенот натижаанда олинган ўсимлик, хайвонлар ёки микроорганизмлар</p>	<p>Генетически модифицированные организмы (ГМО) - растения, животные или микроорганизмы, полученные в результате трансгенеза.</p>	<p>Genetically modified organism (GMO) – plants, animals or microorganisms obtained as a result of transgenesis</p>
<p>Генетик муҳандислик - генларни сунъий утқишиш йўллари орқали ДНК нинг биологик фаол шаклларни, хужайраларнинг янги генетик шаклларни ва бутун организмларни тузиш.</p>	<p>Генетическая инженерия - генетическое конструирование новых форм биологически активных ДНК, генетически новых форм клеток и целых организмов с помощью искусственных приемов переноса генов (технологии рекомбинантных ДНК, генетической трансформации, гибридизации клеток).</p>	<p>Genetic engineering – genetic design of new forms of biologically active DNA, genetically new forms of cells and whole organisms using artificial methods of gene transfer (recombinant DNA technology, genetic transformation, cell hybridization)</p>

<p>Геном - маълум тур организмнинг хромосомаларни гаплоид сонининг йиғиндис</p>	<p>Геном - совокупность гаплоидного набора хромосом данного вида организмов.</p>	<p>Genom – a set of haploid set of chromosomes of a given species of organisms</p>
<p>Генотип - организмнинг хромосомаларидаги барча генлар йиғиндис</p>	<p>Генотип - совокупность всех генов, локализованных в хромосомах организма.</p>	<p>Genotype – a set of all genes localized in the chromosomes of the body</p>
<p>Гиногенез - сунъий озука мухитида алохидаланган урукуртаклардан гаплоид усимликларнинг ривожланиши</p>	<p>Гиногенез - развитие гаплоидных растений на искусственной питательной среде из изолированных семянпочек.</p>	<p>Genagent – development of haploid plants on an artificial nutrient medium from isolated ovules</p>
<p>Дедифференциация - ихтисослашган бўлимаётган хужайраларини дифференцирланмаган бўлинаётган каллус хужайраларини ташкил бўлишига ўтиши</p>	<p>Дедифференциация - переход специализированных неделящихся клеток к образованию недифференцированных делящихся каллусных клеток.</p>	<p>Dedifferentiation - transition of specialized non-dividing cells to the formation of undifferentiated fissile cells</p>
<p>Каллус - дедифференцирланган (ихтисослашишни йукотган) хужайралардан ташкил топган туқимаинг тартибсиз булган массаси</p>	<p>Каллус - неорганизованная масса ткани, состоящая из дедифференцированных (утративших специализацию) клеток.</p>	<p>Callus – Unorganized tissue mass, consisting of dedifferentiated (lost specialization) cells</p>
<p>Клонал микрокўпайтириш - <i>in vitro</i> асосида усимликларни вегетатив кўпайтириш усули</p>	<p>Клональное микроразмножение - способ вегетативного размножения растений на основе культуры <i>in vitro</i>.</p>	<p>Clonal micropropagation – method of vegetative propagation of plants on the basis of culture <i>in vitro</i></p>

<p>Клонлаштириш - клонларни олиш (организм, хужайралар гурухи, ген). Генларнинг клонлаштириш – реципиент хужайраларда алохида генларни ажратиш ва амплификация қилиш ҳамда молекуляр клонлаштириш – вектор таркибидagi ДНК молекулаларини қўпайтириш мавжуд.</p>	<p>Клонирование - получение клонов (организм группа клеток, ген). Различают клонирование генов – выделение и амплификация отдельных генов в реципиентных клетках, а также молекулярное клонирование – размножение молекул ДНК в составе вектора.</p>	<p>Cloning – obtaining clones (organism group of cells, gene). There are cloning of genes - isolation and amplification of individual genes in recipient cells, as well as molecular cloning - multiplication of DNA molecules in the vector</p>
<p>Морфогенез - усимликларда хужайра, тукима ва органларни пайдо булиши, усиши ва ривожланиши.</p>	<p>Морфогенез - заложенис, рост и развитис клеток, тканей и органов у растений.</p>	<p>Morphogenesis – planting, growth and development of cells, tissues and organs in plants</p>
<p>Нуклеин кислота - генетик ахборотни сақлайдиган ва узатадиган универсал биополимер.</p>	<p>Нуклеиновая кислота - универсальный биополимер, хранящий и передающий генетическую информацию.</p>	<p>Nucleic acid – a universal biopolymer that stores and transmits genetic information</p>
<p>Органогенез - монополяр структурани, яъни меристемалардан айрим органларни (илдиз, поя, баъзиларда гул ва барглар) пайдо булиши. Органогенез тугридан-тугри эксплант тукимасида (бевосита) ёки каллус босқичи орқали (билвосита) рўй беради.</p>	<p>Органогенез - образование монополярной структуры, т.е. отдельных органов из меристем (корней, стеблей, реже цветков или листьев). Органогенез может происходить непосредственно в ткани экспланта (прямой) или через</p>	<p>Organogenesis – formation of a monopolar structure; separate organs from meristems (roots, stems, rarely flowers or leaves). Organogenesis can occur directly in the explant tissue (direct) or through the stage of callus (indirect)</p>

	стадию каллуса (непрямой).	
Пассаж килиш - каллус бир кисмини янги озук мухитига ўтказиш.	Пассирование - перенос части каллуса на свежую питательную среду.	Passage – transferring a portion of the callus to a fresh nutrient medium
Пролиферация - кўпайиш йўли билан хужайра ва тўқималарни пайдо бўлиши	Пролиферация - новообразование клеток и тканей путем размножения.	Proliferation – neoplasm of cells and tissues by reproduction
Протопласт - Ферментатив ёки механик усул билан хужайранинг двори бузилган хужайра	Протопласт - клетка, лишённая клеточной стенки с помощью ферментативного разрушения или механическим способом.	Protoplast – a cell devoid of a cell wall by enzymatic degradation or by mechanical means
Селектив озук - керакли белгиларга эга бўлган танловни олиб бориш <i>in vitro</i> культураси шароитидаги махсус озук (асосан стресс омилларига чидамлилик буйича)	Селективная среда - средовые условия в культуре <i>in vitro</i> , обеспечивающие отбор клеток с желательными признаками (главным образом устойчивых к стрессам).	Selective medium – environmental conditions in culture <i>in vitro</i> , which ensure the selection of cells with desirable characteristics (mainly resistant to stress)
Сомаклонал ўзгарувчанлик - <i>in vitro</i> культурасида соматик хужайралардан ўстирилган ўсимликларнинг генетик ўзгарувчанлиги	Сомаклональная изменчивость - генетическая изменчивость растений, регенерированных из соматических клеток в культуре <i>in vitro</i> .	Somaclonal variability – genetic variability of plants regenerated from somatic cells in culture <i>in vitro</i>
Соматик дурагай - соматик хужайраларнинг дурагайланиш йўли билан	Соматический гибрид - растение-регенерант, полученное путем гибридизации соматических клеток.	Somatic hybrid – plant-regenerant, obtained by hybridization of somatic cells

олинган регенерант ўсимлик		
Соматик дурагайлаш - ўсимликлар соматик хужайраларидан ажратиб олинган протопластларни дурагайлаш	Соматическая гибридизация - гибридизация между протопластами, выделенными из соматических клеток растений.	Somatic hybridization – hybridization between protoplasts isolated from plant somatic cells
Соматик эмбриогенез - соматик хужайралардан биполяр муртаксимон тузилмаларни (эмбрионидларни) пайдо булиши. Эмбриогенез туғридан-туғри эксплант туқимасида (бевосита) ёки каллус босқичи орқали (билвосита) рўй бериши мумкин.	Соматический эмбриогенез - образование биполярных зародышоподобных структур (эмбриондов) из соматических клеток. Эмбриогенез может происходить в ткани экспланта (прямой) или через стадию каллуса (непрямой).	Somatic embryogenesis – formation of bipolar embryonic structures (embryoids) from somatic cells. Embryogenesis can occur in the explant tissue (direct) or through the stage of callus (indirect)
Субкультуралаш - трансплантларни (инокулюмни) бошиқа культурал идишга янги озуқа муҳитига утқазиш.	Субкультивирование - перенос трансплантов (инокулюма) в другой культуральный сосуд на свежую питательную среду.	Subculture – transfer of transplants (inoculum) into another culture vessel on a fresh nutrient medium
Суспензион экма - доимо аралашиб туриладиган, азрацияланадиган суюқ озуқада усадиган яққа хужайралар ва уларнинг агрегатлари	Суспензионная культура - одиночные клетки и их агрегаты, растущие в жидкой азрируемой питательной среде во взвешенном состоянии при постоянном перемешивании.	Suspension culture – single cells and their aggregates growing in a liquid aerated nutrient medium in a suspended state with constant mixing
Трансген - бир организмдан олиниб ва бошиқа организм ёки	Трансген - ген, взятый из одного организма и	Transgene – a gene taken from one organism

хужайрага утказилган ген	перенесенный в другой организм или клетку.	and transferred to another organism or cell
Трансген (генетик модифицирланган) организм – генетик мухандислик усулларидан фойдаланиб геномига ёд ахборот киритилган организм.	Трансгенный (генетически модифицированный) организм - организм, в геном которого с использованием методов генетической инженерии перенесена чужеродная информация.	The transgene (genetically modified) organism – an organism into which the genome of which, using genetic engineering techniques, transferred alien information
Трансгенез - организм-донордан организм-реципиентга генларни сунъий утказиш жараёни.	Трансгенез - процесс искусственного переноса генов от организма-донора к организму-реципиенту.	Transgenes – the process of artificial transfer of genes from the donor organism to the recipient organism
Трансплант (инокулюм) - янги озука мухитига утказиш учун мулжалланган каллус (суспензия) экманнинг қисми.	Трансплант (инокулюм) - часть каллусной (суспензионной) культуры, используемая для переноски на свежую питательную среду	Transplant (inoculum) – part of the callus (suspension) culture used for transfer to a fresh nutrient medium
Хужайра селекцияси - <i>in vitro</i> да селектив шароитида хужайра даражасида табиий ёки индуцирланган мутантларни танлаб, кейинчалик усимликлар регенерациясини қилиш	Клеточная селекция - отбор естественных или индуцированных мутантов <i>in vitro</i> на клеточном уровне в селективных условиях с последующей регенерацией растений.	Cell selection – selection of natural or induced mutants <i>in vitro</i> at the cellular level under selective conditions followed by plant regeneration
Эксплант - <i>in vitro</i> озука мухитида эркин устирилаётган ёки каллус олиш учун фойдаланилаётган	Эксплант - фрагмент ткани или органа, культивируемый на питательной среде <i>in vitro</i> самостоятельно	Explants – a fragment of a tissue or organ cultivated on a nutrient medium <i>in vitro</i> alone or used to produce callus

тукима ёки орган кисми.	или используемый для получения каллуса.	
Эмбриокультура - in vitro культурасида алохидаланган муртакларни уларни бошланғич даврдаги ривожланишида устириш ва усимликларни регенерация қилиш	Эмбриокультура - выращивание изолированных зародышей на ранней стадии их развития в культуре in vitro и регенерация растений.	Embryoculture – growing isolated embryos at an early stage of their development in culture in vitro and plant regeneration
In vitro - асептик шароитда суғий озуқа мухитида организмни бир қисмини устириш	In vitro - культивирование части организма на искусственных питательных средах в асептических условиях.	In vitro – cultivation of a part of the body on artificial nutrient media under aseptic conditions
In vivo - организмни табиий шароитда устириш	In vivo - культивирование организма в естественных условиях.	In vivo – cultivation of the organism in natural conditions

НАЗОРАТ УЧУН САВОЛЛАР

1. Селекциянинг ноанъанавий усулларга қайсилар кирази?
2. Анъанавий усуллар билан ноанъанавий усулларни бир-бирдан фарқи нимада?
3. Ноанъанавий усулларни афзалликлари нимада?
4. Ўзбекистонда ноанъанавий усуллар қай даражада ривожланган?
5. *In vitro* культураси деганда нимани тушунаси?
6. *In vitro* билан *in vivo* ни фарқлари нимада?
7. Каллус хужайралар ҳақида тушунча.
8. Хужайраларнинг тотипотентлик хусусияти деганда нимани тушунаси?
9. Эксплант деганда нимани тушунаси?
10. Хужайраларни ўстиришда қўлланиладиган сунъий озуқаларни тайёрлаш тартиби қандай?
11. Мурасиге-Скуга сунъий озуқаси асосан ўсимликларнинг қайси турларида қўлланилади?
12. Уайт сунъий озуқаси асосан ўсимликларнинг қайси турларида қўлланилади?
13. Липсмайер-Скуга сунъий озуқаси асосан ўсимликларнинг қайси турларида қўлланилади?
14. Қандай сунъий озуқалар хилларини биласиз?
15. Қаттик (агар-агарли) сунъий озуқалар нима учун фойдаланилади?
16. Суяк сунъий озуқалар нима учун фойдаланилади?
17. Сунъий озуқаларни ва инструментларни стериллаш учун нимадан фойдаланилади?
18. Нима учун сунъий озуқаларни ва инструментларни стериллаш керак?
19. Сунъий озуқаларни ва инструментларни стериллаш жараёнида автоклавдан қандай фойдаланилади?
20. Ассептик шароит деганда нима тушунилади?

21. Ламинар бокс деганда нимани тушунасиз ва унинг ишлаш принципи.

22. Ламинар боксда ишлаш тартиби қандай?

23. Каллусогенез нима?

24. Каллусогенез ўтишига нима таъсир қилади?

25. Соматик эмбриогенез нима?

26. Эмбриогенез билан эмбриоидогенез фарқлари нимада?

27. Морфогенез деганда нимани тушунасиз?

28. Морфогенезга қандай факторлар таъсир қилади?

29. Эмбриоид нима ва у қачон пайдо бўлади?

30. Ген мухандислигига тушунча беринг.

31. Ген мухандислигида қандай усуллар қўлланилади?

32. Трансгенез деганда нимани тушунасиз?

33. Ген мухандислиги усули орқали қандай усимликлар пайдо бўлади?

34. Рекомбинант ДНК нима?

35. Баллистик усул орқали генлар қандай ўтказилади?

36. Электропорация деганда нима тушунилади?

37. Полиэтиленгликол билан иплов бериш орқали генларни ўтказиш усулини айтиб беринг.

38. Липосомалар таркибида ДНКни ўтказиш усули нимадан иборат?

39. Хромосом мухандислиги деганда нимани тушунасиз?

40. Гаплоидлар усули деганда нимани тушунасиз?

41. Гаплоид усимликларнинг селекция учун афзалликлари нимада?

42. Регенерация тушунчасини айтиб беринг.

43. Регенерант усимликлар деганда нимани тушунасиз?

44. Регенерант усимликлар қандай олинадилар?

45. Регенерант усимликлар билан оддий усимликларни фарқлари нимада?

46. Эмбриокультура усули нима?

47. Нима учун янги олинган регенерант усимликларни туғридан-туғри тушунчага ўтказиб бўлмайди?

48. Регенерант усимликларни тушунчага қайси усуллар орқали ўтказиш мумкин?

49. Республикамизда селекция ва уруғчиликда поанъанавий усулларни тарихи ва уларни ривожланиши.

50. Поанъанавий усулларнинг хиллари.

51. Биотехнология ҳақида тушунча, уни ривожланиши ва республика кишлок хўжалиги учун аҳамияти.

52. Селекцияда биотехнологик усулларнинг хиллари.

53. Ишлаб чиқариш биотехнологияси ҳақида тушунча.

54. Биотехнологик усуллар ёрдамида янги навларни яратишда эришилган ютуқлар.

55. Биотехнологияни бошқа фанлар билан алоқаси.

56. Хўжайра селекцияси ҳақида тушунча, уни ривожланиши ва республика кишлок хўжалиги учун аҳамияти.

57. Хўжайра селекцияси ёрдамида янги навларни яратиш.

58. Ген мухандислиги ҳақида тушунча, уни ривожланиши ва аҳамияти.

59. Ген мухандислиги ёрдамида янги навларни яратиш.

60. Ген модифицирланган организмлар ҳақида тушунча, уларни кишлок хўжалигида қўлланилиши.

61. Ген модифицирланган организмларни олиш усуллари ва улар туғрисида дунё олимларининг фикрлари.

62. Усимлик туқима ва органларини *in vitro* культураси, улардан фойдаланиш истикболлари.

63. Хўжайраларни ўстиришда қўлланиладиган сунъий озукалар хиллари.

64. Сунъий (суяк ва қаттиқ) озукаларни тайёрлаш тартиби ва улардан фойдаланиш.

65. Сунъий озукаларни ва инструментларни стериллаш тартиби.

66. Ассентик шаронтида ишларни бажариш тартиби.

67. Каллусогенез ҳақида тушунча.

68. Соматик эмбриогенез ҳақида тушунча.

69. Ген мухандислигининг усуллари.

70. Генларни утказиш тартиби ва усуллари.

71. Хромосом муҳандислиги ҳақида тушунча.

72. Хромосомаларни утказиш тартиби.

73. Биотехнологияда гаплоидлар усули ва уни ахамияти.

74. Регенерант усимликлар ҳақида тушунча ва уларни олиш тартиби.

75. Эмбриокультура усули орқали олинган регенерантларни туцроққа утказиш тартиби.

ТЕСТ САВОЛЛАРИ

1. Селекциянинг ноанъанавий усулларга қайси усуллар киради?

- a) биотехнология, ген муҳандислиги, ҳужайра селекцияси
- b) полиплоидия, мутагенез, гетерозис
- c) узок дурагайлаш, турлараро дурагайлаш
- d) якка ва оммавий танлаш

2. *In vitro* деганда нимани тушунасиш?

- a) усимлик объектларни сунъий озукда асептик шароитда устириш
- b) усимликларни дала шароитида устириш
- c) усимликларни иссиқхона шароитида устириш
- d) уруғларни термостат шароитида устириш

3. Тотипотентлик – бу ...

- a) соматик ҳужайраларни бутун организмнинг генетик потенциалини амалга ошириш хусусияти
- b) муртак халтачанинг уруғкуртак интегумент ёки нуцеллус қисмларидан шаклланиши
- c) муртак фақат урғочи ядро ҳисобига ривожланиши
- d) усимлик ҳужайрасида мавжуд бўлган хромосомалар асосий тупламининг икки, уч ва ҳақозо марта ортиши

4. Омнипотентлик – бу ...

- a) соматик ҳужайраларнинг ядросида зигота ядросининг барча генетик ахборотни сақлаш хусусияти
- b) соматик ҳужайраларни бутун организмнинг генетик потенциалини амалга ошириш хусусияти
- c) муртак халтачанинг уруғкуртак интегумент ёки нуцеллус қисмларидан шаклланиши
- d) тўғри жавоб йўқ

5. Эксплант деганда нимани тушунасиш?

- a) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо бўлган дедифференцирланган ҳужайралар гуруҳи
- b) ген муҳандислиги усули билан олинадиган ҳужайрадаги хромосоманинг маълум бир қисми

с) сунъий озуқада ўстириладиган ёки бирламчи каллус олиш учун фойдаланиладиган туқима ёки органнинг қисми

д) биотехнологик ишларда фойдаланиладиган ўсимликлар гуруҳи

6. Каллус – бу ...

а) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо бўлган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

б) ген муҳандислиги усули билан олинадиган хужайрадаги хромосоманинг маълум бир қисми

с) сунъий озуқада ўстириладиган ёки бирламчи каллус олиш учун фойдаланиладиган туқима ёки органнинг қисми

д) мавжуд бўлган хужайраларнинг қупайиши йўли билан хужайра ва туқималарнинг янгидан пайдо бўлиши

7. Проллиферация нима?

а) янги озуқа муҳитига ўтказиладиган каллус туқиманинг қисми

б) мавжуд бўлган хужайраларнинг қупайиши йўли билан хужайра ва туқималарнинг янгидан пайдо бўлиши

с) хужайра, туқима ёки органдан бутун бир организмнинг тикланиши (ўстирилиши)

д) янги озуқа муҳитига ўтказиладиган каллус туқиманинг қисми

8. Трансплант нима?

а) хужайра, туқима ёки органдан бутун бир организмнинг тикланиши (ўстирилиши)

б) мавжуд бўлган хужайраларнинг қупайиши йўли билан хужайра ва туқималарнинг янгидан пайдо бўлиши

с) янги озуқа муҳитига ўтказиладиган каллус туқиманинг қисми

д) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо бўлган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

9. Регенерация деганда нима тушунилади?

а) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо бўлган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

б) сунъий озукада устирилаётган ёки бирламчи каллус олиш учун фойдаланиладиган тукима ёки органнинг қисми

с) янги озука мухитига утказиладиган каллус тукиманинг қисми

д) хужайра, тукима ёки органдан бутун бир организмнинг тикланиши (устирилиши)

10. Морфогенез *in vitro* – бу ...

а) *In vitro* хужайра ва тукима культурасида хужайра (цитогенез), тукима (гистогенез) ва орган (органогенез) ларни пайдо бўлиши, ўсиши ва ривожланиши

б) *In vitro* хужайра культурасида хужайра (цитогенез) ларни пайдо бўлиши, ўсиши ва ривожланиши

с) *In vitro* тукима культурасида тукима (гистогенез) ларни пайдо бўлиши, ўсиши ва ривожланиши

д) *In vitro* хужайра ва тукима культурасида орган (органогенез) ларни пайдо бўлиши, ўсиши ва ривожланиши

11. Ўсимлик хужайрасидан протопластлар биринчи марта қайси йул билан ажратиб олинди?

а) ферментатив йул билан

б) механик йул билан

с) кимёвий йул билан

д) физикавий йул билан

12. Протопластларни механик йул билан ажратганда хужайралар нимани ичига солинади?

а) плазмолитик ичига

б) фермент ичига

с) сувни ичига

д) ҳеч нарсага

13. Ўсимлик хужайрасининг протопластларни энзиматик йул билан биринчи марта ким ажратди?

а) Клеркер

б) Коккинг

с) Салтон

д) Веттер

14. Хужайра кобигини йукотишда кайси ферментдан фойдаланилади?

- a) пектиназа
- b) целлюлаза
- c) лизоцим
- d) туғри жавоб йук

15. Инкубацион аралашмани филтрашдан кейин филтрада нима қолади?

- a) протопластлар
- b) ўсимлик туқимасининг қисмлари
- c) хужайранинг катта синиқлари
- d) супернатанта

16. Суспензион озукда протопластларни ажратишда ўсишининг қайси босқичи оптимал ҳисобланади?

- a) стационар
- b) хужайраларни деградация пайтида
- c) латент
- d) кеч логарифмик

17. Субкультуралаш – бу ...

- a) културал идиш ичига янги озук мухитига трансплант ёки инокулюмни ўтказиш жараёни
- b) хужайраларни экиш учун янги озук тайёрлаш
- c) янги озукга экиш учун хужайраларни тайёрлаш
- d) културал идиш ва инструментларни стериллаш

18. Инокулюм нима?

- a) хужайра, туқима ёки органдан бутун бир организмнинг тикланиши (ўстирилиши)
- b) мавжуд бўлган хужайраларнинг қупайиши йули билан хужайра ва туқималарнинг янгидан пайдо бўлиши
- c) янги озук мухитига ўтказиладиган хужайра суспензиясининг қисми
- d) тартибсиз пролиферация йули билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо бўлган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

19. Штамм – бу ...

a) биринчи субкультураладан кейин пайдо булган, бирламчи каллус хужайралардан юзага келган ва кўп хужайра тизмалардан иборат булган культураси

b) битта хужайрадан пайдо булган культура

c) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо булган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

d) маркер белгиларга эга булган, селекция ёки клонлаш йўли билан штамдан пайдо булган культура

20. Тизма – бу ...

a) биринчи субкультураладан кейин пайдо булган, бирламчи каллус хужайралардан юзага келган ва кўп хужайра тизмалардан иборат булган культураси

b) маркер белгиларга эга булган, селекция ёки клонлаш йўли билан штамдан пайдо булган культура

c) битта хужайрадан пайдо булган культура

d) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо булган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

21. Клон – бу ...

a) маркер белгиларга эга булган, селекция ёки клонлаш йўли билан штамдан пайдо булган культура

b) тартибсиз пролиферация йўли билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо булган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи

c) битта хужайрадан пайдо булган культура

d) биринчи субкультураладан кейин пайдо булган, бирламчи каллус хужайралардан юзага келган ва кўп хужайра тизмалардан иборат булган культураси

22. Алохидаланган протопласт – бу ...

a) ферментатив ёки механик йўл билан қобиғи йукотилган усимлик хужайраси

b) генотипи ўзгарган усимлик хужайраси

c) хромосомаларнинг асосий сони қўпайган усимлик хужайраси

d) ядросиз усимлик хужайраси

23. Кариотип – бу ...

- a) маълум турга мансуб хромосомалар йиғиндиси
- b) усимлик хужайрасидаги хромосомаларнинг гаплоид сони
- c) усимлик хужайрасидаги хромосомаларнинг полиплоид сони
- d) маълум турга мансуб генлар йиғиндиси

24. Регенерант – бу ...

- a) тартибсиз пролиферация йули билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо булган дедифференцирланган хужайралар гуруҳи
- b) хужайра, туқима ёки органдан тикланган (устирилган) организм
- c) янги озука муҳитига утказиладиган каллус туқиманинг қисми
- d) сунъий озукада устириладиган ёки бирламчи каллус олиш учун фойдаланиладиган туқима ёки органининг қисми

25. Эмбриоидогенез деганда нима тушунилади?

- a) эмбриоидлардан бутун организмнинг тикланиши (устирилиши)
- b) усимлик органларининг пайдо булиши, усиши ва ривожланиши
- c) усимлик илдизларининг пайдо булиши, усиши ва ривожланиши
- d) туқима ва хужайра *in vitro* культурасида жинсий йули билан муртаксимон структураларни (эмбриоидларни) пайдо булиш жараёни

26. Трансген организмларни олиш усули – бу ...

- a) бегона гени соматик хужайрага киритиш
- b) бегона гени тухум хужайрага киритиш
- c) бегона гени сперматозоидга киритиш
- d) бегона гени митохондрияга киритиш

27. Фитогормонлар (усимлик гормонлари) – бу ...

- a) усимликни усиш ва ривожланишини тухтатадиган биологик актив бирикмалар
- b) усиш ва ривожланишига ёрдам берадиган, усимликларда кам микдорда пайдо буладиган биологик актив бирикмалар

с) усимликларда кам миқдорда пайдо буладиган, касаллик ва зараркунандаларга чидамлиликини оширадиган биологик актив бирикмалар

д) усимликларда кам миқдорда пайдо буладиган, ҳосил сифатини оширадиган биологик актив бирикмалар

28. Ауксинлар деганда нима тушунилади?

а) усимликни усиш ва ривожланишини тўхтатадиган биологик актив бирикмалар

б) усимликларда кам миқдорда пайдо буладиган, ҳосил сифатини оширадиган биологик актив бирикмалар

с) усиш ва ривожланишига ёрдам берадиган, усимликларда кам миқдорда пайдо буладиган биологик актив бирикмалар

д) поя ва илдизларни усишини кучайтирадиган, усимталарда илдизлар пайдо бўлишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (ИУК, НУК, 2,4-Д)

29. Цитокининлар деганда нима тушунилади?

а) поя ва илдизларни усишини кучайтирадиган, усимталарда илдизлар пайдо бўлишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (ИУК, НУК, 2,4-Д)

б) меристемаларни ривожланишини кучайтирадиган, усимталар пайдо бўлишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (кинестин, 6-БАП)

с) усиш ва ривожланишига ёрдам берадиган, усимликларда кам миқдорда пайдо буладиган биологик актив бирикмалар

д) поялар усишини кучайтирадиган, уруғлар унишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (ГК ва х.к.)

30. Гиббереллинлар деганда нима тушунилади?

а) поялар усишини кучайтирадиган, уруғлар унишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (ГК ва х.к.)

б) меристемаларни ривожланишини кучайтирадиган, усимталар пайдо бўлишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (кинестин, 6-БАП)

с) поя ва илдизларни ўсишини кучайтирадиган, ўсимталарда илдизлар пайдо бўлишини тезлаштирадиган фитогормонлар гуруҳи (ИУК, НУК, 2,4-Д)

д) ўсимликларда кам микдорда пайдо бўладиган, ҳосил сифатини оширадиган биологик актив бирикмалар

31. Клонал микроқупайтириш – бу ...

а) бошланғич ўсимликка генетик жиҳатдан айнан ухшаш, жинссиз йўли билан *in vivo* да ўсимликларни олиш

б) вегетатив йўл билан қупаядиган ўсимликларни қупайтириш

с) бошланғич ўсимликка генетик жиҳатдан айнан ухшаш, жинссиз йўли билан *in vitro* да ўсимликларни олиш

д) иссиқхона ва лаборатория шароитида вегетатив йўл билан қупаядиган ўсимликларни қупайтириш

32. Селектив шароитлар ёрдамида мутант ҳужайралар ва соматклонал вариацияларни ажратиш усули – бу ...

а) ҳужайра селекцияси

б) ген муҳандислиги

с) биотехнология

д) ҳужайра муҳандислиги

33. Ҳужайра муҳандислиги асосида нима ётади?

а) селектив шароитлар ёрдамида мутант ҳужайралар ва соматклонал вариацияларни ажратиш усули

б) бошланғич ўсимликка генетик жиҳатдан айнан ухшаш, жинссиз йўли билан *in vitro* да ўсимликларни олиш

с) бошқариладиган шароитларда сунъий озук муҳитида алоҳидаланган ҳужайра ва туқималарни ўстириш усулларидан фойдаланиш

д) ҳужайраларни бир-бири билан дурагайлаш

34. Соматик дурагайлаш – бу ...

а) *in vitro* шароитида ҳужайраларни қупайтириш

б) туқима культурасида иккита ҳар хил ҳужайраларни қушилиши

с) вегетатив йўл билан қупаядиган иккита организмларни чатиштириш

d) вегетатив йул билан кўнаядиган бир неча организмларни дурагайлаш

35. Стерил қўлтура ...

- a) ҳар қандай бегона микроорганизмлардан холи
- b) фақат битта тур микроорганизмларни ўз ичига олади
- c) иккита ва ундан кўпроқ тур микроорганизмларни ўз ичига олади
- d) фақат иш учун керакли микроорганизмларни ўз ичига олади

36. Иш бошлашдан олдин бокс ...

- a) ювилади
- b) кварцланади
- c) ювилади ва кварцланади
- d) супурилади

37. Стерилизация – бу ...

a) барча микроорганизмларни ва уларни тинч ҳолатидаги шаклларни йўқ қилиш

- b) табиий манбадан бактерияларни ажратиб олиш
- c) патоген микроорганизмларни йўқотиш
- d) туғри жавоб йўқ

38. Стерилизация усуллариға нималар қиради?

- a) водопровод суви билан ювиш
- b) дистилланган суви билан ювиш
- c) ультрабинафша нурланиш билан ишлов бериш
- d) рентген нурлар билан ишлов бериш

39. Усиш ва ривожланишиға ёрдам берадиган, усимликларда кам микдорда пайдо буладиган биологик актив бирикмалар дейилади.

- a) цитокининлар
- b) фитогормонлар
- c) ауксинлар
- d) гиббереллинлар

40. Хужайра, туқима ёки органдан тикланган (устирилган) организм дейилади.

- a) реципиент
- b) эксплант
- c) трансген
- d) регенерант

41. Тукима ва ҳужайра *in vitro* культурасида жинсий нули билан муртаксимон структураларни (эмбрионларни) пайдо булш жараёни дейилади.

- a) эмбриондогенез b) регенерация
c) мутация d) цитокинез

42. Маълум турга мансуб хромосомалар йнгиндиси дейилади.

- a) полиплоидия b) генотип
c) кариотип d) гаплоидия

43. Ферментатив ёки механик йул билан кобиғи йукотилган ўсимлик ҳужайраси дейилади.

- a) регенерант b) протопласт
c) прокариот d) зукариот

44. Сунъий озукада устириладиган ёки бирламчи каллус олиш учун фойдаланиладиган тукима ёки органининг қисми дейилади.

- a) эксплант b) регенерант
c) протопласт d) каллус

45. Тартибсиз пролиферация йули билан *in vivo* ёки *in vitro* орқали пайдо булган дедифференцирланган ҳужайралар гуруҳи дейилади.

- a) эксплант b) суспензия
c) протопласт d) каллус

46. Янги озука муҳитига утказиладиган каллус туқиманинг қисми дейилади.

- a) трансплант b) эксплант
c) каллус d) протопласт

47. Ҳужайра, тукима ёки органдан бутун бир организмнинг тикланиши (устирилиши) дейилади.

- a) трансплантация b) регенерация
c) детерминация d) дегенерация

48. Ўсимлик объектларни сунъий озукада асептик шароитда устириш дейилади.

- a) *In vivo* b) *In valio*

c) *In vitro*

d) *In vitro*

49. Селектив шароитлар ёрдамида мутант ҳужайралар ва соматоклонал вариацияларни ажратиш дейилади.

- a) ҳужайра селекцияси b) ҳужайра муҳандислиги
c) ген муҳандислиги d) биотехнология

50. Соматик ҳужайраларни бутун организмнинг генетик потенциални амалга ошириш хусусияти дейилади.

- a) омнипотентлик b) эмбриондогенез
c) тотипотентлик d) регенерация

ФАННИ УЗЛАШТИРИШ УЧУН ТАВСИЯ ЭТИЛАДИГАН АДАБИЁТЛАР РҲЙХАТИ

1. Мирзиёев Ш.М. Эркин ва фаровон демократик Ўзбекистон давлатини биргаликда барпо этамиз. Тошкент, “Ўзбекистон” НМИУ, 2017. – 56 б.

2. Мирзиёев Ш.М. Қонун устуворлиги ва инсон манфаатларини таъминлаш юрт тараккиёти ва халқ фаровонлигининг гарови. “Ўзбекистон” НМИУ, 2017. – 47 б.

3. Мирзиёев Ш.М. Буюк келажакимизни мард ва олижаноб халқимиз билан бирга курамиз. “Ўзбекистон” НМИУ, 2017. – 485 б.

4. Мирзиёев Ш.М. Танкидий таҳлил, қатъий тартиб-интизом ва шахсий жавобгарлик-ҳар бир раҳбар фаолиятининг кундалик қондаси бўлиши керак. “Ўзбекистон” НМИУ, 2017. – 103 б.

5. Мирзиёев Ш.М. Танкидий таҳлил, қатъий тартиб интизом ва шахсий жавобгарлик – ҳар бир раҳбар фаолиятининг кундалик қондаси бўлиши керак. Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2016 йил яқунлари ва 2017 йил истиқболларига бағишланган мажлисдаги Ўзбекистон Республикаси Президентининг нутқи. Халқ сузи газетаси. 2017 йил 16- январ №11.

6. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги “Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси туғрисида” ги ПФ-4947-сонли Фармони. Ўзбекистон Республикаси қонун ҳужжатлари тўплами, 2017 й., 6-сон, 70-модда

7. Раҳманқулов С.-А., Азизходжаев А., Даминова Д.М., Раҳманқулов М.С. Нестрадиционные методы в селекции хлопчатника. Монография. Т., «Фан», 2009.

8. Кучеренко Л.А. Подходы к разработке технологии массовой регенерации растений *in vitro*. Биология культивируемых клеток и биотехнология растений. М., «Наука», 1991.

9. Сорокина И.К., Старичкова Н.И., Ршестникова Т.Б., Гринь Н.А. Основы биотехнологии растений. Культура клеток и тканей: Учебное пособие, 2002.

10. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология

морфогенеза растений. Учеб. Пособие. М., 1964.

11. Биотехнология растений: культура клеток: Пер. с англ. В.И. Негрука. Учеб. пособие М., 1989.

12. Полевой В.В. Фитогормоны: Учеб. пособие. Л., 1982.

13. Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений, Киев, Учеб. пособие 1998.

14. Батыгина Т.Б. Эмбрионид // Эмбриология цветковых растений. Терминология и конценции. Учеб. Пособие. Т. 2. СПб., 1997.

15. http://www.f.mx.ru/biologiya/novejshie_metody_seleksii

16. [http://www.e-reading.ws/bookreader.php/1020762/](http://www.e-reading.ws/bookreader.php/1020762/Kleschenko_Elena_-_GMO_gorodskie_mify.html)

[Kleschenko Elena - GMO gorodskie mify.html](http://www.e-reading.ws/bookreader.php/1020762/Kleschenko_Elena_-_GMO_gorodskie_mify.html)

17. <http://agro-portal.su>

18. <http://www.cbio.ru/>

19. <http://stra.teg.ru/lenta/innovation/>

20. <http://www.ziyonet.uz>.

МУНДАРИЖА

СУЗ БОШИ	3
1-МАВЗУ: РЕСПУБЛИКАМИЗДА СЕЛЕКЦИЯ ВА УРУҒЧИЛИҚДА НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАРНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА УЛАРНИНГ ХИЛЛАРИ	5
2-МАВЗУ: БИОТЕХНОЛОГИЯ ҲАҚИДА ТУШУНЧА ВА УНИНГ АҲАМИЯТИ	21
3-МАВЗУ. РИВОЖЛАНГАН МАМЛАКАТЛАРДА БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ РИВОЖЛАНИШИ ВА УНИНГ ЮТУҚЛАРИ ...	47
4-МАВЗУ. БИОТЕХНОЛОГИК УСУЛЛАР ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ	49
5-МАВЗУ. ҲУЖАЙРА СЕЛЕКЦИЯСИ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ	53
6-МАВЗУ. ҲУЖАЙРА СЕЛЕКЦИЯСИ ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ	56
7-МАВЗУ. ҲУЖАЙРА МУХАНДИСЛИГИ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ	61
8-МАВЗУ. ҲУЖАЙРА МУХАНДИСЛИГИ ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ	66
9-МАВЗУ. СОМАТИК ДУРАГАЙЛАШ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШДА ҚУЛЛАНИЛИШИ	76
10-МАВЗУ. ГЕН МУХАНДИСЛИГИ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ	79
11-МАВЗУ. ГЕН МУХАНДИСЛИГИ ЁРДАМИДА ЯНГИ НАВЛАРНИ ЯРАТИШ	86
12-МАВЗУ. ГЕН МОДИФИЦИРЛАНГАН ОРГАНИЗМЛАР ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УЛАРНИ ҚИШЛОҚ ХУЖАЛИГИДА ҚУЛЛАНИЛИШИ	88
13-МАВЗУ. МАРКЕРЛАРГА АСОСЛАНГАН СЕЛЕКЦИЯ ҲАҚИДА ТУШУНЧА, УНИ РИВОЖЛАНИШИ ВА АҲАМИЯТИ	93
14-МАВЗУ. НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАР ЁРДАМИДА ЧАТИШМАСЛИКНИ БАРТАРАФ ЭТИШ ЙУЛЛАРИ	121
15-МАВЗУ. ВИРУССИЗ МАТЕРИАЛНИ НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАР ЁРДАМИДА ҚУПАЙТИРИШ ЙУЛЛАРИ	124
III. ГЛОССАРИЙ	136
НАЗОРАТ УЧУН САВОЛЛАР	145
ТЕСТ САВОЛЛАРИ	149
ФАШНИ ЎЗЛАШТИРИШ УЧУН ТАВСИЯ ЭТИЛАДИГАН АДАБИЁТЛАР РУЙХАТИ	160

Раҳманкулов М.С.

ҚИШЛОҚ ХУЖАЛИК ЭКИНЛАРИ СЕЛЕКЦИЯСИ ВА УРУҒЧИЛИГИДА НОАНЪАНАВИЙ УСУЛЛАР

ДАРСЛИК

Мухаррир *М.Талипова*
Мусаххих *И.Турсунова*
Саҳифаловчи *Б.Ҳайдаров*

Босишга рухсат этилди 14.04.2022.
Бичими 60x84 1/16. "Times" гарнитураси.
Шартли босма табағи 10.25. Нашр ҳисоб табағи 8,9.
Адади 50 нусхада. Буюртма № 14-04

«LESSON PRESS» МЧЖ нашриёти
100071, Тошкент ш., Комолон, Эркин тор кучаси, 13

«IMPRESS MEDIA» МЧЖ босмаҳонасида чоп этилди
Манзил: Тошкент ш., Кушбеги кучаси, 6-уй.