

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI
TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi

fanidan

MA'RUZALAR MATNI



Toshkent 2019

Ushbu ma'ruza matni fanning ishchi o'quv dasturi, o'quv, ishchi o'quv reja va o'quv dasturiga muvofiq ishlab chiqildi.

Tuzuvchi: Artikova R.M. - Biotehnologiya kafedrasida dotsenti, b.f.n..

Taqrizchilar: Abzalov.A.A – Toshkent Farmatsevtika instituti Tibbiy va biologik fanlar kafedrasining professori, farmatsevtika fanlari nomzodi

G'.U. Qobilov - Toshkent kimyo texnologiyalari instituti,
biotexnologiya kafedrasida mudiri

Fanning ma'ruza matni "Biotexnologiya" kafedrasining 2019 yil

"_____"dagi «____» - son yig'ilishida muhokamadan o'tdi

"Biotexnologiya" kafedrasida mudiri:_____ X.T.Zairova

Fanning ma'ruzalar matni Sanoat farmatsiyasi soxa-uslubiy kengashining 2019 yil

"_____"dagi «____» - son yig'ilishida muhokamadan qilindi va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Soxa-uslubiy kengash raisi: _____ V.R.Xaydarov

Fanning ma'ruza matni Markaziy uslubiy kengashning 2019 yil

"_____"dagi «____» - son yig'ilishida muhokamadan qilindi va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Markaziy uslubiy kengash raisi : _____ Z.A.Yuldashev

Mundarija

- 1-ma'ruza. Fanga kirish. fanning maqsad va vazifalari
- 2-ma'ruza. O'simlikshunoslik va seleksiyada hujayra hamda to'qimalar biotexnologiyasi
hujayra va to'qimlar kulturas
- 3-ma'ruza. O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalarini kulturlash texnikasi usullari
- 4-mavzu. O'simlik hujayra va to'qimalarini kulturalash sharoiti
- 5-ma'ruza. Kallus to'qimalari kulturas
- 6-ma'ruza. Gormonga bog'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari
- 7-ma'ruza. Hujayralarning suspenziyal kulturas
- 8-ma'ruza. Yakka hujayralar kulturas
- 9-ma'ruza. Kallus to'qimalarida morfogenez
- 10-ma'ruza. Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus hujayralari kulturas
- 11-ma'ruza. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish
- 12-ma'ruza. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari
- 13-ma'ruza. Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish
- 14-ma'ruza. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga genetik fiziologik gormonal va fizik omillar ta'siri
- 15-ma'ruza. O'simliklar seleksiyasida alohida ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturas
- 16-ma'ruza. O'simlik hujayra va to'qimalarini kriosaqdash
- 17-ma'ruza. Hujayralar muhandisligi usullari yordamida abiotik va biotik stress omillarga chidamli regenerant o'simliklar olish
- 18-ma'ruza. Protoplastlarni ajratish, kulturalash va bir-biriga qo'shish
- 19-ma'ruza. Biotexnologiya va o'simlikshunoslikda fitogormonlar hamda o'simliklarni o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar
- 20-ma'ruza. Fitogormonlar klassifikasiyasi, strukturasi va funksiyasi
- 21-ma'ruza. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar
- 22-ma'ruza. Biotexnologiyada o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi fitogormon va sun'iy regulyatorlar
- 23-ma'ruza. Fitogormon va fitoregulyatorlarni olishning biotexnologik usullari
- 24-ma'ruza. O'simliklarni himoya qilish tizimida fitoregulyatorlar
Foydalanilgan adabiyotlar

1-MA'RUZA

Fanga kirish. Fanning maqsad va vazifalari

REJA:

- 1.Kirish
- 2.Fanning maqsad va vazifalari
- 3.Fanning rivojlanish jrayonlari
4. Fan rivojlanishiga hissa qo'shgan olimlar

Kalit so'zlar: hujayra muhandisligi, regenerasiyasi, fiziologik faol moddalar, saonatining rivojlanishi.

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

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

O'simliklar to'qimalari biotexnologiyasi hujayralarning nodir xususiyati - ularning totipotentligi, o'stirishning ma'lum sharoitida somatik hujayrani o'z xususiyatini to'liq amalga oshirishi yaxlit o'simlik sifatida etila olish xususiyati, shuningdek, yaratilgan o'simliklarni ikkilamchi sintez mahsulotlarini ishlab chiqara olish xususiyati; seleksiyada esa chidamlilik, hosildorlik va sifat uchun javobgar bo'lgan qimmatli genotiplarining ko'payishi; o'simliklarni virus va viroidlaridanozod qilish; tibbiyot va oziq-ovqat muammolarini echishda qo'llaniladigan biologik faol preparatlarni tayyorlashda foydalaniladigan qishloq ho'jalik o'simliklarining yangi nav va liniyalarini yaratish imkonini berdi. Bu sohada anchagina qiyinchiliklar ham yuzaga keldi Masalan, hujayralar qayta tiklanishi

(regenerasiyasi)ni kamayib ketishi va organizmning normal ontogenezining buzilishi, samoklonal variatsiyalarning xilma-xilligini torligi organizmlarning muhim, qimmatli ho'jalik ahamiyatiga molik bo'lgan belgilari va ikkilamchi metabolizm moddalarining sintezini nazorat qiluvchi genlar ekspressiyasining susayib ketishi kabi jarayonlar shular jumlasidandir.

Dunyo fanida biotexnologiya borasidagi inqilobiy o'zgarishlar o'tgan asrning 80 – yillarida ro'y berdi. Yangi uslubiy yondoshishlar ulardan ilmiy fan va amaliy samarali foydalanishga o'tish imkonini berdi va bundan katta iqtisodiy samara olish imkoniyati tug'ildi. Ilmiy asoslangan bashoratlarga ko'ra, XXI asrning boshlaridayoq dunyo bozoriga kelib tushadigan mahsulotlarning umumiy hajmini qariyb 20 % ini biotexnologik mahsulotlar tashkil etadi.

Mamlakatimizda biotexnologiyani o'rganish va uning yutuqlaridan ilmiy – tadqiqot ishlarida hamda amaliyotda foydalanish masalalari o'tgan asrning 70-80-yillarda shakllana boshlagan edi.

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

Bu borada O'zR FA Mikrobiologiya, Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi, O.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo institutlari, M. Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universiteti, Toshkent Farmasevtika instituti, Toshkent kimyo texnologiyalar instituti va boshqa bir qator o'quv yurtlari va Davlat ilmiy-texnikaviy va fundamental tadqiqotlar dasturi doirasida mintaqamizda biotexnologiya, ayniqsa, o'simlik, mikroob biotexnologiyasi sohasida olib borilayotgan ilmiy izlanishlar mikroorganizmlarning tarqalish qonuniyatlarini o'rganish, ular orasidan xalq xo'jaligi uchun o'ta zarur bo'lgan turlari va turkumlarini ajratib olish orqali mikroorganizmlar to'plamini yaratish, eng faol turlari asosida yangi raqobatbardosh biotexnologiyalar yaratish, mikroblar sintez qiladigan fiziologik faol moddalarni (antibiotiklar, vitaminlar, oqsil moddalar, fermentlar, fitogormonlar va h.k.) sof holda ajratib olish, ularning fizik-kimyoviy xususiyatlarini o'rganish bo'yicha chuqur ilmiy izlanishlar olib borilmoqda.

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi saonatining rivojlanishi mamlakatimiz iqtisodiyotini ko'tarishga xizmat qilishiga shak-shubha yo'q. Bu fikr bir qator rivojlangan mamlakatlar misolida o'z ifodasini topgan. Mamlakatimizda bu sohani yanada rivojlanishi uchun barcha imkoniyatlar mavjud.

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

2-MA'RUZA

O'simlikshunoslik va seleksiyada hujayra hamda to'qimalar biotexnologiyasi

Hujayra va to'qimlar kulturasi

REJA:

1. Biotexnologiyada ajratilgan hujayra va to'qimalar kulturasining asosiy yo'nalishlari
2. O'simlikdan alohida ajratilgan to'qimalarni kulturalasi tarixi
3. O'simliklar to'qimalari soxasiga xissa qo'shgan olimlar

Kalit so'zlar: Hujayra, kultura, fitogormon, texnologiya, sintez, virus.

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

Birinchi yo'nalish – ajratilgan o'simlik hujayralarining tibbiyot, parfyumeriya, kosmetika va sanoatning boshqa tarmoqlari uchun ikkilamchi sintez moddalar: alkaloidlar, steroidlar, glikozidlar, gormonlar efir moylari va

boshqa moddalarni sintez qilish xususiyati bilan bog'liq. Ikkilamchi sintez moddalar qattiq (agarli) yoki suyuq (suspensiyali kultura) oziqa muhitlarida o'stirilgan kallus to'qimalaridan olinadi. Hujayralar texnologiyasi asosida foydali o'simliklar hujayralaridan quvvatni oshiruvchi va tetiklashtiruvchi moddalar olinib, ular tibbiyot va attorlikda keng qo'llaniladi. Hujayralar seleksiyasi natijasida olingan hujayralar kulturasining mahsuldorligi yaxlit o'simliklar mahsuldorligidan yuqori bo'lishi mumkin. Bunday usulda ikkilamchi sintez moddalar olishning afzalligi shundaki, bizning tabiiy sharoitimizda o'smaydigan o'simliklardan butun yil mobaynida mahsulot olish mumkin.

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

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

Shuningdek, bu yo'nalish orqali ajratilgan protoplastlarni qo'shish va jinssiz (somatik) duragaylar olish yo'li bilan yangi o'simliklar yaratish ishlarini ham amalga oshirish mumkin. Gen muxandisligi usullari yordamida ajratilgan protoplastlarga yot genlarni kiritish kelajakda yangi xususiyatli o'simliklar olish imkonini beradi. Ajratilgan changdon va urug' kurtaklarni sun'iy oziqa muhitida kulturalash orqali gaploidlar olish, puch, unmaydigan (endosperi yaxshi rivojlanmagan) duragay urug'lardan o'simliklar olishga erishish mumkin. Probirkada chatishtirish orqali esa ba'zi o'simliklarning o'zaro chatishmasligini engish mumkin. Hujayra va to'qimalar kulturasidan foydalanishda muvaffaqiyatga erishish uchun, avvalombor hujayralarning normal bo'linishi, differensiyalanishi va regenerasiyalanib, ulardan etuk o'simlik hosil bo'lishi kabi fiziologik jarayonlarni optimallashtirish zarur.

Alohida hujayralardan o'simlik regenerasiyalash ancha murakkab jarayondir. Ayniqsa donli ekinlarda bu ishni amalga oshirish ancha qiyin. Shuning uchun in vitro morfogenez, regenerasiya va ular asosida yotuvchi jarayonlar mexanizmini aniqlash muhim ahamiyatga ega.

O'simlikdan alohida ajratilgan to'qimalarni kulturalashga ancha yillardan buyon harakat qilib kelingan.

1892 –1902 yillar - Xaberlandt, Fyoxting, Rexinger kabi nemis tadqiqotchilari nomlari bilan bog'liq. Ular tomonidan saxaroza eritmasida turli o'simliklarni kulturalashga harakat qilingan. Qoqio't va terak poyasi segmentlarida birinchi kallus to'qimalari olingan va kallus hosil qilishga qobiliyatli segmentlarning minimal o'lchami aniqlangan. Xaberlandt har qanday o'simlik hujayrasining totipotentligini ya'ni hujayra o'zining rivojlanish potensialini sarflab, ma'lum kulturalash sharoitida etuk o'simlik hosil qilish qobiliyati haqidagi ilmiy nazariyalarni ilgari surgan.

1902 –1922 yillarda hayvon to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhiti yaratildi. Bu oziqa muhitlar tabiiy kelib chiqishga ega bo'lib, tarkibi qon plazmasi va embrion (pusht) suyuqligidan iborat bo'lgan. Bu davrda ajratilgan o'simlik to'qimalarini o'simlik ekstrakti tutuvchi sun'iy oziqa muhitlarida o'stirishga bo'lgan urinishlar muvaffaqiyatsiz chiqdi, chunki tajribalar uchun yuksak o'simliklarning o'sish faolligini kam namoyon qiladigan hujayra va to'qimalari tanlangan edi.

1922 – 1932 yillarda amerika olimi V.Robins va nemis olimi Kotte bir-biriga bog'liq bo'lmagan holda pomidor va makkajo'xori ildiz meristemalarini qattiq oziqa muhitlarida kulturlash imkoniyatining mavjud ekanligini aniqlashdi. Ammo ma'lum vaqt o'tgandan so'ng, o'simlik to'qimalari qo'ng'ir rangga kirib nobud bo'lgan. O'simlik to'qimalarni kulturlash usulining xaqiqiy rivojlanishi davri 1932 yildan boshlandi.

1932-1940 yillar fransuz olimi R.Gotre nomi bilan bog'liq. U o'simlik to'qimalarini in vitro sharoitida uzoq vaqt kulturlashga to'qimalarni vaqti – vaqti bilan yangi oziqa muhitga ko'chirib o'tkazish orqali erishish mumkinligini

isbotladi. Bu kashfiyot to'qimalar kulturasi bo'yicha yangi ishlarning boshlanishiga turtki bo'ldi.

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

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

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

1975 yildan hozirgi kunga qadar) in vitro texnikasi jadal rivojlanishi davom etmoqda, kulturalanayotgan ob'ektlar biologiyasi o'rganilmoqda, ajratilgan protoplastlarni elektr toki yordamida qo'shish usullari, hujayralar seleksiyasi va mutagenezi usullari, gaploid o'simliklar yaratish usullari yaratilmoqda. Protoplastlar va *Agrobacterium tumefaciens* va *A. rhizogenes*ning Ti va Ri

plazmidalari asosidagi vektorlaridan foydalanib, hujayralarni chuqur kulturalash usullari mukammallashtirilmoqda. Gen muxandisligi usullari yordamida ikki pallali o'simliklar hujayrasiga genlarni ko'chirib o'tkazishning samarali usullari ishlab chiqildi.

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

Nazorat savollari

1. Xujayra va to'qimalarni In vitro o'stirish sharoitlari
2. Eksplantlarda adventiv kurtaklarning paydo bo'lishini induksiyalash usulidan o'simliklarni ko'paytirishda foydalanish to'g'risida ma'lumot bering
3. O'simliklar to'qimalari biotexnologiyasi fanining rivojlanishiga hissa qo'shgan olimlar

3-MA'RUZA

O'simlikdan ajratilgan hujayra va to'qimalarini kulturalash texnikasi usullari

REJA:

1. Eksplantlarni sterillash usullari
2. Laminar boksda sterillikni amalga oshirish
3. Oziqa muhitlarini sterillash

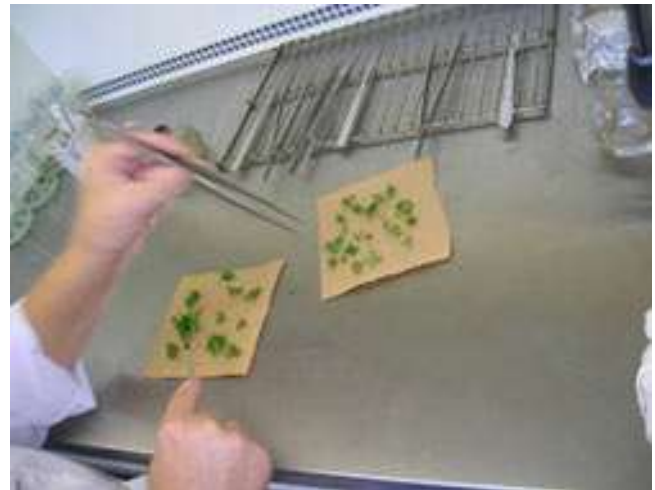
Kalit so'zlar: Sterillash, mikroorganizmlar. Laminar boks, ajratilgan to'qimalar, kulturalash, oziqa muxiti.

Sterillash. O'simlikdan ajratilgan to'qimalar (eksplantlar) kulturalanadigan oziqa muhitining boy tarkibi mikroorganizmlar o'sishi uchun ham yaxshi substrat hisoblanadi. Oziqa muhitda kulturalanayotgan o'simlik eksplantlarni mikroorganizmlar oson zararlaydi. Shuning uchun eksplant ham, oziqa muhiti

ham sterillangan bo'lishi shart. Ajratilgan to'qimalar bilan olib boriladigan barcha ishlar (kulturaga o'tkazish, yangi oziqa muhitiga ko'chirish) steril xonalarda, (laminar bokslarda) steril asboblardan yordamida amalga oshiriladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash lozim. (3.1-rasm)



A



B

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

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

Idishlar quritish shkaflarida quruq issiq yoki avtoklavda nam bug' yordamida sterillanadi. Sterillashdan oldin idishlarni idish yuvish vositalari va kaliy bixromatning sulfat kislotasidagi eritmasi yordamida tozalab yuviladi, distillangan suvda chayiladi va zar qog'ozga yoki oddiy qog'ozga o'rab, quritish shkaflarida 160⁰S haroratda 2 soat davomida qizdirib yoki 25-30 daqiqa 2 atmosfera bosim ostida avtoklavlab sterillanadi .

O'simlik materiallari sterillash uchun quyidagi jadvalda berilgan eritmalaridan foydalaniladi. (1.1-jadval).

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

Ob'ekt	Sterillash vaqti		
	0,1 % li diasid	0,1 % li sulema	10-12 li vodorod peroksidi
1	2	3	4
Quruq urug'lar	15-20	10-15	12-15
Ivitilgan rug'lar	6 -10	6 – 8	6 –8
Poya to'qimalari	20-40	20-25	-
Barglar	1-3	0,5-3	3-5
Apekslar	1-10	0,5-0,7	2-7

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

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

Oziqa muhitlari avtoklavda 120⁰S haroratda 0,75 –1 atm bosimda 20 minut davomida sterillanadi. Agar oziqa muhit tarkibiga yuqori haroratda parchalanib ketuvchi moddalar kiritilgan bo'lsa, u holda bu moddalar maxsus mayda teshikli (diametri 0,15-0,45 mkl teshikli) bakterial filtrlardan o'tkazib tozalanadi, so'ng avtoklavlangan va 40⁰S ga cha sovutilgan asosiy oziqa muhitga qo'shiladi.

Oziqa muhitlar. O'simlikdan ajratilgan xujayra va to'qimalar ko'p komponentli oziqa muhitlarda kulturalanadi. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun oziqa muhitlari tarkibida o'simlik uchun zarur bo'lgan barcha

makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kalsiy, magniy, oltingugurt, temir) mikroelementlar (bor, marganes, rux, mis, molibden va boshqalar) shuningdek vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularning analoglarini tutishi zarur. Ba'zi oziqa muhitlarga kazein gidrolizati, aminokislotalar ham qo'shiladi. Bundan tashqari, hujayraning temirga bo'lgan talabini qondirish uchun oziqa muhitlar tarkibiga EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uning natriyli tuzi kiritiladi.

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

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

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

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

Sun'iy oziqa muhitlarda sitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzilaminopurin (BAP), zeatindan foydalaniladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirishda, organlarni hosil qilishda kinetinga nisbatan 6-BAP va zeatindan foydalanish ko'proq samara beradi. Ba'zi oziqa muhitlar tarkibiga adenin qo'shiladi.

Hozirgi vaqtda tarkibi jihatidan bir-birlaridan farq qiluvchi bir nechta oziqa muhitlari ma'lum. Lekin ajratilgan hujayra va to'qimalarni in vitro o'stirish uchun asosan 1962 yilda T. Murasiga va F Skuga tomonidan yaratilgan tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Bu muhitda oziqa moddalar tarkibi balanslangan bo'lib, ammoniyli va nitratli azotning nisbati bilan boshqalaridan farq qiladi. Qattiq oziqa muhiti tayyorlash uchun dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxarid agar-agar moddasidan foydalaniladi.(2-jadval). Makro-mikro elementlar tuzlari eritmalarini, shuningdek vitaminlar va fitogormonlarning konsentrlangan (miqdori oshirilgan) eritmalarini tayyorlab, ulardan oz miqdorda olib, suyultirib ishlatish mumkin. Konsentrlangan boshlang'ich eritmalar sovutgichda saqlanadi.

2-jadval. O'simlikning ajratilgan xujayra va to'qimalarini kulturalash uchun oziqa muhitlar tarkibi R.G.Butenko 1999

Oziqa muhit komponentlari	Konsentrasiyasi mg/l			
	Murasiga- Skuga	Gamborga	Shenka- Xildebrandt	Gressxoff- Dou
NH_4NO_3	1650	2500	2500	--
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	--	--	300	--
KNO_3	1900	--	--	1000
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	400	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	--	130	--	200
KH_2PO_4	170	--	--	--
Na_2EDTA	37,3	37,3	20,0	37,3
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,95	27,85	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	--	150	--	90
H_3BO_3	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
$\text{CoU}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,1	0,25
Glisin	2,0	--	--	2,0
Mezoinozit	100	100	1000	10
Nikotin kislotalari	0,5	1,0	5,0	1,0
Piridoksin – HCl	0,5	1,0	0,5	0,1
Tiamin-HCl	1	10,0	5,0	0,1
2,4-D	--	0,1-	--	--

		1,0		
Kinetin	--	0,1	0,1	--
Glutamin	--	--	--	2,0
Saxaroza	30 000	30 000	30 000	20 000

Nazorat savollari

1. Dastlabki o'simlik materiallarini sterilizatsiya qilish
2. Xujayra va to'qimalarni ajratish usullari
3. Xujayra va to'qimalar biotxnologiyasi soxasiga hissa qo'shgan olimlar

4-MAVZU

O'simlik hujayra va to'qimalarini kulturalash sharoiti

REJA:

1. Ajratilgan hujayra va to'qimalarini kulturalash sharoitlari
2. Kallus to'qimalarini o'stirish
3. O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirishda xonalarni yoritish darajasi
4. O'simlik to'qimalarining o'sishida yoritish darajasi

Kalit so'zlar: kallus to'qimalari, kulturalash sharoiti, morfogenez, sochma nur, meristemalar.

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

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

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

Mazkur kulturalanayotgan ob'ekt uchun zarur bo'lgan fotodavrni hisobga olish zarur. Kulturalar o'sayotgan xonada namlik 60-70% ni tashkil etishi kerak.

Agar probirka yoki kolbalar og'zi paxta tiqin bilan yopilgan bo'lsa, quruq havo oziq muhitlar qurishiga va konsentrasiyasining buzilishiga sabab bo'lishi mumkin. Xonadagi namlikning miqdorini oshirish uchun idishlarda suv qo'yib qo'yish mumkin. Ko'pchilik kulturalanayotgan to'qimalar uchun optimal harorat 25-26⁰S, tropik o'simliklar to'qimalari uchun esa 29-30S ni tashkil qiladi. Morfogenez induksiyasini amalga oshirishda harorat 18-20S gacha pasaytiriladi. YOrug'lik, harorat va optimal namlik rejimini klimatik kameralar yordamida yaratish mumkin.

Nazorat savollari

1. Ajratilgan hujayra va to'qimalarini kulturalash sharoitlari xaqida ma'lumot berin
2. Kallus to'qimalarini o'stirish sharoitlariga nimalar kiradi?
3. O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirishda xonalarni yoritish darajasining roli
4. O'simlik to'qimalarining o'sishida yoritish darajasi qanday bo'lishi kerak

5-MA'RUZA

Kallus to'qimalari kulturasi

REJA:

- 1.Kallus kulturasini hosil qilish
2. Kallus hujayralarinig xususiyatlari
- 3.Kallus hujayralari genetikasi

Kalit so'zlar:Kallus, amorf, dedifferensiatsiya,apeks, in vitro, kallusning genetikasi.

Kallus kulturasi-bu dedifferensiyalangan hujayralarning tarqoq bo'linayotgan to'qimalaridir. *Kallus* - qadoq ma'nosini bildirib, o'simliklarning shikastlangan joyida va in vitro kulturalanayotgan o'simlik to'qimalarida (eksplantlarda) hujayralarning betartib bo'linishi va o'sishidan hosil bo'lgan qabariqdir (3.2- rasm). Kallus to'qimasini fitogormonlar tutuvchisun'iy oziqa

muhitlarda o'simlikning turli qismlaridan: poyasi, ildizi, tugunak to'qimlarida, bargi va urug'murtaklaridan olish mumkin.

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



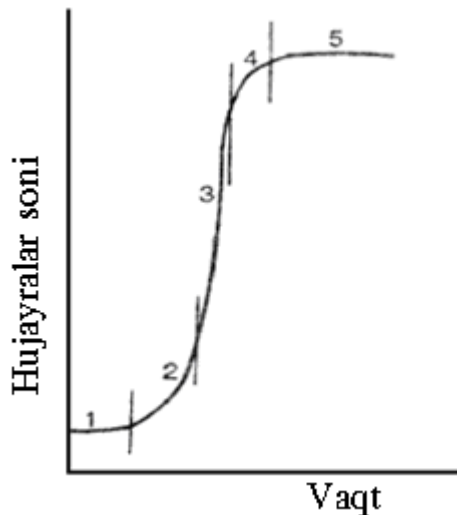
3-rasm. Nicotiana tabacumdan olingan kallus kulturasi

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

O'simlik hujayrasini dedifferensiyalanishi va uning kallusga aylanishi uchun oziqa muhit tarkibida fitogormonlarning ikki guruhi: auksinlar va sitokininlarning ishtirok etishi zarur. Auksinlar hujayralarning dedifferensiyalanish jarayonini yuzaga keltirib hujayralarni bo'linishga tayyorlaydi, sitokininlar esa dedifferensiyalangan hujayralarning bo'linishini amalga oshiradi. Agar gormonsiz oziqa muhitga differensiyalangan hujayralardan iborat poya, barg, ildiz (uchki meristemasi olingan) qismlari yoki o'simlikning boshqa eksplantlari joylashtirilsa, hujayralar bo'linmaydi va kallusli to'qimalar hosil bo'lmaydi, chunki differensiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga ega emas. Har bir hujayra o'sishning uchta davridan

o'tadi: 1) bo'linish; 2) cho'zilishi; 3) differensiyalanish. Differensiyalanish davrida hujayraning ikkilamchi qobig'i qalinlashadi va hujayra bo'linish xususiyatini yo'qotadi.

Differensiyalangan hujayralar bo'linish xususiyatiga qayta ega bo'lishlari uchun ularning dedifferensiasiyasi yuzaga kelishi ya'ni hujayralar meristematik holatga qaytishi kerak.(4-rasm)



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

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

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

TO'P to'qimalarida olingan natijalar barcha hollar uchun ham to'g'ri kelavermaydi, bunga zid misollar ham bor. Masalan, bug'doyning etilmagan murtaklarida 2,4-D tutuvchi sitokininsiz oziqa muhitida, kungaboqar urug'pallasida auksinsiz faqat sitokinin tutuvchi oziqa muhitida kallus hosil qilishni keltirish mumkin. Aniqlanishicha, natija ko'pincha u yoki bu

eksplantning hujayrasidagi endogen gormonlarning miqdoriga bog'liq, ya'ni ularning gormon statusi xususiyatlari bilan bog'liq ekanligi isbotlangan.

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

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

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

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

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

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

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

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

Kallus hujayralarining o'sishi S-simon shakldagi egri chiziqqa ega (3.3-rasm). O'sishning bunday xarakterini kallus hujayralarining suspenziyali kulturasida kuzatish mumkin. O'sish egri chizig'i beshta fazani o'z ichiga oladi. Birinchisi, latent yoki lag-fazada hujayralar soni yoki massasi o'zgarishi kuzatilmaydi. Bu fazada hujayralar bo'linishga tayyorlanadi. Navbatdagi ikkinchi logorifmik yoki ekponensial o'sish fazasi-mitotik faolligi va kallus to'qimalari massasining ortishi bilan xarakterlanadi, bundan tashqari o'sishi

tezlashadi. Uchinchi doimiy fazasida hujayralar o'sishi doimiy bo'ladi. Shundan so'ng To'rtinchi o'sishning sekinlashish fazasi-hujayraning mitotik faolligi keskin kamayganda yuzaga keladi. Beshinchi stasionar fazada o'sish egri chizig'i platoga chiqadi. Bu davrda hujayralar degradasiyasi boshlanadi, ammo hujayralar bo'linishi hisobiga hujayralar soning ortishi sababli yana tenglashadi: umuman olganda hujayra massasining oshish tezligi nolga teng bo'ladi.

Kallus hujayralarinig xususiyatlari. Kallus hujayralari in vitro sharoitida o'simlik organizmining normal hujayralariga xos bo'lgan barcha fiziologik va biokimyoviy xususiyatlariga ega bo'ladi. Ular ikkilamchi metabolitlar sintez qilish qobiliyatini ham saqlab qoladi. Sovuq haroratga chidamli o'simliklardan olingan kallus to'qimalari sovuqqa chidamlilikni namoyon qiladi. Tropik va subtropik o'simliklardan olingan kallus to'qimalari esa bunday xususiyatga ega emas. Demak, hujayraning past haroratga chidamlilik xususiyati kallus to'qimasi hosil bo'lganda ham saqlanib qolar ekan. Kallus to'qimalariga fotoperiodik reaksiyalar ham xos bo'lib, bu undagi fitoxrom faollikning saqlanishi bilan bog'liqdir.

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

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

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

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

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

Kallus hujayralarining energiya almashinishida ham katta farq mavjud. Ular normal hujayralarga nisbatan kamroq kislorod talab qiladi. Ramsgorn 1938 yilda meristema to'qimalarining faol bo'linayotgan hujayralarining ham xuddi shunday xususiyatini aniqlagan edi. Kallus hujayralarining nafas olish koeffisienti (N.O.K) 1 dan ortiq, masalan: no'xat kallusi hujayralarida $N.O.K > 3,5$ (A.V.Romanova va boshqalar 1988)ni tashkil etadi. Bu nafas olish va bijg'ish orasidagi nisbatining bijg'ish tomoniga surilishi, Paster effektini kamayib, bijg'ish kuchayishidan dalolat beradi. Paster effekti deganda kislorodli nafas olish orqali bijg'ish jarayonini to'xtatilishini tushunish mumkin. O'zgarmas nafas olish substartida nafas olish koeffisientining oshishi shundan dalolat beradiki, kallus hujayralarining nafas olishi xatto kislorod ishtirokida ham bijg'ishni to'xta olmaydi, uglerodlarning kislorodsiz parchalanishi ya'ni bijg'ishi amalga oshadi. Uyushmagan to'qimalarni o'sishida uglevodlarning kislorodsiz parchalanishi-bijg'ish natijasida bo'linayotgan hujayralar tarkibidagi etil spirti to'planadi. Shunday natijalar no'xatni intakt o'simtalarini uyushmagan xolda o'sishi induksiyalanganida olingan (G.M.Artamonov, 1975, 1978).

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

Paster effektining buzilishini hayvonlarning shish hujayralarida Varburg tomonidan o'rganilgan. U Paster effekti buzilishi natijasida, kislorod ishtirokida uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi ya'ni aerob glikoliz shish

hujayralarining uglevodlarga bo'lgan ehtiyojini (19 martagacha) keskin oshiradi.

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

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

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

Genlar mutasiyasini hujayralarning morfologik, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini o'zgarishi orqali aniqlash mumkin.

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

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

Nazorat savollari

1. Kallus to'qimalaridan biotexnologiyada foydalanish imkoniyatlari.
2. Kallus hujayralaridan biotexnologiyada qanday maqsadlarda foydalanish mumkin?
3. 1.Kallus kulturasini hosil qilish sharoitlari xaqida ma'lumot bering
4. 2. Kallus hujayralarinig xususiyatlari nimalardan iborat?
5. 3.Kallus hujayralari genetikasi

6-MA'RUZA

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

REJA:

- 1.Moslashgan hujayralarning olinishi
2. Moslashgan hujayralardan kimyoviy shishlarning hosil bo'lishi
- 3.Kallus to'qimalarining regenerasiyalanish qobiliyatini yo'qotishi
- 4.Kimyoviy shish deb nomlanuvchi «moslashgan» to'qimalardan tashqari o'simliklarda bakteriya, viruslar tomonidan chaqirilgan va

Kalit so'zlar: Kallus hujayralari, «moslashgan» hujayralar, qari kallus, agrobakteriya, Ti-plazmida. opin, nopalin, oktopin, agropin.

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

Kallus to'qimalari to'rtinchi marta qayta ekilgandan so'ng regenerasiyalanish qobiliyatini yo'qotadi. Qari kallus to'qimalari ham regenerasiyalanmaydi. Hujayralar moslashuv sabablarining hali aniq javobi yo'q. Lekin ularning normal differensiyalanishi va bo'linishida ishtirok etuvchi gormonlarning uzoq vaqt ta'sir etishi bilan bog'liq bo'lishi ham mumkin degan taxminlar bor.

Kimyoviy shish deb nomlanuvchi «moslashgan» to'qimalardan tashqari o'simliklarda bakteriya, viruslar tomonidan chaqirilgan va turli o'simliklarni uzoq formalari duragaylaridan paydo bo'lgan genetik shishlar ham ma'lum. Tabiatda keng tarqalgan va tadqiqotchilarda katta qiziqish uyg'otgan shishlar ikki pallali o'simliklarda agrobakteriyalar (*Agrobacterium tumefaciens*) tomonidan chaqiriladigan bo'rtma – gall shishlaridir. Shuningdek o'simliklarda bo'rtma gallga o'xshash xaqiqiy shishlaridan yana 2 turi mavjud bo'lib, ulardan

A. rizogenes tomonidan yuzaga keladigan kasallik natijasida – serpopuk ildiz, va A. ruby tomonidan poya galli (bo'rtmasi) hosil bo'ladi.

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

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

Tashqi ko'rinishidan bu to'qimalar kallus to'qimalaridan farq qilmaydi, ularning yagona farqi gormon sintez qilishi bilan namoyon bo'ladi. Bu xususiyat «moslashgan» va shish hujayralari uchun umumiy bo'lsada, ularning bu vazifani echish yo'li xar xildir. «Moslashgan» to'qimalarda gormonga nisbatan extiyojsizlik, gormon sintezida va gormon molekulalari tuzilishida ishtirok etuvchi, ferment oqsillar sinteziga javobgar genlar faolligining o'zgarishi natijasida paydo bo'ladi. SHunday qilib, ushbu xolatdagi o'zgarish epigenomli xarakterga ega bo'lsada, mutasiya imkoniyatlarini ham e'tibordan chetda qoldirmaslik kerak. «Moslashgan» hujayralarda o'zgarish epigenomli yoki genetik xarakterga egaligini aniqlash uchun hujayra-o'simlik-hujayra qatorida gormonga extiyojsizlik xususiyati saqlanib qolishi yoki qolmasligini nazorat qilish kerak. Buning uchun “moslashgan” to'qimada regenerasiya olib, keyin regenerasiyalangan o'simlikdan olingan eksplant umuman gormonsiz yoki gormonlardan biri bo'lmagan oziqa muhitda o'stirilishi kerak. Agar mana shu muhitda hujayra bo'linsa, ya'ni gormondan avtonom bo'lsa, gormonga extiyojsizlik xususiyati nasldan-naslga o'tadi, demak, u genetik xarakterga ega deb aytish mumkin. Agar gormonsiz muhitda hujayra bo'linmasa, va kallusli to'qima xosil bo'lmasa, ya'ni gormonga extiyojsizlik nasldan-naslga o'tmasa, o'zgarishning epigenomli xarakterga egaligi xaqida xulosa chiqarish mumkin. Ammo, bu yo'l bilan faqatgina regenerasiyalanish xususiyatini yo'qotmagan “moslashgan” hujayralarni tekshirish mumkin xolos. Ma'lumki, ko'pchilik “moslashgan” hujayralar

regenerasiyaga bo'lgan imkoniyatlarini yo'qotadi, bu esa yuqoridagi usuldan foydalanib, gormonga extiyojsizlik xarakteri tabiatini aniqlashni qiyinlashtiradi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Nazorat savollari

1. Moslashgan hujayralarning olinish jarayonlari
2. Moslashgan hujayralardan kimyoviy shishlarning hosil bo'lishi qanday amalga oshadi?
3. Kallus to'qimalarining regenerasiyalanish qobiliyatini yo'qotishi deganda nimani tushunasiz?

7-MA'RUZA

Hujayralarning suspenziyalik kulturasini

REJA:

1. Hujayralar suspenziyasini olish
2. Hujayralar suspenziyasining bo'linishi
3. Hujayralar suspenziyasidan biotexnologiyada foydalanish
4. Hujayra suspenziyasi holatining ko'rsatkichlari

Kalit so'zlar: Suspenziya, pektinaza fermenti, yangi kallus, agregirlanish, eksplant, hujayra, gormon.

Suyuq oziqa muhitida o'sayotgan o'simliklar kulturasini hujayralarning suspenziyalik kultura deb ataladi. Hujayralar suspenziyasini olish uchun, kallus avtomatik ravishda aralashtiriladigan suyuq oziqa muhitga o'tkaziladi. Pektinaza

fermenti yordamida eksplant to'qimalaridan (barg, poya, ildiz va boshqalar) suspeniyali kulturasini olish mumkin. Bunda dastlab eksplant yuzasida kallus to'qimasi paydo bo'ladi, so'ng undan hujayralar va hujayra agregatlari ajraladi va natijada hujayralar suspenziyasi hosil bo'ladi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Nazrat savollari

1. Hujayralar suspenziyasini olish
2. Hujayralar suspenziyasining bo'linishi
3. Xujayralar suspenziyasidan biotexnologiyada foydalanish
4. Hujayra suspenziyasi holatining ko'rsatkichlari
5. Hujayralar suspenziya kulturasi qanday olinadi va qanday maqsadlarda foydalaniladi?

8-MA'RUZA

Yakka hujayralar kulturası

REJA:

1. Yakka xujayralardan foydalanish
2. Yakka xujayralarni olish usullari
3. Yakka xujayralarni klonlash

Kalit so'zlar:Seleksiya, eksplant,yakka hujayra,kuduralash, hujayralar suspenziyasi, kallus to'qimalari, bo'linishni induksiyalash, oziqlantiruvchi qatlamlar, kondisirlovchi omil.

Genetik va fiziologik izlanishlar uchun, shuningdek hujayralar seleksiyasida amaliy foydalanish uchun yakka hujayralarni kulturlash muhim ahamiyat kasb etadi. Yakka hujayralarning klonlarini olish, kallus hujayralarining genetik bir xil emasligi sabablarini aniqlashda yordam beradi, chunki bu xolatda kuzatish ishlari geterogen eksplantlardan emas, balki yakka hujayralardan olingan to'qimalar ustida olib boriladi.

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

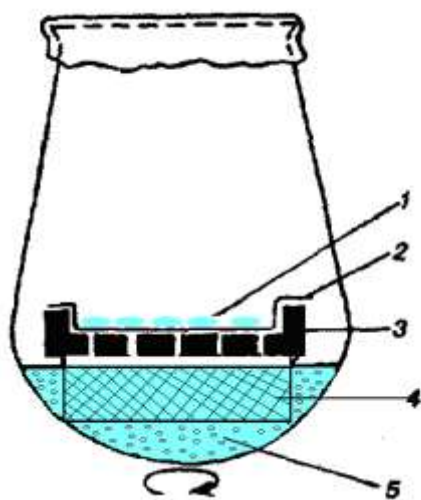
Yakka hujayralarni hujayralar suspenziyasidan, o'simlik to'qimalaridan, masalan, barg mezofilidan fermentlar yordamida maserasiya qilinganidan so'ng, alohida protoplastlardan esa hujayra devori tiklangandan so'ng ajratiladi.

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

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

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

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



5- rasm. Ajratilgan protoplastlar va yakka hujayralarni o'stirish uchun hujayralarning suspensziyal kulturasiidan «enaga» sifatida foydalanish.

1-hujayralar koloniyasi; 2-filtr qog'oz; 3-alyumin to'r; 4-penopoliuretan; 5-xujayralar suspensziyasi. (Vu Dik Kuang, Z.B.Shamin 1985)

Intensiv bo'linayotgan hujayralar kulturasiidan olingan oziqa muhitidan qo'shilsa, hujayralar bo'linishi stimullanadi va oziqa muhitni kondisirlanadi. Kondisirlovchi omil hujayralar suspensziyasini o'sishning eksponensial fazasida bakterial filtrdan o'tkazish orqali olinadi. Umuman olganda, yuqorida berilgan

barcha usullar bo'linayotgan hujayralar ajratgan kondisirlovchi omildan foydalanishga asoslangan.

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

Nazorat savollari

1. YAKka xujayralardan foydalanish soxalari
2. YAKka xujayralarni olish usullari
3. YAKka xujayralarni klonlash qanday amalga oshiriladi?

9-MA'RUZA

Kallus to'qimalarida morfogenez

REJA:

1. Kallus to'qimalarida morfogenez
2. O'simlik hujayralari totipotentligi
3. Kallus to'qimalari kulturasidagi morfogenezni boshqarish

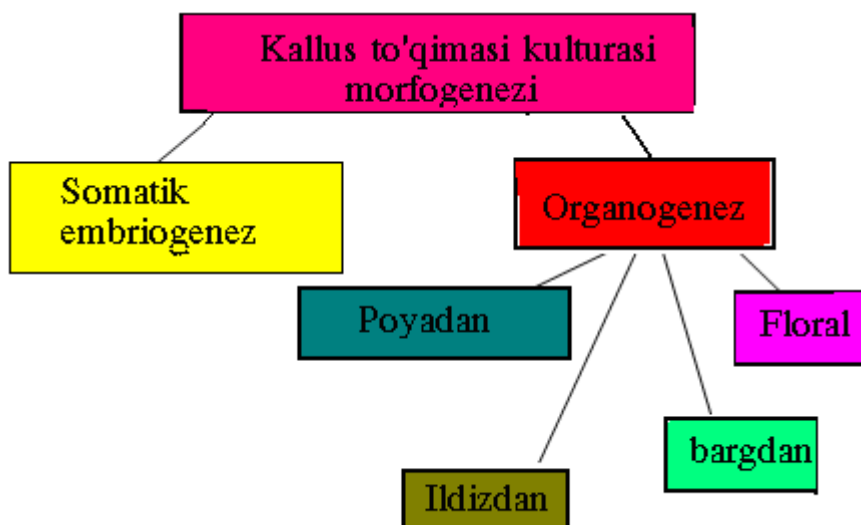
Kalit so'zlar: morfogenez, regeneratsiya, differensiyalanish, morfogenez, o'sish fazasi, organogenez, somatik embriogenez, totipotentlik, auksin, sitokinin.

Hujayralarning dedifferensiyalangandan keyingi taraqqiyoti rivojlanishining bir necha yo'li mavjud. Birinchi yo'li - bu etuk o'simlikning ikkilamchi regenerasiyasi, organ to'qima, hujayra darajasidagi differensiyalanish extimolidir. Ikkinchi yo'li - hujayraning ikkilamchi differensiyalanish va regenerasiyalanish qobiliyatining yo'qolishi, turg'un

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

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

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



6-rasm. Kallus to'qimasi kulturasidagi morfogenez turlari

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

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

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

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

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

Kallus to'qimalarini ikkilamchi differensiyalanishi har doim ham o'simlik morfogenezi va regenerasiyasi bilan tugallanmaydi. Ba'zida u faqat to'qimalar (gistodifferensirovka) hosil bo'lishiga olib keladi. Shu yo'l bilan kallus hujayralari floema yoki kselema elementlariga aylanishi mumkin.

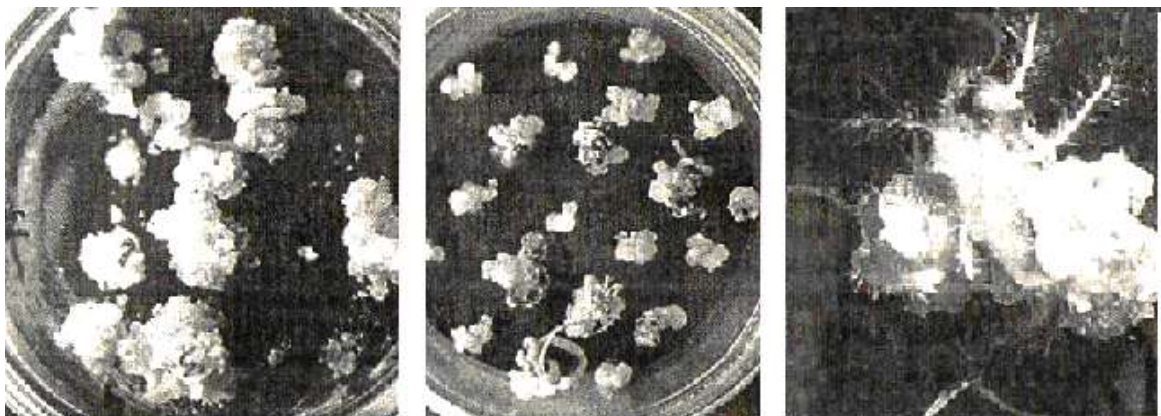
Ikkilamchi differensiyalanishga misol qilib, dedifferensiyalangan va faol

bo'linayotgan hujayralarning bo'linmaydigan, qari kallus hujayralariga aylanib qolishini keltirish mumkin (o'sishning stasionar fazasi).

Barcha turdagi ikkilamchi differensiyalanishlar orasida morfogenez katta qiziqish uyg'otadi, chunki u kallus hujayrasidan etuk o'simlik regenerasiyasini amalga oshirish imkonini beradi.

Differensiyalanish va morfogenez asosida turli genlarni birin-ketin qo'shilishi yotadi, ya'ni hujayralarning differensirovkasi genlarning differensial faolligi bilan aniqlanadi. Struktura genlari faolligining o'zgarishi, ularning derepressiyasi, repressiyasi yoki amplifikatsiyasi (ko'payishi) bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Bu jarayonda fitogormonlar katta rol o'ynaydi.

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



7-rasm. Kallus to'qimasining morfogenetik reaksiyalari:

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

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

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

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

Somatik embriogenezning gormonlarga nisbatan mustaqilligining sababi, hujayralarning alohida ajratilish jarayoni, uning totipotentligini, ya'ni morfogenezga o'tishini stimullaydi. Shunday qilib, oziqa muhitidagi gormonlar nisbatining o'zgarishi va hujayrani o'simlik organizmidan ajratilishi morfogenezning asosiy stimuli bo'ladi. Morfogenezning qo'shimcha stimullariga oziqa muhiti tarkibida ishtirok etayotgan kumush nitrat, ammoniy nitrat, ba'zi aminokislotalar (prolin, tirozin, ba'zida serin) poliaminlar (putressin va spermidin)lar kiradi. Ba'zi hollarda morfogenez jarayonini mannit

va sorbit ham stimullaydi. NO_3^- ionlari kallus to'qimalarida paydo bo'lgan uyushgan strukturalarning rivojlanishiga ta'sir ko'rsatadi, ularning induksiyasini esa NH_4^+ ionlari stimullaydi. Gebberal kislota poya kurtaklarining rivojlanishini, absizov kislota esa somatik murtak organlarining differensiyalanishini stimullaydi.

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

Morfogeneznig u yoki bu stimullari ta'sirida kallus hujayrasi determinlanishi kerak, ammo hujayralarning hammasi emas, faqatgina 400-1000ta hujayradan bitta hujayra regenerasiyalanishiga qodir bo'ladi. Shuning uchun hujayraning morfogenezga o'tishda faqat induktorning (stimulyator) ishtiroki etarli bo'lmay, hujayra ham javobga tayyor bo'lishi kerak. Hujayralarning morfogenez stimullarini qabul qilish xususiyati hujayralarning *kompitentligi* (omilkorligi) deyiladi. Shuning uchun, tadqiqotchilar hujayralar kompitentligini tasodifiy va kamdan-kam hol degan xulosaga kelganlar. Kompitent bo'lmagan kallus hujayralarining taqdiri nima bo'ladi degan savol paydo bo'lishi mumkin: bu hujayralar kulturada bo'linishni davom ettiradi va ayrimlari ko'nikma hosil qilib, gormonsiz o'sishga o'tadi, ayrimlari esa ekzogen gormonlardan foydalanishni davom ettiradi, lekin ular regenerasiyalanish qobiliyatini umuman yo'qotadi. Bunday to'qimalar «moslashgan» va yangi kallus to'qimalari o'rtasidagi oraliq xolatni egallaydi

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

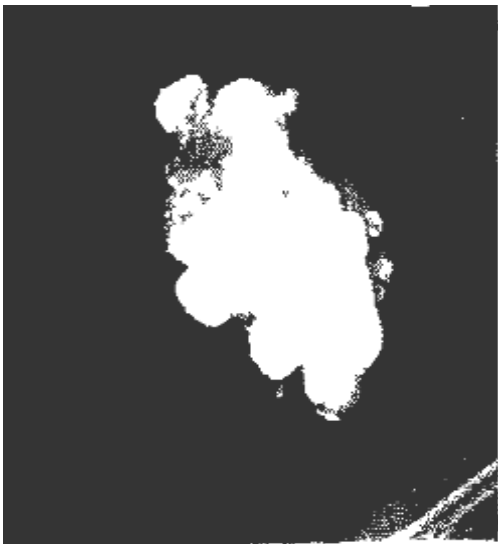
Tashabbuschi (inisial) hujayra somatik embriogenezda zigotani, organogenezda esa meristema markazini rivojlanishini boshlanishiga asos bo'ladi. Determinasiyalanmagan kallus hujayralariga nisbatan tashabbuschi

hujayralar yadrosini yirikligi va vakuolasi o'lchamining kichikligi bilan farq qiladi. Odatda yadrosi markazda joylashadi. Tashabbuschi hujayralar tarkibida ko'plab miqdorda zahira moddalar; kraxmal, ba'zida lipidlar bo'ladi.

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

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

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



8-rasm. Somatik murtaklarning shakllanishi

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

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

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

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

Morfogenezni yangi markerlarini izlab topish ishlari davom etmoqda. Meristema markazi hujayralari va embrioidli strukturalar paydo qiluvchi hujayralar kallus hujayralaridan RNK va DNK sintezining jadalligi bilan farq qiladi. Bu ulardagi oqsil almashinuvining o'ziga xosligi bilan bog'liq. Oqsil almashinuvidagi o'zgarish, dedifferensiyalangan hujayralarda o'tadigan

jarayonlarga o'xshash bo'lsada, ammo natijasi turlichadir, R.P.Butenkoning fikricha, reaksiyani o'ziga xosligi, makromolekulalarni sintezini tezlashishi bilan emas, balki umumiy fonda bo'ladigan regulyator (boshqaruvchi) tipidagi oqsillar hosil qiluvchi o'ziga xos sintezlar bilan belgilanadi Kallus to'qimalarining morfogeneza o'tishi, nafas olish metabolizmini o'zgarishi bilan hamkorlikda boradi. Umuman olganda nafas olish (SO_2 bo'yicha) kuchayadi, ammo uning xarakteri pentozofosfat yo'li intensifikatsiyasi yo'nalishida o'zgaradi. Nafas olish fermentlarining faolligi oshadi. Biokimyoviy o'zgarishlardan so'ng hujayrani qayta strukturaviy tashkillanishi (reorganizatsiyasi) boshlanadi. Hujayrani biokimyoviy differentsiylanishi har doim strukturaviy o'zgarishlardan oldin sodir bo'ladi.

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

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

Kallus hujayralari bir – birlari bilan plazmodesmalar orqali bog'lanmagan. Murtaksimon strukturalar yoki meristema markazlarini paydo bo'lganda hujayralar orasidagi bog'lar plazmodesmalar yordamida tiklaydi.

Kallus hujayralarida morfogeneza jarayoni bilan boshlanib, o'simlik paydo bo'lishi bilan tugaydigan barcha o'zgarishlar maxsus genlar tomonidan boshqariladi. Hozirgi vaqtda bir guruh olimlar morfogeneza xossasi poligenlar va bir necha xromosomalar tomonidan nazorat qilinadi deb hisoblasalar, boshqalari, bu xususiyat ikkita yadro genlari tomonidan boshqarilib turiladi degan fikrlarga ega. Ba'zi hollarda kallus to'qimalaridan u yoki bu genotipni

regenerasiya qilish mumkin emasligini kallus hujayralarining morfogenetik faolligi genetik tabiatga ega bo'lganligi sababli, morfogenetik genotiplarni chatishtirish hujayralarning in vitro faol regenerasiyalanish qobiliyatini oshirishga olib kelishi mumkin.

Nazorat savollari

1. Kallus to'qimalarida morfogenez
2. O'simlik hujayralari totipotentligi deganda nimani tushunasiz?
3. Kallus to'qimalari kulturasidagi morfogenezni boshqarish kanday amalga oshiriladi?

10-MA'RUZA

Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus hujayralari kulturasini

REJA:

1. Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallus xujayralari kulturasini
2. Ajratilgan hujayra, to'qima va organlarning ikkilamchi metabolizm moddalarni sintezlash xususiyati
3. Hozirgi kunda sanoatda keng qo'llanilayotgan ikkilamchi metabolitlar
4. Yuksak o'simliklar hujayralar kulturasidan olingan iqtisodiy muhim mahsulotlar
5. Bioreaktorlarda hujayralar kulturasini o'stirish texnologiyasi

Kalit so'zlar: Bioreaktor, ikkilamchi moddalar, ikkilamchi metabolitlar

Suspenziya, hujayra biomassasi, takson-moddalar

O'simlikdan alohida ajratilgan hujayralarni in vitro sharoitida subkulturalash usullari mavjud bo'lib, bu usullar yordamida olingan kallus to'qimalaridan nazariy izlanishlar uchun, shuningdek amaliy qo'llash uchun ham foydalaniladi. Ajratilgan hujayra, to'qima va organlarning ikkilamchi metabolizm moddalarni sintezlash xususiyati muhim ahamiyat kasb etadi. Ulardan tibbiyot, o'simliklar himoyasi, veterinariya, oziq-ovqat sanoati, parfyumeriya uchun zarur moddalar ishlab chiqarishda foydalanish mumkin. Bu yo'nalishdagi ishlarga tadqiqotchilarning qiziqishi tasodif emas, chunki fiziologik faol moddalar olish uchun hujayralar biotexnologiyasining ana'anaviy tarzda o'simliklar xom-ashyosi olishga

nisbatan: 1) hujayra biomassasini olish mavsumga, iqlim va tuproq sharoitlariga bog'liq emas; 2) zarur miqdorda kerakli moddalarni sintezlab beruvchi hujayralar suspenziyasini kulturlashning sharoitini optimallashtirish imkoniyatining mavjudligi; 3) jarayonni avtomatlashtirish mumkinligi kabi bir qancha ustunlik tomonlari bor.

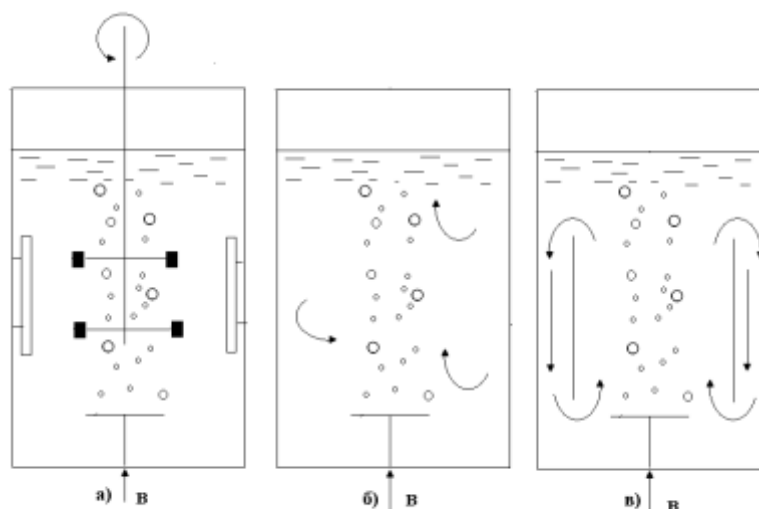
In vitro kulturalanilayotgan kallus hujayralaring intakt o'simlik hujayralari kabi ikkilamchi metabolitlar sintez qilishi aniqlangan. Shuningdek, miqdor va sifat jihatidan ular o'xshash bo'lishi mumkin. Hozirgi kunda sanoatda keng qo'llanilayotgan ikkilamchi metabolitlarni sintezlovchi, turli oilalarga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

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

Yuksak o'simliklar hujayralar kulturasidan olingan iqtisodiy muhim mahsulotlar.
(R.G.Butenko. 1999). 3 -jadval

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

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



9-rasm. Suspenziya kulturalarini kulturalash uchun qo'llaniladigan bioreaktorning ishlash sxemasi

Tajribalardan aniqlanishiga ikkilamchi metabolitlar hujayra ichidagi organellalarda: plastidlar, xloroplastlar, mitoxondriyalar va mikoplastlarda sintezlanadi, qo'shni xujayrlarga, yoki oziqa muhitga tashilmaydi, hujayrani bo'sh qismi va vokulasi ko'pincha metabolitlarni yig'ishga xizmat qiladi (Knyazkov I. 1996).

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

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

Nazorat savollari

1. Ikkilamchi sintez moddalarni olishda kallas xujayralari kulturasini roli nimadan iborat?
2. Ajratilgan hujayra, to'qima va organlarning ikkilamchi metabolizm moddalarni sintezlash xususiyati
3. Hozirgi kunda sanoatda keng qo'llanilayotgan ikkilamchi metabolitlar
4. Yuksak o'simliklar hujayralar kulturasidan olingan iqtisodiy muhim mahsulotlarga nimalar kiradi?
5. Bioreaktorlarda hujayralar kulturasini o'stirish texnologiyasi

11-MA'RUZA

O'SIMLIKLARNI KLONLI MIKROKO'PAYTIRISH

REJA:

1. Klonli mikroko'paytirish usulining an'anaviy usullariga nisbatan afzalliklari
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish tarixi.
3. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari

Kalit so'zlar: Xujayra, to'qima, kultura, jinssiz ko'payish, meristema kulturasida, seleksiya jarayoni

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

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

- genetik bir xil ekish materiallar olish;
- meristema kulturasidan foydalanishi orqali o'simliklarni virusdan holi qilish;
- ko'paytirishning yuqori koeffisienti (10^5 - 10^6 – o'tli, gulli o'simliklar uchun, 10^4 – 10^5 – butasimon daraxtlar uchun, ninabarglilar uchun 10^4);
- seleksion jarayonni davomiyligini qisqarishi;
- o'simliklarni yuvenil fazadan reproduktiv fazaga o'tishni tezlashishi;
- an'anaviy usullar bilan ko'payishi qiyin bo'lgan o'simliklarni ko'paytirish mumkinligi;
- butun yil mobaynida ish olib borishi mumkinligi, ekish materiallari o'stirish uchun maydonlarning tejamliligi.
- o'stirish jarayonini avtomatlashtirish imkoniyati.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirish sohasida birinchi muvaffiqiyatga o'tgan asrning 50 yillarida fransuz olimi Jorj Morel tomonidan erishilgan. U orxideyaning-regenerant o'simligini olgan. Bu vaqtda o'simliklarni apikal meristemasini in vitro kulturalash texnikasi yaratilgan edi. Tadqiqotchilar birlamchi eksplantlar manbai sifatida o'tchil o'simliklardan: chinnigul,

xrizantema, kungaboqar, no'xat, makkajo'xori, qoqio't, salatdan foydalanib, bu o'simliklarni regenerasiya jarayoniga va shakllanishiga oziqa muhitlari tarkibining ta'sirini o'rgandilar. J.Morel o'z tajribalarida shuningdek, simbidium (orxideyalar oilasiga mansub) o'simligini o'sayotgan uchki konussimon va ikki – uch barg asosiga ega qismini ma'lum bir sharoitda o'stirib sferik sferalar-protokormning hosil bo'lishini kuzatgan (3.9-rasm) . Shakllangan protokormlarni ajratib, so'ng yangi tayyorlangan oziqa muhitda barg primordiylari va ildiz hosil bo'lgunga qadar kulturalash mumkin edi. Natijada, bu jarayonning xohlagancha davom ettirib ko'p miqdorda, yuqori sifatli, genetik bir xil, virussiz ekish materiallari olish mumkin ekanligi aniqlandi.



10-rasm. in vitro sharoitida o'sayotgan o'simliklar

Shunday qilib, o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda birinchi muvaffaqiyat o'tchil o'simliklar apikal meristemasini o'ziga mos oziqa muhitda kulturalab, regnerant o'simlik olish bilan bog'liq.

Ammo mikroko'paytirishni qo'llash sohasi xilma-xil va kun sayin rivojlanib bormoqda. Bu birinchi navbatda daraxtlarni, ayniqsa, ninabarglilarni in vitro ko'paytirish va in vitro texnikasidan foydalanib dorivor o'simliklarning nodir va yo'qolib borayotgan turlarini saqlab qolish bilan bog'liq. Hozirgi vaqtda bu yo'nalish bo'yicha ko'zga ko'rinarli siljishini ko'rish mumkin. Daraxtsimon o'simliklar to'qimasi bo'yicha ishlar birinchi marta XX asrni 20 yillarida fransuz olimi Gotre – tomonidan chop etilgan. Bunda u qayrag'och va qarag'ayning ba'zi turlari kambiy to'qimalarini in vitro kallus hosil qilishga bo'lgan qobiliyati haqida ma'lumotlar bergan. 1940 yillarda chop etilgan maqolalarda qayrag'ochning turli to'qimalarini adventiv kurtaklar hosil qilish

xususiyati haqida yozilgan. Ammo mualliflar nihollarning keyingi o'sish va shakllanishini amalga oshira olmadilar. Faqatgina 1960 yillar o'rtalarida Mates tomonidan tog'terak o'simligining birinchi regenerant o'simligi olinib, tuproqqa ekishgacha etkazilgan. Ninabarglilar to'qimalarini kulturalash ko'p vaqtgacha izlanishlar uchun ob'ekt bo'lib xizmat qildi. Bu o'simlikdan ajratilgan yuvenil to'qimalarni, undan ham qiyinrog'i katta yoshdagi o'simliklar to'qimalarini kulturalashning o'ziga xos qiyinchiligi bilan bog'liqdir.

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

Nazorat savollari

1. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishning an'anaviy usullarga nisbatan qanday afzallik tomonlari bor?
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishni ta'minlovchi sharoitlari nimalardan iborat?
3. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga eksplantning tipi va yoshi qanday ta'sir ko'rsatadi?
4. O'simliklarni klonal mikroko'paytirish bosqichlari

12-MA'RUZA

O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari

REJA:

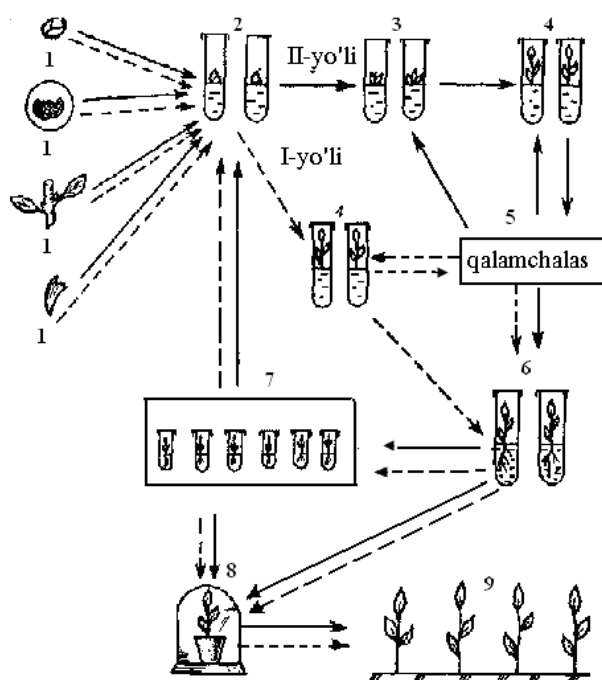
1. Klonli mikroko'paytirish usulining o'simliklarni ko'paytirishning an'anaviy usullariga nisbatan afzalliklari

2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga genetik fiziologik gormonal va fizik omillar ta'siri
3. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari
4. 4.To'qimalar kulturasida embrioidlarni shakllanishi bosqichlari

Kalit so'zlar: donor – o'simlik, meriklonlar olish, eksplantni tanlash, somatik embriogenez, adventiv kurtaklar.

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

- 1) donor – o'simlik tanlash, eksplantlarni o'simlikdan alohida ajratish va steril kulturada yaxshi o'sadiganini ajratib olish;
- 2) maksimal miqdorda meriklonlar olishga erishilgandan so'ng xususiy mikroko'paytirish;
- 3) ko'paytirilgan nihollarning ildiz otishi va tuproq sharoitiga ko'nikishini amalga oshirish, zarur holatda regenerant o'simlikni past haroratda (-2° , -10°S) saqlash;
- 4) o'simliklarni issiqxona sharoitida o'stirish va ularni sotishga yoki dalaga ekishga tayyorlash (3.10- rasm).



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

1-boshlang'ich eksplantni tanlash; 2-steril kulturalar olish; 3-birlamchi eksplantida adventiv kurtaklarning xosil bo'lishi.4-kurtaklarning rivojlanib mikronihollar paydo qilishi;

5-mikronihollarni ko'paytirish (qalamchalash); 6-mikronihollarning ildiz otishi; 7-past xaroratda regenerant o'simliklar yashashishini ta'minlash; 8-o'simliklarni issiqxona sharoitiga o'tqazish; 9-regenerant o'simliklarni dalaga ekish.

Klonli mikroko'paytirishning bir necha usullari mavjud. Turli mualliflar eksplantlarni kulturalash sharoitlari morfogenez jarayoniga ta'siri bo'yicha individual izlanishlar o'tkazib, o'stirish sharoitining o'zgarishiga javoban turli morfogenetik reaksiyalarni kuzatishlari natijasi klonli mikroko'paytirish usullarining yangi klassifikasiyasi paydo bo'lishiga olib keldi. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish yuzasidan adabiyotlarda berilgan ma'lumotlardan kelib chiqib, bu jarayonni quyidagi usullar yordamida amalga oshirish mumkin;

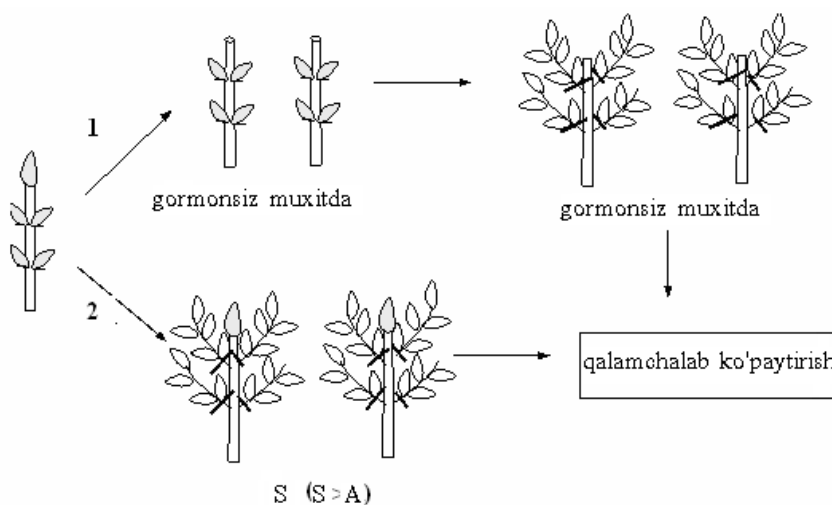
- o'simlikda mavjud bo'lgan meristemani faollashtirish (poya apeksi, bo'shliqdagi va tinim davridagi kurtaklar);

- adventiv kurtaklarni bevosita eksplant to'qimalarida paydo bo'lishini induksiyalash;

- somatik embriogenez induksiyasi;

- birlamchi va qayta ko'chirib o'tkazilgan kallus to'qimalaridagi adventiv kurtaklarni differensiyalanishi.

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

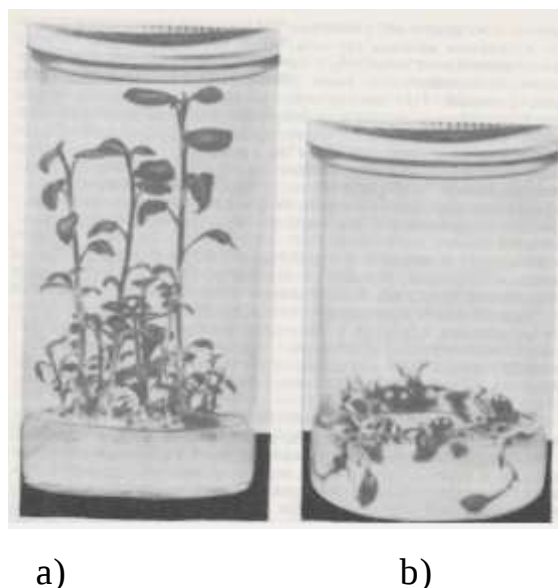


11- rasm. Mavjud meristemalar rivojlani-shini faollashtirish usuli orqali o'simlik-larni ko'paytirish sxemasi.

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

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

Sitokinin sifatida 6-benzilaminopurin (BAP) yoki 6-furfurilaminopurin (kinetik), shuningdek 2-izopentiladenin (2ip) va zeatindan foydalaniladi. SHunday usulda olingan nihollar birlamchi eksplantndan ajratiladi va ichki meristemalar proliferasiyasini stimullovchi va nihollarni paydo bo'lishini oshiruvchi yangi tayyorlangan oziqu muhitida yana kulturlanadi. Hozirgi vaqtda bu usul qishloq ho'jalik ekinlar va texnik ekinlar (qand lavlagi, tamaki, er noki, chirmoviq), shuningdek sabzavot ekinlari (pomidor, kartoshka, bodring, qalampir, qovoq va boshqalar), mevali daraxtlar, butalar (olma, olxo'ri, olcha, nok, uzum, qarag'at, krijovnik va boshqalar) va manzarali o'simliklar (terak, tol, olxa, qayin, chetan, sekvoyya, tuya, mojjevelnik va boshqalarning virussiz ekish materiallari (ko'chatlar, tugunaklar) olishda keng qo'llanilmoqda (3.12 - rasm. a.b.).

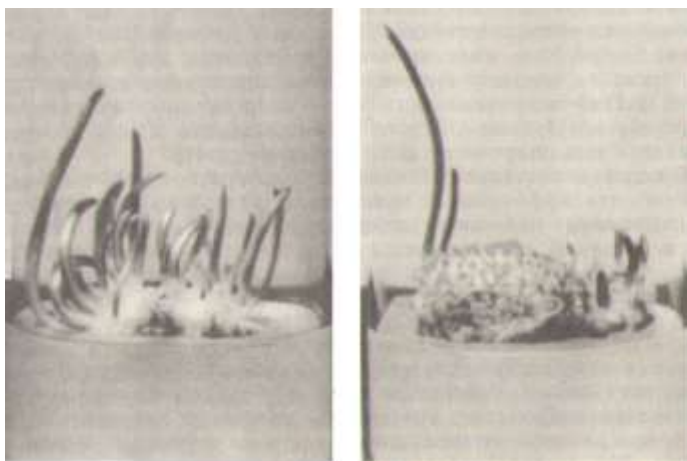


12-rasm. Kartoshkaning nihollar kulturasi(a), in vitro shakllangan kartoshka tugunaklari.

Kartoshka kabi ba'zi qishloq ho'jalik ekinlari uchun klonli mikroko'paytirish texnologiyasi sanoat asosida yo'lga qo'yilgan. O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish usulini qo'llash orqali kartoshkani bitta meristemasidan 1 yilda 10^5 o'simlik olish mumkin, shuningdek bu texnologiya yordamida probirkalarda qimmatli, virussiz urug'lik materiallar mikrotuganaklar etishtirish ko'zda tutilmoqda

Ikkichi usul – eksplant to'qimalarida tasodifiy (adventiv) kurtaklar induksiyasini amalga oshirishga qaratilgan (13-rasm).

Bu usul alohida ajratilgan o'simlik qismlarini qulay oziqa muhit sharoitida kulturalab, unda yetishmayotgan a'zolarini tiklash orqali etuk o'simlik regenerasiya qilishga asoslangan. Tasofiy kurtaklarni o'simlikning virusdan holi qilingan har qanday organ va to'qimalarida (alohida ajratilgan murtak, barg, poya, urug' kurtak, piyoz osti qismida, qobig'i, ildiz segmentlarida va gul barglarda) hosil qilish mumkin. Bu jarayon faqat sitokinin yoki uning auksin bilan 10:1 yoki 100:1 nisbatdagi aralashmasini tutuvchi oziqa muhitlarda o'tadi. Bunday xollarda auksin sifatida ko'pincha β -indolil-3 sirka kislota (ISK) yoki α -naftil sirka kislota (NSK)dan foydalaniladi. Bu usul yuksak o'simliklarni klonli mikroko'paytirish bo'yicha keng tarqalgan usul bo'lib, ko'pgina piyozidan ko'payadigan o'simliklar (narsis, liliya, giasint, gladiolus lola) piyoz qobig'i, bazal qismi segmentlaridan, barg eksplantlaridan; Brassica turkumi vakillari (gul karam, bosh qaram, broyussel karami, bargli pareli, brokkoli karamlarini) gipokotil segmentlaridan, urug'murtak, barglardan; piyoz, sarimsoq piyozni piyoz osti to'qimasi uchki meristemasidan; pomidorni apikal va ichki meristemalardan, sikor salatini barg plastinkalari segmentlaridan; petuniya – ildiz segmentlaridan, gloksiniya, binafsha gullarini barg plastinkasi segmentlaridan alohida ajratilgan etilgan va etilmagan murtaklardan klonli mikroko'paytirishda foydalaniladi.



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

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

Yosh o'simlikdan virusdan holi, uchki meristema ajratiladi va moslashtirilgan, 0,1 –0,5 mg/l BAP tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitida o'stiriladi, kulturalashning 3-4 haftasidan so'ng, asosida tasofidiy kurtaklar shakllanayotgan meristema o'simtalari rivojlanadi. Ular tez o'sib yangi kurtaklar paydo qiladi. 6-8 hafta davomida kurtaklar konglomerati hosil bo'ladi, ular rivojlanishning turli davrlarida bo'lib, bir-birlari bilan biriktiruvchi to'qimalar orqali birikkan bo'ladi. Kalta novdalarda barglar paydo bo'ladi, pastki qismida yangi adventiv kurtaklar shakllanadi. Bu kurtaklar ajratiladi va yangi oziqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. Sitokinin tutuvchi oziqa muhitda yon novdalarning paydo bo'lishi davom etadi, gormonsiz oziqa muhitda esa 4-6 hafta davomida bargli, ildizli normal o'simlik paydo bo'ladi. Eksplantning morfogenetik faolligi 3-4 yilgacha saqlanib qoladi. SHunday qilib, bir boshlang'ich o'simlikdan yiliga bir necha million o'simlik olish mumkin.

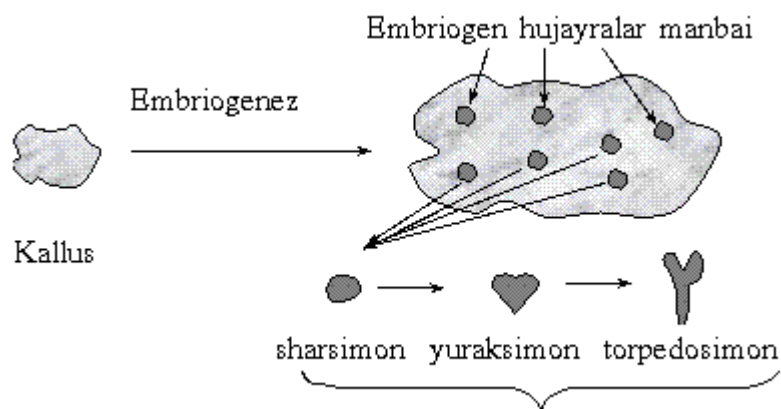
Albatta, tadqiqotchilarda adventiv kurtaklar paydo bo'lishida hujayraning qaysi qatlami meristemalar differensiasiyasida ishtirok etishi haqidagi savol paydo bo'ladi. Bu savol bo'yicha hozirgacha aniq bir javob yo'q. Tamaki to'qimalari bo'yicha olib borgan ishlarida, Tran Tan Van aynan epidermisning faol to'qima ekanligini va oziqa muhitidagi gormon balansiga bog'liq holda kurtak, kallus yoki ildiz hosil qilishga qodir ekanligini ko'rsatdi. Sitologik izlanishlarni ko'rsatishicha, lola va narsis piyozi bazal qismi segmentlarida

adventiv novdalar piyoz tagiga yopishib turuvchi meristema hujayralarining ustki qatlamlarida shakllanar ekan, gloksiniya o'simligida adventiv kurtaklarni shakllanish jarayoni, barg plastinkalarining subepidermal hujayra qavatlarida sodir bo'ladi.

Shuningdek, daraxtsimon o'simliklar ustida ish olib borayotgan tadqiqotchilar ham bu savol yuzasidan bir fikrga kelganicha yo'q. Aniqlanishicha, kulturalanayotgan archa nina barglari eksplantining epidermis qavatida, psevotsugada esa subepidermal qavatida kurtaklar paydo bo'ladi, qarag'ay urug' murtagi faqat sitokinin (BAG) tutuvchi oziqa muhitda kulturlanganda bu jarayon bir vaqtning o'zida ham epidermal, ham subepidermal qatlamlarda yuzaga keladi.

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

Stevard fikriga asosan, somatik murtaklar rivojlanishning uchta bosqichidan o'tadi: sharsimon yuraksimon, torpedasimon va jarayon so'nggida o'simtalarining rivojlanish tendensiyasiga ega bo'ladi. (3.14-rasm)



14-rasm. Embrioidlarning rivojlanish bosqichlari

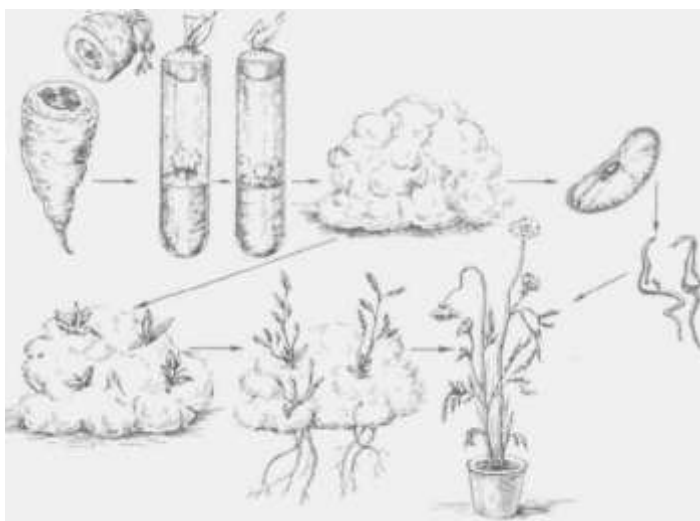
Bunday holat sabzi hujayra to'qimalarida o'tgan asrning 50 yillarida aniqlangan bo'lib, hozirgi kunda bu usul ko'pgina Orchidaceae va Rutaceae oilasiga mansub o'simliklar, ba'zi boshqoli o'simliklar (bug'doy, arpa), beda, rediska, uzum, shuningdek, turli daraxtlarni (tog'terak, evkalipt, eman, qora qarag'ay)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

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

Klonli mikroko'paytirishning to'rtinchi usuli – birlamchi va ko'chirib o'tkazilgan kallus to'qimalarida adventiv (tasodifiy kurtaklarni) differensiyalanishidir. Bu usul in vitro ekish materiallari olishda kam qo'llaniladi. Bunga sabab, kallus to'qimalarini yangi oziqa muhitlarga muntazam ravishda ko'chirib o'tkazilganda, mikroko'paytirish uchun noo'rin

holatlar kuzatiladi bular: kulturalanayotgan hujayralar tomonidan ploidlignini o'zgarishi, xromosomalarni strukturaviy qayta tuzilishi va genlar mutasiyasini to'planishi kulturalanayotgan hujayralarning morfogenetik potentsiallarining yo'qotilishidir. O'simliklarni genetik o'zgarishlari bilan bir qatorda: pakanalik, barglarining noto'g'ri tomirlanishi va ularni poyada joylashishi, bo'g'in oralig'ini kalta va qalinlashishi, kasalliklar va zararkunandalarga chidamliligini kamayishi kabi morfologik o'zgarishlar ham kuzatiladi. Shuningdek, kallus hujayralarini uzoq vaqt davomida kulturalash bu o'zgarishlarni yanada chuqurlashtiradi, shuning uchun klonli mikroko'paytirishda uyushmagan o'sish davrini iloji boricha qisqartirish lozim.(15-rasm)

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



15- rasm. Sabzi ildizmevasidan olingan kallus to'qimasidan butun o'simlik regenerasiyasi

Uchinchidan bu usul orqali olingan o'simliklar genetik va morfofiziologik farq qilishi tufayli seleksionerlarda qiziqishi uyg'otadi. Bu seleksionerlarga ho'jalik ahamiyati muhim bo'lgan xususiyatli o'simliklarni tanlash va ularni dala sharoitlarida o'sishini baholash imkoniyatini beradi. Bu usul kallus

to'qimalaring genetik barqaror ekanligi ko'rsatilgan o'simliklar uchun qo'llaniladi. Bunday o'simliklarga amarillis, pomidor, sparja va ba'zi ko'p yillik o'simliklar kiradi. Kallus to'qimasi orqali, qand lavlagi, Brassica turkumini ba'zi vakillari, makkajo'xori, sholi, bug'doy, kungaboqar, zig'ir o'simliklari ko'paytirilgan, bodring, sabzi, kartoshka va pomidorning kallus to'qimalaridan o'simliklarni regenerasiyalash usullari ishlab chiqilgan.

Nazorat savollari

1. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga qaysi fizik omillar ta'sir etadi?
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish qanday amalga oshiriladi?
3. Klonli mikroko'paytirish usulining an'anaviy usullariga nisbatan afzalliklari
4. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish tarixi.
5. O'simliklarni klonli mikroko'paytirish bosqichlari va usullari

13-MA'RUZA

Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish

REJA:

1. Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish
2. Klonli mikroko'paytirishni turli bosqichidagi o'simliklar to'qimalarini kulturalash texnikasi
3. O'simliklarning klonli mikroko'paytirish sharoitini optimallashtirish

Kalit so'zlar: mikroko'paytirish, meristema, o'sish nuqtasi, apikal meristema, termoterapeya. xemoterapeya

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

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



16-rasm. Uzunasiga kesilgan poyaning uchki o'sish nuqtasi – apikal meristemi

Bu usul mualliflari J.Morel va S.Martinlarning taxminicha, kasallangan o'simliklarda viruslar tarqalishi bo'yicha tez o'sayotgan yosh organlardan orqada qoladi, ayniqsa differensiyalanmagan yosh to'qimalarda virusning miqdori yo'q darajada bo'ladi. Bu usul asosiga qo'yilgan nazariy konsepsiya sababi keyingi vaqtlarda aniqlana boshladi. Amaliyotda qo'llaniladigan holatida strukturaviy asos bo'lib, o'simlik o'sish nuqtasi tuzilishining spesifikasi xizmat qiladi; uning apikal meristema deb ataluvchi distal qismi turli o'simliklarda turlicha o'lchamga ega bo'lib, o'rtacha 200 mkm diametriga va 20-150 mkm uzunlikka ega bo'ladi. Differensiyalanayotgan meristemani hujayralarni pastroq qatlamida o'tkazuvchi sistema bog'lamlarini paydo qiluvchi prokambiy hosil qiladi. Ma'lumki, klonli mikroko'paytirishdagi muvaffaqiyat meristema eksplantini o'lchamiga bog'liq, barg asoslari va poya to'qimalari qancha katta bo'lsa, morfogenez jarayoni shuncha engil kechadi va normal probirka o'simligi hosil bo'lishi bilan tugaydi. SHu bilan birgalikda, virus zarralaridan holi zona turli viruslar uchun turlichadir. Bu o'simlikning turlari va navlariga bilan bog'liq. Donli ekinlar koleoptilida, masalan, o'tkazuvchi naylardan holi uchki qismining o'lchami 250 mkm ga etishi, mumkin. Apikal meristemani bunday o'ziga xos tuzilishi o'tkazuvchi tizimlar orqali viruslarni tez tashilishini istisno qiladi, lekin plazmodezma orqali biriktiruvchi meristema hujayralariga sekin

tarqalish imkoniyatiga yo'l qo'yadi. Kartoshkani 200 mkm o'lchamdagi apikal meristemasini oziqa muhitda kulturalash va keyinchalik regenerant o'simlik olishda aniqlanishi, olingan o'simliklardan faqat 10 % gina X- virusdan, ammo 70 % U-virusdan holi ekan.

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

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

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

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

Termoterapeya qilinayotgan o'simliklar maxsus termokameralarga joylashtiriladi va birinchi haftada harorat 25⁰ dan 37⁰S gacha har kuni 2⁰S dan

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

Termoterapeyani davomiyligi virus tarkibiga va ularning yuqori haroratga chidamlilik darajasiga bog'liq. Masalan, agar chinnigulga 10-12 haftalik issiqlik ta'siri etarli bo'lsa, xrizantemani B-virusidan holi qilish uchun esa bu muddat 12 hafta va undan ko'proqni tashkil etadi. Ammo, piyozli o'simliklar, simbidium, atirgullar va boshqa shu kabi o'simliklarga uzoq vaqt in vivo termoterapeya qilish salbiy ta'sir ko'rsatadi. Bunday o'simliklar uchun termoterapeyani in vitro regenerant o'simliklarda o'tkazish maqsadga muvofiqdir.

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

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

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

Virussiz, o'simliklar olishning boshqa usuli – **xemoterapeya** usuli bo'lib, bu usul apikal meristemalar kultralanayotgan oziqa muhitga guanozinni analogi– 1β -D-ribofuranozil–1,2,4–triazol-3 – karboksimid (virozol deb ham ataladi) 20-50 mg/l konsentrasiyada qo'shishdan iborat. Bu virusga qarshi

preparat bo'lib keng ta'sir spektriga ega. Virozolni kultural muhitda qo'llanilganda virussiz meristema o'simliklarini olish foizi virus odatiy bo'lib qolgan o'simliklar uchun 80-100 % nazoratda esa 0-41 % ga oshdi. Xemoterapeya usuli olxo'ri, gilos, maymunjon, turli gullar va boshqa o'simliklarga qo'llanilganda yaxshi natijalar olingan. Virussiz ekish materiallari olishning xemo va termoterapeya usullari iqtisodiy kam foyda beradi. Shuning uchun Hozirgi vaqtda transgenoz usullari yordamida o'simliklarni virusga genetik chidamli shakllari yaratilmoqda.

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

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

I-bosqichda, Murasiga va Skuga resepti bo'yicha mineral tuzlar, shuningdek, turli biologik aktiv moddalar va o'sish stimulyatorlarni (auksinlar, sitokininlar) ob'ektga qarab turli nisbatda tutuvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Birlamchi eksplantning oziqa muhitga toksin moddalar (fenollar, terpenlar va boshqalar) ajratishi hisobiga, ularning o'sishi to'xtaganligi kuzatilgan hollarda, o'sishni yaxshilash maqsadida antioksidantlardan foydalaniladi. Buni ikki yo'l bilan: eksplantni antioksidantning kuchsiz

eritmasida 4-24 soat davomida yuvish: antoksidantni to'g'ridan-to'g'ri oziqa muhitiga qo'shish orqali amalga oshirish mumkin. Antoksidantlar sifatida askorbin kislota (1-60 mg/l), glyutation (4-5 mg/l), ditiotrietol (1-3 mg/l), dietilditiokarbamat (2-5mg/l), polivinilpirrolidon (5000–10000 mg/l) dan foydalaniladi. Ba'zi hollarda oziqa muhitga 0,5 –1 % miqdorda adsorbent-aktivlangan ko'mir qo'shish maqsadga muvofiqdir. Birinchi bosqichning davomiyligi 1 oydan 2 oygacha, natijasida meristema to'qimalarining o'sishi va birlamchi nihollarning shakllanishini kuzatish mumkin.

II bosqich – xususiy mikroko'paytirish. Bu bosqichda meriklonlarning maksimal miqdoriga erishish lozim, lekin shuni unutmaslik kerakki, subkulturalash oshishi bilan g'ayritabiiy morfologiyaga ega regenerant o'simliklar soni ham orta boradi, ba'zi hollarda mutant o'simliklar ham paydo bo'lishi mumkin. Birinchi bosqichdagi singari turli biologik faol moddalar va o'simliklarni o'sish regulyatorlarini tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitidan foydalaniladi. Eksplantlarni kulturalashni optimal sharoitini tanlashda oziqa muhit tarkibiga kiritilgan sitokinin va auksinlarni miqdori va nisbati asosiy rol ni o'ynaydi. Sitokininlardan BAP 1 dan 10 mg/l, auksinlardan ISK va NSK 0,5 mg/l miqdordagi konsentrsiyalaridan foydalaniladi. O'simlik to'qimalari auksinning miqdori oshirilgan oziqa muhitlarda uzoq vaqt o'stirilganda, to'qimalarda auksinning asta–sekin to'planib, zarur bo'lgan fiziologik miqdoridan yuqori bo'lganda, zaharli ta'sir etib, morfologiyasi o'zgargan o'simlik paydo bo'lishiga olib keladi. SHuningdek, klonli mikroko'paytirish uchun noxush bo'lgan samarasini ham kuzatish mumkin, bularga uchki meristema hujayralari bo'linishini kamayishi, hujayralari tarkibi suv bilan to'yingan nihollar paydo bo'lishi, o'simlikning ildiz otish va o'sish xususiyatlarining yo'qolishi kabi ta'sir samarasini berishi mumkin. Sitokininlarni nojo'ya ta'sirini bartaraf etish uchun N.V.Kata va R.G.Butenko bergan ma'lumotlardan foydalanib minimal miqdorda sitokinin tutuvchi oziqa muhitlardan foydalanilganda mikroko'paytirishni turgun koeffisientiga erishishi mumkin.

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

2) mikronihollarni 3-4 hafta davomida kam konsentrasiyada (1-5 mg/l) auksin tutuvchi oziqa muhitda to'g'ridan-to'g'ri kulturalash. So'nggi vaqtlarda probirka o'simliklarini gidroponika sharoitida ildiz ottirish usulidan ham foydalanila boshladi. Bu usul ildiz otish jarayonini bir oz osonlashtirib, bir vaqtning o'zida tabiiy sharoitga moslashgan o'simlik olish imkonini beradi. Kartoshka uchun substratsiz gidroponikani qo'llab, kichik tugunaklar olish mumkin. Kultural idishlarning pastki qismi qalin qora mato bilan o'raladi yoki oziqa muhit tarkibiga aktivlangan ko'mir kiritilganda mikronihollarni ildiz otishiga imkon beradi. Regenerant o'simliklarni substratga ko'chirib o'tkazish ma'suliyatli bosqich bo'lib, mikroko'paytirish jarayonini yakunlaydi. Probirka o'simliklarini ko'chirib o'tkazish uchun eng qulay vaqt bahor va yozning boshlang'ich davri hisoblanadi. Ikki yoki uch bargli va ildiz tizimi yaxshi rivojlangan o'simliklar kolba yoki probirkalardan uzun uchli pinset yoki ilmoqlar yordamida chiqarib olinadi. O'simlik ildizlari agar qoldiqlaridan yuvib tozalanadi va oldindan 85-90⁰S da 1-2 soat davomida sterillangan tuproqli substratga ekiladi. Ko'pchilik o'simliklar uchun substrat sifatida torf, qum (3:1); torf, tuproq, perlit (1:1:1:); torf, qum perlit (1:1:1:) dan foydalaniladi.

Oldindan tayyorlangan tuproqli substrat bilan quti yoki torfli idishlar to'ldiriladi va unga o'simliklar ekiladi. O'simliklar ekilgan idishlar harorati 20-22⁰S, yorug'ligi 5 ming lk dan ortiq bo'lmagan, namligi 65-90 % bo'lgan issiqxonalar (teplisa)ga joylashtiriladi. O'simliklarni yaxshi o'sishi uchun sun'iy tuman yaratiladi. Bunday sharoitlarni yaratish imkoni bo'lmagan hollarda o'simliklar o'sayotgan idishlar shisha bankalar yoki polietilen plenka xaltalar bilan yopiladi, so'ng o'simlik batomom ko'nikkuniga qadar asta – sekinlik bilan ochib boriladi.

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

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

Ikkinchidan, ba'zi o'simliklarda in vitro sharoitida ildiz popuklari hosil bo'lmaydi, bu o'z navbatida tuproqdagi mineral tuzlar va suvni yutilishi buzilishiga olib keladi. Shuning uchun klonli mikroko'paytirishni ikkinchi yoki uchinchi bosqichida o'simliklarni sun'iy mikorizatsiyalashni (mikrotroflar uchun) qo'llash maqsadga muvofiqdir. Ular o'simliklarni mineral va organik oziqa moddalar, suv, biologik faol moddalar bilan ta'minlashda va shuningdek o'simliklarni patogenlardan himoya qilishda ijobiy rol o'ynaydi. O'simliklarni mikoriza hosil qiluvchi zamburug'lar bilan zararlashning ikki xil usuli mavjud; 1) in vitro (steril sharoitida); 2) in vivo (tabiiy sharoitda). Birinchi usul qulay

usul hisoblanib, bu holatda tuproqning boshqa mikroorganizmlar bilan zararlanishining oldi olinadi. Bundan tashqari in vitro sharoitida mikorizani normal shakllanishi uchun kulturalash sharoitini (yorug'lik, harorat, namlik) nazorat qilish va substrat tanlash (rN, aerasiya) imkoniyati bor. In vitro sharoitida ko'paytirilgan o'simliklar agar ularning ildiz tizimi mikoriza hosil qiluvchi zamburug'lar bilan aloqada bo'lsa yaxshiroq rivojlanadi. Bunday xollarda ularning azot bilan ta'minlanishi yaxshilanib, o'simliklarni tuproqqa ko'chirib o'tkazilganda ularning tutib ketishi 1,5-2 barobarga ortadi, shuningdek, er usti massasining o'sishi yaxshilanadi. Bunday tajribalar qayin, evkalipt, kashtan, qoraqarag'ay, lox va olxani turli klonlarida o'tkazilgan.

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

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

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

O'simliklarning klonli mikroko'paytirish sharoitini optimallashtirish.

Alohida ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalashning muhim shart-sharoiti— oziqa muhitdagi mineral tuzlar, uglevodlar, fitogormonlar va boshqalarni balanslashtirishdan iboratdir.

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

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

Matematik rejalashtirishni o'rganilayotgan jarayonga (X_1 , X_2 , X_3 va yan) ta'sir etuvchi omillarni tanlashdan, ularni eng asosiy ahamiyati (yuqori va past darajasi) va tajriba sxemasi (matrisa) dan boshlashi zarur. Shundan so'ng

tajribada foydalaniladigan eksplantlar ajratib olinadi. Bunda boshlang'ich o'simlik materialini xilma-xilligini, va kulturalanayotgan to'qimalarni geterogenligini hisobga olish lozim. Shuning uchun, o'simlik materiallarini tajribaning turli variantlari orasida teng taqsimlash kerak. Kulturalashni optimal sharoiti barcha eksplantlarni o'sishini qoniqarli darajada ta'minlashi shart.

Ko'p omilli tajribalar natijalariga statistik tarzda ishlov beriladi va regressiya tenglamasini olish uchun quyidagi ko'rsatgichlar hisoblanadi: 1) erkin a'zo regressiyasi koeffisienti; 2) o'rganilayotgan omillar regressiyasi koeffisienti; 3) omillararo hamkorlik regressiyasi koeffisienti; 4) qatorli dispersiyalar; 5) Koxren kriteriysini ahamiyati; 6) natijalar adekvatligi.

Masalan, pomidorning oltita genotipi gipoktiliysini (urug'palla osti) kulturalash sharoitini optimallashtirishda 24/16 to'liq omilli tajriba matrisasi bo'yicha birinchi tartibli tajriba qo'yilgan. 2- omillar sinalgan tenglamalar soni; 4- tajribada o'rganilayotgan omillar soni; (X_1 -inozit, X_2 –saxaroza, X_3 –zeatin, X_4 -ISK); 16–eksperiment sxemasi bo'yicha tajribalar soni.

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

$Y_{1+} 2,438 + 0,738X_2 - 0,662X_3 - 0,43X_4 + 0,433 X_2X_3 + 0,462 X_1X_2X_3 + 0,437 X_1X_4 + 0,537 X_1X_2 X_4 - 0,312 X_1X_2 X_3X_4$ (bitta kallusdagi kurtaklar soni bo'yicha).

Tenglamadan ko'rinib turibdiki, X_1 dan tashqari barcha omillar o'rganilayotgan jarayonlarga ijobiy yoki salbiy ta'sir ko'rsatadi. Demak, ikkala tenglamadagi X_2 omilning ahamiyati shundan iboratki, bu omil oziqa muhitga qo'shilganda unda o'sayotgan kallus to'qimalarining o'sishini va tasodifiy kurtaklarni paydo bo'lishini stimullaydi, zeatin va ISK (X_3 va X_4 omillar) miqdorining kamayishi esa bir kallusdan tasodifiy kurtaklarning paydo bo'lishini oshiradi. Shunday tarzda bitta tajriba orqali kallus va tasodifiy kurtaklarning paydo bo'lishiga ta'sir etuvchi omillar va pomidorning birlamchi kallusi orqali klonli mikroko'paytirishning boshlang'ich etapi uchun oziqa muhitning optimal tarkibi aniqlandi. Keyingi yillarda qand lavlagi, dukkaklilar,

rauvolfiya, jenshenning kallus to'qimalarini kulturalashning sharoitini optimallashtirish uchun, gerberiya, freziya, kaperslar, shuvoq, oddiy qarag'ay va boshqa ba'zi o'simliklarni klonli mikroko'paytirish jarayoni sharoitlarini optimallashtirish uchun ko'p omilli tajribalardan foydalanilmoqda. Matematik rejalashtirish usuli o'simlik to'qimalarini in vitro kulturalash va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishni optimallashtirishda samarali va iqtisodiy jihatdan foydali usul hisoblanadi.

Nazorat savollari

1. Ekish materiallarini virusdan xoli qilish usullari
2. O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni faollashtirish orqali o'simliklarni ko'paytirishni qanday amalga oshiriladi?
3. Sog'lomlashtirilgan, virusdan holi ekish materiallari olish jarayonlari
4. Klonli mikroko'paytirishni turli bosqichidagi o'simliklar to'qimalarini kulturalash texnikasiga nimalar kiradi?
5. O'simliklarning klonli mikroko'paytirish sharoitini optimallashtirish da nimalarga e'tibor berish kerak?

14-MA'RUZA

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga genetik fiziologik gormonal va fizik omillar ta'siri

Reja:

1. Genetik va fiziologik omillar
2. Gormonal omillar
3. Fizik omillar
4. Fizik omillar

Kalit so'zlar: metabolizm, organogenez induksiyasi, ekasplant, fruktoza, glyukoza, passaj, o'sish regulyatorlari, fitogormon, gebberal kislota

Klonli mikroko'paytirish usullarini yaratishda albatta, genetik, fiziologik, gormonal va fizik omillarnig ta'sirini hisobga olish zarur. Ma'lum bir turning kloni uchun ishlab chiqilgan usul, har doim ham shu turning boshqa vakillarini yoki boshqa turdagi o'simliklarni ko'paytirishda qo'llanilmasligi mumkin. Mikroko'paytirishga genotip, boshlang'ich o'simlikni yoshi, ajratilgan mavsumi, shuningdek birlamchi eksplantni o'lchami ta'sir ko'rsatadi. Gormonal

ta'sirlardan sitokinin va auksinlarni nisbati, oziqa muhitni mineral moddalar, vitaminlar, saxaroza bo'yicha tarkibi, fizik omillardan esa muhit konsistensiyasi (suyuq yoki agarlanganligi), kislotaliligi, yoritish sharoiti, shuningdek, harorat rejimi va havoning namligi ta'sir ko'rsatadi.

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

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

Xmel o'simligi turli navlaridan ajratilgan, apekslari oziqa muhitidagi gormonlarning ishtirok etishiga turlicha sezgirlik namoyon qilishi aniqlangan. Smolistiy navi uchun BAPni optimal konsentrasiyasi 1 mg/l, Istrinskiy-15 navi uchun 0-5-1,5 mg/l, va ISKani optimal konsentrasiyasi 0,05 mg/l deb topilgan. Smolistiy navi apekslariga oziqa muhitga ISK va 2,4-D, qo'shilishi ta'sir ko'rsatmadi. Istrinskiy – 15 navida esa 0,05 mg/l ISK va 0,05 mg/l 2,4-D solingan oziqa muhitda nihollar bo'yicha o'sishi tezlashishi kuzatiladi. Shuningdek, krijovnik o'simligi navlarining ajratilgan apekslari ham kulturalash sharoitiga morfogenetik reaksiyasi turlicha bo'lishi aniqlandi.

Morfogenetik potensialning o'simliklar turkumining o'ziga xosligiga bog'liqligi boshqali o'tlarda aniqlangan. Tajribalar natijasida makro va mikroelementlar, organik komponentlar (aminokislota, kazein gidrolizati, achitqi ekstrakti, biotin), o'sish regulyatorlarlariga nisbatan ularning ehtiyoji turlicha ekanligi aniqlandi. Boshlang'ich onalik shakllarga nisbatan duragaylar yuqori morfogenetik faollikni namoyon qilishi tasdiqlangan. Mikronihollarni ildiz otirishda ham navlarning xususiyati yuzaga chiqishi mumkin, masalan, gilosni mikronihollariga IMK bilan ishlov berilganda SHubina navini 52 %, Vladimirskaya navini 18 %, Lyubskiy navini esa 13 % ildiz otganligini Rossiya olimlari tomonidan aniqlangan. Qora smorodinani turli navlari mikronihollarining ildiz otishidagi farqi o'rganilgan.

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

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

Masalan, olmaning 8 ta turi bilan ish olib borilganda nihollarni ildiz otishi-yuvenil materialdan olingan mikrotuganaklarning ildiz otishi 80-90 %, 2-3 yillik o'simliklardan ajratilgan apikal kurtaklardan 50 %, undan kattaroq o'simliklardan 20-30 % ni tashkil qilgan.

Amaliy jihatdan o'simliklarni, ayniqsa, daraxtlarni 20 yildan so'ng ya'ni ho'jalik ahamiyati muhim belgilari baholanganidan so'ng ko'paytirish

maqsadga muvofiqdir. Lekin ulardan bunday qari o'simliklarni in vitro ko'paytirish katta qiyinchiliklar tug'diradi. Birinchidan, katta yoshdagi o'simliklarni barcha to'qima va organlari zamburug', bakteriyalar bilan endogen zararlangan bo'lib, bu aseptik kultura olishda qiyinchiliklar tug'diradi. Ikkinchidan, etuk daraxtlarning kurtaklari yoki boshqa organlari o'tchil o'simliklarga nisbatan in vitro sharoitini turlicha qabul qiladi. Bu kulturaga qayta o'tkazilgan eksplantlarning yaxshi o'sishi va rivojlanishini ta'minlovchi optimal sharoitni tanlash bo'yicha maxsus tajribalar o'tkazishni taqazo qiladi.

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

Reyuvenilizasiyani quyidagi bir necha usullar bilan: 1) eksplant olishdan avval o'sayotgan daraxt yoki alohida shoxlariga sitokinin eritmasi bilan qayta-qayta ishlov berish; 2) takroriy qalamchalash; 3) daraxt tanasidan nihollarning hosil bo'lishini induksiyalash va ildiz otishini stimullash uchun daraxtlar tez-tez butab turish; 4) takroriy payvandlash; 5) subkulturalarni (in vitro) seriyalash; 6) quyuq daraxtzorlar hosil qilish orqali yon shoxlarning o'sishini to'xtatish va tinim holatidagi kurtaklarning rivojlanishini stimullashdan orqali amalga oshirish mumkin. Abo El Nil taklif etgan reyuvenilizasiya texnologiyasining birinchi bosqichida tinim holatidagi daraxtlarga qayta-qayta sitokinin bilan ishlov berishni taklif etgan. Lekin bu ishda kinetin, Zip dan foydalanish mumkin. Sitokininning miqdorini ishlov berilayotgan daraxtning ta'sirlanish darajasiga ko'ra tajribalar natijalarini hisobga olgan xolda amalga oshirish lozim. Sitokinga boshqa o'sish regulyatorlaridan qo'shib ham foydalanish mumkin. Masalan, BAP bilan N-dimetilaminoqahrabo kislotani kam miqdori birgalikda qo'llanilganda ba'zi o'simlik turlarining ta'sirlanishi ortganligi aniqlangan. In vivo o'suvchi barcha daraxtlar va alohida shoxlariga ishlov berish mumkin. Ishlov berish uchun o'simliklarning kesilgan shoxlari sitokinin eritmasiga solib qo'yiladi yoki daraxtning o'tkazuvchi tizimlari orqali, masalan, shoxning kesilgan tomonidan in'eksiya qilinadi. Bunday ishlov natijasida

kurtak va nihollarning hosil bo'lishi tezlashadi va ular yosh asosning morfologiyasi kabi morfologiyaga ega bo'ladi. Nihollar yoki kurtaklarga ega kalta poya qirg'malari, kurtaklari va nihollarini o'sishini induksiyalash uchun in vitro oziqa muhitga joylashtiriladi. So'ng shakllangan nihollar ko'paytirish uchun, yoki ildiz chiqarish uchun moslashtirilgan oziqa muhitlarga o'tkaziladi. Bunda oraliq bosqich yangi hosil bo'lgan kurtaklarning ochilishi va undan nihollarning rivojlanishiga imkon beruvchi muhit hisoblanadi.

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

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

Gormonal omillar. Klonli mikroko'paytirishni muvaffaqiyatli amalga oshishida oziqa muhitining gormon muvozanati ham muhim omillardan biri hisoblanadi. Gormonlarning nisbati (sitokinin auksin) yuqori bo'lganda ichki meristemalar yoki adventiv kurtaklar rivojlanadi, past bo'lganda ildiz hosil

bo'lishi indusirlanadi, o'rtacha bo'lganda esa kallus to'qimalari hosil bo'lishi va proliferasiyasi kuzatiladi.

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

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

Sitokinin va auksinlardan tashqari oziqa muhitga ba'zida gebberal kislotasi ham qo'shiladi, u shakllangan kurtaklarni o'sishini va cho'zilishini (elongasiyasi) stimullaydi va er ustki qismi yaxshi rivojlangan o'simlik olish imkonini beradi.

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

Klonli mikroko'paytirishga gormonlar bilan bir qatorda mineral tuzlar, vitaminlar va uglevodlar ham ta'sir ko'rsatadi. O'simliklarni in vitro mikroko'paytirish uchun Murasiga va Skuga, Linsmaer va Skuga, Gresxof va Dou, Nich, Xeller, Shenk va Xildebrandt va boshqa bir-biridan ammoniyli va nitratli azot nisbati bilan farq qiluvchi oziqa muhitlardan foydalaniladi. Ko'pincha tadqiqotchilar yuqori miqdorda anorganik moddalar tutuvchi Murasiga va Skuga oziqa muhitlaridan foydalanishni afzal biladilar. Azot bilan boyitilgan oziqa muhitlardan foydalanilganda, nafaqat kallus to'qimasi hosil bo'lishiga, balki organogenez va ayniqsa somatik embriogenez jarayonlarini stimullanishiga ham erishish mumkin. Masalan, NH_4NO_3 Brassica ni har xil turlari murtaklarini morfogenetik potensialiga ta'sir etadi. Murtaklarni yashovchanlik foizi va nihollar hosil bo'lish chastotasi NH_4NO_3 ning muhitdagi

miqdori kamaytirilganda oshadi, nihollarning va murtaklar shakllanishini maksimal darajasiga NH_4NO_3 ishtirok etmaydigan oziqa muhitida erishish mumkin. KNO_3 va NH_4NO_3 ning miqdori 6,7 mM gacha kamaytirilganda krijovnikning ba'zi navlarini morfogenezi yaxshilanadi. Pomidor uchun mineral azotning miqdori oshirilgan oziqa muhitda kallus hosil bo'lish jarayoni to'xtashi va eksplantlarni nobud bo'lishi tajribalarda aniqlangan. Gloksiniya uchun vegetativ va reproduktiv tuzilmalarning hosil bo'lishi oziqa muhit tarkibidagi komponentlarga bog'liq ekanligi aniqlangan. KNO_3 (20 mM) va saxarozaning (100 mM) yuqori miqdorida ko'pincha vegetativ kurtaklarni rivojlanishi, gul kurtaklarning rivojlanishi esa faqat 28% eksplantlarda kuzatilgan. Oziqa muhitda KNO_3 (2 mM) va saxarozaning (15 mM) kam miqdorida barcha eksplantlarda faqat gul kurtaklar hosil bo'ladi.

Mikroko'paytirish jarayonlariga gormon tabiatiga ega bo'lmagan biologik faol moddalar, shuningdek uglerodli oziqlantirish ham sezilarli ta'sir ko'rsatadi. Ma'lumki, kallus to'qimalari hosil bo'lishi, undan nihollarning regenerasiyalanishi va embriodlarning paydo bo'lishi uchun, oziqa muhiti tarkibida vitaminlar, aminokislotalar, o'simlik ekstraktlari, kazein gidrolizati ishtirok etishi zarur. Agar nihollarning rivojlanishi mavjud ichki meristemalar hisobiga yoki shakllangan kurtak va embriodlar hisobiga bo'lsa, u holda biologik faol moddalarni zaruriyati yo'q, chunki bunday nihollar o'zining xayot faoliyati uchun zarur bo'lgan moddalarni o'zi sintezlash qobiliyatiga ega. Biologik faol moddalarning yuqori konsentrasiyasi gipervitaminoz keltirib chiqaradi, natijada o'sish cheklanadi, barglarini qorayishi va qurishi, o'simlik morfologiyasining o'zgarishiga olib keladi.

Klonli mikroko'paytirishning barcha bosqichlarida uglevod manbai sifatida 3%li saxarozadan foydalaniladi. Lekin, bu miqdorni barcha o'simliklarni in vitro o'stirish uchun optimal deb bo'lmaydi. Qora qarag'ayning ajratilgan murtaklarini o'sishida saxarozaning yuqori miqdori (23 %) adventiv kurtaklarni paydo bo'lishiga salbiy ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Ikkinchi passajda bu jarayon amalga oshmaganligi va to'rtinchi passajda barcha

eksplantlar nobud bo'lganligi kuzatilgan. Oziqa muhitdagi saxaroza konsentrasiyasining kamligi nafaqat adventiv kurtaklarni paydo bo'lishini, balki uning rivojlanib nihol hosil qilishini ham stimullaydi. Nihollar saxarozaning 0,5 – 1 % li miqdorida 2-3 oy kulturalanganida 1-1,5 sm uzunlikka ega bo'ladi, ulardan ko'paytirish yoki ildiz ottirish uchun foydalanilgan.

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

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

beradi. Boshqa tomonidan qaraganda, bu sharoitda anomal, egri –bugri nihollarning paydo bo'lish extimoli ortadi. Agarli oziqa muhitlardan foydalanish orqali bu muammolarni yo'qotish mumkin, lekin shu bilan birga bu usul eksplantlarni oziqlanishi sharoitini yomonlashtiradi va metabolizm mahsulotlari chiqib ketishiga to'sqinlik qiladi.

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

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

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

Ko'pchilik tadqiqotchilarning fikricha, yoritish intensivligi organogenez induksiyasida muhim rol o'ynar ekan. Begonya o'simligi kulturasida yoritishni

3 dan 6 ming lk gacha oshirilishi nihol hosil bo'lish intensivligini ortishiga olib kelgan. Asparagus to'qimalarda esa 1 ming lk yorug'likda (16 soatlik fotojarayon) maksimal darajada nihollar va ildizlar hosil bo'lganligi aniqlangan, yoritish intensivligini oshirilishi yoki kamaytirilishi to'qimalarning orgogenez qobiliyatini pasayishiga yoki nobud bo'lishiga olib kelgan.

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

Harorat metabolism jarayonlarini faollashtirish orqali o'simlikning ajratilgan to'qimalarini o'sishi va regenerasiyalanishiga, muhim ta'sir ko'rsatadi. Ko'pchilik o'simlik to'qimalari uchun optimal harorat $23 - 25^{\circ}\text{S}$ ni tashkil etadi.

Lekin o'simliklarning haroratga bo'lgan ehtiyoji turlicha bo'lishi mumkin. Lilium auratum o'simligi piyozlari hosil bo'lishiga 20°S harorat yaxshi ta'sir

ko'rsatadi. Gladiolusning eksplant to'qimalari muzlatilganda, uning regenerasiyalanish qobiliyati oshadi. Begonya o'simligi qalamchalari kulturasida nihollarning hosil bo'lishini past haroratda ($15-18^{\circ}\text{S}$) ikki hafta davomida induksiya qilish lozim. Harorat rejimi birinchi navbatda, o'simlik turiga bog'liq. Masalan, tropik o'simliklar uchun o'stirishning optimal harorati 27°S atrofida, boshqa ko'pchilik o'simliklar uchun esa -25°S dir. Klonli mikroko'paytirishda probirka o'simliklari klimatik kameralarda 16 soatli fotodperiodda va havoning namligi 70 % bo'lgan sharoitda o'stiriladi.

Shunday qilib, o'simliklarni ko'paytirish koeffitsientini oshirishda, har bir tur uchun, uning tabiiy o'sish sharoitini hisobga olgan holda kulturalashning individual sharoitini yaratish zarur. Demak, klonli mikroko'paytirish usuli o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi istiqbolli usuli bo'lib, genetik bir xil sog'lomlashtirilgan ekish materiallari olish, ko'paytirishning yuqori koeffitsientiga erishish, seleksion jarayonlarni qisqartirish, butun yil davomida ish olib borish, o'simliklarni o'stirish uchun zarur bo'lgan maydonlarni qisqartirish imkonini beradi. Dunyoning ko'pgina mamlakatlarida klonli mikroko'paytirish bioindustriyasi oqimi sanoat asosiga qo'yilgan va o'nlab korxonalar faoliyat yuritmoqda. Masalan, Fransiyada gulli o'simliklar mahsulotlarining 94% ini ajratilgan to'qimalar kulturasida usuli yordamida, AQSHda 100 ga yaqin tijorat korxonalari manzarali, mevali va o'rmon o'simliklari, sabzavotlarning ekish materiallarini klonli mikroko'paytirish usuli yordamida olinadi. Dunyo bozorida sog'lomlashtirilgan ekish materiallari etishtirish bo'yicha Gollandiya, olma, olxo'ri va shaftoli ko'chatlarini (xar yili 250-500 mingtagagacha) etishtirish bo'yicha Italiya yetakchilik qiladi.

Nazorat savollari

1. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga genetik omillarga nimalar kiradi?
2. O'simliklarni klonli mikroko'paytirishga fiziologik omillar ta'sirini o'rganish dan maqsad nima?

3. Klonli mikroko'paytirishda gormonal omillarning ahamiyati nimadan iborat?
4. Fizik omillarga nimalar kiradi?

15-MA'RUZA

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

Reja:

1. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni in vitro kulturalash usullarini shartli ravishda ikki guruhga
2. O'simliklar seleksiyasida in vitro usullarining yordamchi usul sifatida qo'llanilishi.
3. Postgam chatishmaslikni engish
4. Uzoq duragaylarni klonli mikroko'paytirish
5. in vitro gaploidlar olish va ularni seleksiyada qo'llash

Kalit so'zlar: Genetik transformasiyalash, changdonlar kulturasini, partenogenezi, ginogenezi, androgenezi, Gaploid asoslar, embriokultura,

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

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

Ikkinchi guruh usullari mustaqil ravishda, seleksiyaning an'anaviy usullariga bog'liq bo'lmagan holda, kallus to'qimalarini qo'llash orqali hujayralar seleksiyasini amalga oshirish, somatik duragaylash (alohida ajratilgan protoplastlarni bir-biriga qo'shish va jinssiz duragaylar olish), gen

muxandisli usullaridan foydalanib, o'simliklarni yangi shakllari va navlarini olishga qaratilgandir.

O'simliklar seleksiyasida in vitro usullarining yordamchi usul sifatida qo'llanilishi. Uzoq formalarni chatishtirishda ajratilgan to'qimalar kulturasini: in vitro urug'lantirish, embriokultura (alohida ajratilgan murtaklarni sun'iy oziqa muhitlarda o'stirish), qimmatli duragaylarni in vitro gaploidlarini olish, klonli mikroko'paytirish va kriosaqdash kabi usullaridan foydalaniladi.

Agar tabiiy sharoitda tanlangan juftliklar orasida urug'lanish imkoniyati bo'lmasa in vitro urug'lantirish amalga oshiriladi. Bu bir necha sabablarga bog'liq bo'lishi mumkin: 1) fiziologik (chang etilish vaqtining mos kelmasligi va boshqalar); 2) morfologik (changdon naychasining qisqaligi yoki rivojlanishning turli davrlarida uning o'sishini to'xtatishi va boshqalar). Buni ikki xil yo'l bilan amalga oshirish mumkin: a) tuguncha ustiga etilgan chang donachalari qo'yilib, sun'iy agarli oziqa muhitlarda o'stiriladi; b) tuguncha yoriladi va urug' kurtak bilan plansenta bo'lagi oziqa muhitiga o'tkaziladi, uning atrofida yoki bevosita murtak to'qimasida etilgan chang o'stiriladi. Urug' kurtaklar o'lchamiga qarab urug'lanish amalga oshganligini aniqlash mumkin. Urug'langan urug'murtaklar o'lchami kattalasha boshlaydi.

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

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

Murtaklarni sun'iy oziqa muhitlarda o'stirishga *embriokultura* deb ataladi. Etilgan murtaklar fiziologik faol moddalar ishtirokisiz faqat mineral tuzlar va saxaroza tutuvchi oddiy tarkibdagi oziqa muhitlarida o'sadi (masalan, Uayt oziqa muhitida). Uzoq turlar o'zaro chatishtirilganda murtaklar rivojlanishi buzilishini dastlabki davridayoq kuzatish mumkin, bunda hujayralar differensiyalanmaydi, o'sishi sekinlashadi. Bunday hollarda murtak kulturasi o'sishi ikki bosqichdan: murtakning embrional o'sishi, bu vaqtda uning differensiyalanishi davom etadi va etilayotgan murtakni o'sishidan iborat bo'ladi. Birinchi bosqich uchun saxaroza miqdori oshirilgan, turli aminokislotalar, vitaminlar va gormonlar qo'shilgan murakkab tarkibli oziqa muhiti kerak bo'ladi.

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

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

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

Alohida ajratilgan murtaklar kulturasi uzoq duragaylar olishda yordamchi usul sifatida nafaqat postgam chatishmaslikni engishda, shuningdek ho'jalik

ahamiyati qimmatli duragaylarni ko'paytirishda ham qo'llaniladi. Bu holda mikroko'paytirish kallusogenez, morfogenez induksiyasi va kallus to'qimasidan regenerant o'simlik olish yo'li bilan boradi. Yetilmagan murtaklarni klonlash texnikasi qimmatli genotipga ega bo'lgan o'simliklarni hayot jarayonining boshlang'ich davrlarida ko'paytirish imkonini beradi. Murtak kulturasini qo'llashning yana bir imkoniyati ulardan hujayralar seleksiyasida foydalanishdir.

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

in vitro gaploidlar olish va ularni seleksiyada qo'llash. Gapliod o'simliklarning seleksiyadagi o'rni beqiyosdir. Ularni qo'llash orqali kerakli kombinasiyani tezroq topish nav yaratish muddatini qisqartiradi. Gaploidlardan barqaror gomozigot tizimlar olishda foydalaniladi. Mutagenez uchun ham gaploidlardan foydalanish qulay, chunki gaploidlar darajasida resessiv mutasiyalarni tanlash oson kechadi.

Diploid o'simliklarda gomologik xromosomalar allel genlarining ikkalasi ham kamdan-kam hollarda mutasiyaga uchraydi. Asos odatda geterozigot bo'lib (ikkala geni bilan farq qiladi), bunda faqat dominant genning ta'siri yuzaga chiqadi. Chunki mutasiya ko'pincha resessiv bo'lganligi sababli, ularni aniqlash qiyin. Gomologik xromosomalarning faqat bittasini tutuvchi gaploid o'simliklarda esa mutasiya tez aniqlanadi. Gaploid darajasidagi seleksiya

nafaqat dominant, balki resessiv belgilarni ham to'g'ridan – to'g'ri tanlash imkonini beradi.

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

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

- *ginogenez* – urug' kurtaklarni sun'iy oziqa muhitlarda o'stirib, gaploid o'simliklar olish.

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

Changdonlarni kulturalash texnologiyasi asosida, bug'doy, makkajo'xori, arpa, kartoshkani gaploid o'simliklari olingan. Changdonlar kulturasida gaploid o'simliklar paydo qilishning ikki yo'li mavjud: Birinchi – yo'li changdonachalaridan embriogenez yo'li bilan o'simlik hosil qilish. Bunda changdonlar ichida alohida changdonachalaridan embroidlar paydo bo'ladi. Ular o'sib gaploid o'simliklar hosil qiladi. Ikkinchi yo'li – changdon hujayralaridan kallus to'qimasi olish va keyinchalik kallus hujayralarida morfogenez natijasida o'simlik regenerasiyalash. Lekin paydo bo'lgan o'simlik xar doim ham gaploid bo'lavermaydi va ular ko'pincha ploidliligi bilan farq qiladi. Hozirgacha ularning poliploidlangan gaploid hujayralardan yoki hujayralar qo'shilishidan xosil bo'lishi oxirigacha aniqlanmagan.

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

Genetik transformasiyalash bo'yicha tajribalar uchun, ba'zi hollarda protoplastlarga nisbatan changdonalaridan foydalanish qulaydir.

Nazorat savollari

1. Ajratilgan hujayra va to'qimalarni in vitro kulturalash usullarini nechchi guruhga bo'linadi?
2. O'simliklar seleksiyasida in vitro usullari yordamchi usul sifatida qo'llanilishi xaqida ma'lumot bering
3. Postgam chatishmaslikni engish qanday amala oshiriladi?
4. Uzoq duragaylarni klonli mikroko'paytirish jarayonlari
5. in vitro gaploidlar olish va ularni seleksiyada qo'llash usullari xaqida ma'lumot bering.

16-MA'RUZA

O'simlik hujayra va to'qimalarini kriosaqlash

Reja:

1. O'simliklarning somatik hujayralarini suyuq azotda saqlash
2. Kriosaqlashni amalga oshirish
3. Krioprotektorlar ya'ni, hujayralarni mexanik va osmotik stresslar zararlashidan saqlovchi moddalarni tanlash
4. O'simlik hujayralari seleksiyasi
5. Hujayra darajasidagi o'simliklar seleksiyasi

Kalit so'zlar: somatik hujayralar, kriosaqlash, hujayralarini muzlatish, krikonservasiya, muzlatish rejimi, suyuq azot

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

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

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

Krikonservasiya jarayoni hujayralar kulturasini muzlatishga tayyorlashdan boshlanadi. Buning uchun hujayralar kulturasini turli osmotik faol moddalar: 2-6% konsentratsiyadagi mannit yoki sorbit, aminokislotalar, ulardan o'simliklar hujayrasidagi suvni o'ziga tortib olish xususiyati bilan ma'lum bo'lgan prolin, shuningdek Y-aminomoy kislota tutuvchi oziqa muhitlarda kulturalanadi.

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

Kriosaqlash uchun muzlatish rejimini to'g'ri tanlanishi (0°S dan $- 40^{\circ}\text{S}$) muhim ahamiyatga ega. Hamma ob'ektlar uchun muzlatishning davomiyligi bir minutda $0-1^{\circ}\text{S}$ qilib belgilangan va barcha ishlar muzlatish dasturi asosida maxsus qurilmalarda olib boriladi.

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

Materiallarni suyuq azotda saqlash vaqti chegaralanmagan. Masalan Rossiya fanlar akademiyasi o'simliklar fiziologiyasi institutida sabzi to'qimalari 20 yil, kartoshka meristemasini 10 yildan buyon suyuq azotda saqlanmoqda.

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

Shunday qilib, o'simlik ob'ektlarini kriosaqlash bilan bog'liq bo'lgan texnologiya rivojlanmoqda va mukammallashmoqda. Shubhasiz, bu texnologiya o'zining kelajagiga ega, bugungi kunda kriobanklar seleksionerlar ishlarini engillashtirmoqda, ularga o'simliklarni turli navlari, yovvoyi turlarini, shuningdek yo'qolib borayotgan turlari genlari bilan ishlash imkoniyatlarini yaratib bermoqda.

O'simlik hujayralari seleksiyasi O'simliklar hujayra, to'qima va organlarini in vitro kulturalash usuli hujayralar biologiyasi, o'simliklar fiziologiyasi va genetikasi muammolarini hal qilishga xizmat qilib kelmoqda, shu bilan birga, hozirgi kunda yangi biotexnologiyalarni yaratilishida keng qo'llanilmoqda. O'simliklarning hujayra, to'qima va organlarini kulturalash bo'yicha birinchi natijalar olingandan boshlaboq tadqiqotchilarni sun'iy oziqa muhitlarida o'sayotgan ajratilgan hujayralarda qanday o'zgarishlar yuzaga kelishi va uning sabablari qiziqtirib kelgan. Kallus to'qimalaridan regenerant o'simliklar olish texnikasi ishlab chiqilgandan so'ng, boshlang'ich o'simlikdan

fenotipik va genotipik xususiyatlari bilan farq qiluvchi o'simliklarni yangi shakllarini yaratish imkoniyati paydo bo'ldi. Hujayra tizimlari va regenerant-o'simliklar orasidagi bunday xilma-xillik «somaklon» deb ataladi.

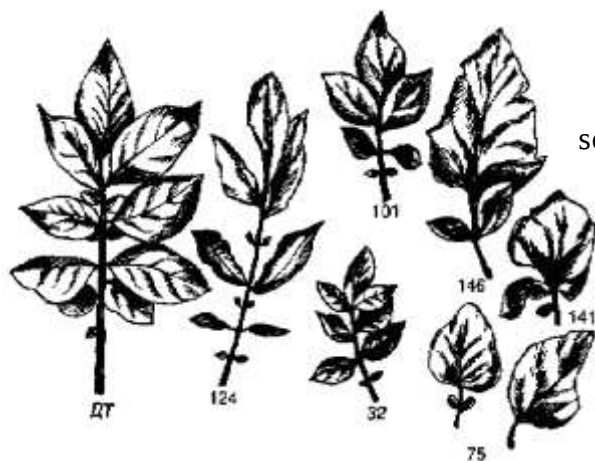
Somaklonal o'zgarishlarni genetik tabiati va paydo bo'lish mexanizmi hozirgacha kam o'rganilgan. Ammo somaklon variantlarni paydo bo'lishi, boshlang'ich eksplantlar somatik hujayralarining genetik geterogenligi, kulturalashning in vitro sharoiti tomonidan indusirlanuvchi genetik va epigenetik o'zgaruvchanlik,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

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

Sitologik tadqiqotlar in vitro kulturalash sharoiti tufayli indusirlanuvchi variabellik genetik o'zgarishlar bilan bog'liq ekanligini ko'rsatdi. Fenotipik variantlarni paydo bo'lishining asosiy manbai bo'lib turli kariologik o'zgarishlar va qayta tashkillanishlar xizmat qiladi. Ammo ulardan aynan qaysi

biri fenotipik ta'sirga ega ekanligi va barqaror gen mutasiyasi sifatida avloddan–avlodga berilishini aniqlash ancha qiyin kechadi. Xromosomalardagi mayda bo'linish, duplikasiya, translokasiya, inversiya kabi har bir o'zgarish regenerant o'simliklarda va ularning keyingi avlodlarida fenotipik o'zgarishlarni yuzaga keltirishi mumkin. Xromosomalardagi o'zgarishlar ko'pincha meyoza kuzatiladi. Regenerant o'simliklar hujayralarini meyozi tahlil qilinganda, xromosomalardagi translokasiya, inversiya, subxromatid almashinish, xromosomalarni qisman yo'qolishi kabi qayta tiklanishi jadal ravishda ketayotgani aniqlandi. Bu fenotipik o'zgarishlarga ko'pincha genetik mexanizmlar sabab bo'lishidan dalolat beradi.

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



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

Somaklonlarni turli tumanligi boshlang'ich genotipga, eksplantni tabiati va rivojlanish bosqichlariga bog'liq. Masalan, turli boshoqlilarda somaklonlar orasidagi o'zgaruvchanlik darajasi ancha farq qiladi: bug'doyda ($2nq6xq42$) o'rganilgan 192 ta regenerant o'simliklardan 29% aneuploid, geksoyploid suli ($2nq6xq42$) da ham shunday chastotadagi sitogenetik o'zgarishlar aniqlangan, makkajo'xori uchun esa aneuploid o'simliklar paydo bo'lishi chastotasi 2-3%

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

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

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

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

Somaklonal variantlarni boshlang'ich o'simliklardan biokimyoviy, miqdor, sifat belgilari bilan shuningdek sitogenetik xarakteristikasi bilan farqlanuvchi shakllari qishloq ho'jalik amaliyotida amaliy foydalanilmoqda. Masalan, Rossiya olimlari (V.V.Sidorov va boshqalar 1984,1985) kartoshkani Zarevo navi samoklonlarini olishga muvaffaq bo'lganlar. Bu samoklonlar hosildorligi, kasalliklarga chidamliligi, tuganaklarida protein va kraxmal miqdorining yuqoriligi bilan ajralib turadi. Shuningdek nasldan – naslga beriladigan muhim xususiyatlari tuganaklardan ko'paytirilganda 3 yil davomida saqlanib qoladi. Tamaki o'simligi kallus to'qimalaridan olingan somaklonlar tamaki mozaikasi virusiga chidamli, qand lavlagini yangi navi hosildorligi, kasalliklarga, ayniqsa Piji kasalligiga chidamliligi bilan xarakterlanadi.

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

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

Hujayra darajasidagi o'simliklar seleksiyasi. Hujayralar seleksiyasini somaklonlar olish bilan birgalikda qo'llash muhim ahamiyatga ega. In vitro kulturasida qishloq xo'jaligi uchun texnologiyalar yaratish–somaklonal variasiyalar yoki indusirlangan mutasiyalar asosida qattiq selektiv sharoitda foydali xususiyatlarga ega hujayralarni tanlash imkonini beradi.

Hujayralar seleksiyasini amalga oshirish uchun quyidagi usullardan foydalaniladi:

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

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

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

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

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

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

Kallus to'qimasi oson olinadigan material bo'lib, ko'pincha hujayralar seleksiyasida qo'llaniladi. Qoida bo'yicha, tadqiqotlar birlamchi yoki ko'chirib o'tkazilgan, subkulturalash davomida o'zinig regenerasiyalanish qobiliyatini yo'qotmaydigan kallus to'qimalarida olib boriladi. Ammo, kallus to'qimasi bilan ish olib borgan tadqiqotchilar, bu ob'ekt to'qimalarining o'sish tezligini pastligi, selektiv omil sifatida qo'llaniladigan zaharli moddalarning barcha hujayralarga bir xil ta'sir etmasligi, shuningdek kallus to'qimalarining qayta kulturalash jarayonida regenerasiyalanish qobiliyatini yo'qotishi kabi kamchiliklari mavjudligi ta'kidlab o'tilgan. Shubhasiz, seleksiyani yakka hujayralar darajasida (suspenziya kulturalari, protoplastlar) o'tkazish maqsadga muvofiqdir. Lekin ko'pchilik o'simlik turlari uchun yakka hujayralarni kulturalashning samarali texnologiyalari va usullari hali yaratilmagan. Shuning uchun, kallus to'qimalari yuqorida keltirilgan kamchiliklarga ega bo'lsada, ba'zi o'simlik turlari uchun seleksiyaning bu usuli hozircha yagona bo'lib qolmoqda. Chidamli, barqaror tizimlarni olish uzoq jarayondir. Qoidaga asosan,

seleksiya ajratilgan o'simlik eksplantlaridan etarli miqdorda kallus massasi olishdan boshlanadi, so'ng selektiv omillar miqdorini aniqlash uchun foydalaniladi, bunda bir vaqtning o'zida kallus to'qimasi o'sishi, shu bilan birga kallus koloniyalarining bir qismi nobud bo'lishi kuzatiladi. Selektiv omillarning tanlangan miqdori optimal deb topiladi va keyingi tajribalarda foydalaniladi. SHunga qaramay, selektiv omillar tutuvchi oziqa muhitda olingan birlamchi hujayralar koloniyasi fiziologik moslashishlari natijasida yoki hujayralarni ma'lum holatdagi differensiyalanishidan genetik barqaror bo'lmasligi mumkin, u holda selektiv kulturada 4-6 marta subkulturalash orqali olingan klonlarni barqarorligi va bardoshliligi tekshiriladi. So'ng bu klonlar selektiv omillar qo'shilmagan oziqa muhitga o'tkaziladi va yana 2-3 marta qayta ekiladi (subkulturalanadi), faqat selektiv sharoitga qaytgandan so'ng barqaror klonlar tanlab olinadi, ulardan regenerant – o'simlik olishga harakat qilinadi. Ammo, tuzlarga, kasallik chaqiruvchi zamburug'lardan ajratilgan toksinlarga chidamli o'simliklarni olish bo'yicha olib borilgan izlanishlarning ko'rsatishicha, hujayralarni va o'simliklarni chidamliligi o'rganilayotgan selektiv omillarga mos kelishi va mos kelmasligi ham mumkin ekan (in vitro o'simlik va hujayralarning past haroratga, gerbisidga, alyuminiyning yuqori konsentratsiyasiga va boshqa omillarga chidamliligi orasidagi aloqadorligi aniqlangan).

Yangi seleksion materiallar olish maqsadida kallusni kulturalash ko'pgina o'simliklar bug'doy, arpa, sholi, makkajo'xori, shuningdek, kartoshka, pomidor, beda va kamdan–kam hollarda daraxtlar bilan shunday ishlar olib borilgan. Xozirda bug'doy, sholi, kartoshkani NaCl va Na₂SO₄ ga chidamli o'simliklarini olish bo'yicha yaxshi natijalarga erishilgan. Oziqa muhit tarkibiga aminokislotaning zaharli analogini kiritish orqali sabzining metioninni 20 marta ko'p, triptofanni 30 marta ko'p, lizinni 5 marta ko'p sintezlovchi hujayralari, undan etuk o'simliklar olingan. Kartoshkaning esa xalqasimon chirish kasalligiga bardoshli shakli olingan. Daraxtsimon o'simliklarda olib borilayotgan ishlar bo'yicha xozircha ijobiy natijalar kam, lekin izlanish

davom etmoqda. Shunday qilib, seleksiya maqsadlari uchun kallas kulturasidan foydalanish muhim xususiyatlarga ega bo'lib, insoniyat uchun zarur bo'lgan yangi o'simlik shakllarini yaratishda keng imkoniyatlar ochmoqda.

Yuqorida sanab o'tilgan ob'ektlar (kallasli suspenziya kulturasida, ajratilgan protoplastlar) bilan birga seleksiya uchun boshlang'ich material sifatida somatik yoki androgen embrioidlar kulturasida, barg segmentlari yoki o'simlikni turli meristematik va poya qismlari kabi organogen eksplantlar, shuningdek ajratilgan murakkab kulturasidan foydalanish mumkin. Masalan, arpaning urug'idan murakkabni in vitro kulturalash va seleksiyalash yo'li bilan aminokislotalar analoglariga chidamli va oqsil tarkibi boyitilgan o'simligi olindi. Kartoshka uchun nihollar va qalamchalarni mutagenlar bilan ishlav berish orqali xlorofill tanqisligi va antibiotiklarga chidamli ximer mutantlar olishni samarali usullari ishlab chiqildi.

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

Nazorat savollari

1. O'simliklarning somatik hujayralarini suyuq azotda saqlashdan maqsad nima?
2. Kriosaqlashni amalga oshirish jarayonlari haqida ma'lumot bering
3. Krioprotektorlar ya'ni, hujayralarni mexanik va osmotik stresslar zararlashidan saqlovchi moddalarni tanlash nimaga asoslanadi?
4. O'simlik hujayralari seleksiyasining ahamiyati
5. Hujayra darajasidagi o'simliklar seleksiyasi qanday amalga oshiriladi?

17-MA'RUZA

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

Reja:

1. Qurg'oqchilik va sho'rlanishga chidamli o'simliklar olish
2. Metallarga va keskin haroratga chidamli o'simliklar tizimlarini olish
3. O'simliklarning kasalliklarga chidamliligini amalga oshirish
4. Mutagenlar va ularni hujayralar seleksiyasida qo'llanilishi

5. Somatik hujayralarni duragaylash

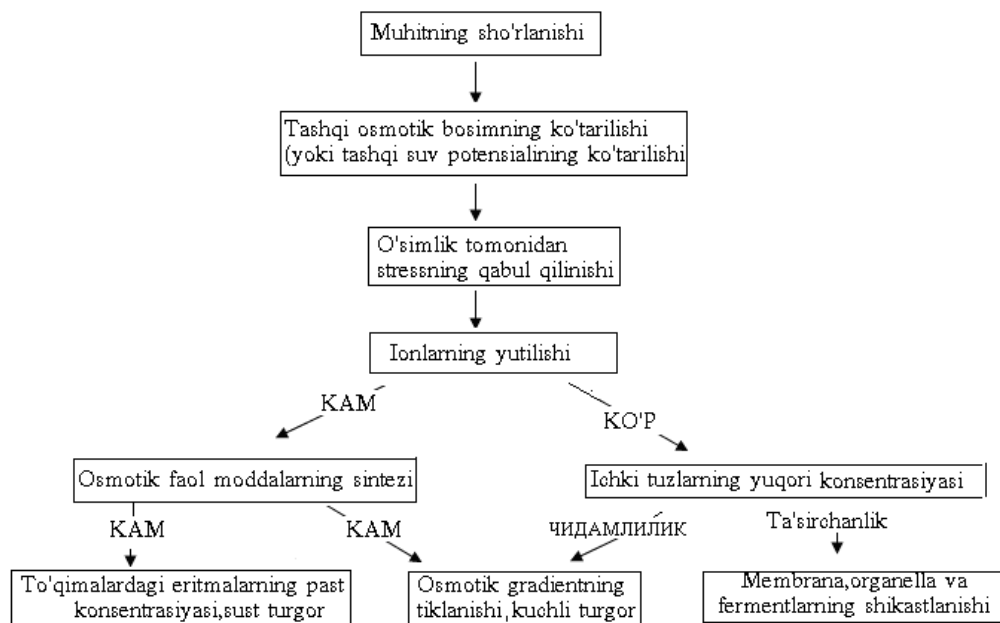
Kalit soʻzlar: Biotik, abiotik, qurgʻoqchilik, stressga bardoshli, mutagen, somatik xujayra

Qurgʻoqchilik. Tuproqdagi suv tanqisligi boshqa barcha omillar bilan birgalikda olingandagiga nisbatan, oʻsimliklarga koʻproq zarar keltiradi. Qurgʻoqchilik tuproqda va oʻsimliklarda suv tanqisligini keltirib chiqaradi va ularda suv stressini chaqiradi «qurgʻoqchilik» iborasi tuproqning suv stressiga nisbatan qoʻllanilsa ham, issiqlikning oʻsimlikka taʼsirini ham oʻz ichiga oladi. Suv tansiqsligi orqali yuzaga kelgan stress qurgʻoqchilik boʻlganda birlamchi, shuningdek, past harorat, issiqlik yoki tuzlar taʼsiri ikkilamchi boʻladi. Qurgʻoqchilikdan yuzaga kelgan stress natijasida oʻsimliklarda fermentlar faolligi buzilishi, biokimyoviy yoʻllari ishdan chiqishi, zaharli moddalarning hujayralarda yigʻilishi, ionlarni oqib chiqib ketishi, oziqalar tanqisligi va boshqa sabablar oqibatida oʻsimliklarning zararlanishiga olib keladi.

In vitro qurgʻoqchilik stress samarasini yaratish uchun, tashqi suv potensialini kamaytiruvchi osmotik faol moddalar qoʻshilgan oziqa muhitlardan, qurgʻoqchilikka chidamlilik seleksiyasi uchun esa selektiv agent sifatida, tarkibida hujayraga kira olmaydigan osmotik faol modda tutuvchi polietilenglikol (PEG) moddalaridan foydalanildi. PEG yordamida stressga chidamliligi oshirilgan tamaki tizimlari ajratilgani haqida birinchi xabarlar 1979 yildan paydo boʻla boshlagan (Heyser, Nabors, 1979). Keyinroq R.Bressan va boshqa hammualliflar tomonidan qurgʻoqchilikka chidamlilik seleksiyasi pomidor hujayra tizimlarida amalga oshirilgan, ular kallus toʻqimalarini 15 % li PEG 6000 tutuvchi oziqa muhitlarida oʻstirib, suv tanqisligi stressi paydo qilishgan, tajribalar natijasida chidamli kallus tizimlari ajratib olingan, lekin kallus toʻqimalari osmotik moddalar solinmagan oziqa muhitlarda kulturalanganda chidamlilik belgilari yoʻqolib borgan, bu adaptasiyaning fiziologik tabiatdan ekanligidan dalolat beradi. Qurgʻoqchilikka chidamli soya genotiplarini aniqlashda kallus tizimlarini PEG ishtirokida oʻstirish orqali sinash usuli taklif etilgan. Suv tansiqsligi stressiga bardoshli hujayra tizimlarini

olish uchun, osmotik sifatida 99-880 mM mannitol tutuvchi oziqa muhitlardan ham foydalanish mumkin. Yuqoridagi holatlardagi kabi osmotik adaptasiya bo'lgan hujayralar sho'rlanish stressiga ham bardoshli ekanligi aniqlangan.

Sho'rlanish. Qishloq xo'jaligi ekinlarining hosildorligini chegaralovchi omillardan yana bittasi, bu tuproqning sho'rlanishidir. Sayyoramizning 900 mln.gaga yaqin maydoni yuqori darajada sho'rlangan va sho'rlanish miqdori yildan–yilga ortib bormoqda. Ayniqsa, sun'iy sug'oriladigan maydonlarda tuproqdagi tuzning miqdorini ortishi barchani tashvishiga solmoqda. Bu muammoni hal etish, sug'orishning to'g'ri usullarini topish, sug'orish uchun tuzning miqdori kamaytirilgan yoki umuman tuzlardan xoli suvlardan foydalanish kabi rasional agrotexnik usullarni ishlab chiqishni taqozo etadi. Shu bilan birga, o'simliklar biotexnologiyasi usullaridan foydalanib, qishloq xo'jaligi uchun muhim bo'lgan o'simliklarning somatik hujayralari darajasida seleksiya qilib, protoplastlarni bir-biriga qo'shib yoki rekombinant DNK molekulalari texnikasidan foydalanib, genlarni ko'chirib o'tkazish orqali sho'rlanishga chidamli genotiplarini yaratish mumkin. Sho'rlanishning zararli ta'siri kompleks xarakterga ega bo'lib, hujayraning osmotik balansi buzilishiga, natriy va xlor ionlarining hujayradagi fiziologik va biokimyoviy jarayonlarga zaharli ta'sir etishiga sabab bo'ladi. Bunday ta'sir natijasida, hujayraning turgor holati buziladi, membranalar funksiyasi va fermentlar faolligi pasayadi, fotosintez to'xtaydi, ionlarning selektiv transporti buzilishi natijasida alohida ionlarni tanqisligi yuzaga keladi, tolerantlikni ushlab turishi uchun ko'p miqdorda energiya sarflanadi. O'simliklarning tashqi muhitda tuzlar miqdorini ortishiga javob reaksiyasi 3.18-rasmda berilgan.



18-rasm O'simlikning sho'rlanishga javob reaksiyasining asosiy tiplari

Ko'pchilik olimlar tomonidan olingan tadqiqot natijalarining ko'rsatishicha, in vitro kulturalanayotgan hujayra va o'simliklar uchun sho'rlanishga chidamlilik hujayra mexanizmi bir xil ekan va hujayra darajasidagi seleksiyalash sho'rlanishga chidamli o'simlik shakllarini yaratishning aniq istiqbolini belgilaydi. Ko'pchilik seleksion dasturlar natriy xlor ishtirok etuvchi oziqa muhitlarda kulturalanayotgan in vitro hujayralar tizimini ajratishga yo'naltirilgan. Tamakining gaploid kallus hujayralaridan, ularni muntazam ravishda tuz miqdori oshirib borilgan oziqa muhitda o'stirish orqali, 1% NaCl ishtirokida o'sa oladigan hujayralar tizimi olingan. M.Nabor hammualliflar bilan birgalikda tamaki suspenszion kulturasiga mutagen (0,15 % li EMS da 60 min) bilan ishlov berib, bir bosqichli seleksiya yo'li bilan 0,5 % li NaCl ga bardoshli hujayralar tizimini ajratib oldi. Olingan regenerantlarni sho'rlanishga chidamliligi butun o'simlik darajasida aks etishi aniqlangan.

Rossiya olimlari tomonidan qattiq va yumshoq bug'doyning sho'rlanishga chidamli o'simliklarini olish bo'yicha olib borgan ilmiy tadqiqot ishlarida birlamchi eksplant sifatida ajratilgan etilmagan murtaklari, shuningdek gaploidlaridan foydalanilgan. Hujayralar seleksiyasi 0,3% NaCl va Na₂SO₄ tutuvchi oziqa muhitlarida kulturalanayotgan kallus to'qimarini 5-6 marta qayta ekish orqali o'tkazilgan. Tadqiqotlar natijasida sho'rxoklikka bardoshli tizimlar

va regenerant o'simliklar olingan. Bu regenerat o'simliklar urug'idan olingan birinchi avlodi sekinlashtirilgan flouroessensiyali qayd qilish usuli orqali sinalganda, ba'zi regenerant o'simliklar fotosintez apparatining sho'rga chidamliligi bo'yicha boshlang'ich navga nisbatan yuqori turishi aniqlangan (Nikiforova D 1993,1994). Natriy xloridning turli konsentrasiyalariga chidamli hujayralar tizimini ajratish bo'yicha boshqa misollar 3.4-jadvalda keltirilgan.

4-jadval

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

Seleksiya uchun boshlang'ich material (ploiddligi)	NaCl miqdori	Hujayralar seleksiyasi natijalari
Medicago sativa (2n)	0,17 M	Kallus
Medicago sativa (2nq2x, 2nq4x)	0,08-0,17M	O'simlik
Citrus sinensis (2n)	0,08-0,17M	Kallus
Nicotiana tabacum (2n)	0,17M	Suspenziya, o'simlik
Datura innoxia (2n)	0,17-0,34M	Kallus, o'simlik
Pennisetum americanum (2n)	0,19M	Embriogen suspenziya
Ipomea batatas (2n)	0,17M	Suspenziya
Crepis capillaris (2n)	0,12M	Suspenziya
Oryza sativa (2n)	0,17M	Embriogen kallus, o'simlik

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

Metallarga chidamli o'simliklar tizimlarini olish. O'simlikka zaharli ta'sir ko'rsatuvchi metallarning tuproqda ko'p miqdorda uchrashi yoki o'simlik tomonidan oziqa modda sifatida o'zlashtiriluvchi ionlarning tanqisligi o'simliklardagi ionlar (minerallar) stressi sababi bo'lishi ham

mumkin. Tuproqdagi og'ir metallar ionlarining nafaqat o'simliklarga shuningdek, hayvonlarga ta'siri olimlarning diqqatini tortmoqda. Rux, kadmiy, mis, simob kabi tuproqda ko'p uchraydigan og'ir metallar o'simliklarda stress holatini paydo qiladi. O'simliklarning zaharli ionlarga chidamlilik mexanizmi, plazmolemma o'tkazuvchanligining kamayishi, ionlarning organik moddalar bilan bog'lanishi natijasidagi zaharsizlanishi (detoksikasiya), vakuolalardagi kompartmentligi, shuningdek ularning nishoni bo'lgan fermentlar strukturasi o'zgarishini o'z ichiga oladi.

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

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

Keskin harorat. O'simliklardagi stress omillarga ma'lum darajada yuqori yoki past harorat sabab bo'lishi mumkin. Hujayralar seleksiyasi bo'yicha bunday stresslarga chidamlilik bo'yicha qilingan ishlar unchalik ko'p emas.

Adabiyotlarda issiqlik shokiga chidamlilik bo'yicha hujayralar seleksiyasi xaqida ham ma'lumotlar kam. Ammo hujayralar seleksiyasi bo'yicha past harorat omillariga chidamlilikka oid ma'lumotlar etarli darajada.

O'simliklarda sovuq stresslar katta diapazondagi 10-15⁰ dan 0⁰Sgacha haroratda yuzaga keladi. Bunday stressga tropik va subtropik zonadagi o'simliklari ko'proq uchraydi. O'simliklarni sovuq haroratga bardoshligi membrana lipidlarining yuqori nisbatda to'yinmagan yog' kislotalar yoki sterollarning yuqori miqdorda tutishi sababli suyuq holatda qolishi bilan bog'liq. O'simliklarning muzlashi (0⁰S dan past haroratda) hujayralar aro muzlar paydo bo'lishi bilan bog'liq. Salbiy ta'sir etadigan harorat ta'siridan yuzaga kelgan buzilishni antifriz moddalar akkumlyasiyasi yordamida suvsizlanish va muzlashga nisbatan qobiliyatini oshirish, bog'lanmagan suvlar miqdorini kamaytirish orqali bartaraf etish mumkin. Adabiyotlardan olingan ma'lumotlarga ko'ra, o'simliklarda katta miqdorda zahira oziqa moddalar, ayniqsa, sovuqqa bardoshli daraxtlarda yog'lar miqdori, kamroq chidamlilarida esa qand moddalari to'planadi.

Kulturalanayotgan o'simlik hujayralaridan past haroratga chidamli hujayralar tizimini ajratib olish bo'yicha o'tkazilgan tajribalar haqida birinchi ma'lumotlar 1976 yillarda paydo bo'ldi (Dix, Street, 1976). Bu ishda tamaki va qalampir suspenziya kulturasida agarli muhitga ekildi va 21 kun davomida -3 va 4⁰S haroratda ushlab turildi. Tanlab olingan klonlar orasida sovuq haroratga chidamli klonlar topildi.

Bu sohada olib borilgan izlanishlar natijasiga asoslanib, o'simliklar in vitro seleksiyasi usulini sovuqqa chidamlilikni amalga oshirishda qo'llash haqida gapirishga hali erta. Lekin in vitro induksiyalash orqali genetik xilma-xillikni topishda qo'llash yo'li bilan chidamliroq variantlarni tanlash mumkin.

O'simliklarning kasalliklarga chidamliligini amalga oshirish. Oziq - ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishni oshirish uchun o'simliklarni kasalliklar va zararkunandalardan himoya qilish iqtisodiy ahamiyat kasb etadi. Hozirgi kunda hujayralar seleksiyasidan chidamlilikni oshirishda foydalanishning real

istiqbollari ko'rib chiqilmoqda. Agar dala sharoitida 1 yilda kartoshkaning 50 dan 100 mingga urug'ini kasalliklarga chidamliligini baholash mumkin bo'lsa, in vitro sharoitida esa 9 gr kartoshka bargidan olingan 20 mln. ta protoplastlarni bir urinishda sinash mumkin. Hujayralar seleksiyasi uchun selektiv agent sifatida patotoksinlar, kultural filtratlar va to'g'ridan-to'g'ri patogenlardan foydalanish mumkin.

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

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

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

Kasalliklarga chidamlilik bo'yicha seleksiyaning istiqbolli usullaridan biri, selektiv agenti sifatida patogenlar tomonidan sintezlanuvchi patotoksinlardan foydalanishga asoslangan. Toksinlarning o'simliklar kasalliklaridagi rolini aniqlash qiyin. Ma'lumki, faqat ozgina miqdordagi patotoksinlar kasallikning boshlanishida va rivojlanishida muhim rol o'ynaydi. Ta'siriga qarab patotoksinlarni uchta guruhga bo'lish mumkin. Birinchi guruhga kasallikni belgilovchi emas, ho'jayinga nisbatan nospesifik zaharli ta'sir xususiyatiga ega va ko'pchilik o'simlik turlari uchun zaharli bo'lgan toksinlar kiradi. Tamaki va bakterial ryabuxani qo'zg'atuvchisiga *Pseudomonas caryingae* pv. Tabaci mahsuloti tabotoksin misol bo'lib xizmat qiladi. Boshqa guruh patotoksinlar ham o'simliklarga nisbatan patogen kabi shunday spesifiklikni namoyon qiladi, lekin ular ham o'simlik kasalligining rivojlanishiga javobgar emas. Bu kategoriyaga T-toksin (yoki NmT) Drechslera maydis (*Helminthosporium maydis*); makkajo'xorini gelmintosporoz kasalligi qo'zg'atuvchisi kiradi. Uchinchi guruh patotoksinlari xujayinga nisbatan spesifik va kasalliklarni tipik belgilarini chaqaradi. Masalan, sulini gelmintosporoz kasalini qo'zg'atuvchisi viktorin (HV-toksin) ildiz chirishi va barglarni dog'lanishini chaqiradi.

Chidamlilik bo'yicha hujayra seleksiyasi sxemasi qonuniyati toksinlarning ta'sir etish mexanizmi bilan bevosita bog'liq. Patogenlarning ba'zi turlari hujayralarni zararlaydi, so'ng toksin ajratadi, boshqalari esa oldin

toksin ajratadi va hujayrani nobud qiladi, so'ng ularning parchalangan mahsulotlaridan oziqa sifatida foydalanadi. Tabiiyki, birinchi holatda in vitro va in vivo chidamlilik orasida bog'liqlik bo'lmaydi, ikkinchi holat bo'yicha hujayralar seleksiyasini amalga oshirish maqsadga muvofiqdir. Birinchi marta in vitro sharoitida kasalliklarga chidamli o'simliklar olish P.Karlson (1973yil) tomonidan amalga oshirilgan, u tamakini metiokinsulfosimin (tabotoksin analogi)ga nisbatan, hujayralar tizimini, so'ng patogenga chidamliligi yuqori bo'lgan o'simliklar olgan. Patotoksinlarga chidamlilik bo'yicha hujayra seleksiyasiga o'tkazilgan ilmiy izlanishlarning ba'zi natijalari 3.5-jadvalda keltirilgan.

5-jadval

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

Patogen	Ho'jayin o'simlik	Chidamli material
Leptosphaeria maculans	Brassica narus	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
Pseudomonas syringae pv. tabaci	Nicotiana tabacum	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
Alternaria alternata	Nicotiana tabacum	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
Alternaria solani	Solanum tuberosum	Hujayra tizimlari
Drechslera sativum	Triticum aestivum	Hujayralar tizimlari
Pseudomonas syringae pv. phaseolica	Phaseolus vulgaris	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar
Helminthosporium sacchari	Saccharum officinarum	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar, olingan avlodlar
Fusarium coeruleum	Solanum tuberosum	Hujayra tizimlari, regenerant o'simliklar
Helminthosporium maydis	Zea mays	Hujayra tizimlari

Ba'zi patogenlarning patotoksinlarini toza holda ajratilmagan yoki to'liq o'rganilmagan chidamlilik bo'yicha seleksiyani o'tkazish uchun kultural filtratlardan foydalanish ham maqsadga muvofiqdir. Ularni qo'llashning zaruriy dastlabki shart ularning kasallikdagi rolini aniqlash, o'simlik va in vitro kulturalanayotgan hujayraning patogenga chidamliligi o'rtasidagi

korrelyasiyani o'rganish hisoblanadi. 1980 yilda Benke fraksiyalarga ajratilmagan *Phytophthora infestans* kultural suyuqligini kartoshka seleksiyasida qo'llab yaxshi natijalar olgan. Chidamli o'simliklarning o'sishiga asos bo'luvchi klonlar ajratgan. Barglariga *Phytophthora* sporalari bilan mexanik tarzda inokulyasiya qilingan 34 ta o'simlikdan uchtasida nazoratga nisbatan kamroq zararlanish o'choqlari aniqlangan. Hozirgi kunga qadar Rossiya olimlari tomonidan bug'doyning septorioz, sabzining– alternarioz, kartoshkani rizoktonioz patogenlariga chidamli shakllari olingan. Selektiv omil sifatida zamburug'larning kultural filtratlaridan foydalanilgan. Olib borilgan tadqiqotlar natijasida bug'doyning regenerant o'simligi olingan. Birinchi avlod urug'larining *Septoria nodorum* patogeniga chidamliligi tekshirilgan. Natijalarga ko'ra olingan urug'larning zamburug'ning kultural filtratiga nisbatan chidamliligi 10-15 %ga ortganligi aniqlandi (Kalashnikova E.A.Leti Jos, 1998).

Shu kabi ishlar sabzining beshta genotipida o'tkazilganda hujayralar seleksiyasi suspenzion kulturada o'tkazilib, selektiv omil sifatida *Alternaria radicina* kulturasi filtratidan foydalanildi. Natijada chidamli hujayralar ajratilib ulardan regenerant o'simliklar olindi (Kalashnikov E.A., Raskalieva V.A. 2000).

Mutagenlar va ularni hujayralar seleksiyasida qo'llanilishi. Hozirgi kunda kimyoviy moddalar, rentgen, gamma va ultrabinafsha nurlarining mutagen faolligi haqida ko'plab tadqiqot natijalari to'plangan. Kimyoviy mutagenlardan ko'pincha etilmetansulfonat (EMS)dan foydalaniladi. Bu modda bilan ishlov berilgan tamaki o'simligi hujayralaridan 25ta fenotipik variant olingan. Lekin EMS ning mutagen faolligi pastligi haqidagi ma'lumotlar ham mavjud. Hujayralar kulturasi bilan ishlashda mutagen sifatida N-nitrozomoevinadan (NEM) ham foydalanish mumkin. Bu kimyoviy birikma barqaror bo'lmay oziqa muhitda tez parchalanib ketadi, shuning uchun bu modda bilan hujayraga ishlov berilgandan so'ng yuvishning xojati yo'q. NEM ning samarali mutagen ta'siri gaploid tamaki suspenziyalarida aniqlangan va nitratreduktazaga defektli mutanatlari ajratilgan. Tamakining gaploid

protoplastlariga NEM bilan ishlov berilganda, xloratga chidamli klonlarning paydo bo'lishi 20 marta, shu bilan bir vaqtda xuddi shu turdagi o'simlikning diploid protoplastlari mutagenezida streptomisinga chidamli klonlar paydo bo'lishi 30 marta ortgan. Mutagen sifatida N-metil- N-nitro-N-nitrozoguanidin (NG) va N-nitrozometilmochevina (NMM)dan foydalanish mumkin.

Ionli nurlanishdan mutagen sifatida foydalanilganda ham mutasiyaning keng spektrini kuzatish mumkin. Hujayralar rentgen nurlari bilan nurlantirish orqali bangidevona va petuniyaning pigment difektli tizimlari va tamakining parakvatga chidamli tizimlari olingan. Gamma-nurlari bilan nurlangan o'simlik bargidan olingan kallus to'qimalari va protoplastlaridan gerbisidga va valinga chidamli tizimlar ajratib olingan. In vitro kulturalanayotgan tamaki hujayralarini ultrabinafsha nurlari bilan nurlantirish orqali ham valinga chidamli tizimlarni olishga muvaffaq bo'lingan. Nurlantirishning bunday usulini tamaki gaploid protoplastlarida qo'llanilganda turli-xil auksotrof mutantlar paydo bo'lgan.

Hujayralar koloniyasining yashovchanligi kulturaga qaysi rivojlanish bosqichida mutagenlar bilan ishlov berilganiga qarab turlicha bo'lishi mumkin. Yakka hujayralarga ularning birinchi bo'linishigacha bo'lgan davrida mutagen bilan ishlov berish zarur, aks holda ximer tizimlar paydo bo'lishi mumkin. Protoplastlarning radiosezgirliги ularning kulturalash bosqichlariga bog'liqligi aniqlangan. Tajribalarning ko'rsatishicha, protoplastlarni nurlantirishni ular ajratilgan zahoti, yoki bir kundan so'ng o'tkazish maqsadga muvofiqdir. Chunki ionli nurlanish ta'sirida oziqa muhitda hujayra uchun zaharli moddalar paydo bo'lishi mumkin, shuning uchun protoplastlarni nurlantirish o'tkazilgan oziqa muhitdan yuvib tozalash zarur.

Kimyoviy mutagenlarning hujayralarga zaharli ta'siri aniqlangan. Ularning yuqori miqdordagi me'yori qo'llanilganda hujayralarni butun populyasiyasini nobud bo'lishiga olib keladi. Shuning uchun kimyoviy mutagenlar bilan ishlaganda ularning kam konsentrasiyasidan foydalaniladi. Shunday bo'lganda

ba'zida protoplastlar mutagen moddalardan tozlash maqsadida yuvilmaydi va mutagen solingan oziqa muhitlarda kulturalanadi. Bundan tashqari nurlanishning yuqori me'yori hujayraning metabolitik faolligini ham saqlab qolgan xolda reproduksion va regenerasion qobiliyatini susaytiradi.

Somatik hujayralarni duragaylash. Hujayralar seleksiyasining yana bir usuli – somatik hujayralardan olingan proplastlarni bir-biriga qo'shish orqali jinssiz duragaylar olishdir. Bu usul oddiy jinsiy yo'l bilan chatishtirib bo'lmaydigan o'simliklarni filogenetik uzoq turlarini chatishtirish, ikki, uch va undan ko'proq ota-ona hujayralarni bir-biriga qo'shilishini amalga oshirish, bu hujayralarning birining to'liq genlar to'plami, bir necha xromosoma yoki genlarini tutuvchi yoki boshqasining faqat organella va sitoplazmasini tutuvchi assimetrik duragaylar olish imkonini beradi. Somatik hujayralarni duragaylash orqali nafaqat uzoq turlarga mansub o'simliklar genlarini bitta yadroga yig'ish, shuningdek sheriklarning sitoplazmatik genlarini gibrid hujayraga biriktirish ham mumkin.

Nazorat savollari

1. Qurg'oqchilik va sho'rlanishga chidamli o'simliklar olish jarayonlari
2. Metallarga va keskin haroratga chidamli o'simliklar tizimlarini olishning ahamiyati nimadan iborat?
3. O'simliklarning kasalliklarga chidamliligini amalga oshirish qanday olib boriladi?
4. Mutagenlar va ularni hujayralar seleksiyasida qo'llanilish jarayonlari
5. Somatik hujayralarni duragaylashni amalga oshirishda nimalarga e'tibor berish kerak?

18-MA'RUZA

Protoplastlarni ajratish, kulturalash va bir-biriga qo'shish

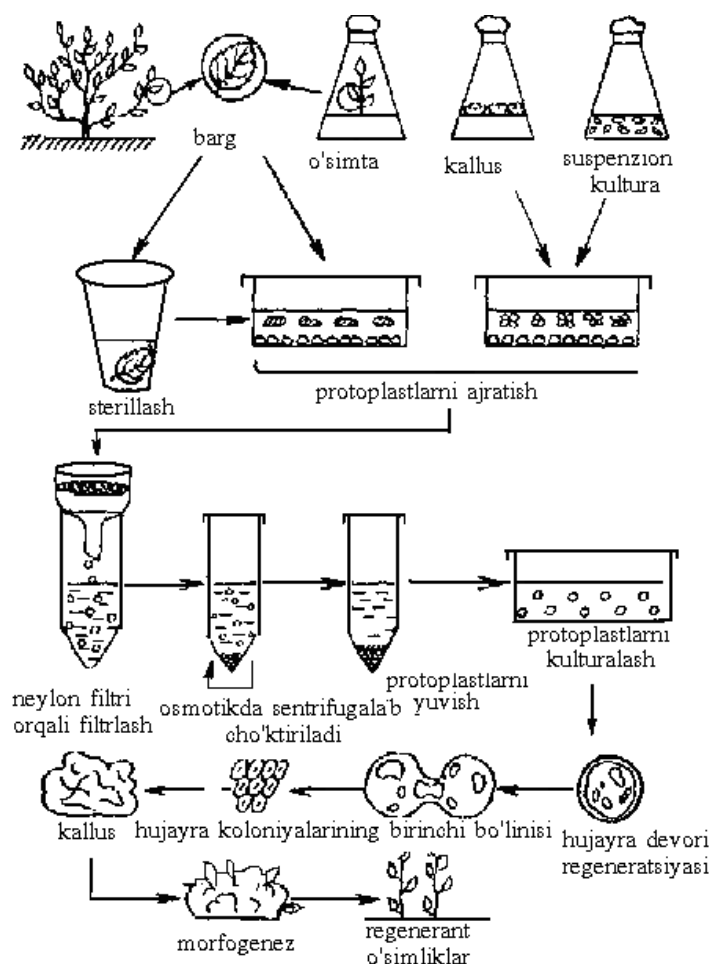
1. Protoplastlarni ajratish usullari
2. Protoplastlarning qo'shilishi usullari
3. Hayvon va o'simlik hujayralari protoplastlari qo'shish
4. Ajratilgan protoplastlarni o'simliklar seleksiyasida qo'llash

Kalit soʻzlar: protoplast, duragaylash, seleksiya, somatik duragaylash, sibridizatsiya, paraseksual duragaylash

Somatik duragaylash usullarini qoʻllash uchun normal boʻlinadigan, oʻsimlik regenerasiyalanadigan protoplastlarni olish texnologiyasini ishlab chiqish zarur. Oʻsimlik hujayralaridan protoplastlar olish XIX asrning oxirlarida plazmolizis qilish va hujayralar devorini mexanik parchalash usullari yordamida amalga oshirilgan. Ammo, 1960 yilda I.K.Kokking birinchi marta hujayralar devorini fermentlar yordamida parchalab, protoplastlar olganidan soʻnggina alohida ajratilgan protoplastlar usuli rivojlana boshladi. Hozirgi vaqtda protoplastlarni ajratish va sunʼiy oziqa muhitda kulturalash usullarini takomillashtirish davom etmoqda. (3.19-rasm) Protoplastlar ham ajratilgan hujayra va toʻqimalarni kulturalash uchun foydalaniladigan oziqa muhitlarida kulturalanadi. Faqat kulturalashning boshlangʻich davrida tarkibida yuqori osmotik bosimni taʼminlovchi manba sifatida mannit yoki CaCl_2 ning yuqori miqdori bilan farq qiladi.

Ajratilgan protoplastlar kulturalash jarayonida hujayraning yangi devorini regenerasiyalaydi va boʻlinish xususiyatiga ega kallus toʻqimasini hosil qiluvchi hujayralarga aylanadi. Protoplastlarning koloniyalar hosil qilishiga oziqa muhit tarkibi taʼsir etadi. Navbatdagi vazifa – kallus toʻqimasidan regenerant oʻsimlik olish boʻladi. Hozircha koʻpgina boshqoqdoshlar bugʻdoy, arpa protoplastlaridan regenerant oʻsimlik olishga erishilmagan. Lekin ituzumdoshlar oilasiga mansub (tamaki, kartoshka, pomidor) va boshqa oʻsimliklarda protoplastlardan regenerant oʻsimliklar olish muvaffaqiyatli amalga oshirilmoqda.

Protoplastlarni kallus toʻqimalari hujayralar suspenziyasi, barg hujayralari, meristemalar va poyadan ajratish mumkin. Bargdan protoplast ajratish uchun avval epidermisdan tozalanadi, mayda boʻlaklarga boʻlinadi va pektinaza yoki sellyulaza fermentlari bilan ishlov beriladi (3.19- rasm).



19- rasm. O'simlik hujayralaridan protoplastlarni olish va kulturalash sxemasi.

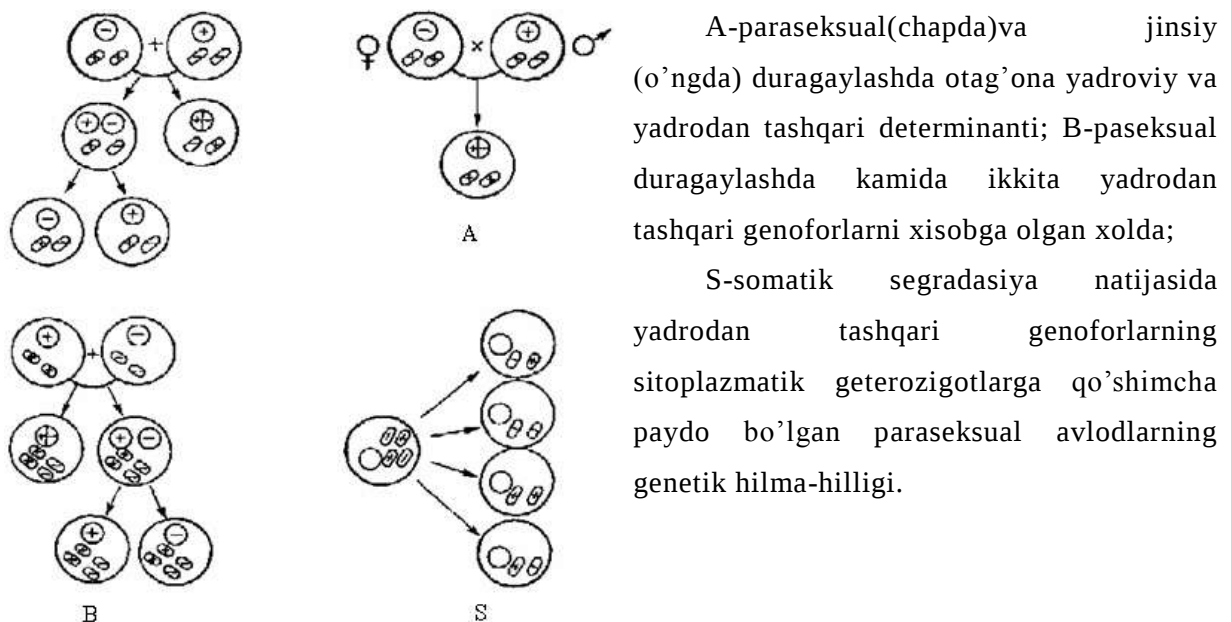
Protoplastlarning qo'shilishi tasodifiy bo'lishi mumkin, ammo, bu juda kamdan – kam hollarda ro'y beradi. Ajratilgan protoplastlar qo'shilishini induksirlash 1970 yilda Kokking laboratoriyasida birinchi marta amalga oshirilgan. Induktor sifatida natriy nitratdan foydalanilgan. Lekin bu usul kam samara bergan va hozir boshqa fyuzogenlar eritmalar (protoplastlarni qo'shilish induktorlari) topilgan. Ulardan rN (9-1)ning va kalsiy ionlarining miqdori yuqori bo'lgan (100-300 mM) eritmalar yaxshi samara beradi. Protoplastlar molekulyar og'irligi 1500-600 bo'lgan polietilenglikol yordamida oldindan qo'shishga tayyorlanadi. U.Simmerman va uning hamkasblari tomonidan hayvon hujayralari protoplastlarini qo'shishning fizikaviy usuli ishlab chiqildi, bunda induktor sifatida elektr toki impulsidan foydalanildi.

Protoplastlar qo'shilishidan duragaylar (gibrid) yoki sibridlar hosil bo'ladi. Sibrid hujayralar ikkala sherikning sitoplazmasini va bittasining yadrosini tutadi. Buning uchun protoplastlar qo'shilganda yadrolar qo'shib ketmaydi,

yadrolarning biri erib ketadi. Sibirid hosil bo'lishi uchun protoplastlardan birining yadrosi olib tashlanishi yoki nurlantirish orqali faoligi yo'qotilishi kerak.(3.20-rasm)

Sibiridizasiya sitoplazmatik SES (sitoplazmatik erkak pushtsizlik yoki sterillik, ya'ni chang donachalarining naslsiz bo'lishi) belgilarini tashuvchi genlarni, ba'zi gerbisidlar va patogenlarga chidamlilik belgilarini tashuvchi genlarni kiritish imkonini beradi.

1972 yilda ajratilgan protoplastlarini qo'shish orqali yuksak o'simliklarni birinchi turlar aro jinssiz duragay tamakining *Nicotiana glauca* va *N Langsdorfii* turlarida olingan.



20-rasm. Paraseksual duragaylashda irsiylanish sxemasi (Muromsev G.S. va boshq. 1984).

Hozirgi vaqtda paraseksual duragaylash usuli orqali turlararo, oilalararo va tartiblararo duragaylar olingan. Lekin ko'pchilik holatlarda bunday yo'l bilan olingan duragay o'simliklar uyoki bu darajada normal emas. Bunga arabidopsis va turneps (xashaki sholg'om)ning somatik duragayi monstr – o'simligi misol bo'lib xizmat qiladi. Yuzaga kelgan anamaliyaga sabab xromosomaning muvozanatlashmaganligidir (Yu.Yu. Gleb 1982).

Hayvon va o'simlik hujayralari protoplastlari qo'shilishidan hosil bo'lgan hujayralar katta qiziqishga sabab bo'lmoqda. Hozirda kalamush eritrositlari va achitqi hujayralari protoplastlari, sabzi va odam protoplastlari, tamaki va odam protoplastlari qo'shilishidan hosil bo'lgan duragaylar haqida ma'lumotlar mavjud.

Somatik duragaylarni olish bo'yicha tajribalar mikroorganizmlar genetikasiga oid tadqiqotlar kabi amalga oshiriladi. Boshqacha qilib aytganda, ota-ona hujayralarining katta populyasiyasidan foydalaniladi. Protoplastlar suspenziyasiga fyuzogen eritmalar bilan ishlov berilganda ularning bir qismi bir-birlari bilan qo'shiladi, lekin suspenziyada qo'shilmagan protoplastlar ham qoladi. Ularning barchasi keyinchalik hujayra devorini tiklaydi va bo'linishga o'tadi. SHundan so'ng umumiy massadan duragay nusxalarni ajratish muoammosi paydo bo'ladi. Duragaylar seleksiyasini hujayra darajasida ham yoki regenerasiyalanish bosqichida qo'llash mumkin va u bir necha usullar yordamida amalga oshiriladi.

Duragaylarning identifikatsiyasi uchun plastidalar xizmat qiladi. Masalan, tamaki va sabzi protoplastlari qo'shilganda, selektiv marker sifatida tamakining yashil xloroplastlari va sabzining qizil – zarg'aldoq xromoplastlaridan foydalanilgan.

Duragaylarni tanlashning boshqa usuli, genetik komplementarlikdir. Bu usul tamaki duragayini aniqlash uchun qo'llanilgan, bunda ota-onaning xlorofilldefektli mutasiyalarining duragay mahsulotlardagi komplementatsiyasidan foydalanilgan. Tamakida ikkita yadroviy resessiv mutasiyalari birgalikda yorug'likka bog'liq xlorofill tansiqqligini yuzaga keltiradi. Bu genlarning istalganiga gomozigot o'simliklar intensiv yoritishi ostida o'stirilganda rangsizlanadi va nobud bo'ladi. Bir–biriga qo'shilgani va regenerasiyalanganidan so'ng hujayralar koloniyasi organ hosil bo'lishini indusirolovchi oziqa muhitga ko'chirib o'tkaziladi va yorug'da o'stiriladi.

Fiziologik komplementasiya usulidan ham somatik duragaylarni tanlashda foydalanish mumkin. Bu usul duragay hujayralarning ota-ona hujayralari

o'sishga qodir bo'lmagan sharoitda o'sish qobiliyatiga asoslanadi. Ota–ona hujayralarning bunday sharoitda o'sa olmasligi qandaydir mutasiya bilan bog'liq emas, balki fiziologik sharoitga nisbatan hujayraning normal fiziologik reaksiyasidir. Masalan, *N. glauca* va *N. Langsdorfii* larning jinsiy duragayi shish hosil qilishga moyil bo'ladi, duragay hujayralari esa in vitro sharoitida gormonsiz oziqa muhitlarda o'sish va ko'payishga qodir bo'ladi. Tamakining ikkala turi barg mezofil hujayralarining protoplastlari indusirlangan qo'shilishidan so'ng bir muncha vaqt o'tgach gormonsiz oziqa muhitiga ko'chirib o'tkazildi va shu sharoitda o'sishga qodir koloniyalari tanlab olindi.

Somatik duragaylashning yana boshqa usullari ham mavjud bo'lib, ular fiziologogenetik komplementasiya, fizikaviy usullarni qo'llash usuli (protoplastlarni sentrifugalash orqali ularning zichligiga qarab ajratishga asoslangan), mexanik ajratish kabilardir.

Ajratilgan protoplastlarni o'simliklar seleksiyasida qo'llash imkoniyati ularning indusirlangan qo'shilishi va somatik duragaylar olish bilan cheklanmaydi. Protoplastlar atrof muhitdan makromolekulalar va organellalarni yutish xususiyatiga ega, shuningdek, ularga boshqa hujayralarning DNK va organellalarini ko'chirib o'tkazmay, yot genetik axborotni kiritish mumkin. Hozirda petuniya va tamaki protoplastlariga ajratilgan yadroni transplantasiyasi muvaffaqiyatli amalga oshirilgan. Shuni qayd etish lozimki, protoplastlar tomonidan begona yadroni yutilishi xar doim ham duragay hosil bo'lishiga olib kelmaydi. Ajratilgan protoplastlarga yadrodan tashqari begona xloroplastlarni ham transplantasiya qilish (ko'chirib o'tkazish) amalga oshirilgan. Bu protoplastlardan Karlson boshqa organizm xloroplastini tutuvchi regenerant o'simlik olgan.

Biroq begona orgenella va DNK larni ko'chirib o'tkazishga oid ishlar endigina o'z rivojini topmoqda. Umuman, ajratilgan protoplastlardan hujayralarning genetik rekonstruksiyasida foydalanish ko'rib turganimizdek, hujayralar seleksiyasi oldida yangi istiqbollarni ochmoqda.

Nazorat savollari

1. Protoplastlarni ajratish usullari
2. Protoplastlarning qo'shilishi usullari
3. Hayvon va o'simlik hujayralari protoplastlari qo'shish qanday amalga oshiriladi?
4. Ajratilgan protoplastlarni o'simliklar seleksiyasida qo'llashning ahamiyati xaqida ma'lumot bering

19-MA'RUZA

BIOTEXNOLOGIYA VA O'SIMLIKSHUNOSLIKDA FITOGORMONLAR HAMDA O'SIMLIKLARNI O'SISHI VA RIVOJLANISHINI BOSHQARUVCHI SUN'IY REGULYATORLAR

Reja:

1. Paraseksual duragaylash
2. O'simliklarning gormon tizimi
3. Gormonlar haqida tushuncha
4. Fitogormonlar ta'sirining molekulyar mexanizmi
5. Genlar ekspressiyasini boshqarish

Kalit so'zlar: plazmolemma, reseptor, fitogormon, genlar ekspressiyasini, fermentlarning faolashtiruvchilari, regulyator, fitogormonlar, agrosenoz

O'simliklarni o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar, yoki fitoregulyatorlar o'simliklar ontogenezi boshqarishda qudratli vosita hisoblanadi. shuning uchun ulardan qishloq ho'jalik o'simliklari biotexnologiyasida va amaliy o'simlikshunoslikda keng foydalaniladi.

Fitoregulyatorlar - hujayralarning differensirovkasi, bo'linishini boshqarishda, yangi to'qima va organlarni hosil bo'lishida, o'simliklarni o'sishi hamda rivojlanishini tezlashtirishda. hosildorligini oshirishda, sifatini yaxshilashdagi zarur moddalardir.

O'simliklar gen muxandisligi ham fitoregulyatorlar xaqidagi bilimlarga tayanib ish ko'radi.

Zamonaviy o'simlikshunoslikda fitoregulyatorlar agrosenozlarning hosildorligini va muhitning noqulay omillariga chidamliligini oshirishda qo'llaniladi, qator texnologik operatsiyalarni birmuncha osonlashtirish imkonini beradi. Hozirgi vaqtda fitoregulyatorlarning o'simliklarga minimal (1ga ekinlarga bor yo'g'i 1 necha milligram) miqdorda ta'sir etuvchi yangi avlodlari yaratilmoqda. Bu esa alohida ekologik ahamiyat kasb etadi.

O'simliklarning gormon tizimi. Gormonlar haqida tushuncha. Tirik organizmlar gormon regulyasiyasi ular nasliy dasturning amalga oshishida va muhitning o'zgaruvchan sharoitiga adaptasiyasida hal qiluvchi rolni o'ynaydi (Defling,1985). O'simliklarda ham boshqaruvchi tabiatli moddalarning mavjudligi haqida birinchi bo'lib Ch. Darwin (1880) nihollarning yorug'lik manbai tomon intilishi bo'yicha o'tkazgan tajribalari asosida yozilgan «O'simliklarning harakat qilish qobiliyati» asarida o'z fikrini bayon etgan edi. U bilan bir vaqtda, buyuk nemis botanigi va fiziologi Yu.Saks ham o'simliklarda poya, barg va ildizning shakllanishi hamda rivojlanishiga javobgar moddalar mavjudligi xaqida aytib o'tgan edi, lekin bu taxminlar o'sha davrdagi olimlar tomonidan e'tirof etilmadi.

O'simliklarning regulyator moddalarini aniqlash va ajratib olish bo'yicha izlanishlar XX asrning boshlaridan jadal rivojlana boshladi. 1909-1910 yillarda G. Fitting tomonidan orxideya o'simligining tugunchasini o'sib, urug'siz meva hosil bo'lishini yuzaga keltiruvchi moddalari aniqlandi va ularga hayvonlarning regulyator moddalari kabi *gormonlar* deb nom berildi. Undan bir necha yil ilgari etilenning o'simliklarni bo'yiga o'sishini tezlashtiruvchi xususiyati aniqlangan edi. O'sha davrning o'zida N. G. Xolding va F. Ventlar tomonidan o'simliklarning tropizmi nazariyasi yaratilgan va u asoschilari nomi bilan atalgan, 1930 yillarni oxirida M.X. Chaylaxyan o'simliklarni generativ organlarini shakllanishi va gullashini amalga oshiruvchi gipotetik fitoregulyatorlar haqidagi florigen nazariyasini ilgari surdi.

O'simliklarning gormonlarini o'rganish va ajratib olish bo'yicha 1950-1960 yillarda yaxshi natijalarga erishildi, sitokinin va absiz kislotalari ajratib

olindi va ularning xususiyatlari aniqlandi. Hozirgi kunga qadar yana bir nechta endogen regulyator moddalar – brassinosteroidlar, fuzikoksinlar, jasmin va salisil kislotalari, ba'zi oligosaxaridlar ajratib olindi, shuningdek o'simliklarni o'sishni boshqaruvchi gormon tabiatiga ega bo'lmagan regulyatorlari - poliaminlar, bir qator fenol birikmalari va boshqa moddalari o'rganilmoqda.

Shu bilan bir vaqtda regulyator moddalarni aniqlash, yaratish va ularni o'simlikshunoslikda qo'llash ishlari ham olib borilmoqda. Bunday moddalardan dastlab auksinning sun'iy analogi o'simliklarni vegetativ ko'paytirish va ildiz hosil bo'lishini induksiyalash uchun foydalanildi. 1960 yilda o'simliklarning bo'yiga o'sishini sekinlashtiruvchi standart moddalar aniqlandi. Bu moddalar qishloq xo'jaligida qo'llaniladigan, keng tarqalgan fitoregulyatorlardir. Hozirgi kunda qimmatli xususiyatlarga ega, ayniqsa, antistress va reparativ ta'sirga ega bo'lgan fitoregulyatorlarni aniqlashga katta e'tibor berilmoqda.

Fitogormonlar - deb o'simlikda sintezlanuvchi, uning butun organlari bo'ylab tashiluvchi va ozgina miqdori o'simlikning bo'yiga o'sishi yoki shakllanishiga sintezlangan joyidan yoki masofadan turib ta'sir etuvchi moddalarga aytiladi.

Fitogormonlarning birinchi xususiyati, ularning endogen kelib chiqqanligidir. Ko'pchilik fitogormonlar organik kislotalardan, ko'pincha aminokislotalardan hosil bo'ladi. U yoki bu fitogormonning sintezlanishi ichki yoki tashqi sabablar ta'sirida o'zgarishi natijasida o'simlikning bo'yiga o'sishi yoki shakllanish jarayonidagi o'zgarishi bilan uning javob reaksiyasini yuzaga keltiradi.

Fitogormonlarning ikkinchi xususiyati, ularning o'simlikni butun organlari bo'ylab harakatidir. Bir organda hosil bo'lgan fitogormon, boshqa organning o'sish va rivojlanish jarayonlarini boshqarishi mumkin. Aynan shunday tarzda, organlarning o'zaro ta'siri va o'simlikning yaxlitligiga erishiladi. Yuqori regulyatorlik qobiliyatiga ega ba'zi moddalarni, masalan, ba'zi fenolli birikmalarni fitogormonlar deb bo'lmaydi, chunki ular o'simlik organlari bo'ylab tashilmaydi va faqat sintezlangan joyigagina ta'sir eta oladi.

Uchinchi xususiyati, bu moddalarning kam miqdorda ham o'simlikni bo'yiga o'sishiga yoki shakllanishiga ta'sir etishidir. Fitogormonlarning juda kam konsentrasiyasi o'simliklarga ta'sir etadi (10^{-13} - 10^{-7} M). Ular o'simliklar poyasining bo'yiga o'sishini tezlashtirishi yoki sekinlashtirishi, barglarini to'kishiga ham ta'sir etishi mumkin.

To'rtinchi xususiyati, fitogormonlarning faqat sintez bo'lgan joyidagina emas, masofadan turib ham ta'sir etishidir.

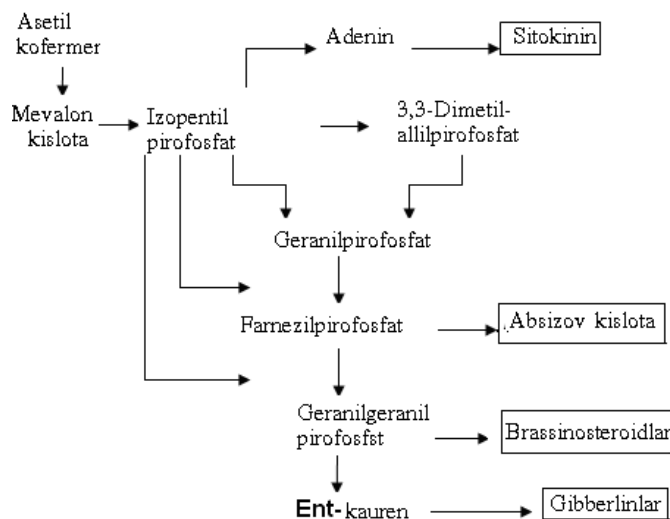
Hayvon gormonlari bilan o'simlik gormonlari bir-birlaridan farq qiladi. Hayvon gormonlari maxsus organlar-ichki sekresiya bezlari orqali sintezlanadi, o'simliklarda esa bunday maxsus shakllangan to'qima va hujayralar yo'q. Hayvonlarning gormonlari o'zi sintez bo'lgan joyiga ta'sir etmaydi, fitogormonlar o'zi sintezlangan hujayralarga ham ta'sir ko'rasata oladi. Fitogormonlarning bu xususiyati hayvonlarni gistogormonlariga o'xshashdir.

Fitogormonlar ta'sirining molekulyar mexanizmi. Fitogormonlarning amalda qo'llanilishi, ular ta'sirining molekular mexanizmi haqidagi bilimlarga asoslanadi. Hozirgi vaqtda, fitogormonlar hosil bo'lishining umumiy asoslangan sxemasi, ularning o'tmishdoshlari biosintezini o'z ichiga oluvchi regulyatorlik ta'sirining amalga oshishi, shu gormonga tegishli bo'lgan oqsil reseptori bilan bog'lanishi va faollashgan gormon-reseptor kompleks hosil qilishi, bu kompleksning o'simliklar genomiga yoki muayyan fermentlar tizimiga ta'siri aniqlangan.

Fitogormonlar o'simliklarda organik kislotalardan sintezlanadi, ba'zi hollarda bir nechta gormonlar bir xil asosdan sintezlanadi. Masalan, mevalon kislotasi fitogormonlarning 4 ta sinfi-gibberlinlar, sitokininlar, brassinosteroidlar va ingibitor absiz kislotasi uchun boshlang'ich modda bo'lib xizmat qiladi. (4.1- rasm)

Tashqi muhit sharoitining o'zgarishi u yoki bu fitogormon sintezidagi o'zgarishiga sabab bo'ladi. Fitogormonlarni biosintez yo'llari tarmoqlanishiga ta'sir etuvchi kalit fermentlar muhit omillarining (yoritish, harorat va boshqalar) o'zgarishiga yuqori sezuvchanlik namoyon qiladi, bu esa muayyan oqsillar

sintezining tezlashishiga olib keladi. Tashqi muhitning bunday ta'siriga misol bo'lib, yorug'likning davomiyligi ortganda gibberlinlar sintezining oshishi, sho'rlanishni miqdori yuqori bo'lganda esa auksin sintezi oshishi, aksincha bo'lganda esa kamayishi va o'sishda fenol ingibitorlari darajasi ortishi xizmat qiladi.



19- rasm. Fitogormonlar biosintez sxemasi

Hosil bo'lgan fitogormon molekulasini o'simlik bo'ylab o'zining sintez bo'lgan joyidan nishon-hujayralarga, ya'ni shu fitogormonlarga nisbatan yuqori sezuvchanlik namoyon qilgan hujayralarga tashiladi. Fitogormonlarni tashilishi o'simliklarning o'tqazuvchi tizimi va hujayralararo masofasi orqali amalga oshiriladi.

Fitogormon molekulasini nishon -hujayraga ikki xil yo'l bilan;

1. Yonma-yon hujayralarni biriktiruvchi protoplast kanallari-plazmodesmalari bo'yicha gradient konsentratsiyasiga mos ravishda aralashish orqali;

2. Hujayraning chegara membranasi plazmalemmasi orqali tashilish yo'li bilan kira oladi.

Gormonlar o'z ta'sirini hujayradagi strategik muhim bo'lgan oqsil molekulasining konformatsiyasini o'zgartirish yo'li bilan amalga oshirishi aniqlangan. Bunday oqsillar fitogormonlarning reseptori, muayyan ferment tizimi va reseptorlar orasidagi signallarni qayta xosil qiluvchi, shuningdek, fermentlarning faolashtiruvchilari yoki ingibitorlari, transport tizimi

membranasining komponenti sifatida faoliyat yuritishi mumkin. Barcha ta'sirchan hujayralarda gormonlar ta'sirini mazkur hujayraga xos bo'lgan ko'pgina oqsil shakllarining moslashib o'zgargan zanjiri sifatida ko'rish mumkin.

Oqsilning birlamchi strukturasi (aminokislotalarning muayyan ketma ketligi) oqsil molekulasining ikkilamchi va uchlamchi strukturalarini hosil qilish uchun zarur bo'lgan axborotga ega bo'ladi.

Hujayralarda fitogormon molekulalari o'ziga xos oqsil-reseptorlar bilan o'zaro hamkorlik qiladi va ular bilan birlashib, gormon-reseptor kompleksini hosil qiladi (GRK), natijada reseptor oqsil molekulasining fitogormon bilan o'zaro hamkorligi uning faollashishi hisobiga amalga oshadi.

Fitogormonlarning reseptorlari hozirgi kunga qadar to'liq o'rganilmagan. Adabiyotlarda berilgan ma'lumotlarga qaraganda ularning ko'pchiligi globulyar oqsillardir. Bir hujayrada bitta fitogormonning bir necha xil reseptori mavjud bo'lishi, o'simlikning shu fitogormonga nisbatan turli xil reaksiyalariga sabab bo'ladi.

Gormon-reseptor kompleksi hosil bo'lgan vaqtda fitogormon faolligi namoyon bo'lishining 2 xil yo'li paydo bo'ladi:

Birinchi yo'li - yangi fermentlar xosil bo'lishi yoki oldindan mavjud bo'lgan fermentlar miqdorining o'zgarishi bilan bog'liq. Bu fitogormonlarni genetik jarayonlarga ta'sir etishiga sabab bo'ladi. Shuning uchun, genlarni qayta qurilishi boshlanadi va yangi oqsillar sintez bo'ladi, fitogormonlar konsentrasiyasi o'zgargan vaqtdan fitogormonning ta'sir samarasi paydo bo'lguniga qadar o'tgan vaqt bir necha o'n minutlardan bir necha soatgacha bo'lishi mumkin.

Ikkinchi yo'li - hujayrada fitogormonlar konsentrasiyasi o'zgarmasdan oldin mavjud bo'lgan oqsillar, fermentlar faolligining o'zgarishi, ular konformasiyasining o'zgarishi hisobiga amalga oshadi. Ikkinchi yo'li yangi oqsillarning sintezi bilan bog'liq bo'lmagani uchun fitogormon samarasining

yuzaga chiqish vaqti ancha tez bo'lib, bor yo'g'i bir necha minutni tashkil qiladi.

Genlar ekspressiyasini boshqarish. Genlar ekspressiyasini fitogormonlar orqali boshqarish, o'simlik hujayrasi hayotidagi differensirovka va dedifferensirovka, o'sish va yangi metabolitik sharoitga moslashishi kabi muhim jarayonlarni boshqarishi bilan bog'liq. Fitogormonlarning genom ishini boshqarishiga ketgan vaqti bir necha soatni tashkil qiladi. Shu bilan bir vaqtda o'simlik bir necha o'n minutlar ichida ba'zi gormonlar darajasiga javob berishga qodir. Bu kabi «tez» javoblar fitogormonlarning o'simlik hujayrasida mavjud bo'lgan fermentlar faolligini boshqarish xususiyati bilan bog'liq.

Fementlar faolligini boshqarish. Fitogormonlarning ikkilamchi vositachilari. Fitogormonlarga javob reaksiyasi uning konsentrasiyasi keskin oshgan vaqtdan boshlab bir necha minut davomida paydo bo'ladi. Bunday ta'sirlar fermentlar faolligining o'zgarishi bilan bog'liq, chunki u yoki bu fermentning molekulalari soni deyarli o'zgarmaydi, lekin allosterik samara natijasida ularning faolligi oshadi yoki pasayadi, bunday rolni fitogormon yoki uning metaboliti bajarishi mumkin va fermentlar bilan substratning o'xshashligini o'zgartirishi mumkin. Shunday qilib, fitogormonlar ta'siriga nisbatan o'simlikning tez javob reaksiyasi hujayrada mavjud bo'lgan fermentlar faolligining o'zgarishi bilan bog'liq ekan. Masalan, koleoptil hujayralari auksin bilan ishlov berilganda 5 minut o'tgandan so'ng, hujayralarning cho'zilishi boshlanishida o'simliklarning fitogormonlar ta'siriga javobini ko'rish mumkin. Buni shunday izohlash mumkinki, auksin o'zining plazmolemmada joylashgan reseptori bilan o'zaro hamkorlikka kirishganda, plazmolemmadagi protonlarni hujayradan hujayra devori sohasiga tashilishini amalga oshiruvchi fermentning transport tizimi proton pompasi ishini faollashtiradi. Hujayra devori tarkibiga kiruvchi gemisellyuloza va pektin moddalarining kislotalik darajasining oshishi natijasida, vakuola yaratgan turgor bosim hisobiga, uning komponentlari orasidagi bog'lar zaiflashadi va hujayra cho'ziladi.

Keyingi vaqtlarda fitogormonlarning ikkilamchi vositachilarini (messenjerlari) o'rganish ishlari ham jadal davom etmoqda.

Ikkilamchi vositachilar ta'sirining umumiy ko'rinishi shundan iboratki, uncha ko'p bo'lmagan gormon molekulalarining soni, hujayrada ikkilamchi vositachining ko'p sonli molekulalari mahsulotlarini ishlab chiqarishni yuzaga keltiradi, bu esa o'z navbatida oqsil molekulalari faolligiga ijobiy yoki salbiy ta'sir ko'rsatadi. Shunday tarzda gormonning reseptor bilan bog'lanishi natijasida paydo bo'ladigan signalning oshishi amalga oshiriladi.

Nazorat savollari

1. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini genetik boshqarish qanday amalga oshiriladi?
2. Qanday mexanizmlar yordamida fitogormonlar sintezini boshqarish mumkin?
3. Muayyan organdagi fitogormonlar miqdori qaysi jarayonlarga bog'liq?
4. O'simliklarning gormon tizimi xaqida ma'lumot bering
5. Gormonlar haqida tushuncha bering
6. Fitogormonlar ta'sirining molekulyar mexanizmi
7. Genlar ekspressiyasini boshqarish qanday amalga oshiriladi?

20-MA'RUZA

Fitogormonlar klassifikatsiyasi, strukturasi va funksiyasi

1. Fitogormonlarning klassifikatsiyasi
2. O'simliklarda fitogormonlarning o'zaro hamkorligi
3. O'simliklarni gormon statusi

Kalit so'zlar: fitogormon, ontogenez, Fuzikoksinlar. Brassinosteroid, Abssez kislota, Etilen moddasi. Gibberlin, Sitokinin, Auksin,

Hozirgi vaqtda fitogormonlarning 7ta guruhi aniqlangan bo'lib, bular auksin, sitokinin, gibberlin, etilen, absiz kislota, brassinosteriod va fiziukoksinlardir. Bu moddalar o'simliklarda juda kam miqdorda uchraydi, shuning uchun, yangi fitogormonning ochilishi kamdan kam holdir. Shunga qaramasdan, o'simlik regulyator tizimlarini o'rganishdagi izlanishlar, ularni aniqlash usullarining takomillashishi bilan bog'liq taraqqiyoti e'tibordan xoli emas.

Auksinlar. 1920 yilda o'simliklarning tropizmi omili sifatida topilgan. 1930 yilda F.Kegl tomonidan toza holda ajratilib, uning kimyoviy tarkibi – indolil 3-sirka kislota (ISK) ekanligi aniqlangan.

Auksinlarning asosiy sintezlanadigan joyi poyaning apikal meristemasi va yosh barglari bo'lib, u erdan boshqa organlarga tashiladi.

Hujayralar tomonidan auksinning yutilish mexanizmi ikki fazadan iborat:

1. Tez qaytariluvchi reaksiya, diffuziya mexanizmiga yaqin mexanizm asosida hujayra va uni o'rab turgan muhit orasida auksin miqdori bo'yicha muvozanat paydo bo'lganda sodir bo'ladi. Bu muvozanatga erishish nafaqat hujayradagi va eritmadagi ISK miqdorining farqiga, shuningdek eritma va sitoplazmaning pH iga ham bog'liqdir. ISKning hujayraga tushishida spesifik o'tkazuvchilar ham qatnashishi mumkin, pH neytralga yaqin bo'lganda ularning roli yanada yuqori bo'ladi. Bu fazaning davomiyligi 25 – 30 min.

2. Metabolitik to'planish. Bu vaqtda auksin ko'pincha hujayralarning turli komponentlari bilan glyukoza efiri yoki indolil 3-asetilasparagin kislota hosil qilib bog'lanadi. Birikkan auksin hujayralar boshqarilishida qatnashmaydi va gormonning zahira shaklini namoyon qiladi.

Auksinning fiziologik samarasi, hujayra darajasidagi ta'siri bilan bog'liq bo'lib, hujayraning cho'zilishi, bo'linishi va differensiyalanishini amalga oshiradi.

Yuqorida ta'kidlanganidek, auksin ta'sirida hujayralarning cho'zilish mexanizmi hujayra devori pHining kislotaligining oshishi, vakuolaning turgor bosimi hisobiga cho'zilishi, proton pompalarining faollashishi bilan bog'liq.

Auksin faollashtiruvchi proton pompalari ta'sirida hujayralarning cho'zilishi va hujayra devorlarining yumshatilishi, hujayra dedifferensirovka va uning keyingi bo'linish jarayonlarida, hujayra devorini shishishida ishtirok etuvchi fermentlar sellyulaza va pektinaza bilan bir qatorda muhim rol o'ynashi mumkin.

Auksin tomonidan hujayralar bo'linishining induksiylanishi ham nafas olish jarayonini stimullanishi uchun, RNK va oqsil sintezlanishini o'z ichiga oluvchi DNK replikasiyasi uchun zarur bo'lgan sharoitni yaratilishi bilan bog'liq.

Auksin nafaqat dedifferensirovkani yuzaga keltiradi, u meristema hujayralarining yoki o'tkazuvchi to'qimalardagi dedifferensiyalangan hujayralarning differensiyalanishini stimullash hususiyatiga ham ega.

Auksin ta'sirida kallus to'qimalarida o'tkazuvchi floema va ksilema elementlarining shakllanishi ham kuzatilgan bo'lib, bu biotexnologiya va o'simlikshunoslik uchun katta ahamiyatga egadir. Auksinning oziqa moddalarni hujayralarga tortish xususiyati, o'simliklar uchun muhim xususiyat bo'lgan apikal dominantlikni amalga oshirishi bilan belgilanadi. Bu fitogormonni ishlab chiqaruvchi apeks oziqa moddalar va boshqa gormonlar (gibberlinlar, sitokininlar) oqib keluvchi markazga aylanadi. Buning natijasida oziqa moddalar va fitogormonlar yashirin kurtaklarga etib bormaydi, shuning uchun ular uchki kurtaklarga nisbatan sekinroq o'sadi yoki umuman o'smaydi. Auksinlarni o'ziga tortish (attragirlash) mexanizmi Hozircha to'liq o'rganilmagan, lekin ularning proton pompalarni faollashishi bilan bog'liq ekanligiga asoslar etarli.

Sitokininlar – 1955 yilda hujayralar bo'linishini stimullovchi omil sifatida topilgan. Birinchi tabiiy sitokinin zeatin deb atalgan, bu moddalar makkajo'xorining pishib etilmagan donlaridan ajratib olingan. Hozirgi kunda 12 ta sitokinin aniqlangan bo'lib, ularning kimyoviy tuzilishi zeatinning tuzilishiga yaqin. Difenilmochevina va ularning qator mahsulotlarining ham yuqori sitokininlik faolligi aniqlangan. Sitokininlar asosan ildiz apikal meristemasida sintezlanib, undan ksilema bo'ylab o'tkazuvchi naylar orqali, o'simlikning

barcha organlariga transport qilinadi. Shuning uchun sitokininlarning harakat tezligi auksinlarnikiga nisbatan yuqori. Tashilish yo'nalishi-o'simlikning yuqori qismiga qaratilgan bo'lib, ayniqsa faol meristemalar va urug'larda sitokininning miqdori ko'p bo'ladi.

O'simliklarda sitokininlarning turg'unligi unchalik yuqori emas, zeatinning yarim parchalanish vaqti o'simlikning turiga qarab 6-20 soatni tashkil etadi. Yosh to'qimalarda uning parchalanish tezligi qari to'qimalarga nisbatan kam, ildizda esa bu jarayon yanada sekinroq ketadi. Sitokininlarning destruksiya saxaroza (riboza, glyukoza) va alanin aminokislota bilan kon'yugasiyasidan so'ng boshlanadi. Bunda sitokininlarning O-glyukozidlarini hosil bo'lish yo'lini gormonning zahiralanişi sifatida, boshqalarini esa-qaytarilmas destruksiya sifatida ko'rish mumkin. Yaqinda sitokinni oldindan glikozidlamasdan oksidlovchi sitokininoksidaza fermenti aniqlandi. Bunda oksidlanish alifatik qismning adenina birlashgan joyida sodir bo'ladi.

Sitokininning asosiy fiziologik ta'siri-hujayralar bo'linishini faollashtirishdan iboratdir. Sitokinin mitoz uchun zarur sharoitni yaratish uchun RNK – polimeraza faoliyatini, RNK hosil bo'lishi va oqsil sintezi jarayonlarini faollashtiradi. Bu ta'sirlar sitokininning oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyati bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin. Fitogormonning bu xususiyati, boshqa yana bir qancha ta'sirlar bilan ham bog'liq bo'lib, bularga barg va urug'kurtak hujayralari o'sishining stimullanishi, apikal dominantlikdan xoli qilinishi, barglar qarishini to'xtatilishi va o'simliklardagi moddalarning qayta harakatlanishini boshqarilishi shular jumlasidandir. Sitokinin ontogenezni boshqarishda muhim rol o'ynaydi. Bu toifa gormonlarning yuqori miqdori ildiz hosil bo'lishini to'xtatadi va poyada kurtaklarning paydo bo'lishini tezlashtiradi. Shuningdek ular fotoperiodning noqulay sharoitlarida ba'zi turdagi o'simliklarning ba'zi turlarining gullashini indusirlaydi. Sitokinin ta'sirida urug' va tugunaklar tinim davridan chiqadi. Bu gidrolitik fermentlar faollashishi bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin. Sitokininlar barglarning qarishini to'xtatibgina qolmay, shuningdek ular rivojlanishini boshlang'ich

davrida xloroplastlarining shakllanishi, xloroplast RNKsi va oqsillarning sintezini stimullanishi hisobiga, o'sishi va bo'linishini boshqaradi.

Bu fitogormon barglardagi og'izchalarni ochish orqali suv bug'lanishi regulyasiyasida ham ishtirok etish orqali xloroplastlar shakllanishini stimullanishi va barglarni qarishini to'xtatilishi natijasida fotosintez jarayonini faollashtiradi.

Sitokininlarning juda muhim xususiyatlaridan yana biri, ular o'simlik hujayralarining past yoki yuqori harorat, suv tanqisligi, sho'rlanish, rentgen nurlari, pestisidlarning fitotoksinlik ta'sirlari kabi tashqi noqulay ta'sirlarga chidamliligini oshiradi. Himoya ta'sirining mexanizmi hali yaxshi o'rganilmagan. Lekin o'simliklar hayotidagi noqulay sharoitlarda—sitokininlar miqdorining oshishi natijasida hujayrani himoyalovchi stress oqsillar sintezining stimullanishi aniqlangan.

Gibberlinlar 1926 yilda aniqlangan bo'lib 1938 yilda Yaponiyada patogen zamburug' Gibberella fujicuroining prdusenti sifatida ajratib olingan. 1955 yilda uning kimyoviy strukturasi va qator o'simliklar hujayralarida ishtirok etishi aniqlangan. Gibberlinlarni o'rganish ishlari Hozirgi kunda ham jadal davom etmoqda. Hozirda bu moddalarning 100 ga yaqin vakillari ma'lum bo'lib, ulardan 45 tasi o'simliklardan ajratilgan.

Gibberlinlar biosinteziga to'sqinlik qiluvchi qator birikmalar ham aniqlangan. Bu moddalarning deyarli hammasi retardant ta'sirga ega, ya'ni o'sishni to'xtatuvchi moddalardir. Gibberlinlarning biosintezini muayyan fermentlar faoliyatiga ta'sir etish orqali to'xtatish mumkin.

Gibberlinlar transporti qarama-qarshi tomonga yo'nalgan emas. Ular akropetal va bazipetal ravishda ksilema va floema naylari bo'ylab suvli eritmalar oqimga qo'shilib ketadi. SHuning uchun bu fitogormonning tashilishi va tarqalish tezligi nisbatan yuqori.

Gibberlinlarning fiziologik ta'siri, o'simlik hujayralarining cho'ziluvchanligi va meristema to'qimalarining mitotek faolligini oshishi hisobiga, o'sish jarayonlarini stimullanishida namoyon bo'ladi. Gibberlinlar

ta'sirida hujayralar cho'zilishining stimullanishi, auksinlardagi kabi proton pompalarining faollashishi hisobiga emas, balki, hujayra qobig'i materiallari sintezining oshishi bilan bog'liq.

Gibberlinlarning ko'pchiligi kislotalar bo'lgani uchun, ularni o'ziga mos indeks bilan Gibberal kislota (GK) deb belgilash qabul qilingan. Masalan: GK₂₄, GK₅₃ va hakazo. Turli oilalarga mansub o'simliklarning o'sish reaksiyasida u yoki bu gibberlinga nisbatan muayyan spesifikligini kuzatish mumkin. Masalan, qovoqdoshlar va butguldoshlar oilasiga kiruvchi o'simliklarning o'sishiga GK₃ ta'sir etmaydi, lekin uning boshqa ba'zi oilalarga mansub o'simliklar o'sishiga ta'siri kuzatilgan, GK₄ ta'sirida esa ularning bo'yiga o'sishidagi sezilarli ta'sirini kuzatish mumkin. Gibberlinlar darajasini oshishiga o'simlik turlarining spesifikligidan tashqari, turli organlarning turlicha spesifik reaksiyasini ham kuzatish mumkin. Gibberlin poyaning o'sishini tezlashtirib, barglar o'sishiga deyarli ta'sir etmaydi va ildiz o'sishini to'xtatadi. Gibberlinlarning ildizga salbiy ta'siri oziqa moddalarni qayta taqsimlanishi natijasida o'simlikning er ustki qismining o'sishi tezlashishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Gibberlinlarning tanqisligi o'simlikning pakanaligiga ko'ra aniqlanadi. O'simliklarning pakana bo'lishining sababi, ushbu fitogormonlarning ferment biosintezi tizimi ishining buzilishi bilan bog'liqdir.

Gibberlinlar o'simliklarning generativ organlarining shakllanishi va gullashga o'tish jarayonlarida katta rol o'ynaydi. Ko'p yillik o'simliklarda meristemalar rivojlanishini generativ yo'li determinasiyasi davrida gibberlinlar darajasining oshishi generativ organlarning hosil bo'lishiga salbiy ta'sir etadi. SHu bilan bir vaqtda gibberlinlar darajasining kamayishi ham meristemada gul elementlarining shakllanishini so'nggi bosqichida generativ rivojlanishga salbiy ta'sir ko'rsatadi. Ba'zi to'p bargli o'simliklarga gibberlin bilan ishlov berilganda, hatto kunning noqulay sharoitida ham, uning gullashi tezlashadi. Uning bu xususiyati akademik M. X. Chaylaxyanga (1988y.) gibberlinni gipotetik gormon florigenining zaruriy qismi deb aytishiga asos bo'ldi. Taxmin

qilinishicha, florigen tarkibiga gibberlindan tashqari, hali ajratilmagan fitogormon- antezinlar ham kirar ekan.

Gibberlinlarni tashqaridan kiritilishi ko'pincha urug'lar rivojlanishini to'xtatadi va partenokarpik mevalar shakllanishini ta'minlaydi.

Gibberlinlar yordamida o'simliklarning jinsini o'zgartirish bo'yicha 1970 yilda bodring va kanop o'simliklarida tajribalar o'tkazilgan. Bodringda changchi ham urug'chi gullarini bitta o'simlikda joylashadi, kanop esa ikki uyli o'simliklarga kiradi. Gibberlin bilan ishlov berilganda, kanop o'simligida changchi o'simliklarning, bodring o'simligida esa erkak gullarning paydo bo'lishi ortgan.

Gibberlinlar urug' va tugunaklarni tinim holatidan chiqarish xususiyatiga ham egadir. Ular zahira kraxmallarni parchalab murtaklarning oziqalanishi uchun qulay shaklga keltirib beruvchi fermentlar, asosan α -amilaza fermentining sintezini indusirlaydi. Bu jarayon g'alla ekinlari (bug'doy, javdar, arpa)da yaxshi o'rganilgan. Ularning donlari murtak, endosperm va urug' qobig'idan iborat. Zahira moddalar endospermida kraxmal xolatida to'plangan. Don pishish vaqti yaqinlashganda kraxmal qavatida tirik hujayralar qolmaydi, faqatgina endospermning ustki qismida zahira oqsillarga boy hujayralar yupqa aleyron qavatida qoladi. Boshqoq zarodishi endosperm bilan qalqoncha orqali aloqa qiladi (qalqoncha oziqa moddalarni endospermidan olib, murtakka berib turish uchun xizmat qiladi). Qalqoncha o'sganda gibberlin ajratadi. Bu murtakning— uyg'onganidan va unga oziqa moddalar zarurligidan dalolat beradi. Gibberlinlar endospermning kraxmal donachalari zonasidan endosperma qavatiga diffundirlanadi. Tirik hujayralarda aleyron qavatidan kraxmallarni parchalovchi ferment amilazaning sintezi uchun axborot RNKsi sintezi boshlanadi.

Gibberlinlarning oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyatiga yana bir misol, uning urug'siz mevalarni rivojlanishini stimullashidir. Ularning bu hususiyati ayniqsa, urug'siz uzum navlarini etishtirishda juda muhimdir.

Gibberlin qo'llanilganda mevalar yiriklashadi va hosildorlik oshadi. Gibberlinlar nafaqat boshqoli o'simliklarni, shuningdek, boshqa o'simliklarning ham o'sishini stimullaydi. Kungaboqar va qovoq o'simliklarida bu gormonlar zahira yog'larni parchalaydi va ularni qandgacha oksidlaydi, dukkaklilarda zahira oqsillar granulalarini va boshqalar moddalarning tashilishini amalga oshiradi. Shuning uchun ham urug', tugunak va piyozlarga ekishdan oldin gibberlin bilan ishlov berilsa, urug'larning unuvchanlik darajasi ortadi va o'sishi jadallashadi.

Etilen moddasi. 1901 yilda Sankt-Peterburg universiteti laboratoriyasida tajriba uchun no'xat o'simligi o'stirilganda, urug'dan qing'ir-qiyshiq, uchki qismi pastga qarab qarmoq shaklida egilgan kalta o'simtalar o'sgan. Issiqxonalarda va ochiq erlarda o'sayotgan o'simliklar esa o'suvchan, to'ppa-to'g'ri bo'lib o'sgan. Nelyubov bu fiziologik ta'sirni chaqiruvchi omil laboratoriyada ekanligini taxmin qilgan. O'sha vaqtlarda xonalar gaz yordamida yoritilar edi. Havosi tozalangan sharoitda issiqxonadagi o'simliklar normal ravishda rivojlana boshlagan. Aynan qaysi moddalar ta'sir etishini o'rganish maqsadida Nelyubov yorug'lik gazining turli komponentlarini navbatma-navbat berib, etilenning ta'sirida:

- 1) o'simtalar bo'yiga va eniga o'sishida sekinlashishi;
- 2) qayta to'g'rilanmaydigan poya uchining pastga egilishi;
- 3) o'simtalar o'sish yo'nalishidagi o'zgarish kabi fiziologik reaksiyalarini aniqladi va buni o'simtalarning etilenga uch karra javobi deb atadi.

Shuningdek, etilenning o'simlik barglarini to'kilishidagi, mevalarning pishib etilishidagi ta'sirlari ham aniqlangan. Etilen moddalari o'simliklarda ham sintezlanadi. Bu moddalar yagona gazsimon fitogormon bo'lib, oddiy tuzilishga ega. Etilenni dezaktivasiyasi uning atrof muhitga ajralishidan tashqari etilen oksidi hosil bo'lish yo'li bilan ham boradi. Etilenning maksimal faolligi uning maksimal oksidlanish vaqtiga to'g'ri keladi, oksidlanishni sun'iy to'xtatilishi fitogormonning ta'sirini yo'qotadi. Bularning hammasi etilenning oksidlanish

uning fitogormonal faolligini amalga oshirishi bilan bog'liq ekanligi haqida taxmin qilish imkonini beradi.

O'simlikning deyarli barcha tirik hujayralari etilenni biosintez qilishga qodir. Bu fitogormonning hosil bo'lish xarakteri ontogenezdada keskin o'zgaradi. Yuvenil davrdagi o'simliklarda etilen asosan meristema to'qimalarida sintezlanadi. Keyinchalik pishib etilayotgan mevalarda uning miqdori ortadi. Shuningdek, etilenning biosintezi o'simlik shikastlanganda yoki stress ta'sirlarda keskin oshadi.

O'simlikliklarda etilen biosinteziga metionin aminokislotaasi asos bo'lib xizmat qiladi. Etilen o'simlik hujayralarining izodeametrik cho'zilishini (yo'g'onlashishi) oshirish xususiyatiga ega. Etilenning qator ta'sirlari uning antiauksinlik ta'sirlari bilan ham belgilanadi. Auksindan farqli, etilen ajratuvchi qavat hosil qiladi, ya'ni barglarni, gullarni, mevalarni to'kilishiga olib keladi. Bu uning hujayra devorlarini parchalovchi fermentlar endopoligaluktoronaza va sellulazaning sintezini indusirlashi bilan bog'liq. Etilen ta'sirida auksin tomonidan indusirlangan hujayralar cho'zilishdan to'xtaydi, mitotik faolligi pasayadi. Shuningdek, etilen auksinning transportini ham to'xtatadi.

Etilen mevalarni to'kibgina qolmay, shuningdek ularning pishishini tezlashtiradi. Bu fitogormon kauchuk beruvchi o'simliklarda lateks (tabiiy kauchuk) ni chiqishining oshishiga ta'sir ko'rsatadi. O'simliklar o'sishiga etilen turlicha ta'sir ko'rsatadi. Ko'pchilik o'simliklarda hujayralarning bo'linishi va cho'zilishi jarayonlarini sekinlashtirish orqali vegetativ o'sishni to'xtatadi. Ammo ba'zi hollarda, masalan, sholi nihollarida etilen miqdorining oshishi, uning o'sishini jadallashtiradi.

Etilenning himoya ta'siri ham katta qiziqish uyg'otadi. Yuqorida aytilganidek, etilenning miqdori stress ta'sirlar va mexanik shikastlarda keskin oshadi. Bu o'simlikning potensial havfga nisbatan birinchi javobi bo'lishi mumkin. Stress etilenni fitoaleksinlar (himoyalovchi moddalar) patogen zamburug'lar hujayra qobig'ini va ba'zi fenol birikmalarni parchalovchi xitinaza fermenti sintezini indusirlaydi. Fitoaleksinlarni kimyoviy tabiati

o'simlikning sistematik holatiga bog'liq. Masalan: kartoshka seskviterpenoidli fitoaleksinlar hosil qiladi, dukkaklilarda fitoaleksinlar fenolli birikmalar asosida sintezlanadi. O'simlikning shikastlangan joyidan fitoaleksinlar va xitinazadan tashqari proteazalarning ingibitorlari ham tashilib, u o'simlikning shikastlangan joyidagi hujayra oqsillarini parchalanishdan himoya qiladi. Bundan tashqari, etilen miqdorining ortishi o'simliklar himoyasida ishtirok etuvchi boshqa gormon-abssiz kislotaning sintezlanishini ham stimullaydi.

Abssiz kislota (ABK). 1965 yilda AQSH olimlari Lyu va Kareslar tomonidan g'o'zani yashil ko'sagidan ajratib olingan. O'simliklarda mevalon kislotasidan sintezlanadi. ABK ksantofil violaksantinining yorug'lik ta'sirida ajratilgan mahsulotidan yoki lipoksigenaza fermentidan ham hosil bo'lishi mumkin. Stress ta'sirlarda bu fitogormon sintezining keskin oshishini aniqlangan. ABK o'simliklarning deyarli barcha organlarida sintezlanadi. Uning hosil bo'lish intensivligi o'simlikning qarishi, noqulay ta'sirlar, ayniqsa namlik etishmasligi natijasida keskin oshadi. U qari barglar, pishgan mevalar, tinim holatidagi urug' va kurtaklarda ko'p miqdorda bo'ladi. O'simlikning urug'ning murtagi pishib etila borishi bilan o'zi ABK sintezlash xususiyatiga ega bo'lishi orqali, o'zining tinim va chidamlilik jarayonlarini boshqaradi. ABKning sintezi kunduziga nisbatan kechasi 50-60 marta yuqori bo'ladi. ABKning miqdoriga haroratning pasayishi, yorug'lik tarkibida ko'k va ultrabinafsha kvantlarining kam bo'lishi stimullovchi ta'sir ko'rsatadi.

ABK akropetal va bazipetal ravishda floema va ksilema bo'ylab transport qilinadi. Harakat tezligi juda yuqori ABK uchun oziqa moddalarni tortuvchi markaz bo'lib, faol bo'linayotgan meristema xizmat qiladi. ABK metabolizmi qand moddalari bilan kon'yugat hosil qilish orqali amalga oshishi, ular qaytariladigan va qaytarilmaydigan bo'lishi mumkin, shuningdek fazeev kislotasi orqali oksidlanishi ham mumkin.

ABKning fiziologik samarasi xilma-xildir. Ular ta'sirida muhim fiziologik jarayonlar ingibirlanishi ham yoki aksincha stimullanishi ham mumkin. Abssiz kislota kuchli ingibitor ta'sirga ega fitogormondir. Ular nuklein kislotalar,

oqsillar va xlorofillar parchalanishini tezlashtiradi, proton pompaning faolligini pasaytiradi. ABK ta'sirida og'izchalar yopiladi va fotosintetik fosforlanish to'xtaydi.

ABK tomonidan urug', kurtak va tugunaklarning tinim davri boshqariladi, atirgulning partenokarpik mevalari rivojlanishi va kartoshka tugunaklarini hosil bo'lishi, bodring gipoktilini cho'zilishi, loviya qalamchalarida ildiz hosil bo'lishi stimullanadi. Bu fitogormon g'alla ekinlari hujayralaridagi zahira oqsillar tarkibining o'zgarishiga ham ta'sir etadi.

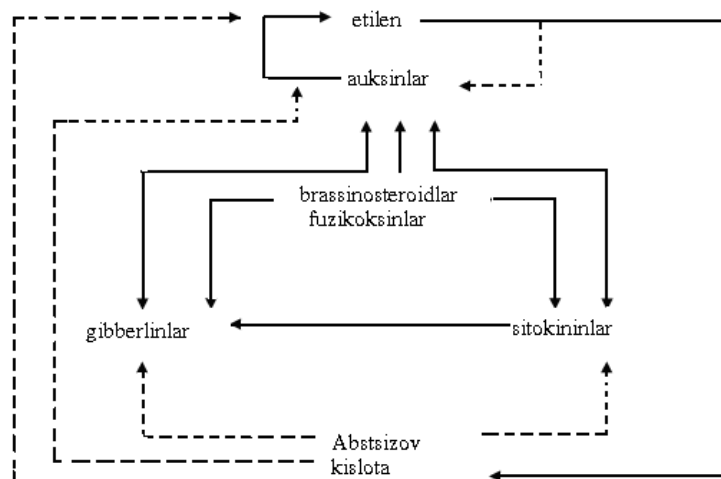
O'simliklarning stresslarga chidamliligini oshishida absiz kislotaning roli juda muhim. U ham sitokinin kabi stress oqsillar, shuningdek, oqsillarning o'ziga xos guruhi, sinikasiya oqsillarining sintezini indusirlaydi. Bu moddalar urug' tarkibidagi namlikni tutib turishga javobgar bo'lib, bu uning tinim davriga o'tishida juda muhimdir. Bu gormonni o'zi sintezlash qobiliyatiga ega bo'lmagan o'simliklar tezda nobud bo'ladi.

Brassinosteroidlar. Bu fitogormonlar 1979 yilda Grouv va boshq olimlar (Grovt et al.) tomonidan raps (*Brassica napus*) o'simligi changining yog'dagi ekstrakti nihollarining bo'yiga o'sishini stimullashi aniqlangan, 10 kg raps changidan 4 milligramm regulyator ta'sirga ega moddalar ajratib olingan. Bu moddalarning steroid birikmalar ekanligi aniqlangan. Rapsning lotincha nomidan kelib chiqib brassinolid deb, boshqa shunga o'xshash fiziologik faol moddalar brassinosteroidlar deb atalgan. Keyinchalik ma'lum brassinosteroidlar soni ortib bordi. Haqiqiy kashtandan (*Castanea sativa*) – kastasteron, atirguldand (*Typha*) – tifasterol, choydan (*Thea*) – teasteron, katarangusdan (*Catharanthus*) – kamasteron va boshqalar ajratib olingan. Hozirgi kunga qadar 60 ga yaqin brassinosteroidlik faollikka ega birikmalar aniqlangan. Brassinosteroidlar biosintezi mevalonat yo'li bilan boradi va boshqa terpenli birikmalar uchun umumiy bo'lgan bosqichlar: izopentent ilpirofosfat, geranilpirofosfat, farnezilpirofosfat va skvalendan iborat bo'ladi. Ma'lumki, o'simliklarning gul to'qimalari, barglari va yosh poyalarida bu fitogormonlar kam miqdorda bo'ladi. Brassinosteroidlarning maksimal konsentrasiyasi gul changida bo'ladi.

Brassinosteroidlarni fiziologik ta'siri boshqa fitogormonlar ta'siriga yaqin. Ular auksin kabi hujayralar cho'zilishini, gibberlin kabi bodring urug'pallasi o'sishini stimullaydi. Shuningdek brassinosteroidlar etilenga xos xususiyatlarga ham ega. Bu fitogormonlarning spetsifik ta'siri urug' kurtakning o'sishini boshqarishdir. Brassinosteroidlarning ozgina miqdori chang bilan birgalikda urug' kurtakka tushib, uning rivojlanishi va urug' hosil bo'lishini stimullaydi. U o'simliklarni stresslar va zamburug'li kasalliklardan ham himoya qiladi. Bunday ta'sirning sababi, o'simlikning fitoimmunitet tizimi stress oqsillari, shuningdek fitoaleksinlari va boshqa komponentlari sintezining oshishi bilan bog'liq. Ko'p miqdordagi brassinosteroidlar o'simliklarning bo'yiga o'sishini to'xtatib, atrof muhitning noqulay ta'sirlari (past yoki yuqori xarorat, qurg'oqchilik, infeksiyalar) ga chidamliligini oshiradi. Hozirgi vaqtda ko'pgina mamlakatlarda brassinosteroidlardan qishloq ho'jalik ekinlarini hosildorligi, chidamliligini oshirish maqsadida foydalanish uchun izlanishlar ishlari olib borilmoqda.

Fuzikoksinlar. Fuzikoksinlar steroid moddalardir. Ilgaridan zamburug'lar hayot faoliyatining mahsuloti sifatida ma'lum bo'lgan, bu fitogormon o'simliklarda ham sintezlanadi va uning o'sish jarayonini boshqaradi. (G.S.Muromsev, 1996). Fuzikoksinning muhim fiziologik ta'siri uning hujayralarning cho'zilishini stimullashi, qorong'uda og'izchalarni ochishi, suv bug'lanishini kuchaytirishi, urug'larni tinim holatidan chiqarishi va o'sishni jadallashtirishi bilan bog'liqdir.

O'simliklarda fitogormonlarning o'zaro hamkorligi. O'simlik gormonlari bir-birlarining sintezi, parchalanishi va tashilishiga faol ta'sir ko'rsatadi. Fitogormonlar tizimining biror komponenti miqdorining o'zgarishi, butun tizimning o'zgarishiga olib keladi (4.2- rasm).



21- rasm. Gormonlarning o'zaro ta'siri natijasida u yoki bu fitogormonlar miqdorining oshishi (tekis chiziqlar bilan) yoki pasayish (punktir chiziqlar bilan).

O'simliklarni gormon statusi. O'simliklarni ontogenez davridagi fitogormonal tizimining holati, hosil bo'lish jarayonlarida fitogormonlar miqdori va ular orasidagi nisbat, ularning tashqi ta'sirga javoban hosil bo'lishi, harakatlanishi, foydalanilishi va inaktivatsiyalanishi-o'simliklarning gormon statusidir.

O'simliklarning gormon statuslari fitogormonlarni miqdoriy aniqlashning murakkabligi sababli kam o'rganilgan.

Nazorat savollari

1. Fitogormonal boshqarish bilan bog'liq bo'lgan qanday sabablar o'simliklarning pakanaligini yuzaga keltiradi?
 2. Ildiz, poya va barg hujayralarining auksining bir xil konsentratsiyasiga ta'sirchanligi turlicha bo'lishining sababi nimada?
 3. Fitogormon va fitoregulyatorlar tushunchalari orasidagi farq nimada?
- O'simliklarning gormonal statusi va uning monitoringi usullari.
4. Fitogormonlarning klassifikatsiyasi
 5. O'simliklarda fitogormonlarning o'zaro hamkorligi
 6. O'simliklarni gormon statusi

21-MA'RUZA

O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi sun'iy regulyatorlar

Reja:

1. Sun'iy regulyatorlarning o'simliklarning gormon tizimiga ta'siri.
2. Sitokinin analoglari va antagonistlari
3. Gibberlinlarning analoglari va antagonistlari
4. Brassinosteroidlar analoglari va antagonistlari
5. Fuzikoksinlarning analoglari va antagonistlari
6. Abssez kislota analogi va antagonistlari

Kalit so'zlar: Sitokinin, auksin analoglari, antiauksin, Zeatin, Terpenoid.

Fitogormonlarni boshqarish mexanizmlari haqidagi bilimlarga ega bo'lish, o'simliklarning hosildorligini, chidamliligini oshirishga erishishda, ularning o'sishi va rivojlanishini boshqarishda katta imkoniyatlar beradi.

O'simliklarning fitogormon tizimiga yo'naltirilgan ta'sirlar o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlari (fitoregulyator) yordamida amalga oshiriladi.

Fitoregulyator - o'simliklarning bo'yiga yoki eniga o'sishiga ta'sir etuvchi, qo'llanilayotgan miqdoriga ko'ra, oziqa manbai va fitotoksin bo'lmagan tabiiy yoki sun'iy moddalardir. Demak, o'simliklarni o'sishiga ta'sir etuvchi har qanday modda ham, agar u o'simliklar o'sishini o'g'it kabi stimullamasa va gerbisid kabi o'simliklarning nobud bo'lishiga sabab bo'lmasa, u holda fitoregulyatordir. Hozirgi kunda regulyator faollikka ega 5 mingga yaqin birikmalar aniqlangan bo'lib, amaliyotda ularning faqat 1% gina qo'llaniladi.

Ko'pchilik fitoregulyatorlarning fiziologik faolligi, ularning fitogormon tizimini qaysidir komponentiga ta'sir etish xususiyati bilan bog'liq. Bunga hujayraga tashqaridan uning analogini kiritish orqali fitogormonlar miqdorini oshirish; fitogormonning biosinteziga ta'sir etish (stimullash yoki to'xtatish); fitogormon transportini to'xtatish; fitogormonning inaktivatsiya tizimiga ta'sir etish (stimullash yoki to'xtatish); fitogormonning reseptoriga ulanishi uchun

raqobat hosil qilish; fitogormon-reseptor kompleksining inaktivatsiyasi hisobiga erishiladi.

Sun'iy regulyatorlarning o'simliklarning gormon tizimiga ta'siri. *Auksinning analoglari va antogonistlari.* Auksinga ta'sir etuvchi regulyator birikmalar orasida, bu fitogormonning sun'iy analoglaridan indolil-3-sirka kislota (ISK), indolil-3-moy kislota (IMK), 1-naftilsirka kislota (NSK) hamda ularning tuzlari va amidlari ildiz hosil qilishni stimullashda keng qo'llanadi. Bu birikmalardan o'simliklarni qalamchalash usuli orqali vegetativ ko'paytirishda, biotexnologik jarayonlarda va an'anaviy o'simlikshunoslikda keng foydalaniladi. Ular bilan ishlov berish- preparatni oziqa muhiti tarkibiga 1-100 mg/l konsentrasiyada kiritish, qalamchanning bazal qismini shu preparatning 200 mg/l konsentrasiyadagi spirtli eritmasiga solish yoki qalamchalar preparatning 25-50 mg/l konsentrasiyadagi suvli eritmasida 12-14 soat ushlab turish usullari orqali amalga oshiriladi. Bu birikmalarning zaharlilik ta'siri kam bo'lib, ularni odamlar tomonidan iste'mol qilinadigan ekinlarga qo'llash mutlaqo havfsizdir.

Auksin analoglari orasida 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D); 4-xlorfenoksisirka kislota (4-X); 2,4,5-uchxlorfenoksisirka kislota (2,4,5-T); 2(2,4,5-uchxlorfenoksi) propion kislota (2,4,5-UP) muhim o'rinni egallaydi. Bu birikmalar auksin ta'sir etadigan xududda yuqori auksin faolligiga ega bo'lib, proton pompasini faollashishi va tropizm, hujayralarning cho'zilishi va dedifferensiallanishi jarayonlarini amalga oshiradi. Bu moddalar past konsentrasiyalarda kallus to'qimalarini olish uchun (0,5-2,0 mg/l), yuqori konsentrasiyalarda esa, gerbisid sifatida qo'llaniladi. Bu guruh auksin analoglarining zaharlilik ta'siri boshqa guruh vakillarinigiga nisbatan kam, ammo ular kuchli mutagen ta'sirga ega bo'lganligi uchun ekologik havf tug'diradi.

Antiauksin ta'sirga ega qator fitoregulyatorlar ham mavjud. Ularning ta'siri bu gormonlar transportini to'xtatishi bilan bog'liq: morfaktinlar, naftilftalamin kislota va uning tuzlari, shuningdek 2,3,5-uchyodbenzoy kislota (UYBK)dir. UYBKning ta'siri auksin tomonidan yaratilgan apikal dominantlikning

buzilishida namoyon bo'ladi. Buning natijasida ba'zi o'simliklar kurtaklarining uyg'onishi ortadi, masalan: soya o'simligida xosildor novdalar sonini oshirish hisobiga hosildorligi yuqori bo'ladi.

Sitokinin analoglari va antagonistlari. Keyingi vaqtlarda sitokinin preparatlarining antistress ta'sirlari aniqlanganidan so'ng, ularga bo'lgan qiziqish tobora ortib bormoqda. Zeatin qatori (kinetin, 6-benzilaminopurip) sitokininlarini sun'iy analoglari shunday xususiyatga ega. Sitokininlar qatori analogi, difenilmochevina-dropp (tidiazuron)ning antistresslik xususiyati kam.

Sitokininlar o'simliklar biotexnologiyasida kallus to'qimalari olishda, hujayralar bo'linishini faollashtirishda, kallusda paydo bo'lgan nihollarning differensiyalanishini induksiyalashda, shuningdek apikal dominantlikni bartaraf etishda va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda, ularning ko'payish koeffisientini oshirishda qo'llaniladi. Bunday maqsadlar uchun ayniqsa 6-BAP va kinetinlardan ko'proq foydalaniladi.

Sitokinin analoglari oziqa moddalarni o'ziga tortish xususiyati tufayli, mevali daraxt ko'chatlarining apikal dominantligini bartaraf etish, ko'chatzorlardagi daraxtlarning shoxlari va barglarining tez va sifatli hosil bo'lishi, shuningdek urug'siz uzum navlarining mevalarini yiriklashtirish va massasini oshirishda qo'llaniladi. Buning uchun sitokinin analoglari sun'iy gibberlinlar bilan birgalikda qo'llanilda yaxshi natija berishi mumkin.

Dropp preparati g'o'za defolianti sifatida muhim ahamiyat kasb etadi. Uning ta'sirida endogen etilenning sintezi stimullanishi natijasida barglar to'kiladi.

Sitokinin analoglari cheklangan miqdorda sabzavotlarni saqlashda, jinsni boshqarishda, shuningdek urug'larni tinim davridan chiqarishda va o'stirishda qo'llaniladi.

Sitokininlarning antaginistlari aniqlangan, lekin ular amaliyotda qo'llanilmaydi va hozircha faqat ilmiy ahamiyatga ega.

Gibberlinlarning analoglari va antagonistlari. Gibberlinlar analoglari patogen zamburug' Gibberella fujicuroidan mikrobiologik sintez yo'li bilan

olinadi. Ular o'simlik tomonidan sintezlanadigan gibberlinlarning aniq nusxalaridir. Ulardan ayniqsa, GK₃, GK₄, GK₇ keng qo'llaniladi. Bu moddalardan asosan urug'siz uzum navlari mevasining o'sishi va pishishini stimullashda foydalaniladi. Bundan tashqari, gibberlinlar urug'lar va tugunaklarni tinim holatidan chiqarish va ularning unib chiqishini tezlashtirishda ham qo'llaniladi.

O'simliklar biotexnologiyasida gibberlinlardan virussiz ekish materiallari olish uchun apikal meristema hujayralarining cho'zilishi va bo'linishini stimullashda foydalaniladi.

Gibberlinlarning antagonistlari analoglariga nisbatan qishloq xo'jaligida kengroq qo'llaniladi. Uning deyarli barcha antagonistlari retardant ta'sirga ega.

Brassinosteroidlar analoglari va antagonistlari. O'simlik hujayralaridan brassinosteroidlar ajratilishi bilan bir vaqtda, uning analoglarini ham sintezlash ishlari amalga oshirila boshlandi. Hozirgi kunga qadar sintezlangan brassinosteroid analoglari ularning tabiiy fitogormonlaridan yon zanjir strukturasi bilan farq qiladi. Brassinosteroid analoglarining ko'proq tarqalgan turlariga 22S, 23S-izomerlari, gomobrassinolid, norbrassinolid birikmalari kiradi (V.A.Xripach va boshq. 1993).

Brassinosteroidlar va ularning analoglarining ekdisteroidlar bilan antiekdizonlar roliga kirib, ekdizonli reseptorlarga bog'lanish ko'ra o'zaro muvaffaqiyatli raqobatlasha olishi haqida ham ma'lumotlar mavjud. Brassinosteroidlarga ekdizonlar bilan bir qatorda gomoksisteroidlar sinfining boshqa ba'zi vakillari (xiograsterinlar, azeraraxol) ham strukturasi bo'yicha yaqindir.

Brassinosteroidlar va auksinlar o'simliklar ildiz tizimiga ta'siriga ko'ra farq qiladi. Auksinlar yon ildizlarning xosil bo'lishini stimullaydi, brassinosteroidlar esa ularning o'sishiga ingibitorlik ta'sir ko'rsatadi. Brassinosteroidlarning yuqori me'yori o'simliklar o'sishini to'xtatib, uning tashqi noqulay omillar (sovuq urishi, qurg'oqchilik, issiq xarorat va infeksiyalar) ga chidamliligini oshiradi.

Fuzikoksinlarning analoglari va antagonistlari. Fuzikoksinlarning gibberlinlar bilan analogiyasi kuchli bo'lib, ularning ikkalasi ham har tomonlama yuqori regulyator faollikka ega, fitopatogen zamburug'lar tomonidan sintezlanadi va kimyoviy birikmalarning bitta guruhi - diditerpenlarga kiradi.

Terpenoidlarga brassinosteroidlar va absiz kislotasi ham mansub bo'lib, bu fitogormonlar fitopatogen zamburug'lar tomonidan sintezlanadi. SHu ma'lumotlar asosida G.S.Muromsev (1987) fuzikoksinning gormon tabiatli modda ekanligi haqidagi o'zining taxminlarini keltirgan va ularni o'simlik hujayralarida ham aniqlagan.

A.Ballio va boshqa hammualliflar tomonidan (Ballio et al, 1979) plazmatik membranada molekulyar og'irligi 40 ming dalton bo'lgan fuzikoksinning reseptori – glikoprotein aniqlandi. Fuzikoksin plazmolemmada joylashgan faol protonlar tashilish tizimini boshqaruvchi nafas olish zanjiri bilan ham o'zaro hamkorlik qiladi.

Etilen analoglari va antagonistlari. 2-xloretilfosfon kislotaning (2-XEFK, etefon) $pH > 4,0$ bo'lganda etilen ajratib parchalanish xususiyati aniqlanganidan so'ng, o'simlikshunoslikda etilen analoglaridan foydalanish imkoniyati paydo bo'ladi.

2-XEFK asosida ko'plab preparatlar etrel, kampoza, flordimeks, gidrel, digidrel, deksrel ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. 2-XEFK va uning asosidagi preparatlar issiq qonli organizmlar uchun umuman zararsizdir. Gidrel va digidrel bundan mustasno bo'lib, ularning sintezi uchun simmetrik bo'lmagan dimetilgidrazindan foydalaniladi, uning mazkur preparatlardagi juda kam miqdori ham ularning zaharli va mutagenlik ta'siri yuzaga keltiradi.

Etilen produsentlari turli ta'sirlar uchun: ajratuvchi qavatni hosil bo'lishi (barg bilan poya, poya bilan meva o'rtasida), o'simliklarni tinim holati va chidamliligini stimullash va induksiyalash uchun retardant sifatida qo'llaniladi.

So'nggi yillarda organik kremniy asosida qator etilen produsentlari yaratilgan bo'lib, ular orasida etrel katta ahamiyatga egadir, u 2-XEFK ga hos

bo'lgan kamchiliklardan xoli, bundan tashqari, issiq qonli organizmlar uchun uning zaharli ta'siri kam.

Ba'zi hollarda, mevali daraxtlarni mevasini to'kishini kamaytirishda va ba'zi bir biotexnologik tadqiqotlarda o'simlikdagi endogen etilenning miqdorini kamaytirish zarur bo'ladi. Buning uchun etilen biosintezini to'xtatuvchi Ag⁺ aminosirka kislota (ASK) rizobiotoksin va aminoetoksivinilglisin (AVG) kabi moddalardan foydalaniladi. Lekin bu preparatlarning narxi qimmat bo'lgani uchun unchalik keng qo'llanilmaydi.

Abssiz kislota analogi va antagonistlari. Abssiz kislotaning fiziologik faol strukturaviy analoglari narxi yuqori bo'lgani uchun qishloq xo'jaligida kam qo'llaniladi. Lekin uning hosil bo'lishini follashtirish orqali o'simlikdagi miqdorini oshirish mumkin. Abssiz kislota hosil bo'lishining induktori va stimulyatori sifatda boshqa fitogormon-etilen yoki uning produsentlari xizmat qiladi.

Abssiz kislota miqdorining oshishi, bu fitogormon tomonidan suvni bog'lab turishga javobgar stress oqsillar sintezining induksiyanishi, shuningdek o'simlik tinim holatini stimullash xususiyati bilan bog'liq xolda mahsulotlarining isrof bo'lishini kamaytirishni ta'minlaydi.

Abssiz kislotaning spesifik antagonistlari hali aniqlanmagan, nospesifik antagonistlari ro'yxatiga esa stimulyatorlik ta'sir xarakteriga ega barcha gormonlarni kiritish mumkin.

Nazorat savollari

1. O'simliklardagi abssiz kislota miqdorini qanday usullar yordamida oshirish mumkin?
2. O'simliklar fitoregulyatorlarni qo'llash samarasi qaysi omillarga bog'liq?
3. Qishloq ho'jalik ekinlariga fitoregulyatorlarni qo'llash samarasi qaysi omillarga bog'liq?
4. Sun'iy regulyatorlarning o'simliklarning gormon tizimiga ta'siri qanday?
5. Sitokinin analoglari va antagonistlari
6. Gibberlinlarning analoglari va antagonistlari
7. Brassinosteroidlar analoglari va antagonistlari
8. Fuzikoksinlarning analoglari va antagonistlari

9. Abssiz kislota analogi va antagonistlari

22-MA'RUZA

Biotexnologiyada o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi fitogormon va sun'iy regulyatorlar

Reja:

1. Ontogenezni boshqarish
2. Ildiz hosil bo'lishi
3. Nihol hosil bo'lishi
4. Gormon statusi o'zgartirilgan transgen o'simliklar olish

Kalit so'zlar: regenerant-o'simliklar, adventiv ildizlar, kambiy to'qimalari, rizogenez, retardant, organogenez, vegetativ kurtaklar

O'simliklar biotexnologiyasida fitoregulyatorlar kallus hosil qilish, hujayralarning differensiyalanishi, regenerant-o'simliklar o'sishi va rivojlanishi jarayonlarini boshqarish imkonini beruvchi asosiy vositadir.

Ontogenezni boshqarish. Yu.Saks 1880-yillardayoq o'simliklarning asosiy organlari - ildiz, poya, barglarining differensirovkasi va rivojlanishini boshqaruvchi moddalar mavjudligi haqida o'z taxminlarini aytgan, hamda ularni mos ravishda rizokolin, kaulikolin va faliokolinlar deb atagan edi. O'sha paytda uning zamondoshlari tomonidan qo'llab quvvatlanmagan bunday g'oyalar vaqt o'tishi bilan o'z isbotini topdi. Ularning bundan keyingi rivojlanishi buyuk olim M. X. Chaylaxyan (1988) tomonidan taklif etilgan florigen nazariyasi bilan davom etdi. Florigenlarni qidirish bo'yicha ishlar hali tugallanmagan bo'lsada, auksin ta'sirida ildizning o'sishi va rivojlanishi, niholning sitokinin ta'sirida o'sishi va rivojlanishini boshqarilishi haqidagi hozirgi kundagi ma'lumotlar Saks g'oyalarining haqqoniyligini tasdiqlagani kabi, bu nazariyaning qonuniy huquqqa ega ekanligini ham ko'rsatdi.

Qishloq ho'jalik o'simliklari biotexnologiyasi rivojlana borishi bilan fitogormonlarning organozonezni boshqarishi haqidagi ma'lumotlarning ahamiyati tobora ortib bormoqda, chunki aynan fitogormonlar in vitro o'simlik

to'qimalar va hujayralari kulturasida turli muolajalarni amalga oshirishda asosiy qurol bo'lib xizmat qiladi.

Ildiz hosil bo'lishi. O'simlikshunoslikda novda, barg yoki poyalarda ildiz hosil bo'lishini sun'iy ravishda boshqarish hamma vaqt ham keng qo'llanilgan, lekin bu usul ko'p sarf-xarajat va mehnat talab etganligi uchun ko'paytirishning bu usulidan barcha xollarda ham foydalanib bo'lmaydi. 1930 yillar boshlarida auksinning kashf etilishi, uning adventiv ildiz hosil bo'lishini indusirlash va ildiz tizimning rivojlanishini stimullash xususiyatlari aniqlangandan so'nggina deyarli barcha turdagi o'simliklarni yoppasiga qalamchalab ko'paytirish imkoniyati paydo bo'ldi.

Hozirgi kunda fan- texnikaning yuksak taraqqiyotiga qaramasdan o'simliklarni ko'paytirishda - qalamchalarga ekishdan oldin auksinning analogi bilan ishlov berish orqali ildiz ottirish usulining mohiyati o'zgarimasdan qoldi.

Adventiv ildizlar kambiy hujayralaridan hosil bo'ladi. Ayniqsa kambiy to'qimalari bo'linishining maksimal faollashgan davrida bu jarayonning samarasi yuqori bo'ladi. Meristema to'qimalari hujayralaridan ildizlarning shakllanishi genetik determinlangan bo'ladi. Rizogenezga olib keluvchi genetik dasturlarning transkripsiyasidagi o'zgarishlar auksin tomonidan nazorat qilinadi. Auksin muayyan reseptor bilan o'zaro aloqasidan so'ng va mos gormon – reseptor kompleksi hosil bo'lgandan keyin, ildiz hosil bo'lishiga olib keluvchi va metabolizmni o'zgartiruvchi fermentlar genlarining operonlaridan repressor qurshovini yo'qotishga olib keluvchi javob tizimini ishga tushiradi.

Auksinning barcha sun'iy analoglari ham ildiz hosil bo'lishini indusirlash xususiyatiga ega emas. Lekin auksinning indolil-3-moy kislota (IMK) va naftilsirka (NSK) kislota kabi sun'iy analoglari ta'siri haqiqiy tabiiy gormon ISKning ta'siridan birmuncha kuchliroqdir. Buning sababi sun'iy analoglarning hujayradagi turg'unligining yuqoriligi va ularning gormonlarni dezaktivasiyalovchi fermentlarga kam o'xshashligidir. Shu bilan bir vaqtda auksinning boshqa analogi 2,4-dixlorfenoksisirka kislota (2,4-D) rizogenez

chaqirish xususiyatiga deyarli ega emas, va bu moddadan uzoq vaqt foydalanilganda to'qimalar ildiz morfogeneza bo'lgan qobiliyatini yo'qotadi.

Sun'iy auksinlarning ildiz hosil qilish faolligi vitaminlar va ko'pincha askorbin kislotasi bilan birgalikda qo'llanilganda stimullanadi.

Boshlang'ich o'simliklarga retardantlar bilan oldindan ishlov berish ham ildiz hosil bo'lishini sezilarli darajada stimullaydi. Regulyatorlarning bunday ta'siri zemlyanika, kartoshka, olma, olcha, qoraqat, krijovnik va boshqa o'simliklarda aniqlangan. Barcha holatlarda ham boshlang'ich o'simlik qalamchalar kesilishidan oldin, yoki meristemalar ajratilishidan oldin, retardantlar bilan ishlov berilgan o'simliklarning ildiz tizimi yaxshi shakllangan. Bunday ta'sirni bir qancha sabablar bilan tushuntirish mumkin, ulardan eng xaqiqatga yaqini, auksin va gibberlinlarning ildiz hosil bo'lishi jarayoniga ta'siri bo'yicha ular orasidagi antagonizmidir. Antigibberlinlik xususiyatiga ega bo'lgan retardantlar, gormonlar nisbatini auksinning foydasiga o'zgartirish orqali rizogeneza jarayonini stimullaydi.

Nihol hosil bo'lishi. Niholning organogenezi sitokinin guruhi fitogormonlari tomonidan nazorat qilinishi, barcha turdagi o'simliklarning kallusli kulturalarida aniqlangan. Sitokininlarning oziqa muhitida ishtirok etishi kallusda kurtak hosil bo'lishini indusirlaydi. Kallusda vegetativ kurtaklar shakllanishini stimullashga yo'naltirilgan da oziqa muhitidagi auksin va sitokininlarning absolyut darajasiga va bu fitogormonlarning nisbatiga e'tibor qaratish lozim.

F.Skuga va K.O.Miller tomonidan tamakining differensiyalanmagan kallus to'qimalari ontogenezin boshqarishda sitokininlar qatnashishi aniqlangan. Tajribalarda ISK va kinetin yordamida kallusda ildiz va nihollar hosil bo'lishi chaqirilgan.

Nihol organogenezidagi doimiy hollardan biri qishloq xo'jaligi ishlab chiqarishda muhim ahamiyatga ega tugunaklarning hosil bo'lishidir. Bu jarayon auksinlar tomonidan to'xtatiladi, kallus kulturalarida organogeneza bilan parallel

o'tkazishga yo'l qo'yadi auksinlarning oshirilgan me'yori ta'sirida ildiz hosil bo'ladi va tugunaklarning shakllanishi to'xtaydi.

M. X. Chaylaxyan va boshqa tadqiqotchi olimlarning fikriga ko'ra ildiz hosil qilishni fitogormonlar orqali boshqarish gibberlinlar va absiz kislota yordamida (ABK) quyidagi tartibda amalga oshiriladi: oldin gibberlinlar ta'sirida nihollarni hosil bo'lishi va o'sishi stimullanadi, navbatdagi bosqichda ABK ta'sirida nihollar o'sishi to'xtatilishi natijasida ular yo'g'onlashadi va nihollarda tugunaklar shakllanadi. Kartoshka o'simligiga ABK bilan ishlov berilganda tugunaklar massasini oshishi hisobiga hosildorligi ancha yuqori bo'ladi.

Kallus hosil bo'lishini gormonlar orqali boshqarish. O'simliklar biotexnologiyasi ishlarining asosiy bosqichlaridan biri, nihol, barg va ildizning differensiyalangan to'qimalaridan kallus to'qimasini olish bilan bog'liq. Kallus to'qimalari olishning asosini o'simlik eksplant hujayralarining dedifferensiyalanishi, ularni meristematik, bo'linayotgan holatiga qaytarish tashkil etadi. Buning uchun 1) hujayralarning bo'linish jarayoniga to'sqinlik qilayotgan hujayraning struktura elementlari modifikatsiyasi (ikkilamchi qalin hujayra qobig'ining yupqalanishi); 2) mitoz jarayoniga javobgar genlarning ekspressiyasi amalga oshishi zarur.

O'simliklarning shikastlangan joyi kallus to'qimasi bilan tez qoplanib, so'ng differensiyalanadi. Ko'p hollarda kallus meristema to'qimalaridan, asosan kambydan hosil bo'ladi. Bunday hollarda hujayra strukturalarining modifikatsiyasiga ehtiyoj paydo bo'lmaydi.

Ko'pincha in vitro sharoitida kallus hosil qilish uchun eksplant differensiallanishi jarayonini stimullovchisi sifatida tarkibida yuqori miqdorda auksinning sun'iy analogi 2,4-D tutuvchi oziqa muhitiga ekiladi. Bunday stimullashning mexanizmini auksinning: "nordon o'sish" samarasi hisobiga hujayra qobiqlarining yupqalashishi bilan bog'liq bo'lgan proton pompalarining faollashishi, hujayra qobig'ining qisman gidrolizlanishini yuzaga keltiruvchi qator fermentlar sintezining induksiyasi, shuningdek, DNK replikasiyasini

induksiyalash kabi regulyatorlik ta'sirlari bilan tushuntirish mumkin. Bundan tashqari, shuni ham ta'kidlab o'tish lozimki, aynan 2,4-D sitokininning ta'siri kabi bilan nuklein kislotalar sintezini kuchaytirish orqali hujayralar bo'linishini stimullaydi.

Kallus to'qimalari uzoq vaqt o'stirilganda ular shish to'qimalariga ya'ni o'sishi organizm tomonidan nazorat qilinmaydigan to'qimalarga aylanishi mumkin. Buning sababi, to'qima o'zining bo'linishi uchun zarur bo'lgan fitogormonlar (auksin va sitokinin) ni boshqa organlardan olmay, o'zini ichida sintezlash xususiyatiga ega bo'lishidir. Tashqi muhitdagi fitogormonlar konsentrasiyasining o'zgarishiga ta'sirlanmaydigan in vitro kulturasidagi shish to'qimalari, gormonga bog'liq bo'lmagan yoki "moslashgan" to'qimalar deyiladi.

Gormonga bog'liq bo'lmaslik holatining paydo bo'lishi o'simliklar biotexnologiyasi imkoniyatlarini chegaralab qo'yadi, chunki bu xususiyatga ega to'qima hujayralari differensiyalanish, so'ngra etuk o'simlik regenerasiyalashga umuman qodir emas. Gormonga qaram bo'lmaslik sabablari va mexanizmini o'rganish juda muhim bo'lib, nafaqat qishloq ho'jalik biotexnologiyasi muammolarini hal qilishda, shuningdek insonlardagi onkologik kasalliklarni davolash yo'llarini topishda ham yordam berishi mumkin.

Kallus to'qimalarini uzoq vaqt o'stirilganda gormonga bog'liq bo'lmasligini engish uchun fitogormonlar va ularning reseptorlarining ortiqcha sintezini to'xtatish lozim. Nemis tadqiqotchilari tamakining auksinga bog'liq bo'lmagan morfogenezni induksiyalash bo'yicha juda qiziqarli natijalar olishgan, oziqa muhitiga boshqa fitogormonlar – brassinosteroidlar kiritilganda, kallus embrioid strukturalar paydo qilish qobiliyatini paydo qilgan. Kallusning morfogen qobiliyatini oshirishning yana boshqa yo'li, kallus to'qimalari o'sayotgan oziqa muhitga etilen hosil bo'lishini to'xtatuvchi sifatida kumush nitratning kiritilishi empirik ravishda topilgan.

Gormon statusi o'zgartirilgan transgen o'simliklar olish Tabiatda gormon statusi o'zgartirilgan transgen to'qimalar paydo bo'lish jarayonlari insoniyat aralashuvisiz sodir bo'ladi.

Evolyusiya jarayonida agrobakteriyalarning ikki turida (*Agrobacterium tumefaciens* va *A. rizogenes*) nafaqat ho'jayin o'simlik genetik apparatidan foydalanib zarur oqsillarni sintezlash, balki shikastlangan hujayralarga plastik moddalarning doimiy oqib kelishi, zararlangan hujayralarning dedifferensiyalanishi va proliferasiyasini amalga oshirish mexanizmlari ham shakllangan.

Agrobakteriyalar parazitlik mexanizmining asosini-ularning bakteriya oqsillarini spesifik genlari (nopalina va oktapin) bilan bir qatorda, auksin va sitokinin fitogormonlari sinteziga javobgar fermentlari genlarini ham tutuvchi va o'simlik xromosoma DNKsiga ulanuvchi plazmidalarni o'simlik hujayrasiga kiritilishi tashkil etadi. Natijada bu fitogormonlar darajasi ortadi, ixtisoslashgan o'simlik hujayralari dedifferensiyalanadi va to'xtovsiz bo'linib, *A. tumefaciens* bilan zararlangan hujayralar gallar (shishlar), *A. rizogenes* bilan zararlangan hujayralar esa ko'plab ipsimon engil ildizlar hosil qiladi. Agrobakteriya plazmidasi ho'jayin o'simlik genomiga birikkanida, o'simlik hujayrasiga hosil bo'lgan fitogormonlarning sintezi to'xtatilishi haqidagi yangi ma'lumotlar ham mavjud.

Agrobakteriy plazmidalari asosida o'simlikning xromosoma genomiga genlarni kiritish uchun vektor tizimlar yaratilgan.

Hozirgi vaqtda o'simliklar gen muhandisligi sohasidagi ishlar gerbisidlar, patogenlar yoki zararkunanda hasharotlarga chidamli o'simliklarning boshlang'ich shakllarini olish bilan bog'liq. Bunday tor darajadagi yo'naltirish asosan 2 ta sababga bog'liq deb ko'rsatish mumkin: Birinchidan, o'simliklarga yuqorida qayd etilgan xususiyatlarni berish zaharli kimyoviy moddalarni qo'llanish zaruratini ancha qisqartiradi, o'simlikshunoslikda katta ekologik havfsizlikni ta'minlaydi; Ikkinchidan, o'simliklar genetik muhandisligini

rivojlanish darajasi bugungi kunda o'simlik genomiga genlarni kiritish va ularning ekspessiyalanishini amalga oshirish imkoniyatini beradi.

Sanoat o'simlikshunosligi amaliyotida nafaqat serhosil hosilli va chidamli o'simliklar, shuningdek o'sishning muayyan xarakteriga ega, ob-havo va agrotexnika sharoitlariga hamda qishloq ho'jalik texnikasiga moslashtirilgan o'simliklarni yaratish juda muxim bo'lib qoldi. Bu hosilni yig'ish jarayonini mexanizasiyalashda muhim ahamiyatga ega. Bunday xollarda o'simliklarning fitogormon statusini fermentlar genlari "me'yorini", sintezini o'zgartirish yoki uning promotorini almashtirish hisobiga u yoki bu fitogormon mahsulotini oshirish yoki kamaytirish orqali boshqarish maqsadga muvofiqdir.

Fitogormon statusi o'zgartirilgan o'simliklar yaratishning istiqbolli ahamiyati bilan bog'liq holda dunyoning ko'pgina mamlakatlarida bu ishlar bajarilmoqda. Masalan: Rossiya olimlari I. V. Korneeva, V. V. Mazin, M. N. Agafodorova (1999) bedaning gormonal statusi o'zgartirilgan transgen o'simligini olishgan. Transformant o'simliklar boshlang'ich shakllaridan er ustki qismi, barglarining yashil rangini uzoq vaqt saqlashi, nihollarining uzunligi, butadagi shoxlar oralig'ini yaqinligi va sonining ko'pligi, ildizining massasi, rizogenezga bo'lgan qobiliyati, reproduktiv organlarining morfofiziologik xarakteristikalar bo'yicha, erkin prolinning miqdori bo'yicha, protein, xlorofill va karotinoidlarni yuqori miqdorda tutishi bo'yicha farqlanadi. Mualliflar bu farqlarni o'simliklardagi fitogormonlar va gormonsimon moddalarning nisbati va konsentrasiyasidagi siljish va genlarning geterologik ekspressiyasiga o'simliklarning korrelyasion va adaptasion jarayonlari bilan javobi ekanligini ta'kidlashadi. Barglarining yashil rangni uzoq vaqt saqlashi, ulardagi barglarning qarishi va xlorofillning parchalanishini to'xtatuvchi sitokininlar miqdorining yuqoriligi bilan bog'liq.

Transformasiyalangan o'simliklardan ho'jalik ahamiyati qimmatli xususiyatlar manbai sifatida: bedaning oziqalik sifatini yaxshilanishi, urug' mahsuldorligining va stresslarga chidamliligining oshishi, ularning yaylovlarda o'sishga moslashgan, raqobatbardosh navlarini yaratishda qimmatli seleksion

material sifatida foydalanish mumkin.

Nazorat savollari

1. O'simlikshunoslikda o'sish regulyatorlarini qo'llashning genetik va ekologik havfsizligi. Nazorat qilish usullari.
2. O'simlik hujayralarining differensirovka va dedifferensiyalanishini gormonlar yordamida boshqarish qanday amalga oshiriladi?
3. Nima uchun kallus to'qimalari 2,4-D tutuvchi oziqa muhitda uzoq vaqt o'stirilganda ildiz hosil qilish qobiliyatini yo'qotadi?
4. Ontogenezni boshqarish qanday amalga oshiriladi?
5. Ildiz hosil bo'lishi induksiyalash jarayonlari
6. Nihol hosil bo'lishini stimullash
7. Gormon statusi o'zgartirilgan transgen o'simliklar olishning ahamiyati

23-MA'RUZA

Fitogormon va fitoregulyatorlarni olishning biotexnologik usullari

Reja:

- 1.O'simlikshunoslikda fitogormon va o'sishni boshqaruvchi regulyatorlar.
- 2.Ontogenezni boshqarish Poyaning o'sishini tezlashtirish
- 3.Fotosintezni boshqarish
- 4.Moddalar tashilishini va hosilning sifatini boshqarish O'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini boshqarish

Kalit so'zlar: xloroplast, biosintez, kartolin, sitokinin, abiotik stress, fotonafas, fotosintez, retardant, tinim davri, ingibitor, stimulyator

Mikroorganizmlar yordamida fitogormonlarni yaxlitligicha yoki qisman sintezlash mumkin. Aynan shu yo'l bilan gibberlinlar, fuzikoksinlar olinadi, absiz kislotasi ishlab chiqarish yo'lga qo'yilmoqda, brassinosteroidlarni sintezlash uchun zarur mahsulotlar ishlab chiqarilmoqda.

So'nggi vaqtlarda mikroorganizmlardan, ayniqsa, vizikulyar-arbuskulyar mikoriza kompleksi komponentlaridan ajratilgan, umumiy stimulyatorlik ta'sirga ega, yuqori samarali fitoregulyatorlar paydo bo'ldi. Bunga *simbiont-2*

va *emistim* preparatlarini misol qilib keltirish mumkin. Bu birikmalar auksinlar va sitokininlar tipi bo'yicha ta'sir etib, u yoki bu o'simlik kulturasida turlicha namoyon bo'luvchi qator xususiyatlarga ham ega. Ko'pchilik mikrobiologik sintez qilingan preparatlar vitaminlar kabi ta'sir etib, bir qator biokimyoviy reaksiyalarni faollashtirish natijasida hosildorlikni oshiradi yoki boshqa ijobiy xususiyatlarni namoyon qiladi. Bunday preparatlarning jiddiy kamchiliklariga ularning ko'p tarkiblilik sababli ta'sir etuvchi asosini ajratish, ularning regulyator aralashmalari komponentlarining zaharli ta'sirini aniqlash, butun preparat va ularning qoldiqlari aralashmasini nazorat qilish qiyinligidir.

O'simlikshunoslikda fitogormon va o'sishni boshqaruvchi regulyatorlar. O'simliklar o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlar 1950-1960 yillardan ko'p yillik o'simliklar qalamchalarida ildiz hosil qilish, so'ngra g'alla ekinlarining erga yotib qolishini oldini olishda qo'llanila boshlandi, hozirgi kunda esa regulyator moddalar qishloq xo'jaligi o'simliklarini ko'paytirishning barcha intensiv texnologiyalarida foydalaniladi. Fitoregulyatorlar yordamida o'simliklarning tashqi noqulay ta'sirlarga chidamliligini oshirish, ba'zan yuqori hosilli navlarning kamchiliklarini yo'qotish mumkin.

Ontogenezni boshqarish. *Tinim davri va uni boshqarish usullari.* O'simliklarni tinim davri bu organizmning tashqi noqulay sharoitga bardoshlilikining evolyusion moslashishdir. Shuningdek u qish kunlarining past haroratiga chidamlilik hosil qilib, yashash usuli sifatida ham shakllangan. Tinim davri shakllanishining boshqa sharoitlari ham ma'lum bo'lib, ularga yarim cho'llardagi qurg'oqchilikni kiritish mumkin. Bunday sharoitlarda o'sishga efemer-o'simliklar moslashgan bo'lib, ularning vegetativ davri juda qisqa, zahiralovchi organ (piyozdan) dan unib, urug' hosil qilgunga qadar o'tgan vaqt bor yo'g'i bir necha o'n kunni tashkil etadi. O'simliklarning tinim davriga o'tishini endogen omillar bilan bir qatorda tashqi omillar ham indusirlaydi.

Tinim davriga butun o'simlik va uning alohida qismlari yoki organlari o'tishi mumkin. Bunday holatga misol qilib, o'simlikning er ustki qismi va

ildizi jadal o'sishi davom etayotgan vaqtda piyozi, tugunaklari, kurtaklari va urug'larining tinim davriga o'tishini keltirish mumkin.

Kuz boshidan to bahor oylarigacha cho'ziladigan tinim davri uzoq davomli tinim davri deb ataladi. O'simlikning tinim davrida moddalar almashinishi butunlay to'xtab qolmaydi. Uzoq davomli tinim davri chuqur va majburiy tinim davrlaridan iborat:

Chuqur (fiziologik) tinim davrini kartoshka va daraxt kurtaklarida kuzatish mumkin. Daraxtlar yoz, kuz fasllari davomida ya'ni o'sish uchun juda qulay bo'lgan sharoitda tinim davridagi himoyasini ta'minlovchi tangachalar bilan qoplangan urug' va qishlovchi kurtaklar hosil qiladi. O'simliklarning chuqur tinim davridan chiqishi ko'pincha ularning past haroratli ($0-5^{\circ}\text{S}$) sharoitda etarli darajada uzoq vaqt (250-1000 soat) bo'lishi bilan bog'liqdir. Ma'lum muddat o'tgandan so'ng sharoit noqulay bo'lishiga qaramay, kurtak va tugunaklarda o'sish jarayoni boshlanganini kuzatish mumkin.

Tashqi noqulay omillar ta'sirida o'simliklar o'sishdan to'xtashi va o'sish sharoiti yaxshilanganda esa, darhol yana o'sishga o'tishini majburiy tinim davri deyish mumkin. Ko'pchilik o'tchil o'simliklar, masalan turli boshqoqli va ikki pallali begona o'tlar qishda vegetasiya uchun past bo'lgan 0°S ga yaqin harorat ta'sirida majburiy tinim davriga o'tadi. Harorat ko'tarilganda esa bunday o'simliklar yana o'sishni davom ettiradi.

O'simliklarning tinim davrini boshqarib—o'simliklar o'sishi uchun qulay sharoitlar yuzaga kelganda ularning o'sishini ta'minlash orqali ularning yaxshi rivojlanishi va hosildorligini oshirishga erishish mumkin.

Urug'lar unishi va o'sishini regulyator moddalar va yana bir qancha ta'sirlar hisobiga stimullash mumkin. Masalan, ra'noguldoshlar oilasiga mansub mevali daraxtlar urug'larining tinim davri davomiyligi urug' qobig'ining o'tkazuvchanligi bilan belgilanadi. Ularning urug' qobig'ini eritishga qodir moddalarni ajratish faoliyati yuqori mikroflorida uzoq vaqt bo'lishi natijasidagina urug'lar unishi tabiiy sharoitda stimullanadi. Bunday xollarda urug'lar unishini skarifikasiya qilish, ya'ni urug'lar qobig'ini qandaydir yo'l

bilan parchalash orqali tezlashtirish mumkin.

Urug'lar sekin unishining asosiy sababi, uning tarkibidagi ingibitor tabiatli moddalarning ishtirok etishidir. Urug'kurtak shakllana borishi bilan o'sishni ingibirolovchi moddalar unda, yoki uni o'rab turuvchi to'qimalarda to'planib boradi. Ular bu erga urug'kurtakning moddalarni o'ziga tortish xususiyati orqali yoki urug'kurtakni o'rab turgan to'qimalarda sintezlanishi orqali asta-sekin assimlyantlar bilan tushadi. Urug'lar unishining tabiiy ingibitorlariga absiz kislot, jasmin kislotasi kabi fitogormonlar, shuningdek, hozirgi kunga qadar to'liq o'rganilmagan qator fenolli birikmalar kiradi.

Urug'larning unuvchanligi pastligining boshqa sababi, urug'kurtakning o'sishi uchun zarur bo'lgan zahira moddalarni oson eruvchi monomerlarga parchalovchi gidrolazalar faolligini oshiruvchi stimulyator moddalar, ayniqsa, gibberlinning va hujayralarning bo'linish jarayonlarini faollashtiruvchi sitokininlarning tanqisligidir. Stimulyator moddalarning tanqisligining sababi, urug'kurtakning ona o'simlikdan erta ajratilishi, uning fitogormonlar sintezlash qobiliyatining yo'qligi, fitogormonlarni zahira shaklidan faol shaklga o'tkazuvchi fermentlar faolligining pastligi, gormonlarni parchalovchi ferment komplekslarning yuqori faolligi bilan bog'liqdir.

Stimulyator moddalar miqdorini oshiruvchi yoki ingibitor moddalar miqdorini kamaytiruvchi fitoregulyatorlar urug'lar unishini tezlashtiradi va aksincha.

Urug'lar unishini fitoregulyatorlar yordamida stimullash o'simliklarda keng qo'llaniladi. Ular ta'sirida urug'kurtaklarning tuproq namligidan foydalanish, begona o'tlar bilan raqobatlashish qobiliyati ham ortadi va xosildorligi oshadi. Ayniqsa sabzavotlardan bu yo'nalishda yaxshi natijalar olingan.

O'sishni to'xtatish orqali urug'larning tinim davrini uzoqroq cho'zish ham mumkin. Bu tinim davri sust bo'lgan o'simliklar uchun katta ahamiyatga ega bo'lib, xosil yig'im –terim vaqtida namlikning yuqori bo'lishi ularda enzim mikroorganizmlarining tanqisligining paydo bo'lishi (EMT) ga, yoki ularning ona o'simlik ichida o'sishi hosilning kamayishiga sabab bo'ladi. Yuqorida qayd etilgan kamchiliklarga qarshi

kurashda bu fitogormonlar miqdorini kamaytiruvchi yoki faolligini oshiruvchi, gidrolitik fermentlar faolligini oshiruvchi antigibberlin ta'siriga ega fitogormonlarni qo'llash, shuningdek, o'sishni to'xtatuvchi ingibitorlar miqdorini oshiruvchi fitoregulyatorlar, masalan, etilen mahsulotlaridan foydalanish katta ahamiyat kasb etadi. EMT ga qarshi fitoregulyatorlar bilan ishlov berish ham donni saqlashdagi yo'qotishlarning oldini olishda qo'shimcha ijobiy ta'sirga ega bo'ladi.

Urug'larning tinim holatini stimullanishi qishloq ho'jalik o'simliklarini kuzda ekilishida ham ahamiyatga ega. Kuzda ekilgan urug' erta bahorda unib chiqadi, bunda nihollar erigan qorning namligidan o'zining o'sishi va rivojlanishi uchun foydalanish imkoniyatiga ega bo'ladi, bu esa yuqori hosilni ta'minlaydi. Shu bilan bir vaqtda kunlar iliy boshlashi bilan chuqur tinim holatidan chiqqan urug'lar unib o'sa boshlaydi, lekin kunning takroriy sovishi bunday ekinlarga tuzatib bo'lmas zarar keltirishi mumkin. Bunday hollarda urug'ning chuqur tinim davrining davomiyligini boshqarish, urug'larning vaqtidan oldin unishini oldini olish, tuproq namligidan maksimal darajada foydalanishining optimal sharoitini topish imkonini beradi. Buning uchun, ekish oldidan urug'larga gidrofob plenkalarni qoplash bilan birgalikda o'sishga ingibitor ta'sir ko'rsatuvchi fitoregulyatorlarning qo'llanishini yaxshi samara beradi.

O'simliklarning vegetativ organlari va urug'larini tinim holatiga o'tishi va o'sishini boshqarish mexanizmi deyarli bir xil. Bunday boshqarishning maqsad va usullari ham bir xildir.

Bizning mamlakatimizda kartoshkadan bir yilda ikki marta hosil olish uchun tugunaklarning tinim holatidan chiqishini o'sishini stimullovchi fitoregulyatorlardan foydalanish orqali amalga oshirish mumkin. Buning uchun tugunaklar gibberlin va tiomochevina eritmalarida qisqa vaqt ivitiladi.

Askincha, chuqur tinim holati stimullanganda, tugunaklarni unishini keskin ravishda to'xtaydi va qishloq ho'jalik ekinlarini saqlash uchun qo'yilgan ildiz mevalar, piyozlarning sifati buzilmaydi va yoz oylarigacha deyarli to'liq saqlanadi. Tinim davrini cho'zish uchun tugunaklarni saqlash uchun

joylashtirishdan oldin yoki o'simlik hosili yig'ib olinishidan oldin etilen produsentlari bilan ishlov beriladi. Etilen tinim holatiga javobgar fitogormon-abssiz kislotaning biosintezini stimullaydi. Shuningdek, etilen tomonidan fitoaleksin moddalarning hosil bo'lishi indusirlanadi. Bu moddalar yordamida o'simlik patogen zamburug'larga qarshi kurashadi, shuningdek, patogen zamburug'larning hujayra qobig'ini parchalovchi xitinaza fermentining faolligini oshiradi. Tinim davriga o'tkazish va tinim davridan chiqarishni boshqarish usullari ko'p yillik daraxtlar uchun ham muhim ahamiyatga ega. Bu o'simliklarni qishning noqulay sharoitidan saqlash o'simliklarning tinim holatda bo'lishi bilan bog'liq. Hozirgi kunda mevali daraxtlarning tinim davrini stimullash usullarini yaratish ishlari olib borilmoqda.

Poyaning o'sishini tezlashtirish. O'simliklar o'sishi- hujayralarning bo'linish va cho'zilish jarayonlaridan tashkil topgan bo'lib, nafas olish, fotosintez, o'simliklardagi moddalarning transporti, suv va mineral oziqaning tushishini ta'minlovchi biologik jarayonlar yig'indisidir. Har qanday fitoregulyator qo'llanilganda o'simliklar o'sishiga qandaydir ta'sir ko'rsatadi.

O'simliklar olamida gigantizm va pakanalik faktlari kuzatilib, ulardan o'simlikshunoslik amaliyotida keng qo'llaniladi. Bunday holatning asosiy sababi fitogormonlarni boshqarish tizimiining buzilishi bo'lib, natijada o'simlik bo'yining xaddan ziyod o'sib ketishi yoki pakana bo'lishi kuzatiladi.

O'simliklarning ildiz tizimi auksinlar, poyasi gibberlinlar, generativ a'zolari brassinosteroidlar, gibberlinlar va sitokininlar tomonidan stimullanadi.

Ko'pchilik o'simlik nihollarining o'sishi subapikal zonadagi hujayralarning bo'linishi va cho'zilishini faollashtiruvchi gibberlinlar tomonidan stimullanadi, etilen, abssiz kislota va ba'zi fenolli moddalar, tomonidan to'xtatiladi (ingibirlanadi). Niholning o'sish xarakteri apikal dominantlikni stimullovchi auksinlar tomonidan va bu jarayonni to'xtatuvchi sitokininlar tomonidan belgilanadi. O'simlik hujayralariga gibberlin analoglari kiritilganda, gibberlinlar miqdorining ortishi natijasida, uning o'sishi bo'g'in oralig'i masofasining cho'zilishi hisobiga stimullanadi. Ammo, bunda poya

ingichkalashadi, uning mexanik mustahkamligi va yogochlanish darajasi pasayadi. Turli xil oilalarga mansub o'simliklarning gibberlinlarga ta'sirchanligi turlichadir. Masalan qovoqdoshlar oilasi vakillari nihollarining o'sishi faqat GK₄ va GK₇ tomonidan, g'alladoshlarda esa GK₁ va GK₃ tomonidan stimullanadi. Gibberlin analoglarining narxi qimmatligi sababli amaliyotda nihollarning vegetativ o'sishini stimullash hozircha keng tarqalmagan. Bu preparatlarni olishning arzon texnologiyalari ishlab chiqarilsa, o'simliklarni yashil massasini o'stirishda qo'llash muhim ahamiyat kasb etish mumkin.

O'simliklarga brassinosteriod va fuzikoksinlar analoglari bilan ishlov berish orqali ham ularning o'sishini tezlashtirish mumkin, lekin bu preparatlar qimmatligi uchun ulardan bu maqsadda kam foydalaniladi.

Shuningdek, nihollar o'sishini tezlashtirish uchun gumin va fulvokislota preparati eritmalaridan, shuningdek simbiotik bakteriyalar va zamburug'lardan mikrobiologik sintez qilingan bir qator preparatlardan foydalanish ham mumkin. Bu preparatlarning ta'sir mexanizmi hozirgacha to'liq o'rganilmagan.

O'simlikshunoslik amaliyotida niholning bo'yiga o'sishini to'xtatishni ham boshqarish mumkin. Fitoregulyatorlar orasida o'simliklarning vegetativ o'sishini to'xtatuvchi *retardantlar* ham muhim o'rinni egallaydi. Bu sinf fitoregulyatorlarining birinchi preparati 1950 yilda AQSH professori Tolbert tomonidan sintezlangan va bug'doyning erga yotib qolishini oldini olishda samarali qo'llanilgan sanoat ahamiyatiga ega bo'lgan. Keyingi yillarda bu fitogormonlar sinfi o'sishni boshqaruvchi faollikka ega boshqa kimyoviy birikmalar guruhlari bilan to'ldirildi.

Retardantlarning ta'sir mexanizmidagi farq, bu preparatlar komponentlarining sinergik ta'sirga ega kompozitsiyalarini yaratish imkonini berdi. Etilen produsentlari bilan ammoniyni to'rtlamchi tuzlari, triazol va gidrazin mahsulotlari aralashmasi sinergizm xususiyatiga ega komponentlarning muayyan konsentrsiyalari va nisbatlarida sinergizm namoyon bo'ladi va aralashma tarkibiga kiruvchi preparatlar, gibberlinlarning fitogormonal

faolligining amalga oshishi yoki biosintezning turli bosqichlariga ta'siriga asoslangan.

Retardantlar eritmasi purkalgan g'alla ekinlarida poyasining qisqaradi va yo'g'onlashadi, erga yotib qolish xodisalari kuzatilmaydi.

Fotosintezni boshqarish. Fitogormon tizimining barcha komponentlari fotosintezga qandaydir ta'sir ko'rsatadi. Lekin bu jarayon asosan sitokininlar va abssiz kislota tomonidan nazorat qilinadi.

Sitokininlar xlorofill sintezini, xloroplastlarning differensiyalanishini stimullaydi va og'izchalar ochilishini ta'minlaydi. Abssiz kislota esa og'izchalarni yopilishiga javobgardir.

Fitoregulyatorlarning fotosintez jarayoniga ta'siri morfologiya bilan ham bog'liq bo'lishi mumkin, masalan fotosintezning mahsuldorligi barg plastinkasi qiyalik burchagining poyaga nisbatan o'zgarishi bilan o'lchanadi.

Fotosintez jarayoniga retardantlar ham ta'sir ko'rsatadi. Bu preparatlar o'simliklarning vegetativ o'sishini qisqartirish va generativ organlar paydo bo'lish jarayonlarini stimullash maqsadida qo'llanilganda, ko'pincha, barglar maydoni, xlorofill miqdori, bargdagi qand miqdorini oshishi bilan birga borishi kuzatilgan.

Fotosintezning umumiy mahsuldorligini oshiruvchi preparatlar orasida, fotonafas olish regulyatorlari alohida o'rinni egallaydi. Fotonafas olishni pasaytiruvchi fitoregulyatorlar (mikstalol va boshqalar) ning ta'sir mexanizmi etarlicha o'rganilmagan.

Moddalar tashilishini va hosilning sifatini boshqarish. O'simliklarda moddalarning transportini gormonlar orqali boshqarilishi kam o'rganilgan. Bu jarayonni boshqarishda auksinlar, gibberlinlar va sitokininlar hamkorlikda qatnashishi ham aniqlangan.

Fotosintez mahsulotlarining bargdan zahira organlarga tashilishini stimullovchi qator sun'iy fitoregulyatorlar yaratilgan. Ular orasida 3,6-dixlor-2-metoksibenzoy kislota metil efiri (dizugran yoki rakuza) va N,N- bis (fosfonometil) glisin (glifosin yoki polaris) ning samarasi yuqoridir. Bulardan

birinchisi qand lavlagida, ikkinchisi esa shakar qamishida yaxshi samara berganligi xaqida ma'lumotlar olingan. Fitoregulyatorlar bargdan assimilyantlarning tashilishini faollashtirib, fotosintezning umumiy mahsuldorligini oshiradi, hosilning sifatini yaxshilaydi.

O'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini boshqarish. Erda xaroratning ko'tarilishi qurg'oqchilikning ortishiga sabab bo'ladi va natijada qishloq ho'jalik mahsulotlarini etishtirishning kamayishiga olib kelishi mumkin. Bunga yo'l qo'ymaslik uchun o'simliklarning suv tanqisligiga chidamli navlari seleksiyasi olib borilmoqda. Yuqori xaroratning noqulay ta'sirlarini engishga yo'naltirilgan choralar ishlab chiqilmoqda. Bunda antistress ta'sirga ega fitoregulyatorlar yaratishga katta e'tibor qaratilmoqda.

Ma'lumki, sitokinin, abssiz kislota va brassinosteriod fitogormonlar o'simliklarni stress ta'sirlarga chidamliligini oshiradi. Fitogormonlarning bu xususiyati, ularning o'simlik hujayralarida stress oqsillar sintezini stimullashi bilan bog'liq.

Stress oqsillar – tirik organizmning stress ta'sirlardan o'z-o'zini himoya qilishining maxsus mexanizmidir. Bu moddalar organizm tomonidan tashqi muhit sharoitining keskin o'zgarishiga javoban ishlab chiqariladi, shu bilan birga stressning tabiatiga qarab, maxsus ya'ni aynan shu ta'sir turiga xarakterli stress oqsillarni paydo qilishi mumkin. Stress oqsillarni o'rganish 1980 yillarni ikkinchi yarmidan boshlandi. Bu moddalarning strukturasi va hujayralardagi roli haqida ba'zi ma'lumotlar olingan. Bu oqsillar orasida issiqlik shoki oqsillari (IShO) ko'proq o'rganilgan.

IShO 1974 yilda hayvonlarda, sal keyinroq o'simliklarda aniqlangan. IShOning mikroorganizmlar, o'simliklar, xasharotlar, parrandalar va sut emizuvchilarda ham bir xil ekanligi e'tiborni tortadi. Bu oqsilning kelib chiqishi barcha organizmlar konservatiligidan va qadimiyligidan dalolat beradi. IShO organizmda stress xarorat yuzaga kelganda ya'ni xarorat normadan 8-10⁰S yuqori bo'lganda sintezlana boshlaydi. Uning sintezlanish xarorati turli o'simliklarda turlicha bo'lib, masalan, arabidopsisda – 37⁰S, bug'doyda – 40⁰S,

sholida – 45°S ni tashkil etadi. IShO ning sintezi juda tez amalga oshadi. IShO ning axborot RNKsi stress boshlangandan 5 daqiqa o'tganidan so'ng paydo bo'ladi, yana 10 daqiqadan so'ng esa IShOning o'zini aniqlash mumkin. Stress boshlangandan 1,5-2 soat o'tganidan so'ng, hujayrada IShO ning maksimal konsentrasiyasi yuzaga keladi va bu miqdor 2-4 soat davomida ushlab turiladi. Stress ta'sir davom ettirilganda organizm nobud bo'ladi. Stress ta'sir to'xtatilganidan 2 soat o'tgandan so'ng esa ISHO biosintezi to'xtaydi, IShOni o'simliklarda taxminan ikki kungacha aniqlash mumkin.

IShOni biosintezini boshqarilishi gen darajasida IShO genlarining promotori xududida maxsus regulyator elementlar (RE) yordamida, shuningdek trans – omil (tF) regulyator oqsillar yordamida amalga oshiriladi. Stress yuzaga kelganda trans omil regulyator elementlar bilan qaytar hamkorlikka kirishadi va bu bilan IShO sintezini amalga oshiradi.

IShO kelib chiqishining umumiyligi va qadimiyligining isboti oddiy organizmlar, o'simlik, hayvonlar regulyator elementlari va trans omillarning tuzilishidagi o'xshashlikdir.

Hujayrada IShO sintezi boshlanishi bilan boshqa oqsillarning sintezi sekinlashadi yoki umuman to'xtaydi. Bu uning quyidagi xususiyatlari bilan bog'liq: qoida bo'yicha IShO genlarida intronlar mavjud emasligi, processingga ketadigan vaqt va energiya sarflarini keskin qisqartiradi, polisomalar hosil bo'lishida IShO matrisasi boshqa oqsillarning axborot RNKsiga nisbatan ustunlik qiladi. Bu ularning 3'-uchidagi lider izchilliklarning tuzilishi bilan bog'liqdir.

IShO va boshqa stress oqsillarning absolyut miqdori xatto ularning eng yuqori konsentrasiyasida ham juda kam bo'lib, faqat radioaktiv nishon yordamidagina aniqlanishi mumkin. Hozirgi kunga qadar hammasi bo'lib 100 ga yaqin individual IShOlar o'rganilgan.

O'simlik hujayralarida sitokininlar va brassinosteriodlar tomonidan sintezi stimullanadigan oqsillarga, IShOdan tashqari, stress oqsillarning yana qator guruhlarini kiritish mumkin, ular orasida sintezi absiz kislotasi tomonidan

faollashtiriladigan sinikasiya oqsillari (SO) ham olimlarning e'tiborini tortmoqda. Bu oqsillar o'simlik urug'larining namligini saqlashi, osmotik va tuz stresslariga chidamliligi, kuchli suv bug'lanishida suvni keskin yo'qotilishi kabi jarayonlarda suvning saqlanishini ta'minlaydi. SO IShO oqsillariga nisbatan kam o'rganilgan. Ular haqida faqat yuqori darajadagi gidrofil oqsillarni namoyon qilishigina ma'lum. Bu ularning kolloid eritmalar hosil qilish orqali hujayrada gubka kabi suv zahirasi yaratish xususiyati bilan bog'liq.

Osmotik yoki sho'rlanish stresslariga javob tariqasida hosil bo'ladigan SOning darajasidan ko'pincha o'simliklarning qurg'oqchilik va sho'rlanishga chidamlilik ko'rsatkichi sifatida foydalaniladi.

O'simlikshunoslik amaliyotida o'simlikga tashqi omillarni asta – sekin ta'sir ettirish orqali ularni noqulay sharoitida o'sishga chiniqtirish ishlari amalga oshirilmoqda. Chiniqtirishning fiziologik mohiyati stress-oqsillar miqdorini sekinlik bilan oshirish orqali organizmning o'zgargan tashqi muhitida yashashini ta'minlashdan iboratdir. Fitogormonlarning bu xususiyati aniqlanishi bilan o'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini oshirishning qo'shimcha imkoniyati paydo bo'ldi.

Hozir butun dunyoda o'simlik kimyogarlari va fiziologlari antistress ta'sirga ega preparatlarni izlab topish ishlarini olib bormoqdalar. Aniqlanishicha, sitokinin analoglari shunday ta'sirini paydo qilishi mumkin ekan. Ammo, sitokininlarning yaqin strukturaviy analoglari (6-BAP, kinetin) tannarxining qimmatligi uchun keng foydalanilmaydi. Sitokininlarning uzoq struktural analogi kartolinlarning topilishi yuzaga kelgan vaziyatdan chiqishga sabab bo'lsa ajab emas.

Kartolinlardan avval o'simlik hujayralari kulturasida o'sishini boshqarish uchun sitokininlarning o'rnini bosuvchi sifatida foydalanilgan. Keyingi izlanishlar natijasida bu moddalarning keng ta'sir spektriga ega ekanligi aniqlandi, masalan, g'alla o'simliklari (arpa, bug'doy, suli) kartolinlar bilan ishlov berilganda ularning suv tanqisligicha, yuqori va past xaroratga, shuningdek zamburug' patogenlarga chidamliligi oshganligi aniqlandi.

Bunday ko'p funksiyalik kartolning xos bo'lgan turli stress oqsillar sintezi, genomining faolligi va o'simliklar metabolizmini stimullashi kabi xususiyatlari bilan bog'liq. Kartolin bilan ishlov berish bilan bug'doy va arpaning sovuqqa chidamliligini oshirishga, quruq massasining xo'l massasiga nisbatan, hujayradagi bog'langan suvning erkin suvga nisbatan nisbatining oshishi, shuningdek, uglevodlar va suvda eruvchi oqsillarning hujayrada to'planishi hisobiga erishiladi. Bu shundan dalolat beradiki, biosun'iy jarayonlar intensifikatsiyasi natijasida hujayralarning cho'zilish orqali o'sish vaqtincha to'xtaydi, ularning vakuolizatsiyasi, sitoplazma hajmining ortishi va to'qimalarning qattiq sovuqqa chidash imkonini beruvchi strukturaviy va fazoviy tashkillanishi amalga oshiriladi.

Kartolin bilan ishlov berilgan o'simliklarda qurg'oqchilikka chidamlilikning rivojlanishida metabolizmning faollashishi ham aniqlangan. U suv tansiqqligini boshdan kechirayotgan hujayralardagi RNK- polimeraza faolligi, oqsillar sintezining tezlashishi va ularning denaturatsiyalanish xaroratining oshishi, polisomalarning parchalanishini to'xtatilishi, xlorofillar biosintezini va uning fotokimyoviy faolligini ta'minlovchi xloroplastlar membrana tizimining turg'unligini stimullanishi natijasi hisoblanadi.

Nazorat savollari

1. Chuqur tinim davrining fiziologik o'ziga xosligi nimada?
2. Fitoregulyatorlar yordamida urug'larning o'sishi va tinim davriga o'tishini boshqarishga misollar keltiring.
3. Retardantlardan ammoniyning to'rtlamchi tuzlari va etilen mahsulotlarining poyaning o'sishiga ta'sir mexanizmidagi farqni aytib bering.
4. O'simlikshunoslikda fitogormon va o'sishni boshqaruvchi regulyatorlar.
5. Ontogenezni boshqarish
6. Poyaning o'sishini tezlashtirish
7. Fotosintezni boshqarish
8. Moddalar tashilishini va hosilning sifatini boshqarish O'simliklarning abiotik stresslarga chidamliligini boshqarish qanday amalga oshiriladi?

24-MA'RUZA

O'simliklarni himoya qilish tizimida fitoregulyatorlar

Reja:

1. Fitoregulyatorlardan qishloq ho'jalik o'simliklarining zararkunanda va kasalliklariga qarshi kurashda foydalanish
2. Zararkunandalar va kasallik chaqiruvchi organizmlar o'zi uchun qulay sharoit yaratish orqali ho'jayin o'simlikka regulyatorlik
3. O'simliklar evolyusiya jarayonida patogen va zararkunandalarga qarshi himoya tizimini
4. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlar ularning zararkunanda organizmlarga nisbatan chidamliligini oshirish sabablari

Kalit so'zlar: o'simliklarning kasalliklari, zararkunandalar, rivojlanish fazasi, fitoregulyator, fitoaleksin, yuvenil gormonlar

1940-1950 yillarda fitoregulyatorlardan qishloq ho'jalik o'simliklarining zararkunanda va kasalliklariga qarshi kurashda foydalanishi mumkinligi aniqlangan, lekin faqat, hozirga kelib, regulyator moddalar haqidagi bir tomondan patogen yoki zararkunandalar orasidagi hamkorligi va ikkinchi tomondan, ho'jayin-o'simlik bilan o'zaro aloqasi haqidagi zamonaviy tasavvurlar rivojlanishi natijasida fitoregulyatorlardan o'simliklar tizimini himoya qilishda samarali va yo'naltirilgan foydalanish imkoniyati paydo bo'ldi.

Zararkunandalar va kasallik chaqiruvchi organizmlar o'zi uchun qulay sharoit yaratish orqali ho'jayin o'simlikka regulyatorlik ta'sir ko'rsatadi.

Juda ko'p parazit organizmlar sitokinin analoglarini sintezlaydi, ular hujayralarni zararlab sitokinin bilan boyitadi, o'zining rivojlanayotgan joyiga o'simlikning boshqa qismlaridan oziqa moddalarning tushishini ta'minlaydi. Masalan, sarg'aygan bargning zamburug'lar bilan zararlangan qismi «yashil orolchalar» ko'rinishida bo'ladi, chunki sarg'aygan qismidan oziqa moddalarni o'ziga tortib oladi. Shunday «yashil orolchalar» o'simlik bargida xasharotlarning lichinkalarini paydo qiladi, bu lichinkalar barg hujayralariga so'lak bezlaridan sitokininlarni yuboradi. Parazit o'simlik zarpechak (*Cuscuta*

reflexa) ham yuqori miqdorda sitokinin tutadi, bu unga ho'jayin o'simlik hujayrasidan oziqa moddalarni olishiga yordam berishi extimoldan holi emas.

So'nggi yillarda o'tkazilgan qator izlanishlar natijasida xasharotlar o'zining rivojlanishi uchun o'simliklarning ba'zi gormonlariga extiyoj sezishi, bu gormonlar xasharotlar organizmida o'simliklarning regulyator moddalariga aylanishi ko'rsatilgan. Bu birinchi marta cho'l chigirtkasining normal jinsiy etilishi uchun oziqa bilan birgalikda gibberlin GK_3 ning normada tushishi talab etilishi orqali aniqlangan. Boshqa fitogormon brassinolid xasharotlarning tullashini tezlashtiradi, bu brassinosteriodlar va ekdizonlarning kimyoviy tuzilishi o'xshashligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Shuningdek, abssez kislotaning hasharotlarning yuvenil gormonlari va tuban zamburug'lar jinsiy rivojlanish gormoni trispora kislotasi bilan ham o'xshash tuzilishga ega ekanligi aniqlangan.

Zararkunandalar o'zlarining normal rivojlanishi uchun oziqa bilan birga o'simlik gormonlarini ham olish zarurati tadqiqotchilarning bu yoki tuzilishi jihatidan shunga yaqin boshqa shu kabi moddalardan insektisidlarning yangi avlodlarini yaratishda foydalanish haqidagi fikrlarining paydo bo'lishiga turtki bo'ldi. Bu preparatlardan foydalanilganda hasharotlar sonini kamaytirish yoki ular keltirgan zararini qisqartirishga metabolizmning qaysidir zaruriy zvenosini to'xtatish hisobiga emas, balki metamorfoz boshlanish vaqtini o'zgartirish yoki jinsiy etilishga ta'sir etish orqali erishish mumkin.

O'simliklar evolyusiya jarayonida patogen va zararkunandalarga qarshi o'zining himoya tizimini yaratgan. Bu tizimning signal va regulyator markazi etilen fitogormoni hisoblanadi. Patogen va zararkunandalar ta'sirida paydo bo'lgan jaroxatlarda etilen biosintezi keskin oshadi. Etilen sintezining avtokatoliz xususiyati bu fitogormonning miqdori faqatgina shikastlangan joyida emas, balki butun o'simlikda oshishiga olib keladi.

O'simlik hujayralaridagi etilenning yuqori miqdori fitoaleksinlar (o'simliklarda antibiotik rolini boshqaruvchi moddalar)ning hosil bo'lishini stimullaydi, xitinazaning (hasharotlar ovqat hazm qilish tizimida xitinni va patogen zamburug'lar giflari qobig'ini tashkil etuvchi xitinsimon moddalarni

parchalovchi fermentlar) faolligini oshiradi, hujayralarning bo'linish va o'sish jarayonlarini to'xtatuvchi va stress oqsillar sintezini stimullovchi fitogormon – abssiz kislotaning sintezini stimullaydi. Etilen ba'zi o'simliklarda ko'pgina hayvonlar uchun zararli bo'lgan va o'simliklar o'sishini ingibirlovchi fenolli moddalar miqdorini oshiradi.

Etilenning himoyalovchi ta'siridan qishloh ho'jalik ekinlari mahsulotlari (kartoshka, piyoz, ildizmevalar)ni saqlashdagi kasalliklardan himoya qilishda qo'llaniladi. Bunday maqsadlar uchun o'simlik mahsulotlari saqlashga qo'yishdan oldin etilen produsentlari eritmalarini purkash yoki ularda ivitish orqali ishlov berish mumkin. Brassinosteroidlar bilan kartoshka o'simligiga vegetasiyalanayotgan shonalash davrida va tugunaklarini yig'ish davrida ishlov berilganda fitoaleksinlar hosil bo'lish intensivligini oshishi hisobiga ham shunday samara berishi aniqlangan.

Yangi ma'lumotlarga qaraganda, o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlari o'simliklarning bo'yiga o'sishi va shakllanishiga regulyatorlik ta'sir etishi bilan bir qatorda ularning zararkunanda organizmlarga nisbatan chidamliligini ham oshirar ekan. Bu quyidagi sabablar bilan bog'liq bo'lishi mumkin: 1) preparat regulyatorlik ta'siri bilan birga qaysidir parazitga nisbatan zaharli ta'sirga ham ega bo'ladi. Paklobutazol retardanti (kultar) olma va nokning un shudring va parsha kasalligini keltirib chiqaruvchilariga nisbatan shunday xususiyatga ega; 2) fitoregulyatorlar ta'sirida o'simlikning qaysidir morfologik ko'rsatkichlarining va umumiy holatining yaxshilanishi, uning kasallik va zararkunandalar ta'siriga chidamliligini oshirdi. Masalan, g'alla ekinlari xolinxlorid bilan ishlov berilganda poyasining qisqarishi, yo'g'onlashishi natijasida erga yotib qolmaydi zamburug'li kasalliklar bilan zararlanishi kamayadi; 3) fitoregulyator ta'sirida ho'jayin o'simlik metabolizmidagi o'zgarishning parazit organizmlar uchun nomuqobilligi;

4) ho'jayin-o'simlik rivojlanish fazasining parazit fazasiga nisbatan o'zgarishi, oziqlanish davrining qisqarishi, shuningdek zararkunanda ta'sirining kamayishini ta'minlaydi (shu kabi ta'sirlar natijasida urug'lar unishi va nihollar

o'sishi boshlang'ich bosqichlarida stimullanishi hisobiga madaniy o'simliklarning o'sishi tezlashgani kuzatilgan).

Umuman olganda, o'simliklarning o'sish va rivojlanish regulyatorlarini o'simliklarning kasalliklari va zararkunandalardan himoya tizimida qo'llash va o'rganish borasidagi izlanishlar rivojlanishinig boshlang'ich davrida turibdi, yaqin kelajakda o'simlik mahsulotlarini etishtirish va saqlashdagi nobudgarchililarni sezilarli darajada qisqartirish imkoniga ega bo'lamiz.

O'simlikshunoslik va biotexnologiyada fitoregulyasiyani o'rganish va qo'llashning rivojlanish istiqbollari. Fitoregulyatorlar paydo bo'lganidan so'ng, ular qisqa vaqt ichida o'simliklar biotexnologiyasida, o'simlikshunoslikda, oziq-ovqat va dori-preparatlar ishlab chiqarish tarmoqlarida muhim o'rinni egallay boshladi. So'nggi yillarda jamoatchilikning qishloq xo'jaligini kimyolashtirishga qarshi e'tirozi fitoregulyatorlarni qo'llashga ham qaratilgan bo'lsa ham, bu preparatlarning tavsiya etilayotgan me'yori zaharlilik ta'sir juda kam va o'simliklarda to'planmaydi shubhasiz kelgusida istiqbolga ega bo'ladi. Mazkur moddalar o'simliklarning hosildorligini, chidamliligini oshiradi, o'simlik mahsulotlarini ishlab chiqarishni ko'paytiradi. Fitoregulyatorlarning o'simlikning hayot faoliyatini boshqarishdagi rolining ahamiyati kun sayin ortib bormoqda.

Yaqin kelajakda o'simliklarning o'sishni boshqaruvchi regulyatorlarni o'rganishning rivojlanishi quyidagi yo'nalishlar bo'yicha amalga oshirilishi ko'zda tutilmoqda (bashorat):

o'simliklarni o'sishini boshqarishda tabiiy regulyatorlarni qo'llash, ularning gormon balansi va ta'sir mexanizmini o'rganish;

zaharlilik ta'siri kam, samarali, tor doirasidagi ta'sirga ega preparatlarni sintez qilish;

- o'simliklarning o'sishini boshqaruvchi regulyatorlarni hujayralar seleksiyasida va o'simliklarni klonli mikroko'paytirishda qo'llash;

- o'simliklarni o'sishini boshqaruvchi regulyatorlarni o'g'itlar, pestisidlar va mikroby preparatlar bilan birgalikda qo'llash texnologiyasini yaratish;
- o'simlik o'sishini boshqaruvchi fitoregulyatorlarni o'simliklar himoyasida qo'llash;
- ekinlarning holatini baholash usullari va kriteriyalarini ishlab chiqish;
- fitoregulyatorlar qo'llanilishining ekologik va genetik nazorati.

Nazorat savollari

1. Fitoregulyatorlarning ta'sir samarasini qanday oshirish mumkin?
2. Qishloq ho'jalik ekinlarida fitoregulyatorlarni qo'llashning samarasi qaysi omillarga bog'liq?
3. Fitoregulyatorlardan qishloq ho'jalik o'simliklarining zararkunanda va kasalliklariga qarshi kurashda foydalanish
4. Zararkunandalar va kasallik chaqiruvchi organizmlar o'zi uchun qulay sharoit yaratish orqali ho'jayin o'simlikka regulyatorlik
5. O'simliklar evolyusiya jarayonida patogen va zararkunandalarga qarshi himoya tizimi xaqida ma'lumot bering?
6. O'simliklarning o'sishi va rivojlanishini boshqaruvchi regulyatorlar ularning zararkunanda organizmlarga nisbatan chidamliligini oshirish sabablari

Foydalailgan adabiyotlar ruyxati.

1. Левенко Б.А. Биотехнология растений: сегодня и завтра. Физиология и биохимия культурных растений, 1999, т.31, №3, с.163-171.
2. Першина Л.А. Методы культивирования in vitro в биотехнологии растений. Новосибирск, Изд. НГУ, 2000, 68 с.
3. Чуатов В.И. и др. Промышленная технология лекарств /Учебник. Том 2. Изд-во НФАУ, Харьков, 2002, 716 с.
4. Сельскохозяйственная биотехнология: Учеб/ В.С. Шевелуха и др. М.: ВШ, 2003. –496с.
5. Шевелуха В.С.и др. Сельскохозяйственная биотехнология. М., «Высшая школа»,2003.
- 6.Пахомова В.М., Бунтукова Е.К. Методические указания и задания к лабораторно-практическим занятиям по биотехнологии сельскохозяйственных растений. Часть II. Казанская государственная сельскохозяйственная академия. Кафедра ботаники и физиологии растений. Казань, 2003 г.
7. Прищеп Т.П., Чучалин В.С., Зайков К.Л., Михалева Л.К., Белова Л.С. Основы фармацевтической биотехнологии, Издательство НТЛ, 2006 г.
- 8.X.M.Kamilov, M.M.Raximov, D.Yu.Adilbekova Biotexnologiya asoslari. darslik, Toshkent. 2010-yil, -480b.
- 9.S.K.Kokate Textbook of pharmaceutical biotechnology. India/ Elsevier, 2011.
- 10.Yu.O.Sazikin Biotexnologiya M.: Geotarmedia, 2008g.
- 11.B.Glik, Dj.Pasternak «Molekulyarnaya biotexnologiya: Prinsipi i primeneniye» Per.s angl.-M.: Mir, 2002g.-589str.
12. Sasson A. Biotexnologiya: sversheniya i nadejd'i. Per. s angl./Pod red., s predisl. i dopoln. V. G. Debabova.— M.: Mir, 1987.-411 str.