

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI



TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI
BIOTEXNOLOGIYA KAFEDRASI
O'SIMLIK TO'QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI
FANIDAN O'QUV-USLUBIY MAJMUA

Bilim sohasi:

Bilim sohasi: 500000 – Sog'liqni saqlash va ijtimoiy ta'minot

Ta'lim sohasi:

Ta'lim sohasi: 510000 – Sog'liqni saqlash

Ta'lim yo'nalishi:

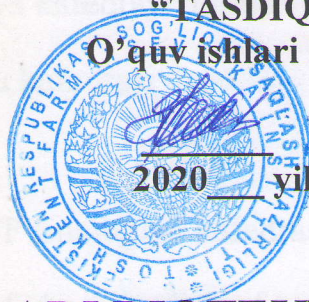
Ta'lim yo'nalishi: 5320500 - Biotexnologiya (Farmatsevtik
biotexnologiya)

Toshkent 2020 yil

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

“TASDIQLAYMAN”

O'quv ishlari bo'yicha prorektor
Z.A.Yuldashev



2020

yil “

O'SIMLIK TO'QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI
FANIDAN O'QUV-USLUBIY MAJMUA

Bilim sohasi: 500000 – Sog'liqni saqlash va ijtimoiy ta'minot
Ta'lim sohasi: 510000 – Sog'liqni saqlash
Ta'lim yo'nalishi: 5320500 - Biotexnologiya (Farmatsevtik biotexnologiya)

Toshkent 2020 yil

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanning o'quv- uslubiy majmuasi O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 20--- yil dagi ---- sonli buyrug' bilan tasdiqlangan o'quv reja va dastur asosida ishlab chiqilgan

Tuzuvchilar:

R.B.Norboboyeva- Biotexnologiya kafedrası v.v.b., dotsenti, b.f.n.

R.M. Artikova - Biotexnologiya kafedrası dosenti

X.T. Zoirova – Biotexnologiya kafedrası dosenti

Taqrizchilar:

B.A.Abdullaeva - TKTİ VTSUF Enalogiya kafedrası mudiri

kafedrası kafedrası mudiri t.f.n.

F.N.Piraxunova -Toshkent farmatsevtika instituti, Tibbiy va biologik fanlar kafedrası dotsenti, b.f.n.

Fanning O'quv- uslubiy majmuasi Biotehnologiya kafedrasining 2020 yil 26 iyundagi 21-son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

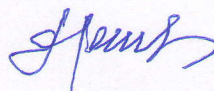
Kafedra mudiri



Yusupova N. F.

Fanning O'quv- uslubiy majmuasi Sanoat farmatsiyasi soha- uslubiy kengashining 2020 yil 01 iyuldagi 12-son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Soha uslubiy kengash raisi



Xaydarov V.R.

Fanning O'quv- uslubiy majmuasi Markaziy uslubiy kengashining 2020 yil 07 iyuldagi 12-son yig'ilishidagi muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Markaziy uslubiy kengash raisi



Yuldashev Z.A.

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



*O'SIMLIK TO'QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI
FANIDAN O'QUV-USLUBIY MAJMUA*

Bilim sohasi:	500000 – Sog'liqni saqlash va ijtimoiy ta'minot 300 000 – Ishlab chiqarish-texnik soha
Ta'lim sohasi:	510000 – Sog'liqni saqlash 320 000 – Ishlab chiqarishtexnologiyalari
Ta'lim yo'nalishi:	5320500 - Biotexnologiya (Farmatsevtik biotexnologiya)

Toshkent – 2020

O‘ simlik to‘qimalari biotexnologiyasi fanining o'quv-uslubiy majmuasi O'zbekiston Respubliasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligining 201_yil _____dagison buyrug'i bilan tasdiqlangan fan dasturi asosida ishlab chiqilgan.

Mualliflar: b. f.n. Norboboyeva R.B..
Toshkent Farmatsevtika instituti
Biotexnologiya kafedrasida dotsent v.v.b.,
Nurmuhamedova.D.Q . Kafedra assisenti
t.f.n. dotsent. Mahmudov.A.A.

Taqrizchilar:

Farmonova N –Toshkent Farmatsevtika instituti Farmakognosiya kafedrasining dotsenti,
farmatsevtika fanlari nomzodi

Xudoyberdiev M.O. - R FA akad.O.S.Sodiqov nomidagi
Bioorganik kimyo instituti,
amaliy-tajriba laboratoriyasining
etakshi ilmiy xodimi, texnika fanlari doktori

Fanning O‘quv-uslubiy majmuasi Sanoat farmatsiyasi soxa-uslubiy kengashining 2019 yil _____dagi -son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Soxa-uslubiy kengash raisi V.R.Xaydarov

Fanning O‘quv-uslubiy majmuasi institut Markaziy uslubiy kengashning 2019 yil _____dagi -son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlashga tavsiya etilgan.

Markaziy uslubiy kengash raisi Z.A.Yuldashev

Fanning O‘quv-uslubiy majmuasi institut Kengashining 2019 yil _____dagi -son yig'ilishida muhokama qilingan va tasdiqlangan.

Kengash kotibi

V.R.Xaydarov

MUNDARIJA

1 . O'QUV MATERIALLARI	
1.1. MA`RUZA MASHG'ULOTLARI.....	
1.2. AMALIY MASHG'ULOTLAR	
2 . MUSTAQIL TA'LIM MASHG'ULOTLARI	
3. GLOSSARIY	
4. ILOVALAR	
4.1. FAN DASTURI	
4.2. ISHCHI O`QUV DASTURI	
4.3. TARQATMA MATERIALLAR	
4.4. BAHOLASH MEZONI	
4.5. ADABIYOTLAR RO'YXATI	

O'QUV MATERIALLARI

1-Ma'ruza

**O'SIMLIK TO'QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI FANINIG
MOXIYATIVAZIFALARI**

Ma'ruza rejasi:

1. Kirish. Faninig rivojlanish tarixi
2. Molekulyar biotexnologiya va O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi faninig rivojlanishiga xissa qo'shgan olimlar
3. O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi faninig boshqa fanlar bilan o'zaro bog'liqligi.

Kalit so'zlar: o'simlik, yog, parchalovchi, lipaza, ferment, texnologiya, shakllilik, transgen gen, o'zgartirilgan, kultura, o'stirish, antibiotiklar, eksplant, meristematik to'qimalar.

O'simlik biotexnologiyasi va biotexnologik jarayonlar kadimdan ma'lum bulib amaliy faoliyatining xar xil soxalarida ko'p qo'llanilgan. Bunga non yopish, vino tayyorlash, sut-katak maxsulotlari tayyorlash v x.zo kiradi. Bu jarayonlarning biologik mohiyati vakatgika XIX asrda Paster ishlaridan keyin ma'lum buldi. XX asr birinchi yarimda biotexnologiyada atseton va butanol, antibiotiklar, organlik kislotalar , ozikabop oksilning mikrobiologik ishlabchikarish kullaniildi.

30chi yillarda ozikabok achitkini yogochlik gidrolizatidan olish zavodlari kurildi. SHaposhnikov bashchiligida autseton va butanolni mikrobiologik ishlab chikarish texnologiyasi kullaniildi. Biotexnologiya asoslarini yaratishda SHaposhnikovning achishning ikki fazali xarakteri tugrisidagi ta'limoti katta axamiyatga ega buldi.

XX asr 2-chi yarimda bioximiya, biorganik ximiya va molekulyar biologiyadagi muvofakiyatlar xujayra kayot faoliyatining elementar mexanizmlarini boshkarishga olib keldi. Bu esa biotexnologiyaning rivojlanishidagi kuchli turtki edi. Genetik va xujayra injeneriyasi xozirgi vaktida biologiya fa'nida printsipal yangi yunalish bulib, uni xozir atomning parchalanishi, yorning tartish kuchini yengish yoki elektronikadagi muvofakiyatlar bilan tenglashtiriladi(Ovchinnikov,1985).

1970 yildan boshlab kulturalar selektsiyasi buyicha intensiv izlanishlar olib borilib sanoat mikyosida kulturalarni uzluksiz ustirish usullari ishlab chikildi.

Oksillar strukturasini urganish usullarining rivojlanishi fermentlar aktivligi regulyatsiyasi va funktsiyalanish mexanizmlarining aniklanishi oksillarni ma'lum yunalishda modifikatsiyalash injener enzimologiyasining paydo bulishiga olib keldi. YUkori turgunliki ega bulgan immobilizatsiyalangpn fermentlar katalitik reaksiyalarni amalga oshirishda kuchli kurol bulib koldi. Bu muvaffakiyatlar biotexnologiyani yangi darajaga olib chikdi. Biotexnologik jarayon uz ichiga bir nechta davrlarni kiritadi: biologik ob'ektni tayyorlash, uni ustirish, maxsulotni

ajratish va tozalash, maxsulot modifikatsiyasi va stabilizatsiyasi. Kup poganaliligi uchun buni amalga oshirish uchun xar xil mutaxassislar jolb kilishni talab etadi: genetik va molekulyar biologlar , bioximiklar va bioorganiklar, virusolog, mikrobiolog va xujayra fiziologlar, injener-texnologlar , biotexnologik jixozlar(kurilmalar) konstruktorlari va boshka mutaxassislar.

-Tibbiyot uchun yangi biologik faol moddalar va darivor preparatlar (interferon, insulin, odam buyini ustiruvchi gormon, monoklonal antitela va.x.zo) ulardan soglikni saklashda, oldindan diagnoz kuyishi va ogir kasallarni davolashda foydalanish, shu jumladan virusli preparatlar olish.

-o'simliklarni kasalliklar va zararkulandalardan ximoya kilishining mikrobiologik vositalari, bakterial ugitalar, usimlikni ustiruvchi regulyatorlar, yangi serxosil, muxitning nokulay omillariga chidamli nav va gibridlarini gen va xujayra injeneriyasi usullari yordamida olish.

-chorva mollarining maxsuldorligini oshirish uchun kimmatli ozika kushimchalari va biologik aktiv moddalar (ozikabop oksil, aminokislotalar, fermentlar, vitaminlar, veterenariya preparatlari va.x.zo) kishlok xujalik xayvonlarininga effektiv profilaktikasi, diagnostikasi va terapiyasi uchun bioinjeneriyaning yangi usullarini kullash.

-ozik-ovkat, ximiya, mikrobiologiya va boshka saxolarda foydalanish maksadida muxim xujalik maxsulotlari olish yangi texnologiyasini yaratish.

-kishlok xujalik, sanoat va maishiy xizmat koldiklarini kayta ishlashning chukur va effektiv texnologiyasini kullash, korxonalar foydalangan suv va gaz koldiklaridan biogaz va ugitalar olishda foydalanish.

Mutaxassislarining xisobkitobiga karaganda 90-yillarining o'rtalarida biotexnologik maxsulotlar, ishlabchikarish xajmi 130-150 mlrd so'mi tashkil etgan.

Biotexnologiya ixtisosligi bo'yicha birinchi o'zbek akademigi A.G.Xolmurodov (1939-1996) fuzarium avlodiga mansub zamburuglardan NAD-kofermenti va vitaminlar kompleksi (V guruhiga kiruvchi vitaminlar, vitamin RR, 10Q va h.k.) tayyorlash texnologiyasini yaratdi. Akademik M.I.Mavloniy O'zbekistonda uchraydigan achitqi zamburuglarni taxdil qilib, ularni nonvoychilik, vinochilik va chorvachilikka qo'lkeldigan turlarini topdi va ular asosida maxsus xamirturushlar va vinochilik uchun achitqi tayyorlash texnologiyalarni yaratdi. Professor Q.D.Davranov MDX mamlakatlarida birinchilardan bo'lib, yog parchalovchi lipaza fermentini tayyorlash texnologiyasini yaratdi. Bu fermentni ko'p shakllilik sabablarini taxdil qila turib, har bir biotexnologik jarayon uchun o'ziga xos xususiyatga ega bo'lgan lipaza fermenti zarur degan fikrga keldi va buni amaliyotda isbotlab berdi. J.Tashpo'latov (1938-2005) somon va go'zapoyani parchalashda "trixoderma xarzianum" deb atalmish zamburug fermentlaridan foydalanish mumkinligini ilmiy asoslab berdi va bu texnologiyani amaliyotga qo'llash bo'yicha taklif va mulohazalarni chop etdi. J.Tashpo'latov yaratgan bu texnologiya qo'llanilganda somonda shakarmi qdori 6-7% ga yetgani, unda vitaminlar, aminokislotalar paydobo'lganligi va shu tufayli somonning oziqa-birligi bir necha barobar oshganligi isbotlab berilgan.

O'zbekistonda biotexnologiya fanining rivojlanishiga bosh bo'lganolim, b.f.d., professor M.M.Raximovdir. Bu olim mamlakatimizning birnecha oliygohlarida biotexnologiya kafedralarini ochishda bosh bo'ldi.

Xolmurodov Asqar Faniyevich (1939-1997)-Ukraina fanlar akademiyasiga qarashli Biokimyo institutida nomzodlik(1965) va doktorlik dissertatsiyasini (1976) himoya qilgan va ushbu institutda yigirma yil davomida faoliyat olib borgan. 1980 yildan boshlab professor. 1986-1997 yillar davomida Biokimyo va biotexnologiyasohasida dunyo tan olgan yirik olim hisoblanadi. Ilmiy faoliyatidavomida 300 dan ortiq ilmiy maqolalar va ixtirolar muallifi. 40 dan ortiq fan doktori va fan nomzodlariga rahbarlik qilgan. 1979 yilda "Vitaminologiya" hamda "Enzimologiya usullari" nomli ikkita kitob chop etilgan. Bundan tashqari "Transport jiirastvorimых vitaminov"(1980) va «Membrанный transport kofermentных vitaminov ikofermentov» (1982) nomli monografiyalarida birinchi marotaba almashinmaydigan biologik faol birikmalar guruhining membranadashilishi, retseptsiyasi va boglanish mexanizmlari haqidagima'lumotlarni sistematikaga solganligi uchun dunyo bo'yicha fundamental ahamiyatga ega bo'lgan qo'llanma xdsoblanadi va shu sababli bir qanchadavlatlarda xorijiy tillarga tarjima qilingan. Bundan tashqari "Tiaminfosfatlar" bo'yicha tayyorlagan uslubiy qo'llanmasi ham dunyomiqyosida ahamiyatga ega bo'lgan kapital ishlanma hisoblanadi, bu qo'llanma AKSH da chop etilgan. Birinchi marotaba qishloq xo'jalik hayvonlari va parrandalar uchun nikotin kislotasi o'rnini bosuvchi "Kornik" nomli oziqa preparatini yaratgan.

Muzaffarov Ahror Muzaffarovich (1909-1987) - botanika, ekologiya, algologiya, gidrobiologiya, gidroekologiya va suv o'tlaribiotexnologiyasi sohalari bo'yicha faoliyat olib borgan yirik olim. Markaziy Osiyo suv havzalarining ekologik va tipologik o'zigaxosligini chuqur o'rganib, ulardan suv o'tlarining serhosil shtammlarini ajratib, ularning ochiq havoda va yopiq uskunalarda o'stirish usullarini yaratgan va ular asosida yangi biotexnologik jarayonlarning yaratilishiga rahbarlik qilgan.

Biotexnologiya yoki biologik jarayonlar texnologiyasi bo'lib, biologik agentlar yoki ularning tizimini sanoat miqyosida qo'llash orqali qimmatli maxsulotlarni olishdir.

Biologik agentlar sifatida mikroorganizmlar, o'simlik va xayvon xujayralari va xujayra komponentlari bo'lishi mumkin: xujayra membranalar, ribosomalar, mitoxondriyalar, xloroplastlar, hamda biologik makromolekulalar (DNK, RNK, oqsillar, ko'pincha fermentlar bo'lishi mumkin).

Biotexnologiya ko'pincha xujayraga begona genni olib o'tish uchun virus DNK si yoki RNK sini qo'llashadi.

Zamonaviy biotexnologiya - Bu gen va xujayra muxandisligi usullari, hamda genetik o'zgartirilgan biologik ob'ektlar va ularni qo'llash orqali ishlab chiqarish jarayonlarini intensivlashtirish yoki turli maqsadlarda qo'llash uchun mo'ljallangan maxsulotlarni olish haqidagi fandır.

Molekulyar biotexnologiya. Rekombinant DNK texnologiyalari va biotexnologiya to'qnash kelgan vaqtda tadqiqotlarning yangi sohasi, dinamik va yuqoriraqobatbardosh soxa - molekulyar biotexnologiya yuzaga keldi.

Molekulyar biotexnologiya imkoniyatlarini o'sib borishi bilan ularni qo'llash sohalari xam kengayib bormoqda. Aniq ko'rinib turibdiki, kelajakda yangi xususiyatlarga ega bo'lgan tirik tizimlarni yaratishda asosiy usullardan birib bo'lib qoladi digan umiddamiz.

O'simliklar biotexnologiyasi tushunchasi va uning tarixi. Fan sifatida rivojlanishi



Savollar:

1. Fanning rivojlanish bosqichlari
2. Fanning xozirgi zamon biologiyasida tutgan urni va ahamiyati
3. Biotexnologiyaning bo'limlari va ularning vazifalari.
4. Biotexnologiyaning rivojlanish tarixi kanday davrlarga bo'linadi.
5. Biotexnologiyaning sanoat, so'flikni saqlash qishloq xo'jaligi va ekologik muammolarni yechishdagi ahamiyati.

O‘simlik to‘qimalari biotexnologiyasi fanidan o‘quv uslubiy majmua

O‘QUV MATRIALLARI

2-Ma’ruza

O‘ZBEKISTONDA O‘SIMLIKLAR BIOTEXNOLOGIYASINING RIVOJLANISH TARIXI

Ma’ruza rejasi:

- 1.O‘simliklarbiotexnologiyasi faniasoschilari
- 2.Fanning ilk yo‘nalishi
- 3.O‘simliklarbiotexnologiyasifanning hozirgi xolati

Kalit so‘zlar:ilmiy, faoliyati, gen, molekulyar, genetika, asoslangan, biotexnologiya, transgen, o‘simliklar, yaratish, dasturi, geninmar, rahbar, za nav, fiziologik, genetik, seleksion, agroteknologik.

O‘simliklar biotexnologiyasi O‘zbekiston uchun eng kenja fanlardan bo‘lib, uning tarixi uzoqqa bormaydi.O‘simliklarbiotexnologiyasi fanni taraqqiyotiga qator olimlar o‘z xissalarini qo‘shgan.

O‘simliklarbiotexnologiyasifanining asoschilaridan biri Ibragimov Axmad Pochchayevich 1928 yil 12 dekabrda tugilgan. 1950 yilda Toshkent Farmatsevtikainstitutini tamomlagan. “Fo‘za urugida fizik-kimyoviy, biokimyoviy va gamma nurlari ta’sirida ayrim muhim biologik moddalarning o‘zgarishini tadqiq etish” mavzusidagi doktorlik dissertatsiyasini himoya qilgan.

Nuklein kislotalar biokimyosi laboratoriyasiga rahbarlik qilgan. Keinchalik “Molekulyar genetika” laboratoriyasi nomi bilan atala boshlagan.

Asosiy ilmiy yo‘nalishini o‘simliklar hujayrasining taptkiliy tuzilishi, genetik axborot funktsiyasi hamda ushbu jarayonlarning ontogenetik va revolyutsion ko‘rinishi, stressomillar -ionlashtiruvchi nurlar va har xil kasalliklar ta’siriga genetik axborot sistemalarining chidamliligi masalalarini yechishga bagishlagan taniqli molekulyar genetik, biokimyogar olim, biologiya fanlari doktori, professor, O‘zR FA akademigi (2000), Uzbekistonda xizmat ko‘rsatgan fan arbobi (1989) unvonlari sovrindori. Uning muallifligida 300 dan ortiq ilmiy maqolalar va beshta monografiya chop etilgan. 40 dan ortiq fan doktorlari va fan nomzodlariga rahbarlik qilgan.

Abdulkarimov Abdusattor Abdulkarimovich - 04.04.1942 yilda

tugilgan. 1982 yilda respublikamizda ilk bor gen muhandisligi laboratoriyasini tashkillashtirgan. Ilmiy faoliyati gen muhandisligi va molekulyar genetikaga asoslangan biotexnologiya fanini rivojlantirishga bagishlangan. Gen muhandisligi bo'yicha O'zR FA sining transgen o'simliklar yaratish bo'yicha qo'shma dasturi "Geninmar" ning ilmiy rahbari.

Uning asosiy ilmiy yo'nalishi Respublikamizda ekiladigan to'za navlarini gen muhandisligi usuli bilan yanada yaxshilash muammolariga bagishlangan. SHu bilan bir paytda guzaning yangi navlarini yaratishning molekulyar, fiziologik, genetik va seleksion hamda agrotexnologik

asoslarini bir tizimga keltirish borasida samarali mehnat qilmoqta. "Umumiy biologiya" darsligi mualliflaridan biri O'zbekistonning molekulyar genetika va biotexnologiya fani yutuqlarini

jahon miqyosiga olib chiqish va rivojlantirish bo'yicha samarali mehnat qilmoqda.

Bu kabi biotexnologik ishlab chiqarish nazariyalarini yaratish, uni amaliyotga tadbiq etish ishlari yuzasidan UzR FA Mikrobiologiya instituta, M.Ulugbek nomidagi O'zbekiston Milliy Universiteta, biologiya va tuproqshunoslik fakultetining Mikrobiologiya va Biotexnologiya kafedrasi, Toshkent kimyo-texnologiya institutining Biotexnologiya kafedrasi va Toshkent davlat agrar universiteta, qishloq xo'jalik biotexnologiyasi va fitopatologiyasi kafedrasi, O'simliklar biotexnologiyasi laboratoriyasi hamda Samarkand Davlat Universiteta Biotexnologiya kafedrasi olimlari ham faol ilmiy izlanishlar olib bormoqdalar. 2004 yilda Toshkent kimyo texnologiya instituta tarkibida xam biotexnologiya kafedrasi tashkil etilib, ayni kunlarda respublikamizda birinchi bo'pib, biotexnologiya yo'nalishi bo'yicha mutaxassislar tayyorlaydigan oliy o'quv yurtiga aylandi. Mamlakatimiz ravnaki, uning iqtisodini yanada yuksaltirish maqsadida eng avvalo quyidagi biopreparatlarni ishlab chiqarishni

yo'lga qo'yish zarur:

Oziq-ovqat va chorvachilik uchun oqsil moddalari;

Aminokislotalar (lizin, metionin va boshtsalar);

Organik kislotalar (limon kislotasi va uni o'rnini bosadiganlar);

Antibiotiklar (birinchi navbatda 4-5 avlodga mansub antibiotiklar);

Vitaminlar; O'simliklarni himoya qilish vositalari ishlab chiqarish va h. k. Afsuski, yuqoridagilar hozirgacha mamlakatimizga xorij davlatlaridan valyutaga keltiriladi. Biotexnologiya insoniyat oldida turgan eng muhim muammolardan biri-oziq-ovqat muammosini yechishda, eng avvalo, to'g'ridan-to'g'ri oziq-ovqat mahsulotlari tayyorlash orqali emas, balki, o'simliklarni xilma-xil kasalliklardan, zararkunandahashoratlardan muhofaza qilish, o'simliklardan yuqori sifatli hosil olish, chorvachilikda ekologik toza va inson salomatligiga zarar yetkazmaydigan mahsulot yetishtirish kabi o'ta dolzarb masalalarni hal qilish bilan bo'liq.

Savollar:

1. Transgen o'simliklar yaratish bo'yicha qanday dastur tuzilgan?
2. Transgen o'simliklar yaratish bo'yicha tuzilgan dasturga kim rahbarlik qilgan?
3. Transgen o'simliklar yaratish bo'yicha ilmiy tadqiqotlar asosan qanday o'simliklarda olib boilgan?
4. Yangi nav o'simliklarini yaratish bo'yicha ilmiy tadqiqotlar nima maqsadda olib borilgan?
5. Bugungi kunda qanday biopreparatlarni ishlab chiqarish zarur?
6. Mamlakatimizda qanday biopreparatlarga talab katta?
7. O'simliklar biotexnologiyasi faniasoschilari kimlar?
8. Fanning ilk yo'nalishi nimaga asoslangan?
9. O'simliklar biotexnologiyasifanning hozirgi xolati qanday?

O'QUV MATRIALLARI

3-Ma'ruza

**XUJAYRA VA TO'QIMALAR BIOTEXNOLOGIYASI.
XUJAYRA TUZILISHI. XUJAYRA ORGANOIDLARI VA ULARDA
BORADIGAN JARAYONLAR**

Ma'ruza rejasi:

- 1.Xujayra haqida tushuncha;
- 2.O'simlik hujayrasiga xos xususiyatlar;
- 3.Xujayra organoidlarining tuzilishi va funktsiyasi.

Kalit so'zlar:*acetabularia*, o'simlik, hujayra, arxitektonikasi; hayvon, organoid, po'sti, protoplazma, yadro, mitoxondriya, goldji kompleksi, endoplazmatik, retikulim, tuzilish, funktsiyasi.

Xujayra haqida tushuncha

Bunda qayta tiklangan qalpoqqismi yana qaytadan olib tashlansa, u holda regeneratsiyadan keyin shakllangan qism *A. mediterranea* turiga o'xshash morfologik shaklga ega bo'lishi qayd qilinadi. Regenartsiya jarayoni qancha vaqt davom etishidan qat'iy nazar, qayta tiklangan o'simlikning tana qismi *A. mediterranea* turiga o'xshash morfologik shaklga ega bo'lishi kuzatiladi. Demak, hujayra yadrosi tarkibida mavjud tarkibiy qism organizmning belgilarini boshqarishda ishtirok etishi haqida xulosa chiqarilgan. Xujayra yadrosi tarkibida mavjud ushbu tarkibiy qism o'simlik tana qismlarining qanday morfologik shaklda rivojlanishini belgilab berishi, jumladan regeneratsiya jarayonida qanday shakl shakllanishini ta'minlashi qayd qilingan.

Ushbu yo'nalishdagi tadqiqotlar davom ettirilishi natijasida, keyinchalik hujayra yadrosi tarkibida mavjud bo'lgan genetik axborot organimning barcha morfofunktsional xossalarini belgilab berishi va avloddan – avlodga uzatilishida ishtirok etishi aniqlangan. Jumladan, RNK va DNK makromolekulalari asosida hujayralarda irsiy axborotlarning avloddan–avlodga uzatilish mexanizmlariga oydinlik kiritilgan.Xujayraning asosiy qismini tsitoplazma tashkil qiladi. Uni hujayra devori o'rab turadi. Xujayra devori tufayli u ma'lum shaklga ega bo'ladi.

Xujayra devori ikki qavatli fosfolipidlardan tashkil topib, lipid molekulalari gidrofil va gidrofob qismlardan iborat. Xujayra membranasining qalinligi 78nm ga teng, uning ichki qismini tsitoplazma to'ldirib turadi. YUqorida ta'kidlanganidek, dastlabki tadqiqotlarda foydalanilgan mikroskoplarning konstruksiyasi nisbatan oddiy tuzilishga ega bo'lganligi sababli, o'simlik hujayralarining strukturasi bir jinsli moddadan tashkil topganligi haqida xusola chiqarilgan. Biroq, mikroskop konstruksiyasi takomillashtirilgandan keyingi davrlarda amalga oshirilgan tadqiqotlar natijasida esa – o'simlik hujayralari tarkibida ko'p sondagi tuzilmalar – organellalar joylashganligi aniqlangan. Elektron mikroskopning kashf qilinishi natijasida juda kichik o'lchamga ega bo'lgan o'simlik hujayrasi organellalarining nozik tuzilishiga oydinlik kiritilgan.

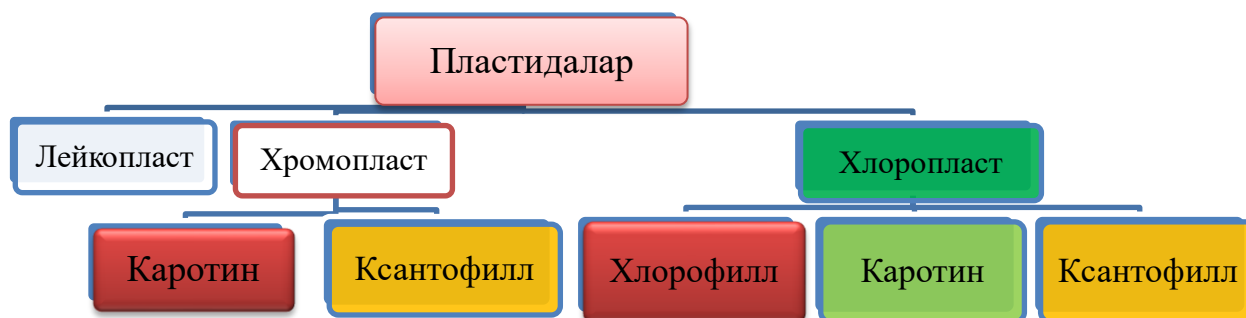
O'simlik to'qimalari tarkibida har bir hujayra xuddi bir butun ishlab chiqarish fabrika kompleksi kabi funktsiya bajaradi,ya'ni hujayrada moddalarning sintezlanishi, kerakli sohaga tashilishi, o'zaro signal tizimi orali bo'flanish amalga oshirilishi, hujayra uchun keraksiz moddalarning tashqi muhitga chiqarib tashlanishini ta'minlovchi mikro–tizimlar majmuasi funktsiya bajaradi. Ushbu murakkab tizim tarkibida hujayra organellalarining har biri o'ziga xos spetsifik funktsiya bajarilishini ta'minlaydi. Jumladan, hujayrani tashqi muhit bilan

chegaralab turuvchi *plazmatik membrana* – bevosita hujayra ichki muhitini tashqi muhit bilan chegaralab turishidan tashqari, tashqi muhit bilan o'zaro axborot va modda almashinuvini ta'minlaydi. Plazmatik membrana birinchi navbatda fizik to'siq vazifasini bajaradi, shuningdek plazmatik membranada joylashgan transport tizimlari funktsiyasi orqali tashqi muhit bilan modda almashinuvchi amalga oshadi. YA'ni, hujayraning plazmatik membranasi hujayra uchun kerakli moddalarning tanlab ta'sir ko'rsatish mexanizmi asosida tsitoplazmaga tashilishini yoki tashqi muhitga chiqarilishini ta'minlaydi. O'z navbatida, hujayra tsitoplazmasining kimyoviy tarkibi tashqi hujayralararo muhit kimyoviy tarkibidan keskin farqlanadi. O'simlik hujayrasining arxitektonikasi O'cimlik bir hujayrali hamda ko'p hujayrali bo'ladi. Ko'p hujayrali o'simlik vegetativ organining hujayrasi bilan tanishamiz:

1. Protoplast-hujayraning butun tanasini yoki tiriklik qismini tashkil qilib, uning tarkibiga quyidagi barcha organoidlar kiradi;
2. Protoplasma yoki plazma;
3. YAdro;
4. Mitoxondriya (xondrosoma);
5. Plastidalar (xromoplast, xloroplast, leykoplast);
6. Goldji kompleksi (diktiosoma);
7. Endoplazmatik retikulum;
8. Ribosoma.

TSitoplazma va organoidlar birgalikda protoplazmani tashkil qiladi. TSitoplazma rangsiz, quyuq, elastik va qovushqoq modda bo'lib, protoplastning asosini tashkil qiladi. TSitoplazmaning solishtirma o'irligi 1.025-1.055 ga teng. TSitoplazma uch qavatdan iborat: plazmolemma, mezoplazma va tonoplast. Plazmolemma hujayra devori ostida joylashgan. TSitoplazmaning asosiy qismini mezoplazma tashkil qiladi. Tonoplast hujayra shirasini mezoplazmadan ajratib turadi. Plazmolemma va tonoplast juda yupqa qavatli bo'lib, yarim o'tkazuvchanlik xususiyatiga ega. *Hujayra organoidlarining tuzilishi*. TSitoplazma organoidlari – mitoxondriya (xondriosoma), ribosoma, endoplazmatik to'r, goldji apparati (diktiosoma), plastidalar, lizosomadan iborat. *YAdro*– hujayraning markaziy qismida joylashgan organoid bo'lib, DNK shaklidagi genetik material strukturasida irsiy axborotlarning saqlanishi va matritsa asosida nusxa ko'paytirilishi, avlodlarga uzatilishini ta'minlaydi. YAdro tashqi tomondan ikki qavat membrana bilan qoplangan bo'lib, membranada hujayra tsitoplazmasi bilan bo'lanishni ta'minlovchi spetsifik tirqishlar joylashgan. Bu tirqishlar orqali faqat tanlab ta'sirlashish

Plastidalar tarkibidagi pigmentlar



O‘simlik hujayrasining umumiy tuzilishi

1. plastida va mitoxondriyalar eukariotik hujayralardagi prokariotik endosimbiontlar hisoblanadi.

Хужайра organoidlarining tuzilishi va funktsiyasi

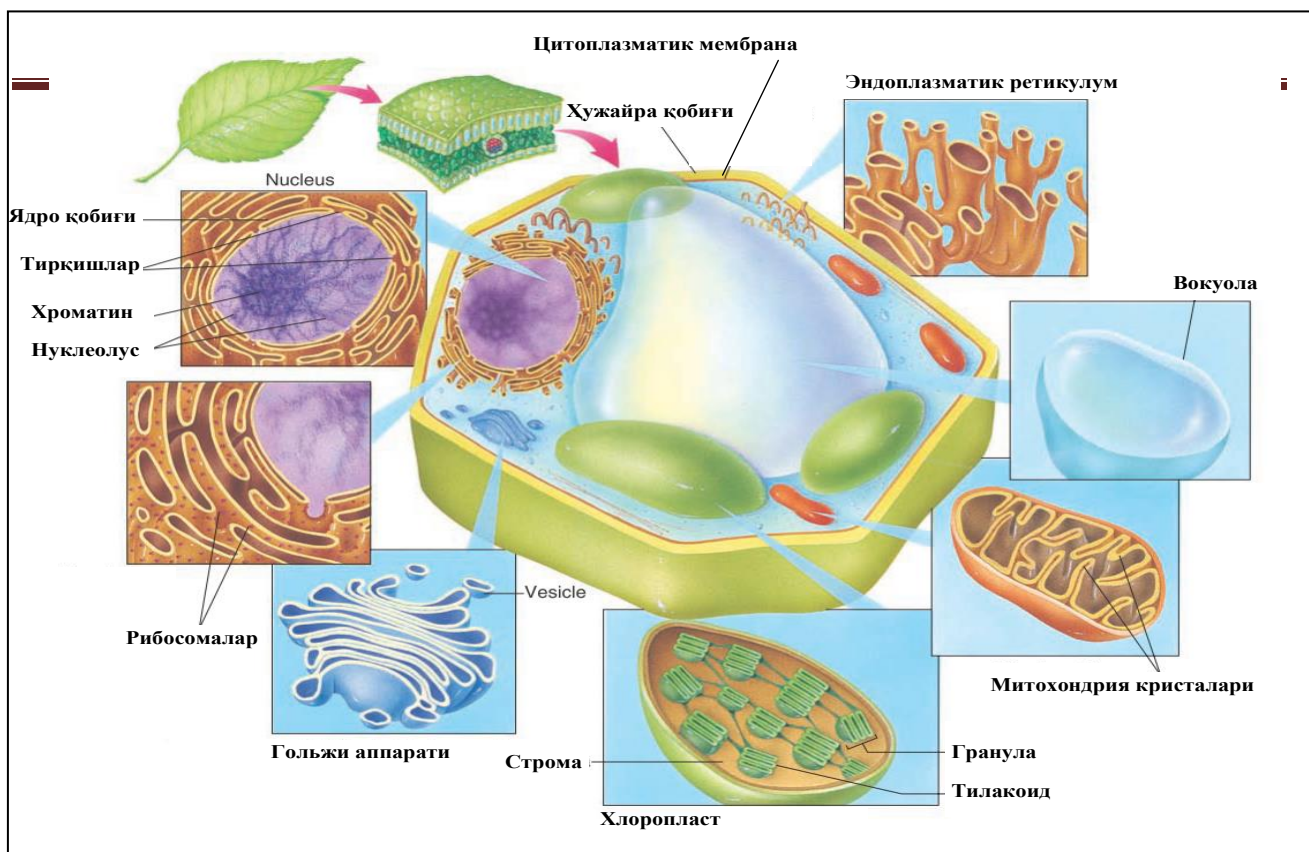
mexanizmi asosida ma’lum bir moddalargina tashilishi amalga oshadi.

Mitoxondriya-(grekcha «mitos»-ip, «xondrion»-granula) ipsimon yoki granulali bo‘lib, 1904 yilda Meves tomonidan kashf etilgan. Ular granula, tayoqcha, donacha va ipsimon shaklda bo‘lib, uzunligi 7mk gacha bo‘ladi. Uch qismdan iborat: tashqi membrana; krist burmalaridan iborat ichki membrana; turli kattalikdagi kristlar va ular orasidagi bo‘shliqni to‘ldirib turgan gomogen modda matriksdan tuzilgan.

Xujayrada ular soni 50 tadan 5000 tagacha bo‘lib, kuch stantsiyasi hisoblanadi. Uglevodlarni, aminokislotalarni va uch karbon tsiklidagi kislotalarni parchalaydi hamda nafas olish jarayonini boshqaradi.

Ribosoma-tsitoplazmada erkin holda yoki endoplazmatik to‘r, yadro tashqi membranasi tarkibida uchraydi. Ba’zan erkin ribosomalarning 5-10 tasi birlashib polisomalar hosil qiladi. Ribosomalar oqsil sintezini amalga oshiradi.

Goldji apparati - hujayra tsitoplazmasidagi yana bir muhim organella hisoblanadi. Uni birinchi marta 1898 yilda italiyalik tsitolog Goldji qayd qilgan va diktiosoma nomi bilan yuritgan. Goldji apparati tarkibida oqsillar, lipidlar, polisaxaridlar, fermentlardan fosfataza, peroksidaza va turli xil gidrolazalar uchraydi. Xujayradagi suv balansini tartibga solishda, hujayradagichiqindi va zaharli moddalarni to‘plashda hamda hujayra vakuolasini hosil qilishda ham goldji apparati ishtirok etadi. Goldji apparati shuningdek uglevodlar sintezida lizosomalar va hujayra membranalarini hosil qilishda qatnashadi.



Endoplazmatik to'ra o'zaro bo'lgan ultramikroskopik kanal, pufak va tsisternalar sistemasidan iborat ekanligi aniqlangan. Endoplazmatik to'ra membranalarida ribosomalar joylashgan bo'ladi. YUzasida ribosomalari bo'lmagan membranalar esa silliq membranalar deb ataladi. Endoplazmatik to'ra hujayra ichida moddalarning harakati va taqsimotida hamda hujayrada sodir bo'ladigan modda almashinish jarayonida muhim rol o'ynaydi. Silliq endoplazmatik to'rlar lipidlar va uglevodlarni sintez qilishda ishtirok etadi va organoidlarga tarqatib beradi. Bu to'rlar hujayraning asosiy organoidlarini birlashtirib turadi. *Plastidalar*ni-Levenguk 1676 yilda kashf etgan. Xloroplastlar tarkibida xlorofill, karotin va ksantofill, xromoplastlarda esa ksantofill va karotin pigmentlari bor. Plastidalar stroma hamda pigmentlar, protein va lipid, mineral elementlardan tashkil topgan. Plastidalar qo'sh membranali oqsil-lipidli qobiqqa ega. Plastidalar tarkibida ko'p miqdorda turli fermentlar bo'lib, ular moddalar almashinuvi jarayonida biokatalizator sifatida ishtirok etadi. Plastidalar o'simlik hujayrasida zahira moddalarning hosil bo'lishi va almashinuvida asosiy rol o'ynaydi. Uch xil plastidalar mavjud: leykoplast, xloroplast va xromoplast. Rangli plastidalar tarkibida pigmentlar bo'ladi. Xloroplastlar tarkibida xlorofill (yashil), karotin (qizil) va ksantofill (sariq), xromoplastlarda esa ksantofill va karotin pigmentlari bor.

Savollar:

1. Xujayra deganda nimani tushinasiz (*Acetabularia* o'simligi misolida)?
2. Xujayra arxitektonikasi bo'yicha ma'lumotlar bering?
3. O'simlik va hayvon hujayrasining farqli jihatlari?
4. Xujayraning qanday qismlariga protoplast deyiladi?
5. TSitoplazma qanday qismlardan tashkil topgan?
6. Plastidalarining tuzilishi, turlari va o'simlik hayotidagi ahamiyati?

‘QUV MATRIALLARI

4-Ma’ruza

O‘SIMLIK TO‘QIMALARI VA ULARNING AXAMIYATI

Ma’ruza rejasi:

1. Gistologiyani rivojlanish tarixi;
2. To‘qimalar klassifikatsiyasi;
3. To‘qima xillari va funksiyasi;

Kalit so‘zlar: gistologiya, to‘qima, funktsiya, klassifikatsiya, to‘qima, hosil qiluvchi, qoplovchi, mexanik, asosiy, o‘tkazuvchi, vazifa, o‘simlik organ.

Gistologiyani rivojlanish tarixi. To‘qima- kelib chiqishi, rivojlanishi, tuzilishi bir xil bo‘lgan, bir yoki bir qancha vazifalarni bajaradigan hujayralar yirindisidir. T. S. Gistologiya fanining rivoj topishi to‘qimalar haqidagi fan-gistologiyani rivojlanishiga ham asos bo‘ldi. To‘qimalar haqidagi dastlabki primitiv tushunchalar 1671 yilda Marchello Malpigi (1628–1694) va Neemiy Gryu (1641–1712) bir-biridan mustaqil holda yaratgan «O‘simliklar anatomiyasi» nomli asarlarida yoritilgan.

1807-yili G. Link to‘qimalarni parenximatik va prozenximatik to‘qimaga ajratgan bo‘lsa, gistolog P. Van Tigem esa to‘qimalarni tirik va o‘lik guruhga ajratgan. 1868 yilda fiziolog I. Saks o‘simlik to‘qimalarini bajaradigan vazifasi ham ularning joylanishiga qarab uch guruhga: qoplovchi, o‘tkazuvchi va asosiy to‘qimalarga ajratishi hozirgi zamonaviy to‘qimalar klassifikatsiyasiga asos solgan.

To‘qimalar haqida tushuncha

Boshqa tirik organizmlar kabi, o‘simliklar organizmining ham elementar tuzilish va funktsional birligini hujayra tashkil qiladi. Evolyutsiya davomida o‘simliklar organizmida o‘ziga xos spetsifik funktsiyalarni bajarishga ixtisoslashgan hujayralar guruhlari shakllangan.

Xayvon organizmi hujayralari kabi, o‘simliklar ham tuzilishi va funktsiyasiga ko‘ra bir xildagi hujayralar to‘qimalarni hosil qiladi. To‘qima – bu tuzilishi va funktsiyasi bir xilda o‘xshash bo‘lgan hujayralar guruhidan tashkil topadi. O‘simlik organizmida ayrim to‘qimalarning tarkibi faqat bir xil tuzilishga ega hujayralardan tashkil topadi, shuningdek ayrim to‘qimalar bir nechta tipdagi hujayralardan tashkil topadi. Odatda, nay-tola bo‘lamli o‘simliklarda 3 ta tipdagi to‘qimalar o‘zaro farqlanadi.

O‘simlik organizmida har bir to‘qimalar tizimi tarkibi bir nechta to‘qimalar turlaridan tashkil topadi. To‘qimalar klassifikatsiyasi To‘qimalar rivojlanishiga ko‘ra: embrional va doimiy to‘qimalardan iborat. Embrional to‘qimaga meristematik yoki

hosil qiluvchi to'qima kiradi. Embrional to'qimadan doimiy to'qimalar kelib chiqib, ularga quyidagilar kiradi:

1. Kۆplovchi to'qima;
2. Asosiy to'qima;
3. Mexanik to'qima;
4. O'tkazuvchi to'qima.

Bundan tashqari to'qimalar shakliga ko'ra ikki xil bo'ladi: parenximatik va prozinximatik. Oddiy to'qima-shakli va funktsiyasi bir xil bo'lgan ho'jayralar to'plamidan iborat bo'ladi (parenxima, sklerenxima).

Murakkab to'qima-shakli va funktsiyasi har xil bo'lgan ho'jayralar to'plamidan iborat (qoplovchi, o'tkazuvchi to'qimalar). To'qimalar rivojlanishiga ko'ra: embrional va doimiy to'qimalarga bo'linadi. Doimiy to'qimalarga-qoplovchi, o'tkazuvchi, mexanik va asosiy to'qimalar kiradi. To'qimalar anatomofiziologik xususiyatiga ko'ra quyidagi xillarga bo'linadi:

1. Xosil qiluvchi (*embrional, meristema*);
2. Kۆplovchi;
3. O'tkazuvchi;
4. Mexanik;
5. Asosiy;
6. Ajratuvchi;
7. Aerenxima;
8. Xlorenxima;
9. Jam'aruvchi;
10. Co'ruvchi to'qimalar

To'qima xillari va funktsiyasi

O'simliklar organizmida asosiy to'qima – fotosintez, ozuqa moddalarini saqlash kabi turli xil funktsiyalarni bajaradi.

O'simliklarda o'tkazuvchi to'qima ildizdan ozuqa moddalarini fotosintez amalga oshuvchi barglarga yetkazib berish, shuningdek barglarda fotosintez jarayoni davomida hosil bo'lgan organik moddalarni ozuqa moddalar talab qilingan qismlarga yoki zahira holida to'planuvchi qismga yetkazib berish funktsiyasini bajaradi.

SHuningdek, o'tkazuvchi to'qima o'simlik organizmida mexanik funktsiyani ham bajaradi. Kۆplovchi to'qima esa – o'simlikning barcha organlari ustki qismini chegaralab turish funktsiyasini bajaradi.

SHunday qilib, o'simlikning ildizi, poya, barg, gul va mevalari ushbu ko'rsatib o'tilgan 3 ta turdagi to'qimalardan tashkil topgan.

O'simlikda to'qimalar tizimlari o'zaro chambarchas holatda funktsiya bajaradi. Masalan, o'tkazuvchi to'qima orqali ildizdan barglarga va barglardan esa – butun o'simlik organizmiga moddalar tashilishi amalga oshadi, o'tkazuvchi to'qima funktsiyasi orqali asosiy

to'qimada fotosintez jarayoni amalga oshadi. Kۆplovchi to'qima funktsiyasi orqali o'simlikning bir butun tizim sifatida ishlashi ta'minlanadi. O'simlikda asosiy

to'qima tizimining tarkibi – uchta kenja to'qimalardan tashkil topgan: ya'ni, parenxima, kollenxima va skleronxima. Bu kenja to'qimalar hujayralari eng avvalo, hujayra devorining tuzilishiga ko'ra bir–biridan farqlanadi. Ma'lumki, o'simlik organizmida o'sayotgan hujayralarning qobiri yupqa – birlamchi hujayra qobiri bilan qoplangan, hujayra to'liq shakllanganidan keyin esa – nisbatan, qalin ikkilamchi hujayra qobiri yuzaga keladi.

Parenxima hujayralari yupqa, birlamchi hujayra devoriga ega bo'lib, o'simlik organizmining deyarli barcha joyida tarqalgan va nisbatan, umumiy tavsifga ega hujayra tiplaridan biri hisoblanadi (1-jadval). Jumladan, olma va kartoshka kabi o'simliklarning iste'mol qilinuvchi yumshoq meva qismining tarkibi sezilarli darajada aynan, parenxima hujayralaridan tashkil topgan. O'simlikda parenxima hujayralari fotosintez, ozuqa moddalari zahiralarni saqlash kabi ko'p sondagi muhim ahamiyatga ega bo'lgan funktsiyalarni bajaradi. Fotosintez amalga oshuvchi parenxima hujayralarida xloroplastlar joylashgan, fotosintez amalga oshmaydigan parenxima hujayralarda esa – xloroplastlar soni kam hisoblanadi. O'simlik organlarida, jumladan ildizmeva, piyozboshlar va mevalar tarkibida parenxima hujayralarida kraxmal, lipidlar, mineral tuzlar, taninlar, garmonlar, fermentlar, uglevodlar zahira holida to'planadi (10-rasm).

9–rasm. O'simlik organizmining bir butunligini ta'minlashda funktsiya bajaruvchi 3 xil tipdagi to'qimalar. Bu rasmda Arabidopsis o'simlik turi misolida, barglar (a), poya (b) va ildiz (c) asosida – asosiy to'qima, o'tkazuvchi to'qima va qoplovchi to'qima hujayralari ko'rsatilgan.

To'qimalar tizimlari	To'qimalar	Hujayralar tipi
Asosiy to'qimalar tizimi	Parenxima Kollenxima Skleronxima	Parenxima hujayralari Kollenxima hujayralari Skleronxima hujayralari
O'tkazuvchi to'qimalar tizimi	Ksilema Floema	Traxemidlar, o'tkazuvchi nay elementlari, parenxima hujayralari, tolalarParenxima hujayralari
Qoplovchi to'qimalar tizimi	Epiderma Periderma	Parenxima hujayralari, trixomalar Po'kak hujayralari, po'kak kambiy hujayralari, po'kak parenxima hujayralari

O'simlik to'qimalarining jarohatlanishi sharoitida, o'simlik organizmining bir butunligini saqlab qolish mexanizmi sifatida parenxima hujayralari boshqa tipdagi hujayralarga transformatsiyalanishi ham mumkin. Masalan, agar o'tkazuvchi to'qimani tashkil qiluvchi ksilema hujayralari shikastlansa, u holda ushbu sohada parenxima hujayralari bo'linishi tezlashadi va ixtisoslashish asosida bir necha sutka davomida ksilema hujayralariga transformatsiyalanish jarayoni amalga oshadi.

Kollenxima hujayralarida birlamchi hujayra qavatining qalinligi bir tekisda bo'lmaydi. Kollenxima to'qima hujayralari o'simliklardagi yumshoq to'qimalarni mexanik himoya qilish vazifasini bajaradi. Mexanik himoya funktsiyasi – bu o'simliklarda muhim ahamiyatga ega bo'lgan funktsiyalardan biri bo'lib, ayniqsa o'simliklar zich joylashgan joyda quyosh nuri uchun raqobatlashishda yengib

chiqishni ta'minlaydi. O'simlik organizmida hayvonlar organizmidagi qattiq suyak skleti kabi mexanik funktsiya kollennima hujayralari orqali ta'minlanadi. Odatda, o'simliklarda kollennima hujayralari cho'zinchoq shaklga ega bo'lib, birlamchi hujayra devori birmuncha darajada yupqalashadi. Ayrim o'simlik turlarida kollennima hujayralari poyada tolasimon sklet hosil qilishi kuzatiladi.

Sklerennima hujayralari birlamchi va ikkilamchi hujayra qobifiga ega hisoblanadi. Sklerennima – grek tilida «sclero–qattiq» so'zidan olingan bo'lib, hujayra qobifi qalinlashishi hisobiga mustahkamlanishi qayd qilinadi. Sklerennima hujayralari o'simlik tanasida ayrim sohalarda nobud bo'lgan hujayralardan tashkil topadi. Umumiy holatda o'simlikda sklerennima hujayralari 2 ta tipda bo'lishi kuzatiladi: jumladan, skleroidlar va tolalar. Skleroid hujayralar uzum, shaftoli, yonfoq kabi o'simlik turlarida uruflarning qattiqqobifini hosil qiladi.

Shuningdek, nok o'simligi uruflari ustki qismini qoplovchi skleroid hujayralarning qattqlik darajasi kamroq bo'lishi kuzatiladi. Tolasimon hujayralar esa – o'simlik gullari tarkibida, poya tarkibida tarqalgan.

O'simliklarda o'tkazuvchi to'qimalar tizimining tarkibi ksilema va floema hujayralaridan tashkil topgan.

- Qoplovchi to'qima – o'simlik organlarini tashqi tomonidan qoplab turish funksiyasini bajaradi.
- Parenxima hujayralari – o'simlikda nisbatan kam darajada ixtisoslashgan hujayralar bo'lib, yupqa hujayra qobifi bilan qoplangan va xlorofillga ega bo'lishi kuzatiladi.
- Kollennima hujayralari – bir tekisda bo'lmagan birlamchi hujayra qobifiga ega hisoblanadi.
- Sklerennima hujayralari – yuqori darajada qalin hujayra qobifi bilan qoplangan bo'lib, o'simlik organlarining qattiq mexanik skletini hosil qiladi.

Ksilema hujayralarining tuzilish. Ksilema hujayralari suv va unda erigan holatdagi moddalarni o'simlik ildizidan poya va barglarga tomon tashilishini ta'minlaydi, shuningdek o'simlikda mexanik struktura hosil bo'lishida ishtirok etadi. Gulli o'simliklar turlarida ksilema qavati 4 xil hujayralardan tashkil topgan: traxeidlar, o'tkazuvchi naylar tizimi elementlari, parenxima hujayralari va tolalar. Ksilema tarkibida traxeidlar va o'tkazuvchi naylar tizimi elementlari ildiz orqali tuproqqatlamidan so'rib olingan suv va unda erigan moddalarni tashish funksiyasini bajaradi. Shuningdek, ksilema qavati tarkibida parenxima va tolalardan tashkil topgan hujayralar ham mavjud hisoblanadi. Parenxima hujayralari himoya funksiyasini bajaradi, tolalar esa – mexanik funktsiya bajarishi qayd qilinadi.

Traxeidlar va o'tkazuvchi nay hujayralari yuqori darajada ixtisoslashgan hujayralar bo'lib, suv va unda erigan holatdagi moddalarni tashishga moslashgan.

Yetilgan shaklda bu hujayralar nobud bo'lgan hujayralardan tashkil topadi va shu sababli ichki qismi bo'shliq hosil qiladi, faqat hujayra devori saqlanib qoladi. Traxeidlar o'simliklar poyasida suv transportini ta'minlovchi asosiy hujayralar bo'lib, shuningdek paprotniklar kabi uruqsiz o'simliklar turlarida juda uzun

Ma'lumki, plazmodesma – bu o'simlik hujayralari o'rtasida modda va axborot almashinuvi amalga oshuvchi kanallar hisoblanadi. Yo'ldosh hujayralar orqali ozuqa moddalari bevosita tashilishi amalga oshmasada, biroq ushbu hujayralarning o'tkazuvchi tomir hujayralar orqali moddalarning o'simlik oranlariga tomon tashilishida muhim ahamiyatga ega hisoblanishi tahmin qilinadi.

Po'stloq. Ko'p yillik daraxt o'simliklarning poyalarida po'kak o'rnini asta-sekin quruq po'stloq egallaydi. SHu sababli uni ba'zan uchlamchi qoplovchi to'qima ham deyiladi. Daraxtsimon o'simliklar poyasi kambiy qavatining uzluksiz rivojlanishi natijasida doimo eniga o'sib yo'ronlashib turadi, poyaning ana shunday eniga o'sish davrida 2-3 yildan so'ng periderma yoriladi.

Poya po'stloqining ichki qatlamlaridan yangi fellogen hosil bo'ladi va undan yangi po'kak qavati rivojlanadi. Bir necha yildan keyin esa poyaning tashqi tomonida joylashgan po'stloqning hamma to'qimalari, shu jumladan erta hosil bo'lgan fellogen va felloidermalar ham o'ladi. Ana shu markaziy tsilindrdan ajralgan va uning tashqi tomonida joylashgan po'stloqning o'lik to'qimalar yirindisiga po'stloqdeyiladi.

Meristema qavati hujayralarining o'sishi. Meristematik to'qimaga peritsikl, prokambiy, kambiy va peridermaning fellogen qavati kiradi. Meristematik to'qima joylashish o'rniga ko'ra to'rt xil bo'ladi:

1. Apikal(uchki).
2. Lateral (yon).
3. Interkalyar (bo'lim oralifi).
4. Travmatik (yara, jarohat).

Traxeidlarning o'rtacha uzunligi 1mm, ba'zida undan ham katta bo'lishi mumkin. Ularning uzunligi qaraʼayda (*Pinus sylvestris*) 4-7mm gacha, sagovniklarda (*Syasa*) 9,5mm, araukoriyda (*Araucaria*) 10mm va lotos (*Nelubium*) o'simligida 12sm gacha yetadi. Traxeidlarning diametri 0,08 dan 0,5mm gacha boradi (lotosda). Traxeidlar tuzilishi jihatidan traxeyaga o'xshash bo'lib, ular ham funktsional holatda o'lik hujayralardir.

Ularning hujayra po'sti ham traxeyalar singari bir tekisda yo'ochlanmaydi va qalinlashmaydi. Natijada traxeidlarda ham halqasimon, spiralsimon, to'rsimon va shu kabi hujayralarni ko'ramiz.

Traxeidlar asosan ochiq urufli o'simliklarda uchrab, ular orqali ham suv va boshqa mineral tuzlar ildizdan barggacha ko'tariladi. Elaksimon plastinka poralari orqali hujayra shirasi o'tadi. Elaksimon naylar yonida maxsus tirik yadroli hujayralar joylashgan bo'lib, ular yo'ldosh hujayralar deyiladi.

Savollar:

- 1.Xosil qiluvchi to'qima va uning joylashish o'rniga ko'ra turlarini ayting?
- 2.Qaysi to'qimalar doimiy hisoblanadi?
- 3.Asosiy to'qima va uning funktsiyasi?
- 4.Mexanik to'qima va uning turlarini ayting?
- 5.Qoplovchi to'qima va uning ahamiyati?
- 6.O'tkazuvchi to'qimaning o'simlik uchun ahamiyati?

O'QUV MATRIALLARI

5-Ma'ruza

**O'SIMLIKlardan AJRATIB OLINGAN TO'QIMALARNI O'STIRISH
USULINI RIVOJLANISH BOSQICHLARI**

Ma'ruzarejasi:

- 1.Xujayra va to'qimalar biotexnologiyasi
- 2.O'simliklardan ajratib olingan to'qimalarni o'stirish usulini rivojlanish bosqichlari
- 3.In vitro texnikasini jadallik bilan rivojlanishi

Kalit so'zlar: hujayra, biotexnologiya, to'qima, protoplast, manipulyatsiya o'simlik, organizm, tashqari, yashashi, ko'payish, sharoit, tufdirib, ajratib, sun'iy, oziqa, muhitida, steril, sharoit, in vitro, o'stirish, usul, ajratilgan, kultura, nom, ishlatish.

Xujayra biotexnologiyasi-hujayra, to'qima va protoplastlarni ishlatishga asoslanadi.Xujayralarni manipulyatsiya (faoliyatiga qandaydir o'zgarishlar kiritish) qilish uchun, ularni o'simlikdan ajratib olish, o'simlik organizmidan tashqarida yashashi va ko'payishi uchun sharoit tufdirib berish lozim. Ajratib olingan hujayra va to'qimalarni sun'iy oziqa muhitida, steril sharoitda (in vitro) o'stirish usuli ajratilgan to'qimalar kultura deb nom oldi va ularni biotexnologiyada ishlatish mumkinligi sababli katta ahamiyat kasb etdi.Biotexnologiya uzoq - uzoqlardan ma'lum bo'lsada, alohida amaliy fan sifatida o'tgan asrni ikkinchi yarmidan boshlab, insoniyat eng avvalo o'zi uchun o'ta zarur bo'lgan ya'ni oziq-ovqat, energetika, zahira (resurs), atrof -muhit muhofazasi va h.k. muammolarni tubdan yangi asosda yechishi zarurligini sezganidan keyin mujassamlana boshlandi.

Biotexnologik jarayonlar sun'iy oziqa muhitida o'stirilgan mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon to'qimalari, hujayralari va organellalaridan foydalanishga asoslanadi. Xozirgi vaqtda dunyoni ko'plab mamlakatlarida biotexnologiyani rivojlanishiga alohida e'tibor berilmoqta. Bunga asosiy sabab, biotexnologiyani boshqa texnologiyalarga nisbatan bir qator ustunlikka egalidir. Masalan, biotexnologik jarayonlar juda kam energiya talab qiladilar, deyarli chiqindisiz, ekologik toza va h.k. SHuning bilan bir qatorda, biotexnologiya standart jihozlardan va preparatlardan foydalanadi va iqlim sharoitiga qaramasdan hamda ko'p maydon egallamagan holda jarayonlarni yil bo'yi o'tkazishga asoslanadi. Aytib o'tilgan ustunliklar, o'simliklarni va hayvonlarni hujayralari, to'qimalari va organlariga ham tegishlidir.Ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni biotexnologiyadagi rolini uch yo'nalishda ko'rish mumkin:

Birinchi yo'nalish - ajratib olingan o'simlik hujayrasini tibbiyot, veterinariya, kosmetika va boshtsa sohalar uchun zarur bo'lgan ikkilamchi metabolitlar: alkaloidlar, steroidlar, glyukozidlar, gormonlar, efir moylari va boshtsa biologik faol moddalar sintez tsilish imkoniyati bilan boglits Ma'lumki,

ikkilamchi metabolitlar tsattits (agarli) yoki suyuts ozitsa muhitida o'stirilgan kallus to'tsimalardan olinadi.

Xujayra texnologiyasi asosida diosgenin - dioskore xujayrasidan; aymolin - ilon ratsvol'fi hujayrasidan; umumiy kuch beruvchi moddalar - jen'shen hujayrasidan ajratib olinadi va tibbiyot hamda parfyumeriyada ishlatiladi. SHuni e'tiborga olish kerakki, o'stiriladigan hujayralarni hosildorligi, butun o'simliknihosildorligidan ancha baland. Bunday usul bilan ikkilamchi metabolitlar ajratib olishni yana bir ustunlik tomoni shundaki, muayyan sharoitda o'simlikni o'zini o'stirish imkoniyati bo'lmagan sharoitda (sovuts yoki issiq itslimli mintatsalarda), ularni hujayralarini butun yil maboyinida o'stirish mumkin.

Ikkinchi yo'nalish - ajratib olingan hujayralarni, o'simliklar selektsiyasida ishlatish va shu ortsali tez rivojlanuvchi, har xil tashtsi muhit ta'siriga chidamli (issiqtsa, sovuttsa, sho'rlanishga, ogir metallarga, tsurgotschilikka, kasallikka va h.k.) o'simliklar yaratish. SHuning bilan birga bu yo'nalish, ajratilgan protoplastlarni tso'shilishi ortsali yangi o'simliklar yaratish hamda nojinsiy (somotik) gibridlar olishni ham o'z ichiga oladi. Ajratib olingan protoplastlarga gen muhandisligi usullari yordamida begona genlarni kiritilishi, keyinchalik yangi, meros tsoladigan xossalarga ega bo'lgan o'simlik yaratishga xam olib keladi. Ajratib olingan changdon va urug kurtakni sun'iy ozitsa muhitida o'stirish, gaploidlar olish imkonini bersa, murtaklarni o'stirish - o'saolmaydigan (endospermasi yomon rivojlangan) o'simliklardan gibrid uruglar yetishtirish imkonini beradi. Uchinchi yo'nalish - ajratib olingan to'tsimalarni ko'paytirish va ekuv materiallarini viruslar hamda boshtsa patogenlardan soglomlashtirish matssadida ishlatish. Bu usul, o'simliklarni klonal mikroko'paytirish deyiladi va bitta meristemadan yiliga yuz minglab o'simlik olish imkonini beradi.

Xujayra va to'qimalar kulturalarini inshatishdagi natijalar birinchi navbatda hujayralarni bo'linishi, ularni tabaqalanishi va ulardan o'simlik o'sib chiqishini belgilovchi, fiziologik jarayonlarni optimizatsiyasiga bo'fliq. Eng murakkab tomon - bu alohida hujayradan o'simlik regeneratsiya qilish. Birinchi navbatda bu boshhoqli o'simliklarga tegishli. SHuning uchun ham in vitro sharoitda morfogenezi, regeneratsiya va ularni asosida yotgan jarayonlarni mexanizmlarini aniqlash eng muhim ahamiyatga egadir. O'simliklardan ajratib olingan to'qimalarni o'stirishga harakat ancha uzoqlardan ma'lum. Bu usulning rivojlanish tarixini bir necha bosqichlarga bo'lib o'rganish mumkin: > I-bosqich (1892-1902 yillar) -Xaberlandt, Fexting, Rextiger kabi nemis olimlarini nomlari bilan boglits. Ular saxaroza eritmasida har xil o'simliklar to'tsimalarini o'stirishga urinib ko'rishgan, ammo o'simliklarni o'sishi kuzatilmagan. Fatsatgina tsotsi o'tini va tol daraxtini poyalarini sigmentlari uchun birlamchi kallus olingan va kallussogenezga aylanishi mumkin bo'lgan segmentni eng kichik o'lchami anitslangan.

Eksperimental muvaffatsiyatlarga yetaolmasdan bu olimlar tsator goya va gipotezalar yaratganlar. Bu goya va gipotezalar ancha kechrots o'z tasdigini

topgan. Masalan, Xaberlandt har qanday tirik o'simlik hujayrasini totipotentligi ya'ni hujayralarni ma'lum sharoitda o'stirilganda o'zini rivojlanish potentsialini namoyon qishishi va butun o'simlik hosil bo'lishiga boitashi haqida gipoteza e'lon tsilgan edi. U 11-bosqich (1902-1922 yillar) hayvon to'tsimalarini o'stirish uchun birinchi ozika muhiti yaratilganligi bilan nishonlanadi. Bu ozitsa muhitlari tabiiy bo'lib, tarkibida tson plazmasi (tsonni suyuts tsismi) va kurtak suyutsligi satslagan. Ajratib olingan o'simlik to'tsimalarini o'simlik ekstraktlari satslagan sun'iy ozitsa muhitida o'stirib ko'rish muvoffatsiyatsiz chitstsan, chunki eksperimentlarda yuksak o'simliklarni o'sish faolligini namoyon tsilishga to'gri kelmaydigan hujayra va to'tsimalaridan foydalanilgan. U III-bostsich (1922 — 1932 yillar).

Bu davrda bir-birlari bilan boglits bo'lmagan holda Amerikalik olim V. Robins yea nemis olimi Kotte tsattits ozitsa muhitida pomidor yea makkajo'xori ildizi uchidagi meristemaalarni o'stirish mumkin ekanligini namoyish tsilganlar. Ammo, ma'lum vatst o'tgach, o'simlik to'tsimalari tso'ngir rangga kirib, xalok bo'lganlar. Usimliklarni to'tsimalarini o'stirish usulining rivojlanishi - 1932 yildan boshlangan.

U IV-bostsich (1932—1940 yillar), frantsuz olimi R. Gotre nomi bilan boglits. U, in vitro sharoitida o'simlik to'tsima parini vatsti- vatsti bilan toza ozitsa muhitiga ko'chirib turish ortsali uzots vatst o'stirish mumkinligini namoyish tsilgan. Bu yangshik, to'kimalar texnologiyasini rivojlanishiga katta hissa tso'shdi va o'stirishga ko'yiladigan o'simliklar soni juda ham ko'paydi. U V-bostsich (1940-1960 yillar). 1955 yilda yangi sinfga mansub fitogormon -tsitokininlarni ixtiro tsilinishi, (xususan kinetinni) hujayralarni bo'linishini kuchaytirish imkonini yaratdi. Usishni kuchaytiruvchi moddalarni mitsdori va ularni nisbatiga tsarab, eksplant hujayrasining bo'linishini kuchaytirish, kallus to'tsimalarni o'sishini muhofaza tsilish, morfogenezni kuchaytirish mumkin ekanligi namoyish etildi.

SHu davrda kakos yongogini, kashtan, makkajo'xori va boshtsa o'simliklar endospermalarini hujayrani o'sishi, morfogenez jarayonlari (kallus to'tsima va hujayra suspenziyasida) ga ijobiy ta'sir ko'rsatishi aniklangan. U VI-bostsich (1960-1975 yillar).

Savollar:

1. Xujayra biotexnologiyasi nima?
2. Ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni biotexnologiyadagi rolini tushuntirib bering?
3. Ajratib olingan hujayra va to'qimalarni o'stirish texnikasini izoxdab bering?
4. Xujayra biotexnologiyasini I-bosqich jarayonlarini tushuntirib bering
5. Xujayra biotexnologiyasini II -bosqich jarayonlarini tushuntirib bering
6. Xujayra biotexnologiyasini III -bosqich jarayonlarini tushuntirib bering
7. Xujayra biotexnologiyasini IV- bosqich jarayonlarini tushuntirib bering
8. Xujayra biotexnologiyasini VII-bosqich jarayonlarini tushuntirib bering

O‘QUV MATRIALLARI

6-Ma’ruza

**O‘SIMLIK XUJAYRA VA TO‘QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI
SOXASIDA QO‘LLANILADIGAN USULLAR**

Ma’ruza rejasi:

- 1.Zamonaviy biotexnologiyaning dastlabki asosiy bosqichlari
- 2.Mikroorganizmlar asosida biotexnologik jarayonlar yaratish usullari
- 3.Produtsentlarni yaratish usullari

Kalit so‘zlar: biotexnologik kultura, fitogarmonlar, uglevodlar, gel, antibiotiklar, eksplant, regulyatorlari. oziqlanishi fitogarmonlar, produtsent, yaratish, usullar, mikroorganizm, tabiiy, shtamm, hosildor,selektsiya, mutagen.

1973 yil Birinchi gen klonlangan1974 yil Birinchi bakteriya genlarini klonlash ekspressiyasi amalgaoshirilgan.

1975 yil Birinchi gibridoma yaratilgan1976 yil Rekombinant DNK texnologiyasidan ishlab chiqarishdafoydalanish boshlangan.

1980 yil Gen muhandisli usullari yordamida olingan mikroorganizmshtammlarini patentlash haqidagi qaror qabul qilingan.

1981 yil Monoklonal antitella to‘plamlaridan foydalanish mumkinligito‘frisidagi qaror qabul kilingan.

Birinchi marta genlarniavtomatik sintezatori sotuvga chiqarildi1982 yil Tibbiyotda rekombinant DNK - insulini va hayvonlar uchunbirinchi rekombinant DNK dan foydalanishga ruxsat berildi. 1983 yil Birinchi marotoba gen ekspressiyasidan bir o‘simlikdan bopmaturida foydalanish mumkinligi isbotlandi. Ilmiy ishlar davom ettirilmoqda.

Xozirgi vaqtda kun tartibidaOITS (SPID) va parranda grippining qo‘zfatuvchisi H5N1 viru siga qarshi vaksina yaratish masalasi ko‘ndalang turibdi va bu sohalardaanchagina yutuqlarga ham erishildi.Gen muhandisligi biotexnologiyasining yutuqlari sanoat ko‘lamida vaqishloq xo‘jaligida keng qo‘llanilmoqda.

Xususan, antibiotiklar,aminokislotalar, vitaminlar va gormonlar ishlab chiqarilmoqda,nasldor qoramol klonlari yaratilmoqda, tuproq va suvda zaharlipestitsid qoldiqlarini parchalaydigan mikroorganizmlarni transgenshtammlari olingan, atmosfera azotini o‘zlashtiruvchi mikroorganizmlargenlari asosida tuproqni azotli o‘fitlar bilan boyitish muammosiyechilmoqda, zararli hashoratlarga va patogen mikroorganizmlargachidamli, ekologiyani asrovchi transgen o‘simlik navlariyetishtirilmoqda, irsiy kasalliklarni tezkor tashxis qilish uchun,tashxis materiallari tayyorlanmoqtsa, shuningdek, gen terapiya usullaritamillashtirilmoqda.Bugungi kunda tezkorlik bilan oshib borayotgan inson ehtiyojlariniqondirish uchun, genetik muhandislikka asoslangan

biotexnologiyaklassik texnologiyalardan o‘ta samarali ekanligini to‘la namoyon qilmoqda. Ammo bu texnologiya asosida olinadigan mahsulotni iste’molmasalasi tortishuvlarga sabab bo‘lib turganini e’tiborga olish shart. Nima bo‘lganda ham oziq-ovqatda, geni o‘zgartirilgan mahsulotdanfoydalanishdan voz kechilsa, maqsadga muvofiq bo‘lur edi.

Mikroorganizmlar asosida biotexnologikjarayonlar yaratish usullariBiotexnologiya sanoatida produtsent sifatida prokariotlar-(birhujayrali, yadrosi mukammal bo‘lmagan organizmlar)-bakteriyalar,aktinomitsetlar, rikketsiylar va tuban eukariotlar (bir va kuphujayrali, yadrosi mukammal, xromosomalari maxsus lipoproteidtabiatli membranalar bilan o‘ralgan)-achitqi va mitselial zamburuglar,eng sodda jonivorlar va suv o‘tlari hamda ularning har xil usullar(selektsiya, mutagenez, hujayra va gen muhandisligi) orqali olinganmutantlaridan foydalaniladi.

Bugungi kunda biotexnologik jarayonlarda tabiatda tarqalgan 100mingdan ortiq turkumga mansub bo‘lgan mikroorganizmlardan faqatgina bir necha yuztasi ishlatiladi, xolos.

Biotexnologiya jarayonlarida ishlatish uchun tavsiya etiladiganprodutsentlarga katta talablar qo‘yiladi, ularning umumiy lari quyidagilardan iborat:

O‘sinh tezligining balandligi,

U arzon ozitsa muhitida o‘sinh,

U boshtsa mikrofloraga va fagga chidamliligi,

U yutsori hosildorligi.

Selektsiya va tanlov ishlari ba’zida yillab vaqtegallaydi va natijada mikroba hosildorligini 100 va undan ham ko‘proq marotaba oshirish mumkin bo‘ladi. Masalan, hozirgi davrda sanoatusulida ishlatib kelinayotgan penitsillin antibiotigi sintez qiladiganprodutsentning faolligi dastlabki shtammlarga qaraganda 10 mingmarotabadan oshib ketgan.

Savollar:

- 1.Kachon birinchi gen klonlangan?
- 2.Kachon birinchi gibridoma yaratilgan?
- 3.Produtsentlarni yaratish usullari nimalardan iborat?
- 4.Mikroorganizmlarning tabiiy shtammlarini hosildorligi qanday bo‘ladi?
- 5.Selektsiya va tanlov ishlari qancha vaqtegallaydi?
- 6.Sanoatusulida ishlatib kelinayotgan penitsillin antibiotigi sintez qiladiganprodutsentning faolligidastlabki shtammlarga qaraganda qancha marotaba oshgan?

O'QUV MATRIALLARI

7-Ma'ruza

**O'SIMLIK TO'QIMALARI KULTURASIDA OZUQA
MUHITLARINING AHAMIYATI.**

Ma'ruza rejasi:

- 1.Xom ashyo va oziqa muhitlari
- 2.Ozuqa muhit komponentlari va ularning tayyorlanishi
3. Anorganik tuzlar

Kalit so'zlar: ozuqa, muhi, komponent, transgen o'simlik, geni o'zgartirilgan o'simliklar, biotexnologik kultura, *in vitro*, O'simliklarni o'stirish regulyatorlari. yara-shifo, kallus, oziqlanishi fitogarmonlar, uglevodlar, gel, antibiotiklar, eksplant, meristematik to'qimalar.

Xar qanday ishlab chiqarish jarayoni xom ashyo tanlash bilan boshlanadi. Butun dunyo bo'yicha biotexnologik mahsulotlar ishlab chiqarish hajmi taxminan har yili bir million tonna miqdorida oshib bormoqda. Sanoatida qo'llaniladigan xom ashyoning asosiy qismi (90% ga yaqini) etanol ishlab chiqarishga sarflanadi, shuningdek, non mahsulotlari achitqilari ishlab chiqarishga 5%, antibiotiklarga 1,7%, organik kislotalar va aminokislotalarga 1,65%, qolganlari esaboshqa mahsulotlar ishlab chiqarishga sarf etiladi.

Fermentlar biotexnologiyasi yirik miqdorda kraxmal talab qiladi, masalan birgina fruktoza qiyomidan har yili 3,5 mln. tonna tayyorlanadi va iste'molchiga yetkazib beriladi. Iqtisodiy nuqtai nazardan biotexnologik jarayonlarda ishlatiladigan xom ashyo ko'p tonnalik bo'lib, mahsulotning umumiy bahosining 40-65% ini tashkil etadi va sarf-xarajatda birinchi o'rinni egallaydi.

Oziqa substrata yoki oziqa muqitiyuqorida ta'kidlanganidek suyuq, qattiq va gazsimon komponentlardan tashkil topgan uch shakldagi murakkab tizimdir. Sanoatda ishlab chiqariladigan ko'pgina fermentlar hujayraning sirtida joylashgan yoki uning oziqa muhitida to'plangan bo'ladi. Bundantashqari, biosintez mahsulotlarining ko'pchiligi hujayra parchalanganda oziqa muhitida to'planadi. Ba'zi bir oraliq metabolitlar zahira oziqavazifasini o'taydi, qachonki asosiy oziqa manbai tugaganda hujayra undan foydalanadi.

O'stiriladigan biomanba va oziqa muhiti fizik-kimyoviy xususiyatlari orasida uzviy bo'qlik mavjudki, bunda bir tarafdin fizik-kimyoviy faktorlar (pH, N, O₂, osmotik bosim va h.k.) produtsentlarning biokimyoviy faolligi va hujayra o'sishini nazorat qiladi. Ikkinchi tomondan esa hujayralar yashashi natijasida oziqa muhiti fizik-kimyoviy xususiyatlari va kimyoviy tarkibi o'zgarib turadi.

Bu holatlar esa o'stiriladigan substratda hujayra ichki muhitidake hayotgan jarayonlar davomiyligi qay holatda ketayotganligi kuzatib borishni taqozo etadi.

Mikroorganizmlar barcha organik birikmalarni assimilyatsiya qilish qobiliyatiga ega, shuning uchun mikrobiologik biotexnologiyada

dunyodagibarcha organik mahsulotlar, birlamchi va ikkilamchi fotosintezmahsulotlar zahirasi xom ashyo vazifasini o'tashi mumkin. Biroqbiotexnologiyada har bir aniq mikroorganizm turlari, oziqamahsulotlari va organik xom ashyolarni (laktozalar, saxarozalar vakraxmaldan tashqari) dastlabki kimyoviy ishlovlarsiz o'zlashtiraolmaydilar.

Ko'pgina holatlarda tsellyuloza saqllovchi xom ashyolar kimyoviy yoki fermentativ gidroliz qilinadi va ingibirlaydiganaralashmalaridan (fenol, furfurool, oksimetilfurfurool va h.k.)tozalangandan keyingina biotexnologik ishlab chiqarishda qo'llanilishim mumkin.

Ozuqa muhit komponentlari va ularning tayyorlanishi

To'qimalar kulturasida oziqa muhitini tanlash yoki rivojlantirish muvaffaqiyatga erishish uchun muhimdir. Bitta oziqa muhiti barcha ho'jayralarning o'sishiga yordam bermaydi va bir eksplantni har xil o'sish jarayonlarida ozuqani tez-tez almashtirish kerak bo'ladi. Bir manba qidiruvi tegishli ozuqa muhitni tanlash uchun foydalidir.

Garsiya va boshqalar (2011) samarali o'simlik o'stirish regulyatorlari uchun, asosiy ozuqa uchun tuzli tarkiblar, natijalar uchun statistik analizlariga foydali qo'llanmasini taqdim etdi. Xuddi shu tarzda, Niyedz va Evanlarning (2007) MS anorganik tuzlarini eksplant o'sishiga ta'sirlarini o'rganish uchun o'quv qo'llanmasidan foydalanish mumkin.

Agar qo'llanma o'simlikga xos bo'lmasa, mos ozuqani rivojlantirish sinov va xatoliklarga asoslangan bo'ladi.

Ushbu yondashuvda ozuqaning rivojlanishi xujayralar kulturasining tuzilishiga bog'liq bo'ladi. Bu qo'llanmamiz muayyan maqsadda ya'ni boshlan'ich kallus, somatik embrogenez, chang kulturasini yoki kurtak ko'paytirish uchun ozuqa muhitini rivojlantirishdagi boshlan'ich foydali ma'lumot bo'lib xizmat qiladi.

Umuman olganda ozuqa muhiti tarkiblariga anorganik tuzlar va organik birikmalar xuddi o'simliklarni o'stiruvchi regulyatori kabi, vitaminlar, uglevodlar, geksitlar va gellarni o'z ichiga oladi. Bundan tashqari, ozuqa muhiti shuningdek aminokislotalar, antibiotiklar va tabiiy birikmalarni ham qamrab oladi.

Anorganik tuzlar

Anorganik tuzli moddalar bir biridan farqqilish mumkin. Oven va Miller (1992) lar to'qimalar kulturasida keng ishlatiladigan ozuqa muhit tarkiblarini diqqat bilan tekshirdi va ilk nashrlardagi kichik xatoliklarga ishora bergan hamda bu 1-, 2 jadvalda anorganik tuz komponentlarining odatdagi belgilangan miqdorlari keltirilgan.

1-Jadval.

Murashige va Skoog ning anorganik tuzli eritma tarkibi

№	Kimyoviy nomi	Kontsentratsiyasi (stok g/l)
1	Nitratli eritma	
	Ammoniy nitrat (NH_4NO_3)	165.0
	Kaliy nitrat (KNO_3)	190.0
2	Sulfatli eritma	
	Magniy sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	37.0
	Rux sulfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.86
	Mis sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.0025
3	Tuzli eritma	
	Kaltsiy xlorid ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	44.0
	Kaliy yodid (KI)	0.083
	Kobolt xlorid ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.0025
4	PBM li eritma	
	Kaliy fosfat (KH_2PO_4)	17.0
	Natriy molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.025
	Boriy kislota (H_3BO_3)	0.620
		2.784
	Natriy molibdat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	
5	Na_2EDTAli eritma	
	Temir sulfat($\text{FeSO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.025
	Etilendiamintetsirka kislota (Na_2EDTA)	3.724

Murashige va Skoog (MS) (1962) moddasi eng ko'p qo'llanilgan va muhim tuzli ozuqlarni tayorlashda foydalanilgan.

MS ni keng qo'llanilishi ko'tilgandi, ammo o'sha paytda *in vitro* usulida xo'jayralarni o'stirishda o'simlik to'qimalaridan ajralayotgan qo'shimcha tuz ekstraktlarini tekshirilayotganligi sababli, dastlabki natijalar yaxshi bo'lmadi.

MS moddasi tamaki xo'jayralari o'sishi uchun anorganik ozuqalarda cheklov bermaydi va organik qo'shimchalari masalan achitqi ekstrakti, kokos yonfosi suti, kazein gidrolizat hamda o'simlik ekstraktlari ham ko'p o'tmay anorganik tuzlar uchun muhim manbalarga aylandi.

MS Fan TSitata Indeksida (Science Citation Index) *MS 1962* klassik nomi bilan belgilandi va bu o'simlik to'qimalar kulturasida haqidagi ko'plab maqolalarda juda keng foydalanildi.

MS anorganik tuzlarining boshqa tuz moddalaridan farqlanish xususiyati shuki, ularning tarkibi nitratli, kaliyli, ammoniyli bo'lishi bilan yuqori hisoblanadi. 1-jadvalda MS anorganik tuz eritmalari berilgan bo'lib, bu tuz eritlari oxirgi ozuqa kontsentratsiyasiga kelguncha 100 marta tayyorlangan va har bir eritmaga foiz hisobida 10 ml har 1000 ml ozuqaga tayyorlanadi. NaFeEDTA eritmasi esa yorug'dan saqlanish uchun jigarrang rangli shisha idishda yoki alumin falga bilan himoyalangan bo'lish kerak.

Jamlangan tuz eritmalarini ishlatishdan oldin sifati aniqlanadi va ozuqa tezroq tayyorlanadi. Tuz stoklari eng yaxshi muzlatgichda saqlanadi va bu bir necha oylar uchun barqarordir.

Eritmalar har doim shisha-distillangan yoki mineral suvlardan tayyorlanadi va barcha stoklarga aniq nom hamda sana quyiladi. Kimyoviy Reagent- sinf vakillari (tozalovchi) har

doim maksimal tozalikni ta'minlash uchun ishlatiladi. Bir qancha tuzlarni birlashtirib, tuz eritmalarini qisqartirish mumkin. Bu omillar birlashtirilgan moddalarni turfun va chukmaga tushish qobiliyatidan dalolat beradi.

Odatda nitratli eritmalar cho'kmali bo'ladi va qo'llashdan oldin kristallari to'liq eriguncha qizdiriladi. Agar har qanday eritmalar idishi tubi bulutli va cho'kmali ko'rinsa, ularni ishlatish mumkin emas.

Savollar:

- 1.Oraliq metabolitlar qanday oziqavazifasini o'taydi?
- 2.Oziqa substrata yoki oziqa qanday komponentlardantashkil topgan?
3. Nitratli eritmalari qanday bo'ladi?
4. Eritmalar idishi tubida qanday xolatda ko'rinsa, ularni ishlatish mumkin emas?
- 5.Tuz eritmalarini ishlatishdan oldin nimaga axamiyat berish kerak?
- 6.Murashige va Skoog ning anorganik tuzli eritmasi tarkibiga qanday kimyoviy moddalar kiritilgan?
7. Anorganik tuzlarga misol keltiring?

O'QUV MATRIALLARI

8-Ma'ruza

**O'SIMLIK TO'QIMALAR KULTURASIDA FOYDALANILADIGAN
OZUQA MUHITI TARKIBI. O'SIMLIK TO'QIMALARNING
OZIQLANISHI.**

Ma'ruza rejasi:

1. O'simlik to'qimalari kulturasida olish bosqichlari
2. O'simliklarni o'stirish regulyatorlari
3. Vitaminlar, uglevodlar va geksitlar

Kalit so'zlar: transgen o'simlik, geni o'zgartirilgan o'simliklar, biotexnologik kultura, *in vitro*, O'simliklarni o'stirish regulyatorlari. yara-shifo, kallus, oziqlanishi fitogarmonlar, uglevodlar, gel, antibiotiklar, eksplant, meristematik to'qimalar.

O'simlik to'qimalari kulturasida, ozuqa muhiti tarkibi. Oziqlanishi. Fitogarmonlar. Uglevodlar va gel turlari. Antibiotiklar, xujayra ozuqasini tayyorlash va saqlash. Ifloslanish muammolari O'simlik anatomiyasi va rivojlantirish shaxsi. Eksplant manbalari. Xo'jayralar hosil bo'lishi va xo'jayra turlari.

O'simlik xujayrasi *in vitro*, aksenik yoki steril kultura nomlari bilan ham ataladi, ular amaliy tadqiqotlarda, shuningdek, tijorat maqsadida qo'llash muhim hisoblanadi. SHunga qaramay, Street (1977) bu atamalar uchun ko'pgina cheklov ishlatishni tavsiya etadi, ya'ni o'simlik to'qimalarining kulturasida uchun odatda aseptik xujayra kulturasida, to'qimalar, organlar va ularning komponentlaridan foydalanib, *in vitro* fizik va kimyoviy sharoitlari ostida belgilanadi.

Balki, o'simlik to'qimalarining kulturasiga birinchi qadam Xenri-Luyus Duxamil du Monseyu tomonidan 1756 yil qo'yilgan. U o'zining yangi izlanishlar faoliyati davomida o'simliklarda yara-shifo, kallus rivojlanishini kuzatgandi.

SHleyden (1838) va SHvann tomonidan xujayra nazariyasi keng mikroskopik tadqiqotlar tufayli, mustaqil va deyarli bir vaqtning o'zida kashf etildi.

Bu nazariyani mohiyati shundan iboratki, xujayra bu funktsiya va strukturali avtonomlik qobiliyatiga ega yaxlit organizm.

Bu foya bir necha tadqiqotchilar tomonidan sinalgan va Vuchting (1878) ishida kallus shakllanishi va o'simlik segmentlarining bo'linish doirasida balki muhim bo'lgandir. Ubir ildiz segment yuqori qismi kurtaklari va pastki uchi har doim kallus to'qimalarini hosil qilgan yoki juda yupqa o'lchamli segmentlardan mustaqil ildizlar olishga erishganini ma'lum qilgan edi.

U qutbli rivojlanishini ko'rsatib berdi va bu xujayralar vazifasi ekanligini tan oldi, hamda ularning joylashuvi kesilgan joylarga yaqinligi ma'lum bo'ldi. Dastlabki o'simlik to'qimalarining kulturasida uchun asosiy nazariya Gotlib Xaberlandt tomonidan 1902 yilda taklif etilgan, ya'ni uning tajribalari to'qimalar yagona xujayradanligi haqida edi.

Gotlib Xaberlandt bu haqida shunday degan edi "Mening izlanishlarim, yuqori o'simliklarning vegetativ xujayralaridan to'qimalar ajratib olish harakatlari tizimsiz tashkil qilingan edi. Biroq, bunday kultura tajribalar natijalari boshlanfich organizm ega bo'lgan xujayra imkoniyatlari va hususiyatlari haqida qiziqarli tushunchlarni namoyon qilish kerak. Bundan tashqari, ko'p xujayrali butun organizm xujayralarining ichki-munosabatlar va bir-birini to'diruvchi ta'sirlari haqida ma'lumot beradi".

Uning eksperimentlari fotosintetik yaproq xujayralaridan va boshqa funktsiyali har xil xujayralar bilan ajratilganlari muvaffaqiyatsiz bo'lgan bo'lsada, ammo shunga qaramasdan u shunday deb bashorat qilgan edi. "Rivojlangan vegetativ xujayralardan sun'iy embrion yetishtirish mumkin".

U shu tariqa aniq totipotentlik (bir xujayradan hosil bo'lgan har xil xujayralarni bo'linish qobiliyati) konseptsiyasiga asos soldi va keyinchalik shuni ta'kidladiki, bu "ajratilgan o'simlik xujayralarini ozuqa muhitida o'stirish texnikasini o'rganish yangi eksperimentlarni muhim muommolarini xal qilishga imkon beradi". O'sha 1902 yilgi uning dastlabki tajribasi asosida Xaberlandt oldin va keyin ham haqli ravishda "o'simlik to'qimalari kulturasining otasi" deb tan olingan edi.

O'simlik to'qimalarining kulturasini haqidagi dastlabki ma'lumotlarni batafsil Vayet (1963), Bojvani va Razdan (1983) va Gautret (1985) lar ishlarida ko'rish mumkin. Kott (1922), Xaberlandt talabasi va Robbin (1922) lar boshqacha usullarni qo'llab, ildiz uchlaridan ajratgan xujayralarini o'stirishda muvaffaqiyatga erishishdi. Bu usul Vayet (1934) tomonidan pomidor ildiz uchlarining noma'lum xujayralarini, eksplantlar meristematik xujayralarini qo'llanishi tufayli muvaffaqiyat qozonishga olib keldi.

Keyingi tadqiqotlar natijasida ildiz kulturasini uchun to'liq belgilangan ozuqa muhitida o'stirishiga ruxsat etildi. Bunday ildiz kulturasini dastlab virusli tadqiqotlar va keyinchalik fiziologik tadqiqotlar uchun muhim vosita sifatida foydalanilgan. Bundan tashqari, Loo (1945) va Boll (1946) tomonidan kurtak kulturasini ham yaxshi natijalarni berdi. Embriogenezi kulturasini ham XIX asrning dastlabki yillarida, ya'ni Xanning 1904 yilda karam va 1906-yilda Brovning arpa kulturalaridan embrionlarni olinishi bilan boshlangan edi (Monner 1995).

Embriogenezi kulturasini muvaffaqiyatli davom etib, *Linum perenne* va *L. austriacum* o'simliklarini o'lik uruflarida ham hal qilindi. Tukey (1934) ayrim ertapishar mevali daraxt turlarining to'liq embrional rivojlanishi uchun in vitro kulturasini tatbiq etdi, bu esa in vitro sohasining rivojlanishidagi dastlabki izlanishlardan biri edi. Bu yangilik o'simliklarni barvaqt o'stirish imkonini berdi.

Birinchi haqiqiy o'simliklar to'qimalar kulturasini Gautret tomonidan (1934, 1935) *Acer pseudoplatanus* kambiy to'qimalaridan olingan. U, xuddi shuningdek *Ulmus campestre* *Robinia pseusing* va *Salix capraea* larning bir xil eksplantlarini Knop eritmasining agarli qattiq ozuqa muhitida glyukoza va tsistein gidroksloridlardan foydalanib, yuqori natijaga erishdi. Keyinchalik indol sirka kislota va qo'shimcha V vitaminlar imkoniyatlari sabzi ildiz to'qimalari uchun ko'p yoki oz bo'lish kerakligini bir vaqtning o'zida Gautret (1939) va Nobekourt (1939) lar

hamda *Nicotiana glauca* va *N. langsdorffii* gibridlarining shish to'qimalari bilan qaysiki auksin talab qilinmagan holatda ham bu to'qimalarning davomli o'sishi mumkinligini hattoki har xil ildiz va kurtaklar hosil qilishini Vayet (1939) tomonidan isbotlandi.

Biroq, barcha dastlabki eksplantlar boshlanich meristematik to'qimalar olguncha foydalaniladi.

SHunday bo'lsa-da, bu kashfiyotlar *in vitro* kulturadan foydalangan holda keyingi yilliklarda belgilangan bosqichda sezilarli darajada oshadi.

Savollar:

- 1.O'simlik to'qimalari kulturasi deb nimaga aytiladi?
- 2.Ozuqa muhiti tarkibi tufarisida nimalarni bilasiz?
3. Fitogarmonlar va ularning vazifasi.
- 4.Fitogarmonlar deb nimaga aytiladi?
- 5.Uglevodlar va ularning vazifasi.
- 6.Antibiotiklarning xususiyatlari xaqida nimalarni bilasiz?
- 7.Xujayra ozuqasini tayyorlash va saqlashda nimalarga ahmmiyat berish kerak.
- 8.Xo'jayralar hosil bo'lishi jarayonini tushuntirig?

O‘QUV MATRIALLARI

9-Ma’ruza

O‘SIMLIKLARNI O‘STIRISH REGULYATORLARI

Ma’ruza rejasi:

1. Vitaminlar
2. Uglevodlar
3. Geksitlar

Kalit so‘zlar: geksit, uglevod, vitamin ,transgen, o‘zgartirilgan, o‘simlik, biotexnologik, kultura, *in vitro*, o‘stirish, regulyatorlari. kallus, oziqlanishi, fitogarmonr, gel, auksin, eritma, eksplant, meristematik to‘qimalar.

O‘simliklarni o‘stirish uchun ishlatiladigan regulyatorlarining turi va konsentratsiyasi farqqiladi shunga ko‘ra bu xujayralar kulturasida uchun nishon hisoblanadi. SHu asosda, 2-jadvalda o‘simliklarni o‘stirishda eng mos bo‘lgan regulyatorlari, ularning qisqartma shakllari va ularning molekulyar o‘irliklari ko‘rsatilgan.

2-jadval. O‘simliklar to‘qimalar kulturasida ko‘p qo‘llaniladigan asosiy anorganik tuzlarni milligramda har bir litr ozuqa uchun ishlatish miqdori. (Oven va Miller (1992), B5^b Gamborg va boshqalar. (1968), N6^c Nich and Nich (1969). WP^d LLloyd va Mkkovn (1980)).

Kimyoviy formulasi	Vayet^a (1963)	B5^b	N6^c	WP^d
NH ₄ NO ₃				400
(NH ₄) ₂ SO ₄		134	463	
MgSO ₄ · 7H ₂ O	720	246	185	370
KCl	65			
KNO ₃	80	2528	2830	
KH ₂ PO ₄			400	170
K ₂ SO ₄				990
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	19	150		
Na ₂ SO ₄	200			
CaCl ₂ · 2H ₂ O		150	166	96
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	300			556
Na ₂ EDTA · 2H ₂ O		37.2	37.2	37.2
FeSO ₄ · 7H ₂ O		27.8	27.8	27.8
Fe ₂ (SO ₄) ₃	2.5			
H ₃ BO ₃	1.5	3	1.6	6.2
CoCl ₂ · 6H ₂ O		0.025		
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.001	0.025		0.25
MnSO ₄ · H ₂ O		10		
MnSO ₄ · 4H ₂ O	7		4.4	22.3
MoO ₃	0.0001			
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O		0.25		0.25

Kl	0.75	0.75	0.8	
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	3	2	1.5	8.6

Auksin guruhiga IAA, NAA, 2,4-D yoki IBA gormonlari kirib, ular eng ko‘p o‘simlik xujayralarining bo‘linishi va ildiz hosil qilishi uchun talab qilinadi. Auksin yuqori konsentratsiyalarda morfogenezni to‘xtatish mumkin. 2,4-D auksini ko‘proq boshlanfich kallus hosil bo‘lishi uchun ishlatiladi, qolgan IAA, IBA va NAA lar esa ildiz induksiyasi uchun ishlatiladi. Odatda auksin eritmaları 200 ml li menzurkaga 10 mg tortiladi, keyin 1 M li NaOH yoki KOH (0.3 ml dan oshmagan holda) dan bir necha tomchilar quyilib, modda kristallari eruguncha qizdiriladi va takroriy 90 ml ikki marta distillangan suv qo‘shiladi va miqdorli idishni xajmini 100 ml ga ko‘taradi. Auksin yana 95% li etanolda ham qizdirilishi mumkin va hajmi suyultiriladi. Auksinning kaliyli tuzlari suvda yaxshi eriydigan bo‘ladi.

O‘simliklarni o‘stirish regulyatorlari		Kisqartma nomlari	Molekulya r massalari
1	Abciscic acid	ABA	264.3
2	Indole-3-acetic acid	IAA	175.2
3	Naphthaleneacetic acid	NAA	186.2
4	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	2,4-D	221.0
5	Indole-3-butyric acid	IBA	203.2
6	6-Furfurylaminopurine	Kinetin	215.2
7	6-Benzly-aminopurine	BAP	225.2
8	N6 (2-isopentenyl)-adenine	2iP	203.3
9	Trans-6-(4-hydroxyl-3-methylbut-2-enyl) amino purine	Zeatin	219.2
10	Gibberellic acid	GA3	346.4
11	Thidiazuron	TDZ	220.2

eritmaları haftalik yangi qilanadi, chunki, yoruflik va bir necha soatlarda qisqa kunlar ichida o‘simlik to‘qimalari tomonidan degradatsiyaga uchraydi. Auksinlar uchun 1 soatga 110–120°C issiqlik optimal hisoblanadi. Biroq, IAA past pH, kislorod, perikslar tomonidan ham parchalangan; sentetik auksinlardan NAA va 2,4-D lar, tabiiy mavjud bo‘lgan auksin IAA ga nisbatan ancha barqarordir. TSitokininlar guruhi Kinetin, BA, Zeatin va 2iP lardan tarkib topib, ular hujayra bo‘linishi, kurtaklar ko‘payishi va kurtak morfogenezida muhim rol o‘ynaydi. tsitokinin faoliyatiga ega bo‘lib, u asosan paxtada defoliantlar (barglarni to‘kuvchi preparat) sifatida qo‘llaniladi.

Uning yana past konsentratsiyali eritmasi kurtakni shakllanishida ham samarali hisoblanadi. TSitokinin eritmaları ham xuddi auksin eritmaları kabi

tayyorlanadi, faqat farqli 1M li HCl va suvdan kristallar eriguncha bir necha tomchi tomiziladi. YUmshoqqizdirish odatda kristallarni to'liq erishi uchun talab qilinadi. Eritmada kristallarning cho'kishini oldini olish uchun 2 marta distillangan suvdan tez-tez qo'shib turiladi.

Miqdorli idishdagi eritmani hajmi kerakli miqdorga yetkaziladi. TSitokinin eritmalarini ham bir necha oylar davomida muzlatgichda saqlash mumkin. Agar tajribalar uzoq muddatli davom etsa, bu holatda ayrim fotokimyoviy degradatsiyaga uchrashi mumkin. TSitokininlar (kinetin va zeatin) issiqlikka chidamli; ularning mahsulotlari 1 soat 120°C dan ko'tarilsa ham bo'zilmaydi. 2iP va BA lar uchun 20 minut 100°C temperatura turrundir. Gibberellin kallus to'qimalarini o'sishini, auksinga borliqholdagi ildiz shakllanishini to'xtatadi, shuning uchun ham o'simlik to'qima kulturasida kam ishlatiladi.

Biroq, u morfogenetik talqiqotlarda foydalidir. Gibberellin eritmaları kristallarini suvda eritish orqali tayyorlanib, pH 5.7ga keltiriladi. GA3 ishqoriy muhitda harakatsiz izotoplarga aylanadi va kislotali muhitda hamda yuqori temperaturada esa faoliyatsiz biologik shakllarga aylanadi. GA3 eritmaları issiqlikka chidamli emas va uning aktivligi 20 minut 114°Cda 90% dan yuqoriga ko'tariladi. Gibberellin eritmaları har doim yangi tayyorlanishi va ozuqaga qo'shishdan oldin filtr sterilizatsiyadan o'tkazish lozim.

ABA (Absciscic acid) embrogenez kulturasida muhim bo'lib, o'simlik barg va mevalarini o'zilishida hamda tinim davrida ishtirok etuvchi gormon hisoblanadi. ABA issiqlikka chidamli, ammo yoruflikka ta'sirchandır. CHunki, ABA ning 2-sis izomerini qisman 2-trans izomeriga aylanishi tufayli yoruflikda biologik faolligi pasayadi. Eritmalarini suvda tayyorlash mumkin.

Vitaminlar

Vitaminlar ferment reaksiyalarida katalitik vazifani bajaradi. Tiamin (B1) vitaminlar ichida o'simlik hujayralari uchun ahamiyatlidir. Boshqa vitaminlar masalan, nikotin kislota (B3) va piridoksin (B6) lar xujayralar kulturasida ozuqasiga qo'shiladi va xujayralararo reaksiyasini kuchaytirish mumkin. Vitamin eritmaları eng yaxshi muzlatgichlardan saqlanadi va 10 ml alikovatlarda tayyorlanib, har bir ozuqa litriga ishlatiladi. Bu vitamin eritmaları quyidagicha; 5 mg nikotin kislota va 5 mg piridoksin gipoklorid har 100 ml ga suvga tayyorlanadi.

Tiamin eritmalarida 40 mg tiamin gidroksid 1000 ml suvda eritiladi. Boshqa keng tarqalgan vitamin xillari uchun Vaet (1963, 1943) hisobi bo'yicha milligramda har ozuqa litrga; 0.5 nikotin kislota, 0,1 piridoksin gidroksid va 0,1 tiamin gidroksid, B5 Gamborgda milligramda har ozuqa litrga; 100 inozit, 1.0 nikotin kislota, 1.0 piridoksin gidroksid, va 10.0 tiamin gidroksid, Murashige va Skoog (1962) da milligramda har ozuqa litrga; 0.5 nikotin kislota, 0.5 piridoksin gidroksid, 0,1 tiamin gidroksid ishlatiladi. Ko'p tadqiqotlarda vitamin eritmaları ozuqaga avtoklov qo'yishdan oldin qo'shiladi, lekin, maxsus vitaminlar tadqiqotlarida ular filtr sterilizatsiya qilinishi lozim.

Uglevodlar

Umuman kultura yashil hujayralar fotosintetik faol bo'lmaydi va uglevod manbalarini talab qilmaydi. Xujayralar kultura odatda saxaroza yoki glyukoza ning 2-5% lisi foydalaniladi.

Boshqa uglevod manbalari, misol uchun fruktoza va kraxmal ham xuddi shunday qo'llanishi mumkin. Uglevodlarning quyi darajalaridan protoplast kultura odatda, ammo ko'p yuqori birikmalaridan embriogenez yoki chang kultura odatda qo'llanilishi mumkin.

Agar ular avtoklavda uzoq muddat turib qolsa, karamelizatsiyaga (shakar rangi jigar rangli bo'lishi) duchor bo'ladi va amino birikmalari bilan reaksiyaga kirishadi (Maylard reaksiyasi). Karamelizatsiya shakarlari ko'p qizdirilganda, kamaytirilganda va melanoidinlardan (melanoidin-jigarrang, yuqori molekular vaznli, getrogen polimer) yuz beradi, bu jarayon qaysiki, yuqori vaznli molekular birikmalar hujayralarni o'sishiga to'sqinlik qiladi.

Avtoklavda sterilangan ozuqaning rangi sariq yoki qo'ng'ir rang bo'lsa, u holda bu ozuqa muddat avtoklavda ushlanganini anglatadi. Bunday ozuqa ishlatishga yaroqsiz hisoblanadi.

Geksitlar

Geksitol mio-inozitol to'qimalar kultura uchun muhim hisoblanib, tsiklitol biosintezi, zahira sifatida poligidrat birikmalarni saqlash, uruflarning unishi, glyukoza transporti, mineral oziqlanish, uglerod metabolizmi, membrana tarkibi, xujayra devori shakllanishi, gormonal gomeostaz va stress fiziologiyasi jarayonlarida ishtirok etadi. Mio-inozitol *in vitro* da o'sishni ko'chaytiruvchi shuningdek, balki uglevod manbalari ba'zi holatda vitaminlarga o'xshash deb ham ataladi. Mannitol va sorbitol geksitol gurihiga kirib, protlastlarni ajratish uchun yaxshi osmotikdir.

Savollar:

1. O'simlik to'qimalari kultura haqida umumiy tushuncha.
2. Ozuqa muhiti va ularning turlari.
3. O'simlik to'qimalari kultura va ularning oziqlanishi.
4. Ozuqa muhiti tayyorlashda fitogarmonlarning o'rni.
5. Uglevodlar va gel turlari bilasizmi?
6. Antibiotiklar ahamiyati.
7. Xujayra ozuqasini tayyorlash va saqlash qoidalari.
8. Ifloslanish muammolari kelib chiqish sabablari.
9. O'simlik anatomiyasi va rivojlantirish sharhi.
10. Eksplant manbalari haqida nimalarni bilasiz?
11. Xo'jayralar hosil bo'lishi va uning qanday turlari bor?

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

O‘QUV MATRIALLARI

10-Ma’ruza

**XUJAYRA OZUQASINI TAYYORLASH VA SAQLASH. IFLOSLANISH
MUAMMOLARI O‘SIMLIK ANATOMIYASI VA RIVOJLANTIRISH
SHARXI.**

Ma’ruza rejasi:

- 1.Oziqani kompleks boyituvchilar
- 2.Uglerod manbalari
- 3.Kislorod va suv

Kalit so‘zlar:uglerod, manbalari, sintezda kislorod, suv, aerob, ekstrakta, gidrolizati, tiamin, nikotin, kislota, pantoten, kulli, modda, saqlashi, kaliy, natriy, kaltsiy, temir, fosfor marganets .

Kulturalarni o‘stirish amaliyotida hatto prototrofmikroorganizmlar ham oziqa muhitida vitaminlar, aminokislotalar, tsitokininlar va boshqa biologik faol moddalar ishtirok etganda yaxshiroq sishi qayd etilgan. Antibiotiklar erasi boshlangandan so‘ng shu bilan bo‘liq holda oziqa muhiti tarkibini arzonlashtirish va iqtisodiy sarf xarajatlarni mo‘tadillashtirish haqidagi savollarga javob topish muammosi paydobo‘ldi. Bunga javob tariqasida oziqa muhitiga qo‘shimcha sifatida makkajo‘xori ekstraktidan muvaffaqiyatli foydalanish mumkinligi isbotlandi. Uning tarkibida yengil assimilyatsiya bo‘ladigan vitaminlar, aminokislotalar va mineral elementlar mavjuddir. Makkajo‘xori ekstraktining kimyoviy tarkibi

Mahsulot Tarkibi, %	Mahsulot Tarkibi, %
Quruq mahsulot 45-55	Sut kislotasi 5,0-11,5
Saxaroza 0,1-11	Uchuvchan kislotalar 0,1-0,5
Umumiy azot 2,7-4,5	Kulli mahsulot 1,5-4,5
Amminli azot 1,2-2,0	quruq modda saqlashi, mg/g
Alanin 24-59	Metionin 2-6
Arginin 10-24	Fenilalanin 8-13
Asparagin kislotasi 10-27	Prolin 16-20
TSistin 2-4	Serin 12-20
Glutamin kislotasi 35-88	Treonin 4-11
Glitsin juda kam	Tirozin 5-10
G istidin 2-4	Triptofan 5-10
Izoleytsin	35-42 Valin 8-18
Leytsin 27-42	Lizin 16-37
quruq modda saqlashi, mkg/g	Riboflavin 7-12
Biotin 15-55	Tiamin 80-100
Nikotin kislotasi 120-180	Pantoten kislotasi 80-140
Kulli moddalar saqlashi, % hisobida	

Kaliy 25-35	Natriy 4-6
Kaltsiy 12-18	Temir 1-2
Fosfor (R ₂ O ₅) 0,3-0,5	Marganets 0,2-0,6
Rux 0,2-0,5	Mis 0,05-0,1
Magniy 10-15	Alyumin 0,4-0,5

Mikrobiologik sintezda makkajo'xori ekstraktidan tashqariachitqilar avtolizati, ekstrakta va gidrolizati, kartoshka tunganagihujayrasidan olinadigan sharbat, sut zardobi, bugdoy kepagi ekstraktakabi mahsulotlar ham keng qo'llaniladi. Ba'zan baliq va go'sht peptonlariqo'shiladi. Xayvon hujayralarini o'stirishda hayvonlar qoni plazmasi vayo'ldosh ekstraktlari qo'llaniladi. O'simliklar hujayrasini yoki yuksak mitsellial zambururlarnio'stirishda oshqovoq ekstrakta, fo'za bargidan ham foydalaniladi. Mikroorganizmlarni suyuqlikda aerob o'starilganda ko'pik hosilbo'lishi va ko'piklanish jarayoni asosiy rol o'ynaydi.

Ko'piklanishjarayonining hosil bo'lishi fazalar orasidagi bogliqlikni oshirib, aeratsiyalanadigan havo bilan oziqa muhiti orasidagi massaalmashinishini buzadi. Oziqa muhitaning ko'piklanishga bo'lgan chidamliligi va reologikxususiyati (yuzaga yopishqoqligi) oziqa muhiti tarkibiga (shakar, lipidlar, oqsillar saqlashi, struktura hosil qiluvchi tuzlar), sterilizatsiyarejimiga va oziqa aeratsiyasiga bogliq bo'ladi. Kislorod va suv Aerob mikroorganizmning molekulyar kislorodga bo'lgan ehtiyoji oksidlanuvchi uglerod manbasi va uning fiziologik xususiyatiga hamdamikroorganizmlarning o'sish faolligiga bogliq. Odatda oziqa muhitida maksimal holatda erigan kislorod miqdori 2-5 mg/l bo'ladi. Oziqa muhitidagi zahira kislorod miqdori aerobprodutsentlarni 0,5-2 minut hayotchanligini saqlab turishi mumkin.

Uglerod manbalari Mikroorganizmlarning 1 g biomassa hosil qilishida uglerod manbaiga bo'liq holda kislorodga bo'lgan talabi 1-glyukoza; 2-sut kislota; 3-qaxrabo kislota; 4-sirka kislota; 5-etanol; 6-glitserin; 7-yuqori molekulyar parafinlar. 20°C haroratda despirgirlangan va emulgirlangan komponentlarning suvdagi (mg/l) eritmalarining kislorod adsorbtsiyasiga bogliq. Suyuq oziqa muhitida o'stirish jarayonida zahira kislorod miqdori oziqadagi havo aeratsiyasiga bo'liqdir. Kislorod adsorbtsiyasi tezligi esa oziqa muhiting aralashtirilish intensivligi o'sishiga qarab oshibboradi. Suvda kislorodning adsorbtsiya bo'lishiga aeratsiya va oziqa muhiting aralashtirilishiga bogliqligi 1 miiutda beriladigan havo miqdori ($m^3/(m^3 \times \text{min})$) Aralashtirgichning aralashtirish chastotasi, tez/min bilan ulchanadi.

Savollar:

1. Oziqa muhiti nima?
2. Tabiiy oziqa muhiti sintetik oziqa muxdtidan qanday farqqiladi?
3. Xujayraga oziqa moddalari qanday qabul qilinadi?
4. Uglerod manbalariga misollar keltiring.
5. Qanday xom ashyolar fosfor manbalari sifatida qo'llanilmoqda?
6. Azot manbalariga misollar keltiring.
7. Kulturalarni o'stirish amaliyotida qay xolatda yaxshio'sishi qayd etilgan?

O'QUV MATRIALLARI
11-Ma'ruza
AJRATIB OLINGAN HUJAYRA VA TO'QIMALARNI
O'STIRISH TEXNIKASI

Ma'ruza rejasi:

1. To'qimalar bilan ishlashda sterillikga rioya qilish.
2. O'stirish sharoiti
3. Oziqa muhiti

Kalit so'zlar: ajratib, to'qima, sterillik, tarkibi, oziqa, muxdt, mikroorganizm, rivojlanish, substrat, o'simlik, ajratib, fragmentlar, eksplant, aralashtirilgan, sterilizatsiya, hujayra, manipulyatsiya, aseptik, sharoit, laminar-boks, uskuna, davr.

Ajratib olingan to'qimalar bilan ishlashni asosiy sharti sterillikga qat'iy rioya qilishdir. Tarkibi boy bo'lgan oziqa muxdti mikroorganizmlarni rivojlanishi uchun ham juda yaxshi substrat hisoblanadi, o'simliklardan ajratib olingan fragmentlar (eksplantlar) oziqa muxdti bilan aralashtirilganda mikroorganizmlar ta'siriga tez uchraydilar. SHuning uchun ham eksplantni ham, oziqa muhitini ham sterilizatsiya qilish kerak.

Ajratilgan hujayralar va to'qimalar bilan qilinadigan barcha nozik ishlar (manipulyatsiya) aseptik sharoitda (laminar-bokslarda) sterillangan uskunalar yordamida bajariladi. Ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash kerak, ayniqsa harorat va namlik o'zgarganda, chunki probirkalarni paxta-bintdan tayyorlangan tiqinchalari namlanadi va undan mikroorganizmlar oson o'tishadi. Eksplantni sterilizatsiyasi, shuningdek, uruglar ham 5-20 minut davomida sterilizatsiya kdluvchi eritmada ushlab turish, keyin esa steril suv bilan yuvib tashlash orqali amalga oshiriladi.

Sterilizatsiya davri eksplantni xarakteriga hamda eritmani sterilizatsiya qilish xususiyatiga bo'liq. Odatda urug 10-20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 min. davomida sterilizatsiya qilinadi. Sterilizatsiya qiluvchi eritmalarga misollar 16-jadvalda ko'rsatilgan. Dastlabki o'simlik materiallarini sterilizatsiya qilish (R.G. Butenka, 1990 yil)

Eksplant olinmoqchi bo'lgan o'simlik organi, dastlab sovunli suv bilan shetkalar yordamida yaxshilab yuviladi va distillangan suv bilan chayib tashlanadi, keyin esa bir necha sekund davomida 70 % li etanolga botirib olinadi. Uruglar spirtida 1-2 min. ushlab turiladi. To'qimalarga spirt bilan ishlov berish, uni sterilizatsiya qilish xossasidan tashqari, asosiy sterilizatsiya qiluvchi eritmani ta'sirini kuchaytirishi bilan ham bo'liq.

Sterilizatsiyadan keyin o'simlik ob'ektlari sterillangan suv bilan tozalab yuvib tashlanishi kerak. Sirtqi sterilizatsiya eksplantni faqat tashqi infeksiyadan ozod qiladi. Agar eksplant to'qimalari ichki infeksiyaga ega

bo'lsalar, ularga antibiotiklar bilan ishlov berishga to'g'ri keladi. Ayniqsa, ichki infektsiyaga yirik tomirli tropik va subtropik o'simliklar boy bo'lishadi.

Kulturalarni zamburuflar yoki bakteriyalar bilan ifloslanishi ekilgandan 1-14 kun o'tganda ko'zga tashlanadi. YOruqlik xonasidagi havoni ifloslanishdan saqlash uchun ifloslangan kulturani darhol yo'qotish kerak.

Oziqa muhitlarini avtoklavda 120°S da 0.75 -1,0 atm. bosimda 20 minut davomida sterilizatsiya qilinadi. Agar oziqa muhiti tarkibiga yuqori haroratda parchalanadigan moddalar kirsa, ularni alohida sovuq sterilizatsiya qilindi. Ularni teshiklar diametri 0,22-0,45mkm bo'lgan bakterial filtrlardan o'tkaziladi va avtoklavdan chiqqan oziqa muhitini 40°S gacha sovutib, keyin ularni aralashtiriladi. Oldindan folgaga (alyumin qo'qoz) yoki o'raydigan qo'qozga o'ralgan idishlarni quruq issiq bilan quritgich shkaflarida 160°S da ikki soat davomida sterilizatsiya qilinadi.

Oziqa muhiti. Ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni o'stirish uchun mo'ljallangan oziqa muhitlari, o'simliklarni yaxshi o'sishi uchun kerak bo'lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kaltsiy, magniy, oltingugurt va boshqalar) va mikroelementlar (bor, marganets, rux, mis, molibden va bopmalar) hamda vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularni sintetik analoglarini saqlashi kerak.

Ba'zi oziqa muhitlari aminokislotalar, kazein gidrolizati, EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uni natriyli tuzi (bu tuz temirni hujayraga kirishiga yordam beradi) va bopma kerakli moddalar saqlaydi. Kallus to'qima olish uchun, alohida hollarda oziqa muhitiga kakoye yonforini (kakoye suti), kashtan daraxtini endospermasi qo'shiladi.

Karbon suvlar oziqa uchun eng kerakli komponentlar hisoblanadi. Bunga sabab, ko'p hollarda ajratib olingan hujayra va to'qimalarni avtotrof oziqlanishga qurlari yetmaydi. Karbon suv sifatida ko'proq 2-3% li saxaroza yoki glyukoza eritmasidan foydalaniladi.

Fitogormonlar hujayralarni tabaqasizlanishi (dedifferentsirovka) va hujayra bo'linishini kuchaytirish (induktsiya) uchun kerak. SHu sababli ham kallusli to'qimalar olish uchun mo'ljallangan oziqa muhiti tarkibida albatta auksinlar (hujayra bo'linishini kuchaytiruvchi) bo'lishi shart. Poya morfogenezi induktsiya qilganda muhit tarkibidagi auksinlarmi qdorini kamaytirish yoki butunlay olib tashlash mumkin.

Gormon saqlamaydigan oziqa muhitida shish va «o'rgangan» to'qimalar o'sadi. Xar ikki guruh gormonlariga yoki ulardan birortasiga avtonomlik, bu hujayralarni o'zlarini gormon sintez qilish xususiyati bilan bo'liq. Auksin manbai sifatida oziqa muhitiga 2,4-dixlorfenoksi sirka kislota (2,4-D), indolil-3-sirka kislota (IUK), L-naftil sirka kislota (NUK) qo'shiladi. YAxshi o'suvchi kallus olish uchun ko'proq 2,4-D dan foydalaniladi, chunki IUK, 2,4-D ga nisbatan 30 marotaba kucheizdir. Sun'iy oziqa muhitiga

qo'shish uchun, tsitokinin manbai sifatida, kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin ishlatiladi. 6-BAP va zeatin ajratilgan to'qimalarni o'sishiga

organogenezni induktsiyasiga kinetinga nisbatan faolroq ta'sir ko'rsatadi. Ba'zi bir oziqa muhitlar tarkibiga adenin ham qo'shiladi.

Ko'p sonli oziqa muhitlarning tarkibi aniq bo'lsada, ajratib olingan o'simlik to'qimalarini in vitro sharoitida o'stirish uchun T.Murasiga va F.Skuga muhitlari ishlatiladi. Bu muhitni tarkibi birinchi marotaba 1962 yilda e'lon qilingan va u juda yaxshi balanslangan oziqa moddalari tarkibiga ega va boshqalardan ammoniyli va nitratli azotni nisbati bilan farqqiladi. Qattiq oziqa muhit tayyorlash uchun agar-agar ishlatiladi.

Agar-agar dengiz suv o'tlaridan olinadigan polisaxariddir. Vaqtdan unumli foydalanish maqsadida, makro- va mikroelementlar eritmalari hamda vitaminlar va fitogormonlar quyugroq qilib tayyorlanadi va sovuq sharoitda saqlanadi hamda kerak bo'lganda suyultirilib ishlatiladi. O'simliklarni ajratib olingan to'qimalarini o'stirish uchun ishlatiladigan oziqa muhitlarini tarkibi.

O'stirish sharoiti. O'simliklardan ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni yaxshi o'stirish uchun o'stirishning ma'lum shartlariga rioya qilish kerak. Ko'pchilik kallas to'qimalari yorug'likka ehtiyoji yo'q, chunki ularni xloroplastlari bo'lmasdan, geterotrof oziqlanadilar.

Ba'zi -bir yashilrangdagi kallas to'qimalar bundan mustasno. Ba'zi bir holatlarda kallas to'qimalar avtotrof oziqlanishiga qobiliyatli emas, ularni doimiy yorug'lik sharoitida o'stiriladi, bu esa muvaffaqiyatli morfogenez uchun majburiy sharoitdir ko'proq kallas to'qimalar qoronilikda saqlanadi. Morfogenezga aniqlangan to'qimalar yorug'likka o'tkazilib, keyin 1000-4000 lk yorug'likda o'stiriladi.

Ajratib olingan meristemalar va ularni mikroko'paytirish ham yorug'likda o'tadi. YOrufuychani yorug'ligi 1000-10000 lk bo'lishi kerak va yorug'likni kuchi o'simlikni xususiyatlariga bo'liq. Ustiriladigan ob'ektni foto davrini ham hisobga olish kerak. Ustiriladigan xonada namlik 60-70% bo'lishi kerak.

Undan quruqroq havo oziqa muhitini quritib yuboradi, agar probirka paxtali tiqin bilan berkitilgan bo'lsa, oziqa moddalarini konsentratsiyasi o'zgarib, o'stirish sharoiti buziladi. Ko'pchilik to'qimalarni o'stirish uchun mo'tadil harorat 25-26°C. Agar tropik o'simliklarni to'qimalari bo'lsa 29-30°C da o'stiriladi. Morfogenez induktsiya qilinganda harorat 18-20°C gacha tushiriladi. Odatda iqlim kameralaridan foydalaniladi.

Savollar:

1. To'qimalar bilan ishlashda nimalarga rioya qilish kerak.
2. O'stirish sharoiti haqida tushuncha
3. Oziqa muhiti va ularning turlariga haqida tushuncha
4. Agar-agar nimadan tayyorlanadi.

O‘QUV MATRIALLARI
12-Ma’ruza

VEKTOR DIZAYNI VA KONSTRUKTSIYA, VEKTOR TARKIBLARI.
PROMOTORLAR VA INKONSERLAR.

Ma’ruza rejasi:

1. Bakteriya hujayralari va plazmida ajratish.
2. Plazmidalar o‘z xususiyatiga ko‘ra bo‘linishi
3. DNK bo‘lagini ajratish.

Kalit so‘zlar: ajratish, bakteriya, hujayra, plazmida, agrobakteriya transformatsiya, protokollar, qo‘sh vektorlar, atseptik, o‘stirish, ifloslanishni tekshirish, tuban, eukariot, organizm, xromosoma, o‘lcham, xalqasimon, chiziqsimon, struktura, mini-xromosoma, plazmida, kasal, chaqiruvchi, mikroob, antibiotik, toifa, avtonom, replikatsiya.

Bakteriya hujayralari va plazmida ajratish. Agrobakteriya orqali transformatsiya. Agrobakteriya sharhi. Bir va ikkipallalilarni protokollari qo‘sh vektorlar. Agrobakteriya xujayralari va transformatsiyasi. O‘simlikni atseptik o‘stirish. Ozuqa tayyorlash va ifloslanishni tekshirish.

Bakteriya va tuban eukariot organizmlar hujayralarida asosiy xromosomadan tashqari, kichik o‘lchamga ega bo‘lgan xalqasimon yoki chiziqsimon. Biotexnologiya asoslari 79strukturaga ega bo‘lgan qo‘shimcha xromosomalar mavjuddir bu mini-xromosomalar - plazmidalar deb ataladi.

Plazmida DNK si ko‘pi bilan 3-10 tagacha genlarni o‘zidasaqlaydi. Bu genlar, asosan antibiotik yoki zaharlitoksinlarni parchalovchi fermentlarni sintezigajavobgardir. SHu tufayli plazmidalar bakteriya, achitqi vazamburuflarning antibiotik va zaharli toksinlargachidamliligini ta‘minlaydi.

Plazmidaning antibiotik parchalovchi genlari birplazmidadan ikkinchisiga transpozonlar bilan birikkanholatda ham ko‘chib o‘ta oladi. Bu molekulyar jarayon kasalchaqiruvchi mikroblarning antibiotiklarga chidamliliginihoyatda oshiradi. Plazmidalar o‘z xususiyatiga ko‘ra ikkiga bo‘linadi:

Birinchisi - transpozon yoki bakteriofag irsiymolekulasi kabi hujayra asosiy xromosomasiningmaxsus DNK izchilligini kesib, rekombinatsiya bo‘laoladigan plazmidalar. Bunday rekombinatsiyalanuvchi plazmidalar transmissibl, ya‘ni nasldan-naslgao‘tuvchi plazmidalar deb ataladi. Transmissiblplazmida asosiy xromosomaga birikkandan keyin o‘z mustaqilligini yo‘qotadi. Asosiy xromosomadanmustaqil ravishda o‘z-o‘zini replikatsiya qila olmaydi.

Ayni paytda bunday plazmidalarda joylashgangenlar asosiy xromosomada o‘z faoliyatini bajaradi. Xujayra bo‘linganda rekombinatsiyalanuvchi plazmida genlari

asosiy xromosoma genlariga birikkan holda nasldan-naslga o'tadi. Ikkinchi - plazmidalar deb ataladi. Bunday plazmidalar asosiy xromosomaga birika olmaydi, asosiy xromosomalardan mustaqil ravishda o'z-o'zini replikasiya yo'li bilan o'nlab va hatto yuzlab marta ko'paytiriladi. Avtonom plazmidalar bakteriya yoki zamburuf bo'linganda qiz hujayralar orasida tasodifiy ravishda taqsimlanadi. SHu bilan birga avtonom plazmida bir hujayradan ikkinchisiga hujayra qobiri va membranasi teshiklaridan o'ta oladi.

Tabiatda biror mikroorganizm hujayrasiga tashqaridan yot genetik material kirsam, u darhol hujayra nukleaza fermentlari orqali parchalab tashlanadi. DNK molekulasi mayda bo'laklarga bo'lunuvchi fermentlar - kesuvchi endonukleazalar yoki restriktazalar deb ataladi. Xar bir restriktaza to'rt yoki ko'proq maxsus nukleotid juftlarni tanib olib bo'lanadi va DNK molekulasi kesadi. Ayrim restriktazalar DNK qo'sh zanjirini qaychi singari shartta ikki bo'lakka bo'ladi. Bunday restriktazalarga Alu I, Dra I, Hae III, Hpa I, EcoR V, Hinc II, Pvu II, Rsa I, Sca I, Sma I va boshqalarini misol qilib keltirish mumkin (4.4-jadval).

SHu bilan birga qo'sh zanjir DNK molekulasi **"yopishqoq"** uchlar hosil qilib kesuvchi restriktazalar ham mavjud (Aat II, Acc III, Apa I, Bam HI, EcoRI, Hind III va boshqalar). Bu restriktazalar funktsiyasi jihatdan transpozazaga o'xshashligi ko'rinib turibdi. SHuning uchun ham bu restriktazalar hosil qilgan "yopishqoq" uchlardan foydalanib, har xil DNK bo'laklarini bir - biriga bo'lash osonlashadi. Ana shu xususiyati tufayli bu xil restriktazalar gen muxandisligida keng qo'llaniladi.

Xozirgi kungacha 500 dan ortiq xilma xil restriktazalarga holda ajratib olingan va o'rganilgan. Odatda, mikroorganizm irsiy moddasining xromosomasini nechta million nukleotid juftlari izchilligidan iborat. O'simlik yoki hayvon genomi bir necha yuz milliondan to 1 milliardgacha nukleotid juftlari izchilligidan tuzilgan. Bunday buyuk molekulaning yuqoridagay qilingan xilma-xil restriksion endonukleazalardan foydalanib, ko'plab bo'laklarga bo'lish mumkin.

Endonukleaza ishtirokida parchalangan DNK bo'laklari elektroforez uskunasi maxsus molekulyar "elak" teshiklaridan yuqori kuchlanishli elektr maydoni ta'sirida

molekulaning zaryadi va o'lchamiga binoan ajratiladi. DNK bo'lagi maxsus bo'yoq bilan bo'yash natijasida ultrabinafshanurlari yordamida oddiy ko'z bilan ko'riladi. DNK ning mayda bo'laklari elektr maydonida gel foyaklaridan yirik bo'laklarga nisbatan tez harakat qilgani uchun ularning startdan bosib o'tgan masofasi o'lchab DNK bo'lagingin katta-kichikligi aniqlanadi.

Elektroforez uskunasi bir-biridan faqat bir nukleotid kam yoki ko'pligi bilan farqlanuvchi DNK bo'lagini ajratish mumkin. Restriksion endonukleaza fermentlarining ochilishi va elektroforez uskunasi DNK bo'laklarini o'ta aniqlik bilan bir-biridan ajratishning takomillashuvi, gigant DNK molekulasi istalgan DNK bo'lagini ajratib olish imkonini beradi.

Xulosa qilib aytganimizda, gen muxandisligi biotexnologiyasining moddiy asoslariga bakteriyalarni klonlash, transformatsiya va transduksiya jarayonlari,

transpozonlar, plazmidalar va restriksion endonukleaza fermentlarini to'la fundamental asoslarini o'rganish kiradi. YUqorida qayd qilingan biologik faol moddalar gen muxandisligi biotexnologiyasining amaliy jarayonlarida o'ta qimmatli omil hisoblanadi.

Savollar:

1. Plazmidaning antibiotik parchalovchi genlarining ahamiyati?
2. Bakteriyalarni klonlash bosqichlari.
3. Fermentlarini to'la fundamental asoslari nimalardan iborat.
4. DNK molekulasi DNK bo'lagini ajratib olish.
5. Hozirgi kunda ajratib olingan restriktazalarning xolati.
6. Plazmada DNK si qancha genlarni o'zida saqlaydi?
7. Mikroorganizm irsiy moddasining xromosomasi qancha nukleotid juftlaridan iborat.
8. Bakteriya hujayralaridan plazmada qanday ajratiladi?
9. Biotexnologiya asoslari qancha strukturaga ega bo'lgan qo'shimcha xromosomalardan iborat.
10. O'simlik yoki hayvon genomi qancha nukleotid juftlari izchilligidan tuzilgan.

O‘QUV MATRIALLARI

13-Ma’ruza

**MIKROPROTEKTLI BOMBARDIMON ORQALI
TRANSFORMATSIYALASH DNKNI KO‘CHIRIB O‘TKAZISH.**

Ma’ruza rejasi:

1. Sun’iy sharoitda rekombinant DNK olish va genlarni klonlash
2. Restriktaza-ligaza usuli
3. Linker molekulalaridan foydalanish usulida – DNK olish.
4. Vektor molekulalari

Kalit so‘zlar: Mikro-tashuvchi, transformatsiya, tayyorlash, to‘qima, nishon tayyorlash, oziqlanishi, eksplant, ajratish, kallus, ko‘chirish, bakteriya, xo‘jayra, o‘sish, plazmida, DNK ajratish, arabidopsis, transformatsiya, agrokultura, yopishqoq.

Sun’iy sharoitda rekombinant DNK olish va genlarni klonlash ilk bor 1972 yilda AQSH olimlari **Boyer** va **Koen** tomonidan amalga oshirilgan. Bu olimlar **E.coli** bakteriyasining xromosoma DNK siga va shu bakteriya plazmidasiga alohida idishlarda *EcoRI* restriktaza fermenti bilan ishlov berganlar. Plazmida tarkibida faqat 1 dona *EcoRI* restriktaza fermenti tanib kesadigan maxsus nukleotidlar izchilligi bo‘lganligi sababli ferment plazmidaning xalqasimon DNK qo‘sh zanjirini faqat bir joydan kesib, plazmidani «yopishqoq» uchli ochiqholatga o‘tkazadi. Xromosoma DNK molekulasida *EcoRI* restriktaza fermenti taniy oladigan maxsus nukleotidlar izchilligi qanday bo‘lsa, bu molekula shuncha bo‘lakka bo‘linadi.

Turli xil o‘lchamga ega bo‘lgan DNK molekulasi elektroforez uslubi yordamida ajratib olinadi. Ajratib olingan «yopishqoq» uchli xromosoma DNK si bo‘lagi ochiqholatdagi “yopishqoq” uchli plazmida DNK si bilan aralashtirilib ligaza fermenti yordamida tikiladi (ulanadi). Natijada plazmida tarkibiga xromosoma DNK bo‘lagi kiritiladi.

SHu boisdan rekombinant DNK ga quyidagicha tarif berish mumkin: har qanday tirik organizm irsiy molekulasining istalgan bo‘lagini vektor molekulalariga birikishdan hosil bo‘lgan sun’iy DNK - rekombinant DNK deyiladi.

Rekombinant DNK olishning uchta usuli mavjud:

- konnektor usuli;- restriktaza-ligaza;- linker molekulalaridan foydalanish usuli.Konnektor usulida- rekombinatsiyada ishtirok etuvchi DNK bo‘lagining 3' uchiga dezoksinukleotidil- transferaza fermenti yordamida ma’lum uzunlikdagi oligo (dA) - segmenti ulanadi. Ikkinchi uchiga esa oligo (dT) - segmenti ulanadi. Bu DNK bo‘laklari aralashtirilganda dA va dT segmentlarning vodorod bo‘rlari asosida komplementar birikishi tufayli xalqasimon DNK strukturasi hosil bo‘ladi. Xosil bo‘lgan DNK dagi bir zanjirli bo‘sh joylar DNK-polimeraza I fermenti yordamida to‘ldiriladi.

Restriktaza-ligaza usuli- eng sodda va osonrekombinant DNK olish usuli hisoblanadi. Bu usulda DNK molekulasi va vektor plazmida «yopishqoq» uchlarhosil qiluvchi restriktaza bilan qirqiladi va aralashtirilgan holda ma'lum sharoitda reassotsiatsiyaqilinadi. Komplementarlik xususiyatiga ko'ra DNK molekulalari o'zaro vodorod bo'nlari yordamida birikib xalqasimon struktura hosil qiladi va DNK zanjirining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi.

Linker molekulalaridan foydalanish usulida – DNK molekulasi va vektor plazmidaga T4 fag DNK-ligaza fermenti yordamida maxsus nukleotid ketma-ketligiga ega bo'lgan linker molekula ulanadi. Olingan ikki turdagi DNK molekulasi restriktaza fermenti yordamida qirqilib, aralashtirilgan holda reassotsiatsiya qilinadi. DNK va vektor plazmidamolekulalarining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. SHu yo'sinda rekombinant DNK molekulasi hosil bo'ladi.

Vektor molekulalari

Rekombinant DNK ni avtonom replikatsiya bo'lishi uchun javob beradigan DNK bo'lagi - **vektor** molekulalari deyiladi. Vektor molekulalar o'z vazifasiga ko'ra ikki tipgabo'linadi: **Birinchisi** - avtonom replikatsiya bo'luvchi vektorlar. **Ikkinchisi** - xromosomaga integratsiya bo'luvchi vektorlar. Vektor molekulalar gen muxandisligi biotexnologiyasida genlarni klonlashda va transformatsiya qilishda asosiy ish quroli bo'lib xizmat qiladi.

Vektor molekulalari vazifasini fag DNK lari, plazmidalar va o'simliklarni xloroplast hamda mitoxondrial DNK lari o'tashi mumkin. Xo'jalik ahamiyati qimmatli bo'lgan genlarni ajratish uchun gen banki (bibliotekasi) tuziladi. Xromosomal DNK asosida gen bibliotekasini tuzish quyidagicha amalga oshiriladi:

DNK va vektor molekulalar restriktaza fermenti yordamida qirqiladi va ma'lum sharoitda reassotsiatsiya qilinadi; Nukleotidlar orasida ulanmay qolgan bo'shliq DNK-ligaza fermenti yordamida o'zaro biriktiriladi; Olingan rekombinant DNK bakteriya hujayrasiga transformatsiya qilinadi.

Xromosomal DNK da mavjud genlarni to'la klonlash uchun DNK o'lchamiga va olingan klonlarni soniga e'tibor berish kerak. Bu ko'rsatgich quyidagi formula yordamida hisoblanadi: bunda, x -klonlanayotgan DNK o'lchami, u -gaploid genomning o'lchami va r 0,99 ga teng bo'lsa, 99% xromosomal DNK ning mos qismi klonlanadi. Genlarni klonlashda ko'pincha kDNK bibliotekasini tuzish maqsadga muvofiqdir.

Bu holda maxsus poli (Y) va oligo (dT) kolonkalari yordamida uchlarida poli (A) nukleotidlar ketma-ketligini saqlovchi iRNK, tRNK vapRNK dan ajratib olinadi. Olingan iRNK molekulasi oligo (dT) nukleotidlari bilan aralashtirilib reassotsiatsiya qilinadi. Bunda iRNK molekulasi poli (A) uchida dA-dT qo'sh zanjirli segment hosil bo'ladi.

Ushbu ikki zanjirli segmentning oligo (dT) uchi kDNK sintezini amalga oshiruvchi revertaza fermenti uchun praymer (kDNK sintezining boshlanish nuqtasi) vazifasini o'taydi. Sintezi qilingan kDNK molekulasi qisqa uchli ikki zanjirli

struktura bilan tugallanadi. kDNK sintezida matritsa vazifasini o'tagan iRNK molekulasi NaOH bilan parchalanadi, natijada qisqa ikki zanjirli va to'liq iRNK molekulasiga komplementar bo'lgan bir zanjirli kDNK molekulasi hosil bo'ladi. Xosil bo'lgan qisqa ikki zanjirli struktura kDNK ning ikkinchi zanjirini sintez qilishda praymer vazifasini o'taydi.

Savollar:

1. Oziq-ovqat maxsulotlari sanoati biotexnologiyasida gen muxandisligi sohasini o'rganishdan maqsad nima?
2. Gen muxandisligi usullarining imkoniyatlarini aytibbering.
3. Gen muxandisligi qanday darajalarda amalga oshiriladi?
4. Gransgen – organizm nima?
5. DNK replikatsiya haqida ma'lumot bering.
6. Translyatsiya jarayoni haqida ma'lumot bering.
7. Transkripsiya jarayoni haqida ma'lumot bering.
8. Genetik kod nima?
9. Terminatorlar deganda nimani tushinasiz?
10. Mutatsiya nima?
11. Klon nima?
12. Klonlash jarayoniga izoh bering.
13. Transpozonlar nima?
14. Plazmidalarga ta'rif bering.
15. Restriktazalarga izoh bering.
16. Rekombinant DNK deganda nimani tushinasiz?
17. Rekombinant DNK olish usullarini aytib bering?
18. Vektor molekulalari nima va ularning tiplariga izohbering.
19. Trasformatsiya nima?
20. Ligaza fermentlariga izoh bering.

O'QUV MATRIALLARI

14-Ma'ruza

DNK, RNK VA OQSIL MOLEKULARINING BIOSINTEZI

Ma'ruza rejasi:

- 1.DNK, RNK va oqsil molekulalarining biosintezi
- 2.DNK replikatsiyasi
- 3.Mutatsiya jarayoni

Kalit so'zlar: transformatsiya, transduksiya, ko'chib yuruvchi, genetik, element, transpozon, plazmidalar, viruslar, bakteriofaglar, restriktazalar, rekombinant DNK olish, genlarni klonlash, hujayra muhandisligi, hujayra, to'kima, sun'iy, sharoit, o'stirish, texnologiya; S genetik, muhandislik, hayvon, o'simlik.

Xozirgi vaqtda qaysi produtsent (mikroorganizm) dan foydalanganholda foydali mahsulotlar sintez qilish mumkinligini aniq ko'rsatibberish mumkin. Agarda bunday produtsent bo'lmasa, qay tariqa va qandaysharoitda yuqori darajada, istalgan turdagi mahsulotni olishxususiyatini namoyon qiluvchi produtsentni yaratish mumkinliginioldindan aytib berish imkoniyatlari mavjuddir.Biotexnologik ishlab chiqarishda bugungi kunda mikroorganizmlarniminglab shtammlaridan foydalanilmoqda.

Sohasini o'rganishdan maqsad: tirik organizmlar irsiy belgilari xatsidagi axborot joylashgan DNK molekulasi tuzilishi, roli hamda uning molekulyar biologiyasi; S genetik muhandislikning moddiy asoslari: transformatsiya, transduksiya, ko'chib yuruvchi genetik elementlar-transpozonlar, plazmidalar, viruslar, bakteriofaglar, restriktazalar, rekombinant DNK olish, genlarni klonlash, hujayra muhandisligi, hujayra va to'kimalarni sun'iy sharoitda o'stirish texnologiyasi; S genetik muhandislikning ozq-ovtsat sanoatida, hayvonlar va o'simliklar selektsiyasida qo'llanilishi; S gen muhandisligiga asoslangan biotexnologiyaning ozq-ovtsat sanoatidagi ilmiy-texnik taratstsiyotni tezlashtirishdagi roli; •S gibridomalar olish texnologiyasi va uning yutsorida keltirib o'tilgan mahsulotlarni ishlab chitsarishda tso'llashni hamda genetik muhandislikning istiqbollari hatsida anits bilimlarni o'zlashtirishdan iborat. Ushbu fanning asosiy vazifasi zamonaviy gen muhandisligi yututlarini xalts xujaligi amaliyotida keng ko'lamda tso'llashdan iborat.

1. Xujayra darajasidagi genetik muhandislik - ikki hujayranio'zaro qo'shish yo'li bilan amalga oshiriladi.

2. Xromosoma darajasidagi genetik muhandislik -hujayra yadrosiga qo'shimcha xromosomalar kiritish ortsali amalga oshiriladi.

3. Gen darajasidagi genetik muhandislik yoki gen muhandisligi – engmurakkab bo'lib, tsuyidagi bostsichlar asosida amalga oshiriladi:

a. anik matssaddan kelib chiqqan holda, shu matssadga javobberaoladigan gen, uning funksiyasini o'rganish orqali tsidiribtopiladi, ajratib olinadi, klonlanadi va tuzilish o'rganiladi.

b. ajratib olingan gen xromosoma DNK si bilan rekombinatsiyalanuvchi biror fag genomi, transpozon yoki plazmida DNK si bilan biriktirilib vektor konstruktsiya yaratiladi.

s. vektor konstruktsiya transformatsiya usuli bilan hujayragakiritiladi va transgen hujayra olinadi. Transgen hujayradan sun'iy ravishda yetuk organizm o'stiriladi. Ushbu usuldan foydalanib o'simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayralaridan transgen shakllar olish mumkin. Hujayra muhandisligi usullaridan foydalanib, tirik organizmlardan gibrid hujayralar olish biotexnologiyasi yaratildi va bu asosida monoklonal antitelalar olish yo'lga qo'yildi.

Tirik organizmda oldindan mavjud qolip asosida yangi DNK molekulasi yaratilishi nuklein kislotalarining sintezlanish yo'lidir. Mavjud DNK molekulasi nusxa olish replikasi deb ataladi. Replikatsiya jarayoni DNK-polimeraza I, II, III, DNK-ligaza yordamida amalga oshadi. Ger-qo'sil yordamida DNK qo'sh zanjiri ajraladi va DNK ga bo'lanadigan oqsil molekulari yordamida DNK ning ajralgan zanjirlari turli holatda saqlanib turiladi.

DNK-polimeraza III fermenti DNK ning 3' uchidan 5' uchigacha DNK ning bitta zanjirini to'la sintez qilish qobiliyatiga ega. DNK sintezi faqat DNK ning 3' uchidan 5' uchiga qarab borishi tufayli DNK ning ikkinchi zanjiri primaza, DNK-polimeraza I va DNK-ligaza fermentlari yordamida amalga oshadi.

Primaza (revertaza) fermenti yordamida DNK ning ikkinchi zanjirini sintezi uchun primer sintez qilinadi va DNK-polimeraza III fermenti yordamida primer nukleotidlar ketma-ketligidan DNK sintez boshlanadi va DNK-polimeraza I fermenti yordamida bu nukleotidlar ketma-ketligi bir oz uzaytiriladi. Ko'plab hosil bo'lgan DNK fragmentlari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. Bu jarayon DNK ning ikkinchi zanjiri to'la sintez bo'lguncha davom etadi. Yangi DNK zanjiri tayyor DNK ning nusxasiga, matritsasiga qarab tuziladi. Bujarayonda matritsa vazifasini DNK qo'sh zanjirining bir ipi bajaradi.

RNK sintezi jarayoni transkripsiya deb ataladi. Xar uchala tipdagi RNK sintezi turli tipdagi RNK-polimeraza (RNK-polimeraza I, II, III) fermentlari yordamida amalga oshiriladi. rRNK sintezi RNK-polimeraza I fermenti, iRNK RNK-polimeraza II fermenti va tRNK hamda kichik o'lchamli yadro RNK si molekulalari RNK-polimeraza III fermenti yordamida amalga oshiriladi.

Hamma RNK molekulalari sintezi uchun DNK ning bitta ipi matritsa vazifasini o'taydi. Oqsil sintezi ribosomalarda o'tadi. Ribosoma hujayra metabolizmi uchun zarur bo'lgan oqsillar sintezini DNK dan olingan inshakltsiya asosida kodlash mexanizmiga muvofiq amalga oshiradi (4-chizma). Transkripsiya Translyatsiya 8-chizma.

Biologiyaning asosiy qonuniyati DNK zanjiridan olingan iRNK nukleotidlar tartibi shaklidagi xabarot ribosoma yordamida oqsil molekulasi amini kislotalar tartibiga ko'chiriladi. Oqsil sintezi jarayoni translyatsiya deb ataladi.

Nukleinkislotalarda har bir aminokislotalarni taniydigan va tanlabbiriktirib olib tashishda vositachilik qiladigan birin-ketin uchtanukleotidlar kombinatsiyasi mavjudki, bu o'z navbatida aminokislotakodi, oqsil kodi, kodon, keng ma'noda genetik kod deb yuritiladi.

Oqsil molekulasiga kiradigan aminokislotalar 20 ta bo'lganligi uchun kodonlar soni ham 20 dan kam bo'lishi mumkin emas. Bunda hosil bo'ladigan kombinatsiyalar soni $4^3 = 64$, kodlanadigan aminokislotalar sonidan ancha ko'p. Nima uchun degan savol tufiladi? Ma'lum bo'lishicha, 20 ta aminokislotadan 18 tasi bittadan ortiq, ya'ni 2 ta, 3 ta, 4 ta va 6 ta kodon bilan kodlana olar ekan.

Bundan tashqari, uchta kodon UAA, UAG, UGA aminokislotalarni kodlay olmaydiganlar va ularni paydo bo'lishi polipeptid zanjirining tugaganidan darak beradi. SHuning uchun ham ular atamaatorlar «tugatuvchilar» deb ataladi. Poliribosomalarda oqsil sintezi iRNKning 5' oxiridan boshlanib 3' oxirida tugaydi.

Oqsil sintezi tugagach iRNK ribosomadan ajralibchiqadi va ribosoma ikkita subparchalarga ajratiladi. Mutatsiya jarayoni va DNK reparatsiyasi DNK molekulasi strukturasi tashtsi nomutsobil omshlarta'sirida o'zgarishi mutatsiya deyiladi. Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasida irsiy axborot o'zgaradi va organizmning mo'tadil holatda yashashiga keskin ta'sir ko'rsatadi.

Tirik organizmning mutant shakllari vujudga keladi. Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasini asl holatiga qaytish jarayoni- DNK reparatsiyasi deyiladi. Reparatsiya jarayoni DNKaza, DNK-polimeraza II va DNK-ligaza fermentlari ishtirokida amalga oshiriladi.

Savollar:

1. Bu fermentlar tizimiyordamida DNK strukturasi qanday holatiga qaytadi?
2. DNK replikatsiyasi deb nimaga aytiladi?
3. Mutatsiya jarayoni xaqida tushuncha bering?
4. Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasining irsiy axborotga qanday ta'sir qiladi.
5. Uchta kodon UAA, UAG, UGA qanday vazifani bajaradi?
6. Reparatsiya jarayoninimalar ishtirokida amalga oshiriladi?

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

O'QUV MATRIALLARI
15-Ma'ruza

TRANSFORMATSIYA QILINGAN TO'QIMALARNI
REGENERATSIYASI VA SELEKTSIYASI.

Ma'ruza rejasi:

1. Ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni o'stirish
2. Eksplantlardan kallus to'qimasi kulturalarini olish
3. Regeneratsiya va transgen o'simlik

Kalit so'zlar: Skrining marker, test, regeneratsiya, transgen, o'simlik, molekulyar, genetik, ekspressiya, tahlili, fitotron, mikro-tashuvchi, qoplama, tayyorlash, ballistik, DNK ko'chirish.

Ajratilgan to'qimalar kulturasi odatda kallusli yoki shish (juda kam holatda) to'qima bo'lishi mumkin. Kallusli kultura tabaqalashmagan dedifferentsirovanny) hujayralardan tashkil topgan, tartibsiz to'qimalardir. Keyinroq ular kallusliga ixtisoslashadi, ya'ni o'ziga xos ravishda tabaqalashadi.

Kallus - degani qadoq (qotib qolgan) degan ma'noni anglatib, *in vitro* sharoitida alohida olingan to'qimalarni (eksplantlar) bir qismida va butun o'simlikni bir qismida (shikastlanganda) paydo bo'lishi mumkin. *In vitro* sharoitida kallus to'qima, asosan oq yoki sariqroq, juda ham kam holatlarda och-yashil rangda bo'ladi. Kallus hujayralar qariganda, to'qqo'nfir rangga kiradilar, bunga sabab ularda fenol birikmalarini to'planishi bilan bo'liq.

Vaqt o'tishi bilan fenollar oksidlanib, linonga aylanadilar. Ulardan qutulish maqsadida ozuqa muhitiga antioksidantlar qo'shiladi.

Kallus to'qimalar amorf bo'lib, ma'lum bir anatomik tuzilishga ega maslar, ammo kelib – chiqishi va o'stirish sharoitiga qarab har xil konsistentsiyaga (suyuq - quyuq va h.k) ega bo'ladilar:

Birinchi – uvalanib ketadigan, po'k holatda kichik agregatlarga yengil maydalanib ketadigan, kuchli suvlangan hujayralar;

Ikkinchi – o'rta zichli yaxshi namoyon bo'lib turadigan meristemaali o'choqlar;

Uchinchi – zich holatda, unda kambiy (o'simlik pso'tlori tagidagi bo'linuvchan hujayralar) elementlari va o'tkazuvchi tizim tabaqalashgan differentsiatsiya) holatda uchraydi.

O'simlik hujayrasini tabaqasizlanishi va uni kallusga aylaniishi uchun shart bo'lgan sharoit-bu ozuqa muhiti tarkibida ikki fitogormonlarni ya'ni auksinlar va tsitokininlarni bo'lishidir. Auksinlar hujayralarni tabaqasizlanishini (dedifferentsiatsiya) chaqirib, ularni bo'linishga tayyorlaydi, tsitokininlar tabaqasizlangan hujayralarni bo'linishiga (trolifortsiya) olib keladi.

Agar tarkibida gormon saqlamagan ozuqa muhitiga poya, barg yoki ildizni bir qismini tiqib qo'yilsa, hujayralarni bo'linishi amalga oshmaydi va kallus to'qima hosil bo'lmaydi. Bu tabaqalashgan hujayralarni bo'linaolmasligi bilan borliqdir (3.1-rasm).

Oxirgi bosqichni (fazani) xarakterli tomoni - hujayrani ikkilamchi qobirini qalinlashuvi va hujayrani bo'linishga bo'lgan qobiliyatini yo'qotishidir. Differentsiatsiyaga uchragan hujayralar yana qaytadan bo'linish qobiliyatiga ega bo'lishi uchun, ularni dedifferentsiatsiya bo'lishi shart, ya'ni hujayra xuddi meristema holatiga qaytishi kerak. Tabaqalangan hujayralarni ko'paytirish tartibsiz, anarxiya shaklida o'sishga olib keladi va oqibatda kallus to'qima hosil bo'ladi.

SHunday qilib, ixtisoslashgan hujayralarni kallus to'qimalarga aylanishi hujayra bo'linishini kuchaytirish bilan borliq bo'lib, tabaqalash jarayonida, hujayra bo'linish qobiliyatini yo'qotadi. Xar bir hujayraning o'sishi uch bosqichda o'tadi:

bo'linish;

cho'zilish;

tabaqalanishi (differentirovka).

Ozuqa muhiti tarkibida tsitokininlarni bo'lmasligi tamaki o'simligini o'zak qatlami parenximasida hujayra tsiklini to'sib qo'yadi. SHuning uchun ham agar ozuqa muhiti tarkibida faqatgina auksin bo'lsa, hujayra bo'linmaydi va to'rt kunlik davrdan keyin cho'zilib, o'sishga o'tadi.

Auksinlarsiz, faqat tsitokininlarni o'zlari ham gormon saqlamagan ozuqa muhitiga o'xshab, o'simlikni qarishiga olib keladi. Tamaki o'simligi misolida keltirilgan dalillar

Turli xil

eksplantlardan kallusto'qimasi kulturalariniolish:

1-gulbarg;

2-barg;

3-poyaning bir qismi;

4-gul changi;

5-ildiz.

birta gormon saqlagan ozuqa muhitida kallusli to'qima hosil bo'lishini barchasini tushuntira olmaydi. Bunga zid bo'lgan misollar ham bor. Masalan, burdoyni yetilmagan kurtaklarida tsitokininsiz 2,4-D saqlagan ozuqada kallus hosil bo'lishi yoki kungaboqarni uruf pallasida tsitokinin saqlagan, auksin saqlamagan ozuqada kallus hosil bo'lishi va h.k. Kuzatiladigan natijalar ko'proq endogen gormonlarga, aniqrofi u yoki bu eksplantni hujayrasida saqlanadigan gormonlar bilan ya'ni hujayrani gormonal statusi bilan borliq ekanligi isbotlangan.

Xujayra biotexnologiyasi – hujayra, to'qima va protoplastlarni ishlatishga asoslanadi. Xujayralarni *manipulyatsiya* (faoliyatiga qandaydir o'zgarishlar kiritish) **qilish** uchun, ularni o'simlikdan ajratib olish, o'simlik organizmidan tashqarida yashashi va ko'payishi uchun sharoit turdirib berish lozim. Ajratib olingan hujayra va to'qimalarni sun'iy ozuqa muhitida, steril sharoitda (*in vitro*) o'stirish, usuli *ajratilgan*

to‘qimalar kulturasida deb nom oldi va ularni biotexnologiyada ishlatish mumkinligi sababli, katta ahamiyat kasb etdi.

Ajratib olingan hujayralar va to‘qimalarni o‘stirish uchun mo‘ljallangan ozuqa muhitlari o‘simliklarni yaxshi o‘sishi uchun kerak bo‘lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kaltsiy, magniy, oltingugurt va boshqalar) va mikroelementlar (bor, manganets, rux, mis, molibden va boshqalar) hamda vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularni sintetik analoglarini saqlashi kerak. Ba’zi ozuqa muhitlari aminokislotalar, kazein gidrolizati, EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uni natriyli tuzi (bu tuz temirni hujayraga kirishiga yordam beradi) va boshqa kerakli moddalar saklaydi.

Ozuqa muhitlari qattiq (agarli) hamda suyuqlik shaklida o‘simlik turlariga mos ravishda tayyorlanadi. Qattiq muhitlar tayyorlashda agar-agar, ya’ni dengiz o‘tlaridan olinadigan polisaxarid qo‘shiladi. Bunda agarning 58 % eritmasi tayyorlanadi.

Kukun xolatidagi ozuqalar ko‘pincha mikroorganizmlarni differentsiatsiyalashda, odatda standart sifatida qo‘llaniladi. Ozuqa muhitlari tarkibi o‘stirilishi kerak bo‘lgan xar bir o‘simlik va xayvon hujayra, to‘qimalariga mos qilib tanlanadi. Asosan organizmlarni ko‘paytirishda Murasige-Skug, Gamborg, Xeller muhitlari qo‘llaniladi.

- Ozuqa muhitlari tarkibini 6 ta asosiy komponentlari tashkil qiladi: 1. makroelementlar;
2. mikroelementlar;
 3. temir manbai (xelat shaklida);
 4. vitaminlar;
 5. uglerod manbai;
 6. fitogormonlar.

Makro- va mikromineral tuzlar ozuqa muhitining asosini tashkil etadi: azotli birikmalar - nitratlar, nitritlar, ammoniy tuzlari; fosfor - fosfat tuzlari; oltingugurt - sulfatlari shaklida hamda suvda eruvchan K^+ , Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} tuzlari;

Temir xelat shaklida EDTA (etilendiamintetrauksusnaya kislota) bilan birgalikda o‘simlik qzlashtirishi uchun qulay shakilda qo‘llaniladi.

Vitaminlar: biologik katalizatorlar – V guruxi (V1, V6, V12), S (askorbin kislota), RR (nikotin kislota).

Uglevodlar: saxaroza, glyukoza, fruktoza (20-60 g/l)

Fitogormonlar: auksinlar (IUK, NUK), tsitokininlar (kinetin, zeatin, mochevina), gibberellinlar (giberrell kislota).

Kallus to‘qima olish uchun, aloxida xollarda ozuqa muhitiga kokos yongogini (kakos suti), kashtan daraxtini endospermasini kushiladi. Karbon suvlar ozuqa uchun

eng kerakli komponentlar hisoblanadi. Bunga sabab, ko‘p xollarda ajratib olingan hujayra va to‘qimalarni avtotrof oziqlanishga qurlari yetmaydi. Karbon suv sifatida ko‘prok 2-3 % li saxaroza yoki glyukoza eritmasidan foydalaniladi.

Fitogormonlar hujayralarni tabaqalanishi(*dedifferentsirovka* va hujayra bo‘linishini kuchaytirish(*induktsiya*) uchun kerak. SHuning uchun xam kallusli to‘qimalar olish uchun mo‘ljallangan ozuqa muhiti tarkibida albatta *auksinlar* (hujayra bo‘linishini kuchaytiruvchi) bo‘lishi shart. Poya morfogenezi induktsiya qilishda muhit tarkibidagi auksinlar miqdorini kamaytirish yoki butunlay olib tashlash mumkin.

Gormon saqlamaydigan ozuqa muhitida shish va “o‘rgangan” to‘qimalar o‘sadi. Xar ikki gurux gormonlariga yoki ulardan birortasiga avtonomlik, bu hujayralarni uzlarini gormon sintez qilish xususiyati bilan bo‘lik.

Auksin manbai sifatida ozuqa muhitiga 2,4-dixlorfenoksi sirka kislota (2,4-D), indolil-3-sirka kislota (IUK), L-naftil sirka kislota (NUK) qo‘shiladi. YAxshi o‘suvi kallus olish uchun ko‘proq 2,4-D dan foydalaniladi, chunki IUK, 2,4-D ga nisbatan 30 marotaba kuchsizdir.

Sun‘iy ozuqa muhitiga qo‘shish uchun, tsitokinin manbai sifatida, kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin ishlatiladi. 6-BAP va zeatin ajratilgan to‘qimalarni o‘shiga organogenezi induktsiyasiga kinetinga nisbatan faolroq ta’sir ko‘rsatadi. Ba’zi bir ozuqa muhitlar tarkibiga adenin xam qo‘shiladi.

Savollar:

1. Xujayra biotexnologiyasi deb nimaga aytiladi?
2. Xujayra organoidlari qanday ishlatiladi?
3. Ozuqa muhitlari tarkibini nechta komponentlari tashkil qiladi?
4. Xujayra organoidlari bilan ishlashda nimalar talab etiladi?

O'QUV MATRIALLARI

16-Ma'ruza

**KALLUSNI KO'CHIRISH VA SELEKTSIYA
SKRINING QILISH.**

Ma'ruza rejasi

1. Regeneratsiya va kalluslarni ko'chirish
2. O'simliklarni ajratib olingan to'qimalarini o'stirish uchun ishlatiladigan ozuqa muhitlarini tarkibi
3. Kallus kulturalarni o'stirish

Kalit so'zlar: muhim, regeneratsiya, eksplant, kallus, to'qima, kultura, noyob, somoklonal, varian, takroriy, klonal, virus, gaploid, poliploid, embrio, germaplazma, daraja, nazariya, genetik, qobiliyat, bevosita, rivojlanish, to'liq, o'simlik, totipoten, totipotenlik, ekpressiya.

Muvaffiqiyatli biotexnologiyani yo'lga qo'yish uchun, o'simlikni takomillashitirishda muhim ketma-ketlikdagi samarali regeneratsiya usullari bo'lgan butun o'simlik eksplantlarni o'stirish yoki kallus to'qimalar kulturalaridan foydalaniladi.

Eksplantlar, kallus to'qimalar yoki yagona xujayralaridan yetuk o'simliklar olish o'simlik gen muhandisligida eng muhim hisoblanadi va xujayralarni tanlashda quyidagi noyob xususiyatlar; somoklonal variantlar, takroriy klonal ko'paytirish, virusdan holi o'simliklar, gaploid va yoki poliploid o'simliklar, embrion hosil qilishi, germaplazmada saqlanishi va boshqalar talab qilinadi.

Regeneratsiyalanishi yo'llari turli darajada bo'lishi ko'zatilgan. Bu nazariya barcha xujayralarning genetik qobiliyatini o'z ichiga oladi va ularni bevosita rivojlanish to'liq o'simlik ichida; ular totipoten hisoblanadi. Biroq, hamma xujayralarni ham totipotenlik ekpressiya qobiliyatiga ega deb bo'lmaydi.

Eksplantlar yuqori darajadagi farqli xujayralardan tarkib topgan bo'lib, ya'ni barg, poya, ildiz va gul to'qimalari kabi. Yetilmagan embrionlar, o'simlik meristemalari va boshqa meristema xujayralarining ildiz hosil qilish sistemasi farqlanmagan.

Jarahotlangan eksplantlar o'stirish uchun quyiladi va odatda jarohatlangan eksplant kallus to'qimalarini bo'linishi va o'sishini kuchaytiradi; jarahotlanish eksplantlarda dedifferentsiyalanishini yuzaga keltiradi Sugiyama (1999). Meristematik qismlar bir kallus to'qimalaridan rivojlanadi va novda, somatik embrion yoki ildiz shakllanishi qobiliyati tufayli organlarni hosil qiladi. Bu jarayon oraliq kallus bosqichi bo'lgani uchun bu bevosita organogenez deb hisoblanadi. Xujayra organoidlari bilan ishlashda asosan quyidagilar talab etiladi:

O‘simliklarni ajratib olingan to‘qimalarini o‘stirish uchun ishlatiladigan ozuqa muhitlarini tarkibi

Komponent	Ozuqa muhiti tarkibi. mg/l				
	Knudson S	Murashige	Harvais I A	Van Waes & Deberg	
				BM 1	BM 2
Ca(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	1000		400		
(NH ₄) ₂ SO ₄	500				
KN ₃		1900	200		
CaCl ₂ *2H ₂ O		440			
NH ₄ NO ₃		1650	400		
KH ₂ RO ₄	250	170	200	240	240
KCI			100		
MgSO ₄ *7H ₂ O	250	370	200	100	100
FeSO ₄ *7H ₂ O	25	27,95		27,95	27,95
Na ₂ EDTA		37,23		37,23	37,23
Temir xelati			5 ml		
CoCl ₂ *6H ₂ O		0,025	0,02		
ZnSO ₄ *7H ₂ O		8,6	0,5	10	10
H ₃ VO ₃		6,2	0,5	10	to
MgSO ₄ *4H ₂ O	7,5	22,3	0,5	25	25
CuSO ₄ *5H ₂ O		0,025	0,5	0,025	0,025
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O		0,25	0,04	0,25	0,25
KI		0,83	0,1		
Glitsin		2		2	2
Mezoinozit		100		1200	1200
Nikotin kislota		0,5	5	5	5
Tiamin		0,1	5	0,5	0,5
Piridoksin		0,5	0,5	0,5	0,5
Foliv kislota				0,5	0,5
Biotin				0,05	0,05
Kazein gidrolizati				500	500
L –glyutamin				100	100
6-BAP					0,2
Saxaroza	20000	30000		20000	20000
Kartoshka ekstrakti			100 ml		
Agar-agar	17500	10000	10000	6000	6000
pH	4,8-5,2	5,7	6,0-6,4	5,8	5,8

1. Ozuqa muhiti tayyorlash uchun maxsus joy;
2. Steril holatda ekishni amalga oshirish uchun steril bo‘lgan laminar-boks yoki maxsus germetik xona;
3. Kallus kulturalarni o‘stirish uchun doimo harorati

bir xil ushlab turiladigan maxsus xona yoki termostat;

4. Suspenzion hujayra kulturasi uchun mikrobiologik chayqalatgich (kachalka).

Ko'pchilik tadqiqotchilar ozuqa muhiti tayyorlash uchun alohida xonalar bo'lishi zarurligini ta'kidlashadi. Mobodo buning imkoni bo'lmagan hollarda, chinni va shisha idishlarning sterilligini taminlash zarur.

YAni xonadagi ba'zi bir asbob-uskunalarda changlar va turli xil moddalar bo'lmisligi, masalan: Petri chashkasi ustki qismida, tarozilar yoki pH-metr elektrodlarida kimyoviy moddalar qoldiqlari ozuqa muhitiga tushmasligiga imkon yaratish zarur.

Ekish amalga oshiriladigan xonalar va asbob-uskunalarining tozaligi, sterilligi tajriba ishlarini amalga oshirishda eng zarur manba hisoblanadi. YA'ni yaxshi steril, toza ishchi joyida tajriba ishlarini olib borish, maxsus asbob uskunalar izlashdan ko'ra qulayroqdir.

Ko'pchilik tadqiqotchilar oziqa muhiti tayyorlash uchun alohida xonalar bo'lishi zarurligini ta'kidlashadi. Mobodo buning imkoni bo'lmagan hollarda, chinni va shisha idishlarning sterilligini taminlash zarur.

YAni xonadagi ba'zi bir asbob-uskunalarda changlar va turli xil moddalar bo'lmisligi, masalan: Petri chashkasi ustki qismida, tarozilar yoki pH-metr elektrodlarida kimyoviy moddalar qoldiqlari ozuqa muhitiga tushmasligiga imkon yaratish zarur.

Savollar:

1. Xujayra organoidlari bilan ishlashda nimalar talab etiladi?
2. Ozuqa muhiti tayyorlash uchun qanday elementlar talab etiladi?
3. Steril holatda ekishni amalga oshirish uchun ishlatiladigan asboblari?
4. Kallus kulturalarni o'stirish uchun qanday omillar va ozuqa muhiti muxim.
5. Suspenzion hujayra kulturasi uchun eng ahamiyatli jarayonlar nimalardan iborat.
6. Xujayrani ekishni amalga oshirishda nimalarga ahamiyat berish kerak.
7. To'qimalarini *in vitro* sharoitida o'stirish uchun qanday ozuqa muhitlari ishlatiladi?

O‘QUV MATRIALLARI

17-Ma’ruza

**O‘SIMLIKLAR BIOTEXNOLOGIYASI MA’LUMOTLARNI TO‘PLASHVA
BOSHQARISH**

Ma’ruza rejasi

1. O‘simliklar biotexnologiyasi ma’lumotlarni to‘plash
2. Qishloq xo‘jaligida eng muhim o‘simliklarning transgen navlarini yaratish.
3. Zamonaviy biotexnologiya sohasida yetakchi AQSH va Farbiy YEvropa mamlakatlarida biotexnologiyani rivojlanishi.

Kalit so‘zlar: ma’lumot, to‘plash, boshqarish, baza, eksperiment, dizayni, analiz, sistema ta’siri, daraja, malaka.

Biotexnologiya bugunning o‘zidayoq katta iqtisodiy va ijtimoiy ahamiyat kasb etmoqda. Qo‘lingizdagi kitobning ushbu bo‘limining asosiy vazifasi, yo‘nalishning rivojlanish istiqbollarini tahlil qilib chiqish va yangi biotexnologiyani mexanizmlarini tavsiflashdan iborat.

Xozirgi davrda biotexnologiyaning yutuqlaridan quyidagi sohalarda foydalanish istiqbolli hisoblanadi: Oziq-ovqat sanoati, farmatsevtika, kimyoviy va neftigaz sanoati sohaslarida- yangi moddalarning biosintez va biotransformatsiyasi jarayonlarida, xossalari (xususiyatlari) oldindan belgilangan bakteriyalar, achitqi va mitselial zambururlarning transgen shtammlaridan foydalanish;

Qishloq xo‘jaligida – eng muhim o‘simliklarning transgen navlarini yaratish, o‘simliklarni himoya qiluvchi biologik vositalar, bakterial o‘fitlar, biogumus, tuproqni qayta tiklovchi vositalarda mikrobiologik tavsif;

CHorvachilikda – o‘simlik, mikroorganizmlar massalari va qishloq- xo‘jaligi chiqindilari asosida samarali oziq-ovqat moddalari tayyorlash, embriogenetik usullar asosida chorva mollarining yangi zotlarini yaratish;

Energetikada – mikrobiologik sintez va fotosintetik jarayonlarning yangi turlari asosida bioenergiyaning yangi manbalarini yaratish, biogaz tayyorlashda biomassaning biokonversiyasi;

Tibbiyotda – tibbiyot biopreparatlari, monoklonal antitellalar, diagnostika uchun preparatlar, Biotexnologiya asoslari 539 vaktsinalar, immunobiotexnologiyani rivojlanishiga xizmat qiluvchi raqobatbardosh biopreparatlar yaratish;

Ekologiyada – oqava suvlarni tozalovchi va agrosanoat chiqindilarini qayta ishlatadigan ekologik xavfsiz texnologiyalar yaratish, ekotizimini tuzish va h.k.

Oxirgi yillarda biologiya sohasida amalga oshgan inqilobiy o‘zgarishlar, biotexnologiyaning rivojlanishida ham katta rol o‘ynadi va uning yangi, istiqbolli yo‘nalishlarini ochilishiga, biologik jarayonlardan ishlab chiqarishda foydalanish chegaralarining kengayishiga olib keldi.

Bir so'z bilan aytganda "Zamonaviy biotexnologiya", - inson va hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning hujayra va to'qimalarini yoki ularning alohida qismlarini utilizatsiya (qayta ishlash, foydalanish) qilish maqsadida, biokimyo, mikrobiologiya, molekulyar biologiya va muhandislik fanlarining imkoniyatlarini ishlatish orqali paydo bo'lgan ilmiy va amaliy ahamiyatga ega bo'lgan istiqbolli yo'nalishdir. U oddiy sharoitda oson topiladigan va qayta tiklanadigan manbalardan, inson hayoti va sanoat uchun zarur va muhim bo'lgan moddalarni kam energiya sarf qilgan holda, ishlab chiqarish imkonini beradi.

"Zamonaviy biotexnologiya" deganda hozir bu sohaning ikki yirik yo'nalishi ko'zda tutiladi: - gen va hujayra muxandisligi. Darhaqiqat, bu ikki yo'nalish ushbu murakkab va ko'plab fanlar oralidagi texnologiyaning eng katta qismini tashkil qiladi va juda ham keng bo'lgan, ishlatilish imkoniyatlariga egadir.

O'tgan asrning oxirgi yigirma yillarida aynan mana shu sohada, biologik faol moddalar ishlab chiqarish bo'yicha katta muvaffaqiyatlarga erishildi. Eng avvalo, bu insulinning gen muxandislik preparatlari, insonni o'stirish gormoni, interferonlar, interleykinlar, eritropoetin, to'qima plazminogenlarining aktivatori, qator monoklonal antitellalar va vaktsinalar ishlab chiqarishning sanoat texnologiyasining yaratilganligidir.

Zamonaviy biotexnologiyaning usullaridan foydalanib, dorivor moddalar ishlab chiqarish bo'yicha ilmiy va amaliy ishlar AQSH, Yaponiya va Farbiy YEvropaning ba'zi mamlakatlarida faol olib borilmoqda. Bu mamlakatlarda biotexnologiyani rivojlantirish uchun ajratilgan mablaflarning uchdan ikki qismi sarflanmoqda. Bu mamlakatlarning deyarli barchasida, biotexnologik loyihalarni qo'llab-quvvatlovchi davlat dasturlari qabul qilingan va muhim fundamental tadqiqotlar hamda yangi biotexnologik maxsulotlarni xalq xo'jaligida foydalanish bo'yicha faol amaliy ishlar olib borilmoqda.

Zamonaviy biotexnologiya sohasida yetakchi mamlakat AQSH da fundamental va amaliy tadqiqotlarni olib borish maqsadida ko'plab ixtisoslashgan biotexnologik firmalar tashkil qilingan va ular Davlat hamda xususiy mablaflardan foydalanib, eng yirik mutaxassislarni jalb etib, qisqa muddatda tibbiyot uchun qator oqsil maxsulotlari ishlab chiqarish texnologiyalarini yaratishga erishdilar. Biotexnologiyaning rivojlanishi bo'yicha Yaponiya jahonda ikkinchi o'rinda turadi. Agar, biotexnologiyani an'anaviy sohalari – fermentlar, antibiotiklar, aminokislotlar ishlab chiqarish bo'yicha Yaponiya juda ham kuchli bo'lsa, zamonaviy biotexnologiya maxsulotlari yaratish sohasida, ularni rivojlantirishga kirishilgan.

Bu maqsadda Yaponiyaning rivojlanishi uchun an'anaviy yo'l tanlangan, ya'ni ilmiy-texnikaviy axborotdan amaliyotda foydalanish va gen muxandisligi texnologiyalari bo'yicha patent va litsenziyalarni va mikroorganizmlar shtammlarini chetdan sotib olish mo'ljallangan. SHuning bilan bir qatorda Yaponiyalik mutaxassislarni tez muddatda chet ellarda malakalarini oshirish ham universitetlar va sanoat firmalari laboratoriyalarida gen muxandisligi bo'yicha o'zlarining ilmiy va amaliy ishlarini kengaytirishga ham alohida e'tibor berilgan.

AKSH va Yaponiya qatori, biotexnologiya Farbiy YEvropa mamlakatlarida ham tezkorlik bilan rivojlanib bormoqda. Bu mamlakatlar yaqin kelajakda biotexnologik maxsulotlar bozorida katta ta'sirga ega bo'lishlari kutilmoqda.

AKSH ga o'xshab, Farbiy YEvropa mamlakatlarida ham o'tgan asrning 80-yillaridan boshlab, kichik biotexnologik firmalar soni keskin oshib ketdi. Ular, asosan avvallari fundamental tadqiqotlar olib borgan laboratoriyalar asosida tashkil etildi. Ulardan ko'pchiligi hozirgi vaqtda sanoat korporatsiyalari va moliya idoralari tomonidan moliyalashtirilgan yoki hukumat tomonidan moliyaviy muhofaza qilingan.

Buyuk Britaniyada ham biotexnologiyaning rivojlanishi ancha sezilarli darajada, ularda asrimizning boshiga kelib, shu sohada faoliyat ko'rsatuvchi 58 ta firma ro'yxatdan o'tkazilgan edi. Bunday firmalarning soni Frantsiyada 51 ta, Germaniyada 48 ta edi.

SHuningdek, biotexnologiya Gollandiya, Italiya, Daniya, SHvetsiya va boshqa mamlakatlarda ham juda tez sur'atlarda rivojlanib bormoqda.

Biotexnologik jarayonlardan foydalanish keyingi yillarda ayniqsa, Xitoy va Xindistonda o'ta darajada rivojlanib bormoqda. Ishchi kuchini, energiyani, suvni va boshqa kerakli omillarni YEvropa mamlakatlariga nisbatan arzonligi Osiyo mamlakatlarida qo'shma korxonalar yaratish imkonini yaratdi.

Biotexnologikusullarasosidadori- darmonlar (antibiotiklar, vitaminlar, organikislotalarvah.k.), ozuqaoqsillariishlabchiqarishyo'lgaqo'yilgan. Bu mamlakatlarda biologik gaz tayyorlash juda ham sifatli yo'lga qo'yilgan. Niyat qilamizki, mamlakatimizda ham biotexnologik jarayonlardan foydalanish tez orada kengroq yo'lga qo'yiladi

va jahon standartlari asosida rivojlangan davlatlardagi kabi ishlay boshlaydi. Buning uchun eng avvalo bilimdon insonlar, iqtisodchilar va yetuk malakali biotexnologlar.

Savollar:

1. Biotexnologik usullar asosida dori- darmonlar ishlab chiqarish
2. Biotexnologik firmalarning faoliyati
3. YAqin kelajakda biotexnologik maxsulotlar bozori xaqida ma'lumotlar
4. Zamonaviy biotexnologiya sohasida yetakchi mamlakat
5. Utilizatsiya va biotexnologiyaning o'zaro borliqligi.

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

O'QUV MATRIALLARI

18-Ma'ruza

KALLUS TO'QIMALAR KULTURASI

Ma'ruza rejasi:

1. Kallus to'qimalar kulturasini umumiy holati
2. Turli xil eksplantlardan kallus to'qimasi kulturalarini olish
3. Kallusli hujayralarni o'ziga xosligi

Kalit so'zlar: umumiy, holati, to'qima, kultura, kallusli, kultura, dedifferentsirovannyi, tartibsiz, ixtisoslash, ya'ni, o'ziga, eksplant, shikastlangan, paydo, bo'lish, in vitro, sharoit, oq, sariqroq, holat, och-yashil, rang.

Umumiy holati: Ajratilgan to'qimalar kulturasini odatda kallusli yoki shish (juda kam holatda) to'qima bo'lishi mumkin. Kallusli kultura tabaqalashmagan (dedifferentsirovannyi) hujayralardan tashkil topgan, tartibsiz to'qimalardir. Keyinroq ular kalluslarga ixtisoslashadi, ya'ni o'ziga xos ravishda tabaqalashadi.

Kallus-degani qadoq (qotib qolgan) degan ma'noni anglatib, in vitro sharoitida alohida olingan to'qimalarni (eksplantlar) bir qismida va butun o'simlikni bir qismida (shikastlanganda) paydo bo'lishi mumkin. in vitro sharoitida kallus to'qima, asosan oq yoki sariqroq, juda ham kam holatlarda och-yashil rangda bo'ladi. Kallus hujayralar qariganda, to'qqo'nfir rangga kiradilar, bunga sabab ularda fenol birikmalarini to'planishi bilan bog'liq. Vaqt o'tishi bilan fenollar oksidlanib, linonga aylanadilar. Ulardan qutulish maqsadida oziqa muhitiga antioksidantlar qo'shiladi. Kallus to'qimalar amorf bo'lib, ma'lum bir anatomik tuzilishga ega emaslar, ammo kelib-chiqishi va o'stirish sharoitiga qarab har xil konsistentsiyaga (suyuq - quyuq va h.k) ega bo'ladilar: 'r- Birinchi - uvalanib ketadigan, po'k holatda kichik agregatlarga yengil maydalanib ketadigan, kuchli suvlangan hujayralar; U Ikkinchi-o'rta zichli yaxili namoyon bo'lib turadigan meristemami o'chotlar; U Uchinchi-zich holatda, unda kambiy (o'simlik po'stlogi tagidagi bo'linuvchan hujayralar) elementlari va o'tkazuvchi tizim tabatsalashgan (differentiatsiya) holatda uchraydi.

O'simlik hujayrasini tabaqasizlanishi va uni kallusga aylaniishi uchun shart bo'lgan sharoit-bu oziqa muhiti tarkibida ikki fitogormonlarni ya'ni auksinlar va tsitokininlarni bo'lishidir. Auksinlar hujayralarni tabaqasizlanishini (dedifferentiatsiya) chakdrib, ularni bo'linishga tayyorlaydi, tsitokininlar tabaqasizlangan hujayralarni bo'linishiga (trollifortsiya) olib keladi. Agar tarkibida gormon saqlamagan oziqa muhitiga poya, barg yoki ildizni bir qismini tiqib qo'yilsa, hujayralarni bo'linishi amalga oshmaydi va kallus to'qima hosil bo'lmaydi. Bu tabaqalashgan hujayralarni bo'lina olmasligi bilan bog'liqdir (14-chizma). Oxirgi bosqichni xarakterli tomoni-xujayrani ikkilamchi qobigini qalinlashuvi va hujayrani bo'linishga bo'lgan qobiliyatini yo'qotishidir. Differentiatsiyaga uchragan hujayralar yana qaytadan bo'linish qobiliyatiga ega

bo'lishi uchun, ularni dedifferentsiatsiya bo'lishi shart, ya'ni hujayra xuddi meristema holatiga qaytishi kerak. Tabaqalangan hujayralarni ko'paytirish tartibsiz, anarxiya shaklida o'sishga olib keladi va oqibatda kallus to'qima hosil bo'ladi. SHunday qilib, ixtisoslashgan hujayralarni kallus to'qimalarga aylanishi hujayra bo'linishini kuchaytirish bilan bo'liq bo'lib, tabaqalash jarayonida, hujayra bo'linish qobiliyatini yo'qotadi.

Xar bir hujayraning o'sishi uch bosqichda o'tadi: > bo'linish; > cho'zgilish; > tabakalanishi (differentsirovka). Oziqa muxdti tarkibida tsitokininlarni bo'lmasligi tamaki o'simligini o'zak qatlami parenximasida hujayra halqasini to'sib qo'yadi. SHuning uchun ham agar oziqa muxdti tarkibida faqatgina auksin bo'lsa, hujayra bo'linmaydi va to'rt kunlik davrdan keyin cho'zilib, o'sishga o'tadi. Auksinlarsiz, faqat tsitokininlarni o'zlari ham gormon saqlamagan oziqa muhitiga o'xshab, o'simlikni qarishiga olib keladi.

Tamaki o'simligi misolida keltirilgan dalillar birta gormon saqlagan oziqa muhitida kallusli to'qima hosil bo'lishini barchasini tushuntira olmaydi. 14-chizma. Turli xil eksplantlardan kallus to'qimasi kulturalarini olish: **1-gulbarg; 2-barg; 3-poyaning bir qismi; 4-gul changi; 5-ildiz**. Bunga zid bo'lgan misollar ham bor. Masalan, burdoyni yetilmagan kurtaklarida tsitokininsiz 2,4-D saqlagan oziqada kallus hosil bo'lishi yoki kungaboqarni uruf pallasida tsitokinin saqlagan, auksin saqlamagan oziqada kallus hosil bo'lishi va h.k.

Kuzatiladigan natijalar ko'proq endogen gormonlarga, aniqrofi u yoki bu eksplan endogen gormonlarga, aniqrofi u yoki bu eksplantni hujayrasida saqlanadigan gormonlar bilan ya'ni hujayrani gormonal statusi bilan bo'liq ekanligi isbotlangan. Ba'zi bir olimlarni fikrlaricha, hujayrani bo'linishini auksin yoki tsitokinin emas, balki polisaxaridlar va boshqa qandaydir induktorlar chaqirishi va kallus hosil bo'lishiga olib kelishi mumkin. Apeksni asosiy qismida kallusli o'sishga o'tish jarayoni xujayra bo'linishini to'xtashi bilan boshlanadi. Lag - faza 24-28 soat davom etadi. Bu davr mobaynida hujayra kattalashib, to'qimalar shishadi.

Lag faza tugagandan keyin hujayra tez bo'linib, kallus to'qima hosil qiladi. SHunday qilib, agar ixtisoslashgan hujayralarni dedifferentsiatsiyasi, fitogormonlar ta'sirida bo'linishni kuchayishi (induksiyasi) bilan bo'liq bo'lsa, bo'linadigan meristemali hujayralarni dedifferentsiatsiyasi bo'linishi to'xtashi bilan hujayrani ixtisoslanishi va faqatgina undan keyin kallus hosil bo'lishiga olib keluvchi bo'linishni kuchayishi bilan bo'liq. Bir fitogormonning ta'sir samarasi, nishon to'qimani fiziologik tavsifiga qarab har xil bo'lishi mumkin. Xujayrani in vitro sharoitida differentsiatsiyalangan holatdan didefferentsiallangan holatga va hujayrani faol bo'linishga o'tishi, genlarni faolligini o'zgarishi bilan boshlanadi (epigenomli o'zgaruvchanlik). Bir genning faollashuvi va ikkinchisining repressiyaga uchrashi hujayradagi oqsil tarkibini o'zgarishiga olib keladi.

Kallusli hujayralarda o'ziga xos bo'lgan oqsillar paydo bo'ladi va bir vaqtning o'zida bargning fotosintez qiluvchi hujayralarida oqsillar miqdori pasayadi. Ikki pallali o'simliklarda didefferentsiallashgan genlarning repressiya va depressiya jarayonlari nisbatan oson o'tadi. Dedifferentsiallashgan hujayralarni kallus to'qimalar hosil bo'lishiga olib keluvchi tartibsiz ko'payishga o'tishi bilan

biokimyoviy va tsitologik o'zgarishlar sodir bo'ladi. Zaxdradagi moddalarni ishlatilishi va ixtisoslashgan hujayra organellalarini parchalanishi bilan dedifferentsiallashtirish boshlanadi. Dedifferentsiatsiyani induktsiyasidan 6-12 soat o'tgandan keyin hujayra qobiri ʻovaklashib shishadi, mustaqil ribosomalar soni ko'payib, Golji apparatda elementlari soni ham oshadi. Bu o'zgarishlar bo'linishdan oldin boshlanadi. O'stirishga qo'yishdan oldin, eksplantlar hujayrasining metabolizmida o'zgarishlar sodir bo'lishini, u esa dedifferentsiatsiya yoki travmatik sintez bilan bog'liq bo'lishini hisobga olib qo'yish zarur.

Bunday jarayonlarni ajratish maqsadida eksplantlarni gormonlar saqlamaydigan muhitda 3-6 sutka davomida preinkubatsiya qilish tavsiya etiladi. Kallusli hujayra o'zini rivojlanish halqasiga ega bo'lib, har qanday hujayrani rivojlanishini qaytaradi: bo'linish, cho'zilish va differentsiatsiya va undan keyin qarish va hujayrani o'lish davri. Kallusli differentsiatsiyani ikkilamchi deb atasa bo'ladi, ammo uni morfogenez asosida yotuvchi hujayralarni ikkilamchi differentsiatsiyasi bilan aralashtirib yubormaslik kerak. Kallus hujayralari nobud bo'lib qolmasligi uchun ularning bo'linishga bo'lgan qobiliyatlarini yo'qotmasliklari uchun, eksplantlarda paydo bo'lgan birlamchi kallus, 4-6 haftadan keyin yangi tayyorlangan oziqa muhitiga o'tkazib turiladi. Bu operatsiyani - passirlash deb ataladi. Uz vaqtida bu jarayon o'tkazib turilsa, kallus hujayralari o'n yillab o'z bo'linish xususiyatini yo'qotmasligi mumkin. Kallus hujayralarni o'sish chiziri 15-chizmadan ko'rinib turibdiki, S- simon shakliga ega, o'sishi besh fazdan iborat: 1-patent yoki lag-faza - davrida hujayra soni yoki ogirligi o'zgarmaydi. Hujayralar bu davrda bo'linishga tayyorgarlik ko'radilar. 2- logarifmik yoki eksponentsial o'sish fazasi- eng kup mitotik faollik bilan va kallus kulturani massasini oshishi hamda tezlik bilan o'sish kuzatilishi bilan xarakterlanadi. 3-to'g'ri chizitsli faza - bunda hujayralarni o'sish tezligi doimiydir. 4-o'sishni sekinlashuv fazasi boshlanadi - bu bostsichda hujayrani mitotik faolligi keskin pasayadi. 5- o'sish chizigi statsionar fazada bir tekis holatga keladi. Bu davrda hujayralar parchalanadi, ammo parchalanish, hujayra sonini oshishi bilan barobarlashadi; umuman olganda bu bostsichda, hujayra massasini ko'tarilishi nolga teng bo'ladi.

Statsionar fazadan keyin hujayralarni degradatsiyasi boshlanadi va bu davrda tirik hujayralarni soni va massasi tobora kamayib boraveradi. 51-chizma. Kallus to'qimalarini davriy o'stirganda o'sish bosqichining egri chiziri. O'sish bosqichlari: 1-latent; 2-logarifmik; 3-chiziqli; 4- sekinlashshd; 5-statsionar.

Savollar:

1. Kallus to'qimalarini davriy o'stirganda o'sish bosqichi qanday chizirdan iborat?
2. O'sish bosqichlari xaqida umumiy tushuncha
3. Kallusli differentsiatsiyani nima deb atasa bo'ladi?
4. Kaysi fazadan keyin hujayralarni degradatsiyasi boshlanadi?
5. Kallus hujayralarni o'sish chiziri qanday shaklga ega?

O'QUV MATRIALLARI

19-Ma'ruza

KALLUSLI XUJAYRALARNI O'ZIGA HOSLIGI

Ma'ruza rejasi:

1. Kallusli hujayralarni o'ziga xosligi
2. Gormonlarga bo'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari
3. Agrobacterium tumefaciens tomonidan chaqiriladigan shishlar

Kalit so'zlar: in vitro, sharoit, kallusli, hujayra, o'simlik, organizmi, oddiy, hujayra, xos, bo'lgan, fiziologik, bikimyoviy, xususiyat, saqlab, metabolit, sintez, tropik, subtropik, fotodavriylik, reaksiya, fitoxron.

O'simliklarni normal va kallusli to'qimalari uchun umumiylik yana qator belgilarda namoyon bo'ladi, xususan, yuqori haroratga chidamlilik, osmatik faol moddalarga, sho'rlanishga chidamlilik va h.k.

SHuning bilan birga, kallusli to'qimalarni normal to'qimalardan farqli tomonlari ham bor. Ularda spetsifik oqsillar paydo bo'ladi va umumiy oqsil miqdori, xususan bargda fotosintez jarayonida qatnashadigan oqsillar kamayadi yoki butunlay yo'qoladi. Kallusli hujayralar ulkan genetik geterogenligi va fiziologik sinxronlikni buzilganligi bilan farqqiladi. Organizm nazoratidan chiqqanligi sababli, kallusli hujayralarni o'sishi tartibsiz, sinxronsiz ravishda o'tadi va chegaralanmaydi. Bundan 65 yil avval R.Gotre tomonidan olingan sabzining kallusli hujayrasi, yangi oziqa muhitiga o'tkazib turish hisobidan hozirgacha yashab kelmoqda.

Ochiq tuproqda o'suvchi o'simlikga nisbatan, kallusli hujayralarni hujayra halqasi uzunroqdir. Kallusli hujayraning o'ziga xos tomonlaridan yana biri-ularni yoshini har xilligidir (geterogenligi). Kallus to'qima bir vaqtini o'zida yosh hujayralar (G- fazadagi), qari (G2) va S-fazalar ishtirok etadilar. Kallusli hujayralarni energiya almashinuvida ham ancha farq kuzatiladi. Ular, normal hujayralarga nisbatan kislorodni kam iste'mol qiladilar.

1938 yilda Romstorn bunday xususiyat meristematik hujayralarda ham borligini kuzatgan edi, demak bu xususiyat faol bo'linadigan hujayralar uchun xosdir. Kallus hujayralarni nafas olish koeffitsiyenti bir dan katta. Masalan no'xat kallus hujayrasida bu son 3,5 dan katta (A.V. Romanova, 1988).

Bu nafas olish bilan bijgish orasidagi nisbat, bijgishni kuchayish tomoniga surilganligini, ya'ni Paster effektini pasayishini ko'rsatadi. Paster effekti - deganda, bijgishning kislorod ishtirokida nafas olish bilan bosishni tushuniladi. Nafas olish substratlari o'zgarmagan sharoitda, nafas olish koeffitsiyentini ko'payishi, nafas olish bijgishni to'xtata olmayotganligini va hatto kislorodli sharoitda ham kallusli hujayralarda nafas olish bilan bir qatorda, uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi bijgish jarayoni sodir bo'layotganligidan xabar beradi. Tartibsiz o'sishda uglevorodlarni kislorodsiz parchalanishiga misol qilib, bo'linadigan

hujayralarda etil spirtini to'planishini ko'rsatish mumkin. Ilmiy adabiyotlarda bunday misollarni ko'plab topsa bo'ladi.

Kallus hujayralarni mitoxondriyalari, meristema hujayralarga o'xshab, juda past rivojlangan, ularda kristlar kam, bu esa aerob nafas olishga ta'sir ko'rsatmasdan qolmaydi.

Paster effektini buzilishi ko'proq hayvonlarni shish hujayralarida kuzatiladi. Bu xodisa Varburg tomonidan aniqlangan bo'lsada hozirgacha aniq tushuntirib olinganicha yo'q. Paster effektini buzilishi oqibatida kelib chiqadigan anaerob glikoliz (uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi), kislorod ishtirokida shishli hujayralarni uglevodlar iste'mol qilishini keskin (19 marotabagacha) shirib yuboradi.

Kallusli hujayralarda nafas olish xarakterini o'zgarishi bilan bir qatorda uglevodlarni kislorodsiz sharoitda parchalanishi kuchayadi, ya'ni bo'linadigan hujayralar uchun zarur bo'lgan, pentoza fosfat yo'li tomon siljish namoyon bo'ladi.

Gormonlarga bo'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari. Kallusli hujayralar faqat oziqa muhiti tarkibida gormonlar bo'lgandagina bo'linadilar. Ammo uzoq muddatda o'stirilganda, ba'zan ular gormonsiz muhitda ham o'sish xususiyatiga ega bo'ladi, ya'ni auksin va tsitokininlarga nisbatan avtonom bo'lib qoladi. Ba'zan «moslashgan» hujayralar tomonidan yaratilgan to'qimalarni kimyoviy shishlar ham deb yuritiladi. «Moslashgan» to'qimalar, shish to'qimalariga o'xshab, ko'p holatlarda normal regeneratsiya bo'la olmaydilar va faqat teratomlar hosil qiladilar.

Ilmiy adabiyotlarda juda kam bo'lsada, ulardan normal regenerantlar hosil bo'lganligi haqida axborotlar bor. SHuni ham eslab qolish zarurki, barcha kallusli to'qimalarda, o'stirish jarayonida, ba'zi bir kulturalarda 4-ekishdan keyinroq regeneratsiya bo'lgan xususiyat pasayib boradi, ba'zi vaqtlarda esa umuman. Yo'qoladi. Qari ko'chatlarda regenerant -simlik yaratish mumkin emas.

Xozircha «moslashuv» sabablarini aniq javobi yo'q. Balki, u hujayralarni tabaqasizlanmaydigan yoki faol proliferatsiya (hujayra va to'qimalarni ko'payishi yo'li bilan yangidan hosil bo'lishi) holatida ushlab turuvchi gormonlarni hujayraga uzoq muddatda ta'sir etishi bilan bo'liq bo'lsa kerak, degan taxminlar bor. «Moslashgan» to'qimalardan tashqari (kimyoviy shishlar), bakteriyalar va viruslar chaqiradigan o'simlik shishlari hamda har xil o'simliklarda turlararo gibridlarda paydo bo'ladigan genetik shishlar ham ma'lum.

Tabiatda keng tarqalgan va ilmiy izlanuvchilarda katta qiziqish uyg'otadigan shishlar-ikki pallali o'simliklarda agrobakteriyalar (**Agrobacterium tumefaciens**) tomonidan chaqiriladigan shishlar hisoblanadi.

Bundan tashqari o'simliklarda yana ikkita haqiqiy shishlar:- popuk ildiz (*Agrobacterium rhizogenes* chaqiradigan kasallik) va poyali gall (*A.gibb* chaqiradi) uchraydi. O'simliklarni «moslashgan» va shish to'qimalarini umumiy xususiyati ularni gormonga ehtiyojsizligidir, boshqacha aytganda har ikkala to'qima ham gormon saqlamagan muhitda o'sa oladilar. Bu xususiyat ularning kallusli to'qimalardan farqli tomonidir. Ma'lumki, kallusli to'qimalarni tabaqalashmaganligi va proliferatsiyasi uchun oziqa muxdti tarkibida gormon

saqlashi shart. «Moslashgan» to'qimalarda xudtsi shish to'qimalarga o'xshab, o'z gormonlari sintez bo'ladi, shuning uchun ham ular gormonga muhtojlik sezmaydilar.

Gormonga tobe bo'lmagan to'qimalar tashqi ko'rinishidan kallusli to'qimalardan farqqilmaydilar, ularni yagona farqi gormon sintez qilishi bilan namoyon bo'ladi. Bu xususiyati "moslashgan" shish xususiyati uchun umumiy bo'lsada, ularda bu vazifani yechish yo'li har xildir.

«Moslashgan» to'qimalarda gormonga tobe bo'lmalik, gormonlarni sintez qilishda ishtirok etuvchi fermentlar molekulasi sinteziga javobgar bo'lgan genlarni faolligini o'zgarishi natijasida sodir bo'ladi. SHunday qilib, ushbu holatda o'zgarish epigenomli xarakterga ega bo'lsada, mutatsiya imkoniyatlarini ham e'tibordan tashqarida qoldirmaslik kerak. «Moslashgan» hujayralarda o'zgarish epigenomli yoki genotipik asosga ega ekanligini aniqlash uchun hujayra-o'simlik-hujayra qatorida gormonga muhtoj bo'lmalik xususiyati saqlanib qolishi yoki qolmasligini nazorat qilish kerak.

Buning uchun «moslashgan» to'qimada regenerant olinib, keyin regeneratsiya qilingan o'simlikdan olingan eksplant butunlay gormonsiz yoki gormonlarni birortasi bo'lmagan muhitda hujayra bo'linsa, ya'ni gormondan avtonom bo'lsa, gormonga muhtojlik xususiyati avloddan-avlodga o'tadi, demak u genetik asosga ega deb aytish mumkin.

Agar gormonsiz muhitda hujayra bo'linmasa va kallusli to'qima paydo bo'lmasa, ya'ni gormonga muhtojlik nasldan-naslga o'tmasa, o'zgarishni epigenomli xarakterga egaligi haqida xulosa chiqarish mumkin. Ammo, bu yo'l bilan faqatgina regeneratsiya xususiyatini yo'qotgan «moslashgan» hujayralarni tekshirish mumkin, xolos. Ma'lumki, ko'pchilik «moslashgan» xujayralar regeneratsiyaga bo'lgan imkoniyatlarini yo'qotadilar, bu esa yuqoridagi usulni gormonga muhtojlik tabiatini aniqlashni qiyinlashtiradi.

SHish to'qimalarda gormonlarni sintezi - o'simlik o'tkazilishi bilan borliq. O'tgan asrni 40-yillarida F.Uaytning o'quvchisi, Braun koronchatogalli shish to'qima kulturasida agrobakteriya yo'qligida (ularniyuqori haroratda o'ldirilgandan keyin ham) ham shishlik xususiyatini saqlab qolishini kuzatgan edi. Gormon saqlamagan sun'iy oziqa muhitida, bakteriya saqlamagan koronchatli gall to'qimasi faol proliferatsiyani davom ettiraolgan.

Bu to'qimalar, oddiy to'qimaga qaraganda yuqori miqdorda auksinlar va bir necha tsitokininlar saqlaydilar. Uzi o'tkazgan tajribalar asosida Braun, o'simlik hujayralari *Agrobacterium tumefaciens* ta'siridan keyin qandaydir yo'l bilan shish hujayralarga aylanadilar - degan fikrga kelgan edi.

Agrobakteriyalar o'simlik hujayrasiga Tip (Tumor inducing principle) kiritadi, u esa 36 soatda oddiy hujayrani shish hujayraga aylantiradi deb taxmin qilingan edi. Keyinchalik Tip DNK ekanligi va agrobakteriyalarni katta plazmidasida saqlanishi aniqlandi va Ti - plazmida deb ataldi. Onkogen faollik bakteriya hujayrasidan Ti- plazmidani butunlay yoki uni ma'lum bir qismini ajratib olinganda yo'qolishi isbotlangan. 1977 yilda CHilton o'zini shogirdlari

bilan koronchatli gallni shishlari agrobakteriyalarni Ti- plazmidasini ma'lum qismini o'simlikni yadro DNK sig'a kiritish natijasida paydo bo'lishini isbotladilar. SHunday qilib, Ti-plazmidani sig'menti (t-DNK) xromosomaga integratsiya qilinadi va o'simlikni transformatsiyalangan (shish) xujayrasini irsiy apparatini bir qismi bo'lib xizmat qiladi.

Agrobakteriyalarni Ti-plazmidani t-DNKsini o'simliklar xromosomasiga integratsiyasi shish paydo bo'lishiga va shish hujayrasini sun'iy oziqa muhitida gormonga muhtojiz ravishda o'sishga olib keladi.

Bu har ikki hodisa bir biri bilan o'zaro uzviy bo'liq, chunki auksin va tsitokininlarni sintezini nazorat qilib turuvchi genlarni ekspressiyasi oqibatida gormonga muhtojisizlik kelib chiqadi va u hujayralarni tabaqasizlanishiga va proliferatsiyasiga olib keladi. Ti- plazmada o'simliklardagi yangi genlarni tabiiy vektori (tashuvchisi) bo'lib xizmat qiladi.

Agrobakteriyalar tomonidan induktsiya qilingan shish hujayralar tomonidan auksin va tsitokininlarni sintez bo'lish yo'li, normal va «moslashgan» hujayralarnikiga Karaganda boshqacharoq.

U oddiyroq va qisqa. Mutagenlar yordamida t-DNK molekulasida gormonal faollikni o'zgarishini nazorat qilib turuvchi qismni (uchastkani) aniqlash mumkin bo'ldi. SHishni o'sishi uchun bitta lokus emas, balki bir qator genlar javobgar ekanligi aniqlandi. t-DNK auksin va tsitokininlardan tashqari tabiatda uchramaydigan yangi sinf aminokislotalar galli (opinlar) sintezini boshqarishi ham aniqlandi.

Bu moddalar shish paydo bo'lishiga sabab bo'la olmaydilar, ammo, ular hosil bo'lgan shish to'qimalarida sintez bo'ladilar. SHish to'qimalar bir necha kunlik bo'lganlaridan keyingina opinlar sintezini boshlaydilar, masalan, kolanxoeda opinlar sintezi, shish induktsiyasi boshlangan kundan keyin 7-kunda boshlanadi. Opinlar-aminokislotalar, har xil ketokislotalar va shakarlarni hosilalaridir.

Ular yangi tipdagi biologik faol moddalar hisoblanadi va faqatgina o'simliklarni koronchatli galli to'qimalarida uchraydilar, shuning uchun ham ularni koronchatli gallarni biokimyoviy markyori sifatida qarash mumkin.

Agrobakteriyalarni bir shtammi oktopin sintez qiluvchi shishlarni induktsiya qilsa, boshqa shtammi nopalin sintez qiluvchisini induktsiya qiladi. SHunday qilib, agrobakteriyalar yordamida induktsiya bo'luvchi «moslashgan» va shish to'qimalarni birinchi umumiy xususiyati, gormon sintez qilish bilan bogliq bo'lgan gormonga muhtojisizlikdir.

Galli shishlarda bunday qobiliyat o'simliklarga bakteriyalarni begona genlarini kiritilishi oqibatida kelib chiqadi. Kimyoviy (moslashgan) shishlar hujayralarida bu xususiyat gormonlar sintezi uchun javobgar genlarni depressiyasi bilan bo'liq bo'lsa kerak deb taxmin qilinadi, ammo u mutatsiya bilan aloqador bo'lishi ham mumkin.

Agrobakteriyalar bilan induktsiya qilingan «moslashgan» va shish hujayralarni fertil o'simlikni regeneratsiya qilish qobiliyatini yo'qotishidir. Galli shishlar ko'pchilik holatlarda soflom o'simlik hosil qila olmaydilar. Ba'zida ular

teratomlar (xunuk, organlarga o'xshagan tuzilmalar) hosil qiladilar va normal rivojlana olmaydilar. «Moslashgan» to'qimalar ham odatda normal o'simlikga aylana olmaydilar, ularni hujayralari ikkilamchi differentsiatsiyaga va morfogenezga bo'lgan qobiliyatlarini yo'qotadilar. ba'zida, oziqa muxdti tarkibini o'zgartirish orqali, «moslashuv» chegarasini orqaga surish mumkin.

Demak, uzoqroq passaj qilingan kulturalar to'qimalaridan regeneratsiya qilaoladigan o'simlik olish imkoniyatlari ham yo'q emas.

Umumiy holati: Ajratilgan to'qimalar kulturasi odatda kallusli yoki shish (juda kam holatda) to'qima bo'lishi mumkin. Kallusli kultura tabaqalashmagan (dedifferentsirovanny) hujayralardan tashkil topgan, tartibsiz to'qimalardir. Keyinroq ular kallusliga ixtisoslashadi, ya'ni o'ziga xos ravishda tabaqalashadi. Kallus-degani qadoq (qotib qolgan) degan ma'noni anglatib, in vitro sharoitida alohida olingan to'qimalarni (eksplantlar) bir qismida va butun o'simlikni bir qismida (shikastlanganda) paydo bo'lishi mumkin. in vitro sharoitida kallus to'kima, asosan oq yoki sariqroq, juda ham kam holatlarda och-yashil rangda bo'ladi.

Savollar:

1. Kallusli hujayralarni xosil bo'lishi jarayonlari xaqida qisqachama'lumot?
2. Gormonlarga bo'liq bo'lmagan o'simlik to'qimalari xaqida nimalarni bilasiz?
3. Agrobacterium tumefaciens tomonidan chaqiriladigan shishlar va ularning axamiyati?
4. «Moslashuv» chegarasini deb nimaga aytiladi?
5. Galli shishlarniqanday o'simlik hosil qila olmaydi?.

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

O'QUV MATRIALLARI

20-Ma'ruza

XUJAYRA SUSPENZIYALARI KULTURASI

Ma'ruza rejasi:

- 1.Dastlabki eksplant yuzasida kallusli to'qima paydo bo'lishi.
- 2.YAgona hujayralar kulturasini
- 3.Suspension xujayralar kulturasini ishlatilishi

Kalit so'zlar:kallus, suyuq, oziqa, muhit, o'tkazib, avtomatik, aralashtirish, orqali, hujayra, suspenziya, olish, ferment, pektinaza, ferment, eksplant, to'qima, barg, poya, ildiz, ham, hujayra, suspenziya, tayyorlash, dastlab, eksplant, yuzasida, kallusli,agregat.

Kallusni suyuq oziqa muhitiga o'tkazib, avtomatik ravishda aralashtirish orkali hujayra suspenziyasi olish mumkin. Fermentlaryordamida, masalan, pektinaza fermenti yordamida to'ridan-to'ri eksplant to'qimalardan (barg, poya, ildiz va h.k) ham hujayra suspenziyasi tayyorlash mumkin.

Dastlab, eksplant yuzasida kallusli to'qima paydo bo'ladi, keyin undan hujayra va hujayra agregatlari ajraladi, oqibatda hujayra suspenziyasi olinadi. 100 ml hujayra suspenziyasi olish uchun 2-3 g kallusli to'qima kerak bo'ladi.

Xujayra suspenziyasini tayyorlash uchun eng zarur sharoit - bu doimiy ravishda aralashtirib yoki chayqatib turishdir. Agar hujayra suspenziyasi qimirlamay tursa, unning bo'linishi natijasida kallusli to'qimalar hosil bo'ladi.Suspension xujayralarni bo'linishi auksinlar va tsitokinlar, ya'ni kallus hujayralarni o'sishi va induktsiyasi uchun zarur bo'lgan gormonlar yordamida himoya qilib turiladi.

SHunday qilib, suspenziyalı hujayralar kallus hujayralarni o'zginasi bo'lib, ularda bunday hujayralarga xos bo'lgan barcha xususiyatlar namoyon bo'ladi.Suspensiya 2,4-D saqlagan muhitda hosil bo'ladigan po'kak hujayradan yaxshiroqhosil bo'ladi. Muhit tarkibidan kaltsiy olib tashlansa, suspenziya hosil bo'lishi yengillashadi.

Oziqaga pektinaza fermenti aralashtirilsa (bu ferment oziqa tarkibidagi alohida hujayralarni bir- biriga bo'rab turuvchi pekrat kaltsiyni parchalaydi) suspenziya yanada yengilroqhosil bo'ladi.Biotexnologiyada hujayra suspenziyasidan ikkilamchi metabolitlar olish maqsadida foydalaniladi. Ikkilamchi metabolitlarni ko'pchiligi dorivor moddalar xdsoblanadilar va hujayra biomassasini sanoat miqyosida ko'paytirish va hujayra selektsiyasida keng ishlatiladi. Bundan tashqari hujayra suspenziyasidan aloxdda protoplastlar olish uchun ham foydalaniladi.

Suspension kulturalardan ikkilamchi metabolitlar produtsiyenti sifatida foydalanilganda, davriy yoki oqava usulida ochiq yoki yopiq tizimda xujayralarni ko'paytirish usullari ishlatiladi.

YOpiq tizimda hujayra suspenziyasiga toza oziqa muhiti kiritilmaydi, tizimda doimiy rejimda o'stirilganda esa oziqa muhiti tozasiga almashtirib turiladi.

Davriy rejimda ham, oqava rejimda ham hujayralar ochiq tizimda, o'stirilganda ham, oziqa muhitida qoladi. Ammo, ochiq tizimda o'stirilganda, oziqa muxdti almashtirilganda (domiy yoki davriy rejimda) suspension hujayrani bir qismi muxdt bilan birga o'tadi.

Suspension hujayralar bilan ishlaganda ularni xarakteristikasini bilish shart: tirikligi, hujayralarni suspension kulturada ko'p yoki kamligi, agregatsiya darajasi, o'sish tezligi va h.k. Xujayralarni tirik yoki tirik emasligi ularni bo'yash (metilen yoki Evans ko'ki) orqali aniqlanadi. Tirik xujayralarni hujayra membranasi bo'yoqni o'tkazmasligi sababli bo'yalmaydi. O'lik hujayra qobiridan bo'yoq tez o'tadi va shuning uchun ham ko'k rangga bo'yaladi. Xujayra suspenziyasini asosiy ko'rsatgichlaridan biri, hujayra populyatsiyasini qalinligidir.

Xujayra soni Fuks-Rozental hisob kamerasida mikroskop ostida matseratsiyadan keyin (xujayralarni ajratilgandan keyin) aniqlanadi. Matseratsiya qiluvchi modda sifatida xrom kislotasini 10-20% li eritmasidan foydalaniladi.

Bu kislota, hujayralarni biriktirib turuvchi o'rtadagi plastinkani eritib (gidroliz qilib) yuboradi. YAxshi rivojlanuvchi suspenziya, kallusli kulturaga o'xshab, S- simon o'sish chiziriga ega. Odatda, passajni davomiyligi 14-16 kundan iborat. Bunda, suspenziya tarkibidagi hujayralar soni 1 ml da 5×10^4 dan 5×10^6 hujayragacha oshadi.

Xujayra sonini ko'payishi, ularni quruq va ho'l massasi- suspension kulturani asosiy o'sish kriteriyasini tashkil etadi. Suspenziyani sifati, xujayralarni agregatsiya darajasiga bo'liq. Agregatlar 10-12 hujayradan ko'p bo'lmasligi kerak. SHuning uchun ham yirikroq agregatlardan qutulish maqsadida suspenziyani doka, naylon yoki metal filtr dan o'tkaziladi. Bu operatsiya bir vaqttni o'zida eksplantlar qoldiridan yoki kallus to'qimalarni bo'lakchalaridan qutulish imkonini beradi.

Ikkilamchi sintez mahsulotlarini sanoat sharoitida olish uchunokatta hajmdagi (20m va undan ham kattaroq) fermentyorlardan foydalaniladi va hujayralar doimiy rejimda o'stiriladi.

Suyuqlikda o'stirishni eng ko'p tarqalgan rejimi hujayra suspenziyasini yopiq davriy tizimda o'stirishdir. Suspenziyani aeratsiyasi va aralashtirilishi uchun tebratgichlardan foydalaniladi. SHuningdek, bu maqsadda mexanik yoki magnit aralashtirgich o'rnatilgan fermentyorlardan, yoki barbatatsiya (havo yordamida aralashtirib turish) dan ham foydalansa bo'ladi.

Xujayra suspenziyasida qimmatbaho ikkilamchi metabolitlardan tashqari yangi ajoyib birikmalar: komptotetsin, xirringtonin kabi antikantserogenlar, har xil peptidlar (proteaza fermenti ingibitori, fitoviruslar ingibitorlari) va bopııa birikmalar sintez bo'lishi ham kuzatilgan.

SHuni aloxdda ta'kidlash lozimki, hujayralarni bo'linishi oqibatida hujayra biomassasini ko'payishi va ikkilamchi metabolitlarni sintez bo'lishi har xil vaqtga to'fri keladi.

Ikkilamchi metabolitlar sintez bo'lishini maksimum®, o'sishni statsionar fazasiga to'fri keladi. SHuni aloxdda ta'kidlash lozimki, hujayralarni bo'linishi oqibatida hujayra biomassasini ko'payishi va ikkilamchi metabolitlarni sintez bo'lishi har xil vaqtga to'fri keladi. Ikkilamchi metabolitlar sintez bo'lishini maksimum®, o'sishni statsionar fazasiga to'fri keladi.

Genetik va fiziologik izlanishlar hamda hujayra selektsiyasi amaliyotida ishlatish uchun alohida hujayralar juda katta ahamiyat kasb etadi. Klonning olinishi hamda yagona hujayra avlodini olinishi kallusli hujayralarni genetik bir xil emasligini sabablarini aniqlashga yordam beradi, chunki bu holatda kuzatishlar geterogen eksplant olingan tuqimalarda emas, balki alohida olingan hujayralarda olib boriladi.

Protoplastlardan ajratilgan yagona gibrid hujayra, keyingi bo'linishlarida gibrid hujayradan tashkil topgan klon yaratish imkonini beradi.

Bu esa izlanuvchilarni ishlarini yengillashtiradi, chunki ajratilgan protoplast kulturalarda gibrid bo'lmagan hujayralardan paydo bo'ladigan yangi hujayralarni alohida ajratish kabi mashaqqatli ishdan ozod qiladi.

Bundan tashqari alohida ajratib olingan hujayralarni protoplastlarini o'rganilganda, somatik gibridizatsiya jarayonining o'zini kuzatish ham yaxshiroq bo'ladi. Alohida hujayralar hujayra suspenziyalaridan, o'simlik to'qimalaridan, masalan barg mezofillidan uni fermentlar yordamida matseratsiya qilingandan keyin, alohida ajratib olingan protoplastlardan ularda hujayra qobifi paydo bo'lganidan keyin ajratib olinadi.

Bir hujayrali fraktsiya olish uchun ba'zida suspenzion kulturani kolbada 15-30 min. tindirib qo'yish kifoya bo'ladi. Bunda yirik agregatlar cho'kmaga tushadilar, ustki suyuqlikda esa faqat bir hujayrali kultura yoki kichik agregatlar bo'ladilar. Agar bu yo'l bilan bir hujayrali fraktsiya olish imkoniyati bo'lmasa, fermentlar yordamida matseratsiya qilish, saxaroza gradiyentida tsentrifuga qilish yoki har xil elaklardan o'tkazish usullaridan foydalaniladi.

Yagona hujayralarni o'stirishda biroz qiyinchiliklar seziladi, chunki alohida hujayra kallusli to'qima o'sgan sharoitda yaxshi bo'linmaydi. Yagona hujayralarni bo'linishiga majbur qiladigan maxsus usullar yaratilgan. 1960 yilda Djonson «enaga» usulini tadbiiq qilgan edi.

Bu usulda «enaga» funksiyasini bir qism kallusli to'qima bajaradi va u alohida hujayrani bo'linishiga majbur qiladi va uni alohida hujayradan filtr qogozida ajratib olinadi.

Bunday sharoitda («enaga» huzurida) alohida hujayra bo'linib, hujayrani individual koloniyasi - klon hosil qiladi. Boshqa bir usul juda kam miqdorda boy oziqa muhitida alohida hujayralarni Kuprak likobchasida (uni hajmi 20 mkl) mikrotomchida o'stirishga asoslangan. Bu metod akademik YU.YU.Gleyba tomonidan taklif qilingan.

Mikrotomchida somatik gibridizatsiya jarayonida yagona hujayrani olinishi va uni bo'linishini kuzatish juda ham kulay. YAgona xujayralarni bo'linishini kuchaytirish uchun «oziqlanadigan qavat»dan foydalanish mumkin. («Oziqlanadigan qavat»- yagona hujayra

YAgona hujayralar kulturasini. Olingan o'simlik turini faol bo'linuvchi hujayra suspenziyasi. Makkajuxorinish yagona hujayralari va ajratilganprotoplastlarini o'stirishda «enaga» sifatida suspenzion xujayralar kulturasini ishlatilishi:

- 1-xujayra koloniyalari;
- 2-filtr qo'roz;
- 3-alyumin elak;
- 4-penopoliuretan;
- 5-hujayra suspenziyasi

(By Dps Kuant, Z.B. SHamina,1985).Xujayrani bo'linishini muhitni konditsiya (me'yoriga yetkazish) ham tezlatadi, buning uchun muhitga tez bo'linadigan hujayra kulturasini uchun tanlangan oziqa qo'shiladi. Muhitni me'yoriga yetkazuvchi faktor hujayra suspenziyasining o'sish davrining eksponentsial fazasida bakterial filtrdan o'tkazish orqali olinadi.

Mohiyati bo'yicha yuqorida zikr etilgan barcha usullar ham bo'linadigan hujayralardan ajraladigan me'yoriga yetkazuvchi faktordan foydalanishga asoslangan. SHuningdek, bu modda taxminan 700 Dalton molekulyar o'irirligiga ega bo'lgan, pH 4-11 da mo'tadil modda ekanligi ham aniqlangan (Bellincampi, Morpurgo, 1987). SHunday qilib, bu modda toza kimyoviy modda bo'lmasdan, hujayradan ajraladigan faktorlar yigindisi bo'lsa ham ajab emas.

Savollar:

- 1.Eksplant yuzasida kallusli to'qima paydo bo'lishi nimalarga bo'liq?
- 2.YAgona hujayralar kulturasini deganda nimani tushinasiz?
- 3.Suspenzion xujayralar kulturasini deganda nimani tushinasiz?
- 4.Xujayralar qanday ahamiyatga ega?
- 5.Klonning muvofaqiyatli bo'lishi nimalarga bo'liq.

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

O'QUV MATRIALLARI

21-Ma'ruza

KALLUSLI TO'QIMALARDA MORFOGENEZ

Ma'ruza rejasi:

- 1.Xujayraning tabaqasiz rivojlanishi
- 2.Kallusli xujayralarni ikkilamchi differentsirovkasi
- 3.Poyani o'sishida gibberil kislotasini axamiyati

Kalit so'zlar:auksin, tsitokinin, ildiz, kallus, to'qima, tsitokinin, poya, novda, o'simlik, morfogenezi, to'qima, kultura, organogenezi.

Xujayraning rivojlanishini tabaqasizlangandan keyin o'tadigan bir necha yo'li ma'lum. Birinchi yo'l -bu butun o'simlikni tsayta regeneratsiyasi, balkim, hujayra, to'tsima, organlar darajasida tabatsalanish. Ikkinchi yo'l - hujayrani tsayta tabatsalanish xususiyatini yo'tsolishi va usimlikni regeneratsiyasi, mustahkam tabatsasizlanish, gormonsiz muhitda o'sish xususiyati, ya'ni shishga aylanish. Bunday xossalar eski (tsari) ko'chat kul'turalarga xos.

Uchinchi yo'l - kallusli hujayrani rivojlanishini tsarib, nobud bo'lishi bilan tugaydigan normal haltsasi. Bu holatda hujayra ikkilamchi tabatsalanishga uchraydi va bo'linishdan to'xtaydi (o'sishni statsionar fazasi). Ammo bunday tabatsalanish morfogenezga olibkelmaydi va unda tsarigan kallus hujayralari xossalarini mustahkamlaydi.

Kishloq xo'jaligi biotexnologiyasi uchun eng qiziqarlisi butun o'simlikni alohida hujayrasidan olingan to'qima kulturasini regeneratsiyasi hisoblanadi. Ba'zida bu yo'l alohida organlar hosil bo'lish orqali o'tadi. Kallusli to'qimalar kulturasida, morfogenezi deb, xujayralarni tashkil bo'lmagan massasidan to'laqonli strukturalar hosil bo'lishiga aytiladi.

Morfogenezni ikki asosiy yo'li ma'lum (16-chizma). To'qimalar kulturasini u organogenezi sifatida (monopolyar tuzilishini, ya'ni alohida organlarni hosil bo'lishi) ko'rish mumkin: ildiz, poya, kamroq floral (gulli) yoki bargli hamda somatik embriogenezi, ko'rinishida (somatik xujayralardan biftolyar kurtaksimon tuzilmalar holatida) ko'rinishi mumkin.

Organogenezda dastlab alohida organlar regeneratsiya bo'ladi, keyin esa ulardan butun o'simlik paydo bo'ladi. Ildiz organogenezi bundan mustasno. Somatik embriogenezi natijasida organogenezdan farqli o'laroq, ildiz meristemaasi hamda tepa qavat meristemaalariga ega bo'lgan kurtak hosil bo'ladi va undan keyinroq butun o'simlik o'sib chiqadi.

Kallus to'qima kulturasini morfogenezi tiplari. Alohida olingan somatik xujayralarni o'z rivojlanish dasturini to'liq bajara olishi va butun o'simlik organizmi

o'sib chiqishi uchun asos yaratib berish xususiyati, o'simlik hujayrasini totipotentligi deb ataladi. O'simlikni har qanday hujayrasi barcha kerakli genlar to'plamiga ega bo'lganligi sababli, bir xil potentsial imkoniyatlarga ega, demak, xujayra zigotaga xos bo'lgan rivojlanish dasturiga ega.

SHuninguchun ham agar gul bargi hujayrasidan yoki poyani o'zaksimon parenxima yoki har qanday hujayra to'qimalardan kallus olinganda, umuman hujayrani har qanday to'qimasidan butun o'simlik olish mumkin.

Ammo, totipotentlik xossalari hamma vaqt ham namoyon bo'lavermaydi, chunki har xil tipdagi xujaylarni potentsial imkoniyatlari bir xil namoyon bo'lavermaydi. Ulardan ba'zi birlarida genlar kuchli repressiya holatida bo'lalilar va shu sababli ham totipotentlikni namoyon bo'lishi chegaralangan bo'ladi. O'simlik hujayralarida totipotentlik goyasi birinchilardan bo'lib, 1902 yilda G.Xaberlant tomonidan ilgari surilgan bo'lsada, tajribalar bilan isbotlangan emas edi.

«Usimlikni har tsanday hujayrasi yangi organizm paydo bo'lishga asos bo'la oladi, fatsatgina o'simlik organizmi hujayrani rivojlanish potentsiyasini bosib qo'ygan holatdagina bunday bo'lmasligi mumkin» -degan edi Xaberlant. Usimlikdan xujayrani alohida ajratib olish mana shu potentsiyalarni namoyon bo'lishiga yordam beradi.

Morfogenezni xujayra asosini tsitodifferentsirovka tashkil qiladi. Usimlikni regeneratsiyasi xujayrani ikkilamchi tabaqalanishidan boshlanadi. Bunda, tabaqasizlangan hujayra boshqatdan ixtisoslashgan xujayrani strukturasi va funktsiyasini egallaydi. Kallusli xujayralarni ikkilamchi differentsirovkasi har doim ham o'simlikni regeneratsiyasi va morfogenez bilan tugallanavermaydi.

Ba'zida u faqat to'qima hosil bo'lishiga olib keladi, xolos (gistodifferentsiya). SHu yo'l bilan kallusli xujayra floemli yoki ksilemli elementlarga aylanishi mumkin. Ikkilamchi tabaqalanishga bopmqa bir misol bo'lib, tabaqasizlangan faol proferatsiya qiladigan xujayrani-eski (kari) bo'linmaydigan kallusli xujayraga aylanib qolishi xizmat qilish mumkin (rivojlanishni statsionar fazasi). Barcha ko'rinishdagi ikkilamchi tabaqalanishdan eng katta qiziqish uyotadigani, bu morfogenezdir, chunki u kallusli hujayradan butun o'simlik yaratish imkonini beradi.

Tabaqalanish va morfogenezni asosida har xil genlarni birin-ketin qo'shilishi yotadi, ya'ni xujayrani tabaqalanishi genlarni tabaqalashgan faolligi bilan aniqlanadi. Struktura genlarini faolligini o'zgarishi ularni derepressiyasi (uygonishi), repressiyasi yoki amplifikatsiyasi (ko'payishi) bilan bo'liq. Bu jarayonda fitogormonlar katta rol o'ynaydilar.

Kallusli to'qimalarni morfogenezni bopmgarish mumkin. O'simliklarni alohida ajratib olingan xujayralarini morfogenezga bo'lgan qobiliyatlariga ham ichki, ham tashqi faktorlar ta'sir ko'rsatadilar.

Ichki faktorlarga dastlabki o'simlikni qaysi turga mansubligi, eksplant olingan organ, eksplantning yoshi kiradi. Tashqi faktorlarga esa, eng avvalo oziqa muhiti tarkibi, harorat, yorufluk (uni intensivligi va fotodavrning uzunligi) kiradi.

Morfogenezni eng kuchli induktori-ozika muhiti tarkibiga kiruvchi. tsitokinin va auksinlarning o'zgarishi hisoblanadi. Buni stimul yoki morfogenezning signali deb ham yuritiladi. Auksinga nisbatan tsitokininlar miqtsori ko'proq bo'lganda, poya organogenezi boshlanadi, teskari bo'lganda esa (auksin tsitokininga nisbatan ko'proq bo'lganda) ildiz yaxshiroq rivojlanadi.

SHuni ham alohida ta'kidlash lozimki, kallusli to'qimalar kulturasidan hosil bo'lgan ildizdan hech qachon butun o'simlik hosil bo'lmaydi, poyali organogenezda esa dastlab novda hosil bo'ladi va uni ko'proq auksin saqlagan oziqa muhitlariga ko'chirib o'tkazilgandan keyin, o'zidan ildiz chiqaradi va butun o'simlik hosil qiladi. F. Skug va Y. E. Miller, 1957 yilda auksin va tsitokinin tipidagi fitogormonlarni balansidagi farq, bir tomondan hujayrani tabaqasizlangan va tashkil bo'lmagan proliferatsiyaga, ikkinchi tomondan esa, u yoki bu tipdagi morfogenezni ikkilamchi tabaqalanishini kuchayishiga olib kelishini ta'kidlab o'tgan edilar.

Demak, auksinlar va tsitokininlar, ularni bir-birlariga nisbatiga qarab, yoki tabaqasizlanishi va kallusli rivojlanishga o'tish yoki tabaqalanish va kallusli to'qimalar morfogenezini chaqirishi nafaqat o'sishni boshqarish balki differentsirovkani boshqarishga olib keladi. SHunday qilib, oziqa muhiti tarkibida:

VAuksin > tsitokinin = ildiz —> kallusli to'qima

TSitokinin > auksin = poya -> novda -> ildiz -> o'simlik

Agar organogenezni auksin yoki tsitokininlar yordamida kuchaytirish mumkin bulsa, somatik embriogenez- ekzogen fitogormonlarga umuman bogliq emas. Odatda embriogen zonalar kallusli to'qimalarda, kallus hosil qilish uchun ishlatilgan oziqa muhitida paydo bo'ladi.

Kallusli to'qimalarda somatik kurtaklarni rivojlanishi, oziqa muhitidan tabaqasizlantiruvchi faktor (2,4-D yoki bopиa auksinlar) olib tashlangandagina boshlanadi.

Usayotgan kurtak ekzogen gormonlarga muhtojlik sezmaydi, chunki uni o'zi gormon sintez qilish imkoniyatiga ega va o'zini-o'zi gormon bilan ta'minlay oladi. Somatik embriogenezni gormonga muhtojsizligi, Xaberlandt fikriga va keyinroq Stevard tomonidan ilgari surilgan «hujayrani ajratish jarayonini o'zi, ulardagi totipotentlikni namoyon bo'lishini kuchaytiradi, ya'ni morfogenezga o'tkazadi» degan fikriga argument bo'lib xizmat qiladi.

SHunday qilib, morfogenez uchun asosiy stimul bo'lib, oziqa muhit tarkibidagi gormonlarni bir-biriga nisbati va o'simlik hujayrasini organizmdan ajratib olish xizmat qiladi. Kallusli to'qimalar kulturasida morfogenezda qo'shimcha stimul bo'lib, oziqa muhiti tarkibiga qo'shilgan kumush nitrat, ammoniy nitrat, ba'zi-bir aminokislotalar (pronin, tirozin, ba'zida serin), poliaminlar (putrestsin va spermidin) xizmat qiladilar.

Ba'zi bir holatlarda morfogenez jarayonini manniy va sorbiy ham kuchaytiradi. NO₃ ionlari kallus to'qimalarda hosil bo'lgan tartibli strukturalarni rivojlanishiga ta'sir ko'rsatadi, ularni induktsiyasini esa 4 ioni kuchaytiradi.

Gibberil kislotasi poyani o'sishini kuchaytirsa, abstsiz kislotasi somatik kurtaklarni differentsiyasini kuchaytiradi. SHunisi qiziqarliki, yuqorida keltirilgan

moddalardan ba'zilar, masalan kumush nitrata, eski ko'chatlarni regeneratsiya xususiyatini uzaytiradi.

Morfogenezni kuchaytiruvchi u yoki bu ta'sir oqibatida kallusli xujayra deatamalgan holatiga o'tishi kerak bo'lsada, ularni 400-1000 dan bittasi regeneratsiya yo'liga o'tadilar xolos.

Demak, morfogenezga o'tish uchun induktorni bo'lishi yetarli emas, balki xujayra unga javob berishga tayyor bo'lishi kerak. Morfogenezni stimulini qabul qilish qobiliyati xujayrani kompetentligi deb ataladi. Olimlarni fikricha hujayrani kompetentligi tasadduf voqeylik, shuning uchun xam juda kam uchraydi.

SHu munosabati bilan o'zini kompetentsizligi tufayli morfogenez stimulini qabul qola olmaydigan kallusli xujayralar hayoti to'rtisida savol tugilishi muqarrar.

Ko'chatlarda bu xujayralar bo'linishda davom etadi va ko'proq gormonga muhtojlik yo'liga o'tib oladi. Ammo, kallus to'qimalarni hammasi ham o'zini rivojlanishini gormonga muhtojlik bilan tugatmaydi.

Morfogenezni yangi markerlarini izlab topish ishlari davom etmoqda. Meristemaatik o'choqhujayralari va embrioidli strukturalar hosil bo'lishiga bosh bo'ladigan hujayralar kallusli hujayralardan RNK va DNK sintezini kuchliligi bilan farqqiladi.

Bu esa oqsil almashinuvini o'ziga xosligi bilan bo'liq. Oqsil almashinuvini o'zgarishi, tabaqasizlangan hujayralarda o'tadigan jarayonlarga o'xshash bo'lsada, ularni nihoyasi har xil. R.G.Butenkoning fikricha, reaksiyani spetsifikligi (o'ziga xosligi), makromolekulalarni sintezini umuman kuchayishi bilan emas (bu proliferatsiyani kuchaytirish uchun zarur), balki mana shu umumiy fonda sodir bo'layotgan noyob sintezlar va boshqaruvchi tipga ega bo'lgan oqsillarni paydo bo'lishini shart qilib qo'yishi bilan bo'liq.

Kallusli kulturalar to'kimalarini morfogenezga o'tishi, nafas olish metabolizmini o'zgarishi bilan olib boriladi. Umuman nafas olish (SOg bo'yicha) kuchayadi, ammo uni xakteri pentozofosfat yo'lini kuchayishi tomon o'zgaradi. Nafas olish fermentlarini faolligi oshadi.

Biokimyoviy o'zgarishdan keyin, hujayrani strukturasida reorganizatsiya (qayta tuzilish) boshlanadi. Xujayrani biokimyoviy o'zgarishi uni tuzilishini o'zgarishidan oldin turadi.

Morfogenez yo'liga kirgan hujayralarda ribosomalar, mitoxondriyalar soni ko'payadi, ularni ichki tuzilishi o'zgaradi. Kallusli hujayralarda morfogenez jarayoni sinxronsiz o'tadi va uzoq davom etadi. Bir vaqtda kallusli to'qimalarda to'liq tuzilgan strukturalar hamda endigina bu yo'lga kirmoqchi bo'lgan hujayralarni ham kuzatish mumkin.

Meristemaatik uchoqni hujayralarini va globulyar proembrionni sintetik faolligini oshishi, ularni oziqa muhitidagi moddalar intiladigan attragir (oziqa muhitini fitogormonlar miqtsori ko'proq bo'lgan organga yo'llantiruvchi) markazga aylantirib qo'yadi. Bunday holatda atrofdagi kallusli hujayralar yemirilib, hosil bo'lgan embrioidlar kallusli hujayralar massasidan oson tushib ketadi.

Kallusli hujayralar bir-biri bilan plazmodesmalar orqali bo'flanmaydi. Murtaksimon tuzilmalar yoki meristemaatik o'choq paydo bo'lganda, hujayralar oralifida qaytadan plazmodesmalar yordamida bo'lar paydo bo'ladi.

Morfogenezda o'tadigan va kallusli hujayralardan o'simlik paydo bo'lishi bilan tugaydigan barcha o'zgarishlar maxsus genlar orqali nazorat qilib turiladi. Hozirgi vaqtda bir guruh olimlar-morfogenezni belgisi poligenli bo'lib, bir necha xromosomalar bilan nazorat qilib turiladi, deb hisoblasalar, boshqalari- bu belgi ikkita yadro geni bilan aniqlanadi, degan fikrga kelishgan.

Kallusli hujayralarni morfo- genetik faolligi genetik tabiatga ega ekanligini o'zi, nima uchun ba'zi- bir hollarda kallusli to'qimalardan u yoki bu genotiplarni regeneratsiyasini lish mumkin emasligini tushuntirib beradi. in vitrosharoitida morfogenetik faol genotiplarni chatishtirish -regeneratsion imkoniyatlarni oshishiga olib kelishi mumkin.

Savollar:

- 1.Xujayraning tabaqasiz rivojlanishi nimalarga bo'liq?
- 2.Kallusli xujayralarni ikkilamchi differentsirovkasi deb nimaga aytiladi?
- 3.Poyani o'sishida qanday kislota muxim ahamiyatga ega
4. Hozirgi vaqtda olimlar-morfogenezni belgisi qanday nazorat qilishmoqda?
5. Xromosomalar qanday belgininazorat qilishga xizmat qiladi?
6. Kallusli hujayralarni morfo- genetik faolligi qanday tabiatga ega
- 7.Kallusli to'qimalarda qanday genotiplar uchraydi?

O'QUV MATRIALLARI

22-Ma'ruza

O'SIMLIKLARNI KLONAL MIKROKO'PAYTIRISH

Ma'ruza rejasi:

- 1.O'simliklarni klonal mikroko'paytirishni usullari
- 2.O'simliklarni klonal mikroko'paytirish bosqichlari
- 3.Adventiv kurtak hosil qilish

Kalit so'zlar: urufli, o'simlik, yo'l, vegetativ, ko'payadi, ustivor, genetik, xilma-xil, yuvenil, maysa, kurtak, reproduktiv, organ, davruzunligi

Daraxt, yosh, qalamcha, standart, ekish, material, payvand, murakkab;texnologiya, samaradorlik, past, ko'rsatish.

Urufli o'simliklar ikki xil yo'l bilan: urufdan va vegetativ yo'l bilan ko'payadi. Bu ikkala yo'lni ustivorligi ham kamchiligi ham bor. Urufdan ko'payishning kamchiligiga eng avvalo, olingan ko'chatlarni genetik xilma-xilligi va yuvenil (urufdan chiqqan maysadan yoki vegetativ kurtakdan reproduktiv organlar hosil qilish) davrining uzunligini ko'rsatish mumkin. Vegetativ ko'payishda ona o'simlikni genotipi saqlanib qoladi va yuvenil davr qisqaroq bo'ladi. Ammo ko'pchilik turlar (eng avvalo yo'f och hosil qiladiganlar) uchun vegetativ ko'payish muammosi oxiriga. Vegetativ ko'payishda ona o'simlikni genotipi saqlanib qoladi va yuvenil davr qisqaroq bo'ladi.

Ammo ko'pchilik turlar (eng avvalo yo'f och hosil qiladiganlar) uchun vegetativ ko'payish muammosi oxirigacha o'z yechimini topgani yo'q. Bunga asosiy sabablar quyidagilar: Birinchidan, ko'pchilik turlar (navlar) hattoki, yuvenil bosqichda xam vegetativ usulda kerakli samara bilan ko'payavermaydi (eman, tilogoch, yongotsdoshlar va boshtsalar); ikkinchidan, ko'pchilik daraxtli usimliklarni 10-15 yoshdan keyin, tsalamcha yordamida ko'paytirish mumkin emas; uchinchidan, har doim ham standart ekish material olish mumkin emas (yutsumli kasalliklar to'shanishi va o'tishi mumkin); to'rtinchidan, payvand tsilish ortsali katta yo'ili (yogochli) o'simliklarni ko'paytirish juda ham tsiyin va murakkab; beshinchidan, yil davomida bir xil genetik materialni olish uchun ishlab chiqilgan texnologiyalar samaradorligining o'ta pastligidir.

Xujayra va to'qimalar kulturalari sohasida erishilgan yutuqlar vegetativ ko'payishni tubdan yangi bo'lgan usuli klonal mikroko'paytirish in vitro sharoitida (probirkada), jinsiy bo'lmagan yo'l bilan, o'simliklarni dastlabki nusxasi bilan genetik bir xil bo'lgan navini yaratish usulining yaratilishiga olib keldi.

Bu usul asosida o'simlik hujayralarigagina xos bo'lgan noyob xususiyat, totipotentlik xususiyati, ya'ni tashqaridan keladigan ta'sir orqali butun o'simlik organizmi hosil bo'lishiga turtki bo'lishi yotadi. Albatta, bu usulni bopir an'anaviy usullardan ustunlik tomonlari juda ham ko'p: eng avvalo bu ustunliklar

quyidagicha izohlanishi mumkin:U genetik bir xil ekuv materialining olinishi;U meristemaa to'tsimalari kulturalari ishlatishishi hisobiga o'simliklarni virusli va boshtsa yutsumli kasalliklardan xoli bo'lishi;

U ko'payish koeffitsiyentining yutsoriligi (o'tchil va gulli o'simliklar uchun 104-1<O'; ninabargli o'simliklar uchun —104);U selektsiya davrining tsistsarishi;> o'simlik rivojlanishshini yuvenil davrdan reproduktiv fazaga o'tishini tezlashishi;> an'anaviy yo'llar bshan qiyin ko'payadigan o'simliklarni ko'paytirish;U ishni yil davomida tashkil etish imkoniyatlarining mavjudligi va ko'chat materiallari o'stirish uchun kerak bo'lgan maydonni tejash;U o'stirshi jarayonini avtomatlashtirish imkoniyatlari va h.k.

Klonal mikroko'paytirishni dastlabki muvaffaqiyatlari o'tgan asrning 50-yillari oxirida frantsuz olimi Jorj Morel orxideya o'simligining regenerantini yaratganda erishilgan edi. Bu muvaffaqiyatga o'sha vaqtlarda yaratilgan, in vitro sharoitida usimliklarni apikal meristemaalarini kupaytirish texnikasi o'z hissasini ko'shgan.

Odatda olimlar birlamchi eksplant sifatida o'tchil o'simliklarni ustki meristemaalaridan foydalanadilar, va oziqa muhiti tarkibini o'simlikni regeneratsiya va paydo bo'lish jarayonlariga ta'sirini o'rganadilar. Xuddi shu maqsadda chinnigul, xrizantema, kungaboqar, no'xat, makkajo'xori, qoqio't va boshqa o'simliklar o'rganib chiqilgan edi.

J.Morel o'z tajribalarida xuddi shunday qilib, tsimbidium (orxideyalar oilasiga mansub o'simlik)ni uchki qismini ishlatgan. U o'sib kelayotgan konussimon ko'rinishdagi va ikki-uch barg oldi elementlaridan iborat bo'lgan va undan ma'lum sharoitda qubballi, yumaloq-prokorimlar paydo bo'lishini kuzatgan edi. X,osil bo'lgan (etilgan) protokormlarni bo'lish va ularni keyin alohida mustaqil ravishda, yangi tayyorlangan oziqa muhitida barg va ildiz paydo bo'lguncha o'stirishga erishilgan edi.

Natijada J.Morel bu jarayonni chegarasiz ekanligini va shu yo'l bilan yuqori sifatli genetik bir xil, virussiz ekuv materialini juda ham ko'p miqdorda tayyorlash mumkinligini kuzatgan edi.Rossiyada klonal mikroko'paytirish professor R.G.Butenko nomi bilan bo'fliq.

K.A.Timiryazev nomidagi o'simliklar fiziologiyasi institutida bu olima o'z shogirdlari bilan, kartoshka, qand lavlagi, chinnigul va bopuca gullarni klonal ko'paytirish sharoitlarini ishlab chiqqan.Mamlakatimizda bu usul ilmiy laboratoriyalarda sinab ko'rilmoqda. Xususan, Uzbekiston Milliy universiteta kimyo fakulteta biotexnologiya ilmiy laboratoriyasida kartoshkani klonal mikroko'paytirish usullari orqali kasalliklarga, issiqqa, sho'rlanishga chidamli navlarini yaratish bo'yicha ilmiy izlanishlar olib borilmoqda.

SHuni ham eslatib o'tish o'rinliki, mikroko'paytirishdan foydalanish doirasi juda keng bo'lib, kundan kunga yanada oshib bormoqda. Eng avvalo in vitro sharoitida o'simliklarni yofochli turlarini, nina bargli va ayniqsa, yo'qolib ketayotgan o'simliklar hamda dorivoro'simliklarni ko'paytirish maqsadida bu usuldan foydalanish katta samara berishi isbotlangan.YOfochli (daraxtlarni) usimliklarni to'qima kulturasi bo'yicha birinchi ilmiy ishlar 1920 yillarda chop

etilgan bo'lib, frantsuz olimi Gotre nomi bilan bo'liq. Bu maqolalarda tilofoch daraxti kambial to'qimalarini in vitro sharoitida kallusogeneza imkoniyatlari (qobiliyatlarini) borligi xabar qilingan.

1960 yillarda Mates degan olim birinchi marta osin daraxti regenerantini olishga erishgan va uni tuproqqa ekishgacha yetkazgan. Nina bargli o'simliklarni in vitro sharoitida o'stirish uzoq vaqt davomida tajriba sifatida ishlatilib kelingan. Bu nina bargli (yuvenil) hamda qari o'simliklar to'qimalaridan o'simlik yetishtirish maqsadida foydalanish ancha qiyinchiliklarga olib kelishi bilan bo'liq. Ma'lumki, yofoch hosil qiluvchi daraxtlar, ayniqsa, nina bargli o'simliklar juda ham sekin o'sadilar, qiyin tomir oladilar, juda ko'p miqdorda ikkilamchi birikmalar (fenollar, terpenlar va boshqa moddalar) saqlaydilar, bu moddalar esa alohida ajratib olingan to'qimalardagi fenolaza fermentlari ta'sirida oksidlanadilar.

O'z navbatida fenollarni oksidlangan mahsulotlari odatda hujayrani o'sishini va bo'linishini ingibirlaydilar, bu esa birlamchi eksplantlarni nobud bo'lishiga yoki yofochli o'simliklar to'qimasini regeneratsiya imkoniyatlarini pasayishiga va yoshi ulfaygan sari sekin- asta, butunlay yo'qolishiga olib keladi. Ammo, qanchalik qiyin bo'lishiga qaramasdan olimlar izlanish manbai sifatida tez-tez yofochli o'simliklarni to'qima va organlaridan foydalanib kelmoqdalar. Xozirgi vaqtga kelib, in vitro sharoitida ko'paytirilgan yofochli o'simliklar soni 40 oilaga mansub bo'lgan 250 turdan oshib ketgan (kashtan, dub, qayin, zarang, tor teragi, tolni tor teragi bilan gibridi, sosna, archa va h.k.).

O'simliklarni klonal mikroko'paytirishni usullari va bosqichlari

Klonal mikroko'paytirish jarayonini to'rt bosqichga bo'lish mumkin: birinchi- donor usimlikni tanlash, eksplantlarni ajratish yea yaxshio'sadigan stert kultura olish; ikkinchi - mikroko'paytirishni uzi, meriklonlarni eng kup (maksimal) mmdorini olishga erishilgan davrni yea sharoitni tanlash; uchinchi- ko'paytirilgan nayedani ildiz olishi yea ularni tuprots sharoitiga moslashtirish, kerak bo'lganda regenerant-o'simliklarni soyeuts haroratda (+2°, +10°) satslash; to'rtinchi - usimlikni issitsxona sharoitida o'stirish va ularni maydonga chikarib ekish yoki sotishga tayyorlash (18-chizma). Klonal mikroko'paytirishni ko'p usullari ma'lum.

Ko'plab mualliflar eksplantlarni o'stirishga sharoitni morfogeneza jarayoniga ta'sirini o'rgana borib, o'stirish sharoitini o'zgarishiga har xilmorfogenetik reaksiya bo'lishini kuzatganlar, bu esa klonal mikroko'paytirish metodlarini yangi klassifikatsiyasini yaratilishiga olib keldi. Ilmiy adabiyotlardan ma'lum bo'lgan, o'simliklarni mikroko'paytirish usublari asosida, bu jarayonni quyidagi yo'llar bilan amalga oshirish mumkin:

o'simlikda bor bo'lgan meristemaalarni rivojlanishini jadallashtirish (poya apeksi, poyani kurtaklari);

eksplantlar to'tsimalarida to'gridan - to'gri adventiv kurtaklar hosil bo'lishini induktsiya tsilish;

somatik embriogenezni induktsiya tsilish;

birlamchi va ko'chat oluvchi kallusli to'tsimalarda adventiv kurtaklarni tabatsalashtirish.

18-chizma. O'simliklarni klonal mikroko'paytirish

I-yo'l - bor meristemaalarni rivojlanishini faollashtirish usuli;

II-yo'l- eksplantada adventiv kurtaklar hosil bo'lishini induksiya qilish.

1-dastlabki eksplant tanlash; 2-steril kultura olish; 3-birlamchi eksplantada, to'gridan - to'g'ri adventiv kurtaklar hosil bo'lishi; 4- kurtaklarni o'sishi va mikro navdalarni hosil bo'lishi; 5-mikronavdalarni ko'paytirish (tsalamcha); b-mikro novdalarni ildiz olishi; 7-regenerant usimlikni past haroratda satslash; 8-o'simliklarni issiqxona sharoitiga o'tkazish; 9 regenerant o'simliklarni dalaga ekish. O'simliklarni klonal mikroko'paytirishda ishlatiladigan asosiyusul-bu o'simliklarda bor bo'lgan meristemaalarni rivojlanishini faollashtirish bo'lib, u apikal ustivorlikni olib tashlashga asoslangan (19-chizma).

Bunga ikki yo'l bilan erishish mumkin:> poyani tepa meristemasini olib tashlash va keyin navdani in vitro sharoitida gormon satspamagan muhitda mikrotsalamchalash;> ozitsa muhitiga tsitokinin ta'siriga ega bo'lgan moddalar tifiish (navdani o'sishini kuchaytirish).Odatda, tsitokinin sifatida-6-benzilaminopurin (BAP), 6- furfurilaminopurin (kinetin), hamda 2-izopenteniladenin (2ip) va zeatin ishlatiladi.SHunday yo'l bilan olingan navdalarni birlamchi ona eksplantidan ajratiladi va qaytadan yangi tayyorlangan oziqa muhitida o'stiriladi.

Xozirgi vaqtda bu usul qishloq xo'jalik o'simliklarini virussiz ekuv materiallarini tayyorlashda keng qo'llaniladi. SHu yo'l bilan qand lavlagi, tamaki, xmel, topinambur, pomidori, kartoshka, bodring, qalampir, oshqovoq va boshqa o'simliklarni so'flomlashtirilgan ko'chatlarini tayyorlash yo'lga qo'yilgan.tsd.ADG'-l;Ba'zi bir qishloq xo'jalik o'simliklari uchun (masalan, kartoshka o'simligi) klonal mikroko'paytirish texnologiyasi sanoat darajasigadona o'simlik yetishtirish imkonini beradi, bunday texnologiya probirkada mikro tugunaklar - qimmatbaho virussiz urufluk yaratishni o'z oldiga qo'ygan (20-chizma).

Ikkinchi usul - Bu eksplant to'qimalarida to'fridan-to'fri adventiv kurtaklar paydo bo'lishini kuchaytirish (induksiya qilish). Bu usul o'simlikni ajratib olingan qismini qulay oziqa muhitida yetishmagan qismini (organlarini) hosil qilishiga asoslangan, shunday qilib, butun o'simlikni regeneratsiya (hosil) qilish. 19-chizma. o'simliklarni bor meristemaalarini faollashtirish usuli bilan ko'paytirishchizmasi:1-tepa meristemaasini tashlash yo'li;ko'paytirish 2-ozuqa muhitiga tsitokininlar qo'shish yo'liB/G - gormonsiz muhit;TS-tsitokininlar,A-auksinlar. ko'tarilgan. O'simliklarda bor bo'lgan meristemaalarni faollashtirish usulini ishlatilishi bir yilda bir dona kartoshka meristemaasidan

Adventiv kurtak hosil qilishni usimlikni hoxdagan organi va to'qimasi (ajratib olingan kurtak, barg, poya, urugpalla, ildizni bir qismi va h.k) asosida tashkil etish mumkin.Ammo, material zaharlanmagan (yuqumli kasalliklardan holi) bo'lishi shart. Bu jarayon, odatda alohida tsitokinin yoki uni auksin bilan

aralashmasi (10:1 yoki 100:1) saqlagan oziqa muhitida amalga oshadi. Auksin sifatida ko'proq (3-in do lil-3 -sirka kislota (IUK) yoki os- naftilsirka kislota (NUK) ishlatiladi. Bu mikroko'paytirishni eng keng tarqalgan usuli bo'lib, shu usul bilan ildiz mevali gullar (nartsissa, liliya, giatsint, gladiolus, lolaqizfaldoq); Brassica avlodiga mansub o'simliklar (rangli karam) shuningdek piyoz, sarimsoqpiyoz, pomidor va bopmqa bir qator o'simliklar ko'paytipshtgan G20-chizmaU20-chizma. O'simliklarni in vitro sharoitida bor bo'lgan meristemalarni o'sishiii faollashtirish usuli:a -staxis; b -anor; v -kartoshka.21-chizma. O'simliklarni adventiv kurtakni induksiya qilish orqali ko'paytirish:a- bugdoy; b- orxideya; v- sosna.

Er tuti (zemlyanika) o'simligini apikalli meristemaalarini o'stirishga asoslangan klonal mikroko'paytirish texnologiyasi ham yaxshi yo'lga qo'yilgan (22-chizma.).a - mikroko'payishni o'zi; b - adaptatsiya bo'lgan o'simlik.22-chizma. YEr tutini klonal ko'payishia bYOsh va virus bilan kasallanmagan, soflom o'simlikni yuqori meristemaasini ajratib olib, uni Murasiga va Skugani modifikatsiya qilingan oziqa muhitida o'stiriladi. Oziqa muhiti 0,1-0,5 mg/l 6-benzilaminopurin (BAP) saqlashi kerak. 3-4 hafta o'tgandan keyin meristemaa maysaga aylanadi va uni asosida adventiv kurtaklar hosil bo'la boshlaydi, hamda tez rivojlanib, yangi kurtak soladilar. 6-8 hafta mobaynida kurtaklarni tartibsiz yirindisi (konglomerati) hosil bo'ladi. Bu kurtaklar rivojlanishni har xil bosqichida bo'lib, bir- birlari bilan borlovchi to'qimalar orqali borlangan bo'ladi.

Kalta qalamchalardan barglar paydo bo'ladi, ularni tagida esa yangi adventiv kurtaklar chiqa boshlaydi. Mana shu kurtaklarni ajratib olib, yangi oziqa muqitiga ekiladi. TSitokinin saqlagan muhitda novdalarni proliferatsiyasi (ko'payish orqali yangi hujayra va to'qimalarni hosil bo'lishi) davom etadi, gormon saqlamagan muhitda esa 4-6 hafta davomida normal holatdagi, ildiz va bargli o'simlik hosil bo'ladi. Eksplantni morfogenetik faolligi 3-4 yil mobaynida saqlanadi. SHunday qilib, bitta o'simlikdan bir yilda bir necha million regenerant o'simlik yetishtirish mumkin.

Tabiiyki, izlanuvchilarni adventiv kurtaklarni kelib chiqishi, xususan meristemaani tabaqalanishida qaysi bir hujayra qavati ishtirok etishi qiziqtiradi. Xozircha bu masalada bir xil fikr yo'q. Masalan, Tran Tan Van o'zini tamaki to'qimalari bilan olib borgan ishlarida eng faol to'qima epiderma ekanligini, undan oziqa muhiti tarkibidagi gormon balansiga qarab, kurtak, kallus yoki ildiz chiqishligini ko'rsatib bergan.

SHuningdek, adventiv kurtaklar meristemaatik hujayralarni yuqori qatlamidan paydo bo'lishi ham ko'rsatib o'tilgan.

Sosna daraxti misolidaadventiv kurtakni urufpallasini va subepidermal qavatlarida paydo bo'lishi kuzatilgan va bu jarayon sosna uchun ishlatiladigan tsitokininlarga borliq emasligi ko'rsatib o'tilgan (23-chizma).Klonal mikroko'paytirishda qo'llaniladigan uchinchi usul.

Somatik hujayralardan, tashqi ko'rinishi zigotali kurtakchaga o'xshagan kurtaksimon strukturani tabaqalanishiga (differentiatsiya) asoslanadi. Bu usul

somatik embriogenez deb nom olgan. in vitro sharoitida kurtak hosil bo'lishini in vivo (tabiiy) holatdagidan farqi shundan iboratki, somatik kurtaklar, kurtak qopchasidan tashqarida aseksual rivojlanadilar va o'zlarini tashqi ko'rinishlari bo'yicha bir vaqtning o'zida poya va ildizni apikal meristemaalarini rivojlanishi kuzatiladigan ikki polyarli tuzumani eslatadilar.

Eksplantni epidermal va subepidermal hujayra qavatida adventivkurtaklarni hosil bo'lishi Stevardni tushuntirishicha, somatik kurtaklar rivojlanishni uch bosqichini o'tadilar: globulyar, yuraksimon, torpedosimon va oqibatda maysa bo'lib unib chiqadi. 1950 yillarda sabzi hujayralarida birinchilardan bo'lib kuzatilgan bu ko'rinish hozirgi davrda Orchidaceae va Rutaceae oilalariga mansub bo'lgan, shuningdek, boshqilarni ba'zi birlarini (buʻdoy, arpa) beda, redis, tok va ba'zi daraxtlar kabi ko'plab o'simliklarni ko'paytirish uchun ishlatilib kelinmokda.

Savollar:

1. Eksplant deb nimaga aytiladi?
2. Epidermal va subepidermal deganda nimani tushunasiz?
3. O'simliklarni klonal mikroko'paytirishni usullari xaqida ma'lumot bering?
4. O'simliklarni klonal mikroko'paytirish bosqichlari deganda nimani tushunasiz?
5. Adventiv kurtak deb nimaga aytiladi?

O'QUV MATRIALLARI
23-Ma'ruza

AJRATILGAN O'SIMLIK XUJAYRA VA TO'QIMALARI BILAN
ISHLASH JARAYONIDA
STERILLASH USULLARI

Ma'ruza rejasi:

1. Sterillaboratoriya sharoitida ishlash talablari
2. O'simlik materialini (eksplantlarni) sterillash
3. Steril o'simtalar o'stirish

Kalit so'zlar: steril, laboratoriya, sharoit, Laminar, boksda, ishlash, toza, spirt, pintset, skalpel, qaychi, preparaval, igna, stakang ozuqa, muhiti.

Ekish amalga oshiriladigan xonalar va asbob-uskunalarining tozaligi, sterilligi tajriba ishlarini amalga oshirishda eng zarur manba hisoblanadi. YA'ni yaxshi steril, toza ishchi joyida tajriba ishlarini olib borish, maxsus asbob uskunalar izlashdan ko'ra qulayroqdir.

Steril laboratoriya sharoitida ishlash talablari

1. Laboratoriyada barcha xodimlar xalatda, qalpoqchada yoki ro'molda hamda almashtiriluvchi charm oyoq kiyimda bo'lishlari shart.
2. Xonada chekish, ovqatlanish, oziq-ovqat mahsulotlarini saqlash mand etiladi.
3. Laboratoriya tashqarisiga xalatda yoki uning ustiga kiyim kiyib chiqish mumkin emas.
4. Barcha ishlar sterillikka rioya qilish qoidasi asosida olib borilishi lozim: barcha muolajalar gorelka alangasining oldida olib boriladi.
5. Qo'llarning tozaligini nazorat qilib turish kerak: ish tugagach ish stoli tartibga keltirilib dezinfektsiyalanadi hamda qo'llar spirt bilan tozalanadi.
6. Barcha laboratoriya idishlari yuvilib sterilizatsiyalanadi.

Biotexnologik laboratoriyani toza tutish zarur. Xar kuni laboratoriya xonasi gigiyenik tozalanadi.

Ajratilgan hujayralar va to'qimalar bilan kilinadigan barcha nozik ishlar (manipulyatsiyalar) aseptik sharoitda laminar-bokslarda sterillangan uskunalar yordamida bajariladi. Laminarning barcha yuzasi 96% spirt bilan artiladi. Sterillangan asboplar, materiallar, o'simlik materiali laminar stolining ustiga qo'yiladi va UB nurlatgich yoqiladi. 20 daqiqadan so'ng UB nurlatgich o'chirilib biofiltrlar yoqiladi. Laminar-boks bo'lmagan hollarda unchalik katta bo'lmagan zolyatsiyalanganxonalarda ishni amalga oshirish mumkin. Bunday hollarda ishchi yuza qism tez va oson sterillanadigan bo'lishi zarur va u yer ham (masalan: kimyoviy tajribalar stoli) spirt yoki 20% li fenol bilan sterillanadi. Bundan tashqari, ish boshlanguncha, ish davomida va ish tugagandan so'ng ham ishchi yuzaning (stolning) ikki chekasida bunzen gorelkasida alanga yonib turishi lozim.

YUqorida keltirilgan talablarga javob beradigan steril xona tashkil etilsagina laminar-bokslardagidek steril ekishni muvoffaqiyatli amalga oshirish mumkin.

Laminar boksdan ishlash uchun steril yoki toza xalat va qalpoqcha kiyiladi, qo'llar 96% spirt bilan artiladi. Pintsetlar, skalpellar, qaychi, preparaval ignalar 96% spirtli stakanga solib qo'yiladi. Xar bir manipulyatsiya oldidan asboplar gorenka alangasida qo'ydiriladi. Sterillik buzilsa ozuqa muhitida tezda mikroorganizmlar (zambururlar, bakteriyalar) yaxshi rivojlanib, ozuqa muhitining tarkibini o'zgartirib, o'simlik eksplantlarining o'sishini susaytiradi.

Petri likobchalari (2 ta), 500-700 ml-li kimyoviy stakanlar (2 ta) va buyum oynachalar pishiqqo'fzga o'ralgan xolda 160⁰S da 2 soat davomida quritish shkaflarida sterillanadi.

Skalpel, ajratish ninalari, pintsetlar quritish shkafida 140⁰S da 1 soat davomida sterillanadi. Idishlar, xalatlar, paxta, qo'fz, ozuqa muhitlar avtoklavlarda buning 1-2 atm bosim ostida va 120⁰S xaroratda sterilizatsiya materialining xajmiga qarab 20-60 daqiqa ushlab turiladi. Kolbalar, ozuqa muhitli shtativlar, xalatlar, paxta, qo'fz, avtoklavlashdan avval yuqori xaroratga bardoshli qo'fzga o'raladi yoki bikslarga joylashtiriladi. Metall asboplarni avtoklavlash mumkin emas, chunki bu ta'sirida zanglab qoladi. SHuning uchun ularni quruq issiqhavoda 170-250⁰ S temperaturada 1-2 soat davomida sterilizatsiyalash kerak.

Ozuqa muhitlarini sterillash Ofzi paxta tiqinlar bilan yopilgan probirkalardagi ozuqa muhitlari 1 atmosfera bosimda 20 daqiqa davomida sterillanadi. Ozuqa muhitli probirkalar bir necha qavatli qo'fzga o'ralgan bo'lishi kerak. Bir vaqtning o'zida o'simlik materiallari uchun doka xaltachalarni qo'fzga o'rab avtoklavlanadi.

Ozuqa muhitlari avtoklavda 120⁰S da 0,75 – 1,0 atm. bosimda 20 minut davomida sterilizatsiya qilinadi. Agar ozuqa muhiti tarkibiga yuqori xaroratda parchalanadigan moddalar kirsa, ular alohida sovuk sterillanadi. Buning uchun poralarning diametri 0,22 – 0,45 mkm bo'lgan bakterial filtrlardan o'tkaziladi va avtoklavdan chiqqan ozuqa muhiti 40⁰S gacha sovitilib, keyin aralashtiriladi. Oldindan folgaga yoki qo'fzga o'ralgan idishlar quruq issiq bilan, quritgich shkaflarida 160⁰S da ikki soat davomida sterilizatsiya qilinadi.

O'simlik materialini (eksplantlarni) sterillash Ajratib olingan to'qimalar bilan ishlashni asosiy sharti – sterillikka kat'iy rioya kilishdir. Tarkibi boy bo'lgan ozuqa muhiti mikroorganizmlarni rivojlanishi uchun juda yaxshi substrat hisoblanadi, o'simliklardan ajratib olingan fragmentlar (eksplantlar) ozuqa muhiti bilan aralashtirilganda mikroorganizmlar ta'siriga tez uchraydilar. SHuning uchun xam eksplantni xam, ozuqa muhitini xam sterillash kerak. Ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida xam sterillikni saklash lozim, ayniksa xarorat va namlik o'zgarganda probirkalarni ofzini yopuvchi paxta-bintdan tayyorlangan tiqinchalar namlanadi, natijada ulardan mikroorganizmlarning oson o'tishi uchun sharoit yaratiladi. Sterilizatsiya davri eksplantni xarakteriga xamda eritmani sterilizatsiya kilish xususiyatiga bo'lik. Odatda, uruf 10-20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 min davomida sterilizatsiya qilinadi. Meristemalar va o'simliklarning har xil qismlaridan olingan bo'laklari ikki marotaba tezroq sterillanadi.

Ildiz mevalar, tugunaklar, o'simliklarning yo'fon poyalari sovun va ishqalagich bilan oqar suvda yaxshilab yuviladi, po'stlofi shilinadi, (ildizlar va ildiz mevalar), distillangan suvda chayiladi va absolyut spirtga bir necha sekundga solib olinadi. Tukli uruflar (chigit) yuqori kontsentratsiyali sulfat kislotasiga 5 daqiqaga solinsa yaxshi sterillanadi;

O'simlik ob'ektlari sterillangandan so'ng, sterilovchi moddalardan tozalash uchun distillangan suvda ko'p marta chayilishi kerak.

O'simlik eksplantlari tarkibida turli xil moddalarni: aktiv xlor (xloramin, Na-gipoxlorit, Sa-gipoxlorit) brom (bromli suv), tween-20, vodorod peroksidi, spirt, kumush nitrat, antibiotiklar saqlagan eritmalari bilan sterillanadi. Ular uruflarni shikastlantirmaydigan, unib chiqishiga ta'sir etmaydigan hamda sterillikni ta'minlab beruvchi kontsentratsiyada bo'lishi shart.

Bromidli suv bilan ishlov berilgan o'simlik materiallarini diqqat bilan yuvish kerak chunki bromidning eng kam miqdori ham uruflarning o'sishini to'xtatib qo'yadi. Brom bufi zaharli bo'lganligi uchun, brom bilan sterillashda albattda mo'rili shkaflaridan foydalanish kerak.

Brom eritmasida faqatgina makkajo'xori uruflarini sterillashda foydalanish tavsiya etiladi. Brom bilan sterillash vaqti 10-15 daqiqani tashkil qiladi. Bromdan so'ng suv 12 soat davomida, yuvishning boshida har 30 daqiqa, so'ngra esa har 3 soat davomida almashtirib turiladi

70 % etil spirti ko'pincha dastlabki sterillashda qo'llanilib, o'simlik materiali yuzasini artiladi yoki bir necha sekund davomida etanolga botirib olinadi. Ba'zan bunday sterillash mevalar, uruflar, nixollar, urufkurtaklar bilan ishlash uchun yetarlidir. To'qimalarga spirt bilan ishlov berish, uni sterilizatsiya qilish xossasidan tashqari, asosiy sterilizatsiya qiluvchi eritmani ta'sirini kuchaytirishi bilan xam bo'liq.

Antibiotiklar. Sirtki sterilizatsiya eksplantni faqat tashqi infektsiyadan ozod qiladi. Agar eksplant to'qimalari ichki infektsiyaga ega bo'lsalar, ularga antibiotiklar bilan ishlov berishga to'g'ri keladi. Ayniksa, ichki infektsiyaga yirik tomirli tropik va subtropik o'simliklar boy bo'ladi. Eng ko'p qo'llaniladigan antibiotiklar - streptomitsin va tetramitsin 10-80 mg/l, ampitsillin 200-400 mg/l, levomitsitin, kanomitsin.

Sa-gipoxlorit - 5-7 % li eritma ko'rinishida kurtaklar, urufdonlar, gullar, uruflar, nihollarni 5-8 min davomida ishlovlanishida qo'llaniladi.

Na -gipoxlorit - 0.5-5 % li eritma ko'rinishida eksplantlarni 1-20 min davomida ishlovlanishida qo'llaniladi. Bu eritma hujayra uchun zaharli bo'lganligi sababli ishlovlanish vaqti va kontsentratsiyasi eksperimental ravishda tanlanadi. Masalan. ajratilgan murtak uchun 10-15 min davomida 2-3 % eritma, quruq uruflar uchun esa 1 soat davomida 3-5 % eritma qo'llaniladi. Gipoxloritning qoldiqlari avaliga 0,01 n HCl, so'ngra 8 marotaba steril (avtoklavlangan) suv bilan yuvib tashlanadi.

Xloramin - 1-6 % kontsentratsiyasi ishlatiladi. CHangdonlar va yosh murtaklar 1-3 min, quruq uruflar - 30-60 min davomida ishlovlanadi so'ngra steril suv bilan 2-3 marta yuvib tashlanadi. Tarkibida xlor bo'lgan eritmalar bir marotaba

ishlatiladi va qo'llanilish oldidan tayyorlanadi.

Vodorod peroksidi (pergidrol) o'simlik materialini sterillashda keng qo'llaniladi, eksplantlarni deyarli jaroxatlamaydi. Tez parchalana olgani uchun steril suv bilan chayishning xojati yo'q. Pergidrol bilan sterillash 30 daqiqani tashkil qiladi.

Eksplantlarni sterillanish aseptik sharoitda – laminar boksda bajarish lozim. Eksplantli kolbalarni bir xafta davomida qoronfilikda xonada xaroratida saqlash kerak. Kulturalarni zambururlar yoki bakteriyalar bilan ifloslanishi ekilgandan keyin 1-14 kun o'tgach ko'zga tashlanadi. Ifloslangan kultura aniqlansa darhol yo'qotilishi kerak.

Steril o'simtalar o'stirish

Biotexnologiya standart jihozlardan va preparatlardan foydalanadi va iqlim sharoitiga qaramasdan hamda ko'p maydon egallamagan holda jarayonlarni yil bo'yi o'tkazishga asoslanadi.

O'simliklardan ajratib olingan hujayralar va to'qimalarni yaxshi o'stirish uchun, o'stirishni ma'lum shartlariga roiya qilish kerak. Ko'pchilik kallus to'qimalari yorurlikga ehtiyoji yo'q, chunki ularni xloroplastlari bo'lmasdan, geterotrof oziqlanadirlar. Ba'zi – bir yashil rangdagi kallus to'qimalar bundan mustasno. Ba'zi bir holatlarda kallus to'qimalar avtotrof oziqlanishiga qobiliyatli emas, bo'larni doimiy yorurlik sharoitida o'stiriladi, bu esa muvoffaqiyatli morfogenezi uchun majburiy sharoitdir ko'proq kallus to'qimalar qoronfilikka olinadi.

Morfogenezi aniqlangan (determinirovaniye) to'qimalar yorurlikga o'tkazilib, keyin 1000-4000 Lk yorurlikda o'stiriladi (1-rasm). Ajratib olingan meristemlar va ularni mikroko'paytirish ham yorurlikda o'tadi.

YORUF uycharni yorurligi 1000 – 10000 Lk bo'lishi kerak va yorurlikni kuchi o'simlikni xususiyatlariga bo'liq. O'stiriladigan ob'ektni foto davrini ham hisobga olish kerak.

O'stiriladigan xonada namlik 60-70 % bo'lishi kerak. Undan quruqroqhavo oziqa muhitini quritib yuboradi, agar probirka paxtali tiqin bilan bektilgan bo'lsa, ozuqa moddalarni kontsentratsiyasi o'zgarib, o'stirish sharoiti buziladi.

Ko'pchilik to'qimalarni o'stirish uchun optimal xarorat 25-26⁰S. Agar tropik o'simliklarni to'qimalari bo'lsa 29-30⁰S da o'stiriladi. Morfogenezi induksiya qilinganda xarorat 18-20⁰S gacha tushiriladi. Odatda klimatik kameralardan foydalaniladi.

Savollar:

- 1.Xloramin – 1-6 % kontsentratsiyasi nimaga ishlatiladi?
- 2.CHangdonlar va yosh murtaklar, quruq uruflar necha min davomida ishlovlanadi?
3. CHangdonlar va yosh murtaklar, quruq uruflar nima bilan necha marta yuvib tashlanadi?
- 4.Tarkibida xlor bo'lgan eritmalar necha marotaba ishlatiladi?

O'QUV MATRIALLARI

24-Ma'ruza

**O'SIMTALARNI STERIL O'STIRISH USULLARI VA
BOSQICHLARI:**

Ma'ruza rejasi:

1.O'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini jadallashtirish bosqichlari

2 Eksplantlar to'qimalarida to'ridan - to'ri adventiv kurtaklar hosil bo'lishini induksiya qilish (tezlashtirish).

3.Birlamchi va ko'chat oluvchi kallusli to'qimalarda adventiv kurtaklarni shakillantirish.

Kalit so'zlar: donor, o'simlik, tanlash, eksplant, ajratish, steril, kultura, mikroko'paytirish, maksimal, miqdor, navda, ildiz, moslashtirish, regenerant, o'simlik, saqlash; issiqxona, sharoit.

- donor o'simlikni tanlash, eksplantlarni ajratish va yaxshi o'sadigan steril kultura olish;
- mikroko'paytirish, bunda meriklonlarni eng ko'p (maksimal) miqdorini olishga erishiladi (1-rasm);
- ko'paytirilgan navdani ildiz olishi va ularni tuproq sharoitiga moslashtirish, kerak bo'lganda regenerant – o'simliklarni sovuq xaroratda ($+2^0$, $+10^0$) saqlash;
- o'simlikni issiqxona sharoitida o'stirish va ularni maydonga chiqarib ekish yoki sotishga tayyorlash(2-rasm).

O'simliklarni mikroko'pytirish quyidagi yo'llar bilan amalga oshiriladi:

- *o'simlikda bor bo'lgan meristema to'qimalarni rivojlanishini jadallashtirish (poya apeksi, poya kurtaklari);*
- *eksplantlar to'qimalarida to'ridan - to'ri adventiv kurtaklar hosil bo'lishini induksiya qilish (tezlashtirish);*
- *somatik embriogenezni induksiya qilish;*
- *birlamchi va ko'chat oluvchi kallusli to'qimalarda adventiv kurtaklarni shakillantirish*

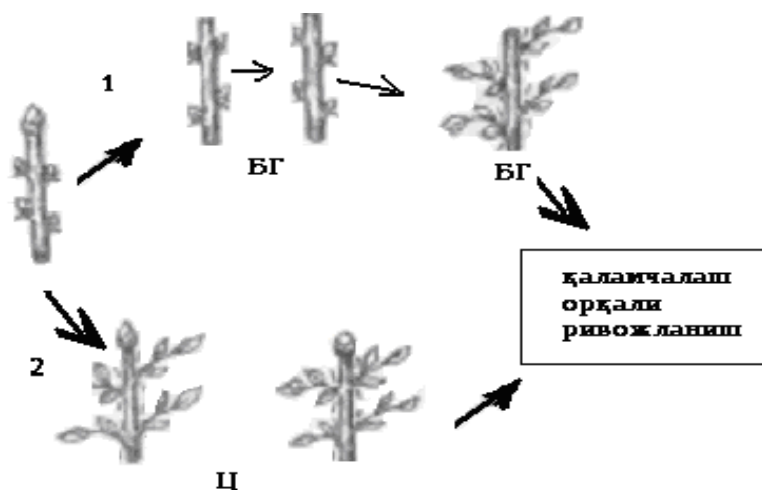
O'simliklarni klonal mikroko'paytirishda ishlatiladigan asosiy usul – bu o'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni rivojlanishini jadallashtirishbo'lib, u apikal ustivorlikni olib tashlashga asoslangan (3-rasm). Bunga ikki yo'l bilan erishish mumkin:

- poyani tepa meristemasini olib tashlash va keyin navdani *in vitro* sharoitida gormon saqlamagan muhitda mikroqalamchalash;
- ozuqa muhitiga tsitokinin ta'siriga ega bo'lgan moddalar qo'shish (navdani o'sishini kuchaytirish).

Odatda, tsitokinin sifatida – 6-benzilaminopurin (BAP), 6-furfuril aminopurin (kinetin), hamda 2-izopentenil adenin (2-ip) va zeatin ishlatiladi.

SHunday yo'l bilan olingan navdalarni birlamchi ona eksplantidan ajratiladi va qaytadan yangi tayyorlangan ozuqa muhitida o'stiriladi.

Xozirgi vaqtda bu usul qishloq xo'jalik o'simliklarini virussiz ekuv materiallarini tayyorlashda keng qo'llaniladi. SHu yo'l bilan qand lavlagi, tamaki, xmel, topinambur, pomidori, kartoshka, bodring, qalampir, oshqovoq va boshqa o'simliklarni soflomlashtirilgan ko'chatlarini tayyorlash yo'lga qo'yilgan.



3-rasm. O'simliklarni bor meristemalarini faollashtirish usuli bilan ko'paytirish: 1 - tepa meristemasini yulib tashlash yo'li; 2 - ozuqa muhitiga tsitokininlar qo'shish yo'li; B/G – gormonsiz muhit; TS-tsitokininlar.

Eksplantlar to'qimalarida to'ridan - to'ri adventiv kurtaklar hosil bo'lishini induksiya qilish (tezlashtirish). YOsh va virus bilan kasallanmagan, soflom o'simlikni yuqori meristemasini ajratib olib, uni Murasige va Skug modifikatsiyalangan ozuqa muhitida o'stiriladi.

Ozuqa muhiti 0,1-0,5 mg/l 6- benzilaminopurin (BAP) saqlashi kerak. 3-4 hafta o'tgandan keyin meristema maysaga aylanadi va uni asosida adventiv kurtaklar hosil bo'la boshlaydi. Ular tez rivojlanib yangi kurtak soladilar. 6-8 hafta mobaynida kurtaklarni tartibsiz yirindisi (konglomerati) hosil bo'ladi.

Bu kurtaklar rivojlanishni har xil bosqichida bo'lib, bir-birlari bilan bo'lovchi to'qimlar orqali bo'langan bo'ladi. Kalta qalamchalardan barglar paydo bo'ladi, ularni tagida esa yangi adventiv kurtaklar chiqa boshlaydi. Mana shu kurtaklar ajratib olinib yangi ozuqa muhitiga ekiladi.

TSitokinin saqlagan muhitda novdalarni proliferatsiyasi (ko'payishi orqali yangi hujayra va to'qimalarni hosil bo'lishi) davom etadi. Gormon saqlamagan muhitda esa 4-6 hafta davomida normal holatdagi, ildiz va bargli o'simlik hosil

bo'ladi. Eksplantni morfogenetik faolligi 3-4 yil mobaynida saqlanadi. SHunday qilib, bitta o'simlikdan bir yilda bir necha million regenerant o'simlik yetishtirish mumkin. Ba'zi bir qishloq xo'jalik o'simliklari uchun (masalan, kartoshka o'simligi) klonal mikroko'paytirish texnologiyasi sanoat darajasiga ko'tarilgan.

O'simliklarda bor bo'lgan meristemalarni faollashtirish usulini ishlatilishi bir yilda bir dona kartoshka meristemasidan 10^5 dona o'simlik yetishtirish imkonini beradi, bunday texnologiyaning vazifasi probirkada mikro tuganaklar - qimmatbaho virussiz uruqlik yaratishdir.

Somatik embriogenezni induksiya qilish. Somatik embriogenez somatik hujayralardan, tashqi ko'rinishi zigotali kurtakchaga o'xshagan kurtaksimon strukturani shakllanishiga (differentiatsiya) asoslanadi.

In vitro sharoitida kurtak hosil bo'lishini *in vivo* (tabiiy) holatdan farqi shundan iboratki, somatik kurtaklar kurtak qopchasidan tashqarida jinssiz rivojlanadi va o'zlarini tashqi ko'rinishi bo'yicha bir vaqtni o'zida poya va ildiz apikal meristema rivojlanishidagi ikki polyarli tuzilmani eslatadi. To'qima kulturasida embrioidlarni paydo bo'lishi ikki bosqichda amalga oshadi:

- **Birinchi bosqichda** hujayra eksplantlari ozuqa muhiti tarkibiga qo'shilgan akusinar, eng avvalo 2,4 – dixlorfenolsirka kislotasi (2,4 -D) hisobidan embrionlarga aylanadi.
- **Ikkinchi bosqichda** hosil bo'lgan hujayralarni embrioidlargacha rivojlanishiga majbur qilish kerak bu esa, ozuqa muhit tarkibidagi auksinlarni miqdorini kamaytirish yoki ularni butunlay chiqarib tashlash orqali amalga oshiriladi.

Birlamchi va ko'chat oluvchi kallusli to'qimalarda adventiv kurtaklarni shakllantirish. Somatik embriogenezni to'fritdan – to'fri birlamchi eksplantlar to'qimalarida, hamda kallusli kulturalarda kuztish mumkin. SHuni ham ta'kidlab o'tish lozimki, kallusli kulturalardan klonal mikroko'paytirishda foydalanish kamroq samara beradi, chunki shu yo'l bilan tayyorlangan ekuv materiallari (ko'chatlar) donor – o'simlikga nisbatan genetik turfun (mustahkam) bo'lmaydi.

Savollar:

1. O'simliklarda meristemalarni rivojlanishini jadallashtirish boskichlari nechta?
2. Eksplantlar to'qimalarida kurtaklar hosil bo'lishi?
3. Birlamchi va ko'chat oluvchi kallusli to'qimalarda adventiv kurtaklarni shakllantirish haqida imalarni bilasiz?

O'QUV MATRIALLARI
25-Ma'ruza
ORGANIZMLARDA APIKAL MERISTEMALARNI
AJRATISH VA O'STIRISH

Ma'ruza rejasi:

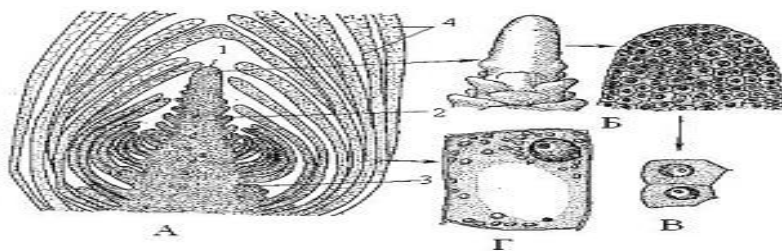
1. Apikal meristema
2. *In vitro* sharoiti
3. Meristemani ozuqa muhitiga ekish

Kalit so'zlar: elodeya, kurtak, uchi, apekal, meristema, ko'ndalang, konusi, kesma; meristema, hujayra, shakillangan, barg, bo'rtma; boshlanish .

Ajratib olingan o'simlik hujayrasini tibbiyot, veterinariya, kosmetika va boshqa sohalar uchun zarur bo'lgan ikkilamchi metabolitlar: alkaloidlar, steroidlar, glyukozidlar, gormonlar, efir moylari va boshqa biologik faol moddalar sintez qilish imkoniyati bilan bo'liq. Ikkilamchi metabolitlar qattiq (agarli) yoki suyuq ozuqa muhitida o'stirilgan kallus to'qimalardan olinadi. SHuni e'tiborga olish kerakki, o'stiriladigan hujayralarni hosildorligi, butun o'simlikni hosildorligidan ancha baland. Bunday usul bilan ikkilamchi metabolitlar ajratib olishning yana bir ustunlik tomoni shundaki, muayyan sharoitda o'simlikni o'zini o'stirish imkoniyati bo'lmagan sharoitda (sovuq yoki issiq iqlimli mintaqalarda), ularni hujayralarini butun yil maboyinida o'stirish mumkin.

Ajratib olingan changdon va uruf kurtakni sun'iy ozuqa muhitida o'stirish, gaploidlar, olish imkonini bersa, murtaqlarni o'stirish – o'sa olmaydigan (endospermasi yomon rivojlangan) o'simliklardan gibrid uruflar yetishtirish imkonini beradi. To'qimalar kulturasidan o'simliklarni ko'paytirish va soflomlashtirilgan (virussiz) ekuv materialini olish mumkin. Novdaning apeksiga, boshqa organlarga nisbatan, viruslar sekinroq o'tganligi sababli o'simliklarni soflomlashtirish uchun apikal meristema kulturasidan foydalaniladi. Apekslarni kultivirlashda viruslarning ko'payishi o'simlik organizmi uchki kurtagi olib tashlanishidan yuzaga kelgan reaksiya hisobiga bostiriladi.

In vitro sharoitida uchki va yon kurtaklar (o'sish nuqtasi) apeksi, ildizlar uchi qo'llaniladi. Apikal meristema –nihol yoki ildizda terminal o'rinni egallagan va o'simlik nixollari o'sish markaziga mujassamlangan meristematik hujayralar guruxi bo'lib barcha organlar va dastlabki to'qimalarni shakillanishini ta'minlaydi (5-rasm). O'simliklarning o'sish nuqtasidan ajratib olingan meristema to'qimalarni ko'paytirish va ekuv materiallarini viruslar va boshqa patogenlarga qarshi soflomlashtirish maqsadida ishlatish ***o'simliklarni klonal mikroko'paytirish deyiladi*** va bitta meristemadan yiliga yuz minglab o'simlik olish imkonini beradi. Odatda ozuqa muhitiga 0.5 mm gacha bo'lgan meristemaning kichik qismi o'tqaziladi. Umuman olganda meristemaning o'lchami qanchalik kichik bo'lsa, shunchalik virusdan holi o'simlik olish imkoni yuqori bo'ladi. Meristema to'qimasini ajratish laminar boksda preparaval asboplar yordamida binokulyar mikroskop ostida amalga oshiriladi.



5-rasm. Elodeya

(*Elodea canadensis*) kurtak uchi apekal meristemasi: A – ko‘ndalang kesma; B – o‘shish konusi (tashqi ko‘rinish va kesma); V – dastlabki meristema hujayrasi; G – shakillangan barg hujayrasi (1 – o‘shish konusi; 2 – dastlabki bo‘rtma; 3 – ikkilamchi bo‘rtma; 4 – primordiyalar – boshlanrich barglar).

Apekal meristemalardan deyarli barcha qishloq xo‘jalik o‘simliklarining virusdan holi so‘flomlashtirilgan ekuv materiali olinishi mumkin. Virusdan holi kartoshka o‘simligini olinish texnologiyasi to‘liq ishlab chiqilgan va u quyidagi bosqichlardan iborat:

- *tuganaklarni apikal meristema ajratilishiga tayyorlash;*
- *apikal meristemani ajratish;*
- *meristemalardan o‘simliklarni regeneratsiyalash;*
- *yopiq tuproq sharoitida regenirant–o‘simliklarni adaptatsiyasi;*
- *ochiq tuproq sharoitida o‘stirilgan virussiz materialdan birinchi mahsulot olinishi;*
- *uruzechilikning birlamchi zvenolarida virussiz ekuv materialini o‘stirish;*
- *nav kolleksiyasini saqlash.*

Tuganak metabolitlarining o‘simtalarga ta’sirini pasaytirish va dastlabki materialning regeneratsiya xususiyatini kuchaytirish maqsadida ko‘zchalari tuganakni o‘rta qismidan parenxima qismi bilan kesib olinadi (1,5 x 1,5).

Ko‘zchalar oldindan quruq issiqhavoda ishlovlangan qumda o‘stiriladi. Etiolyatsiyalangan nihollar qorontilikda 25⁰S, 70–80 % havo namligida o‘stiriladi. Qum kuniga ikki marta namlanib turiladi, 7–10 kundan so‘ng Knop eritmasi bilan oziqlantiriladi. Ajratilgan meristemalar mikro- va makroelementlarga boy ozuqa muhitida, tsitokininlarning yuqori konsentratsiyali (6–BAP 2 mg/l) aseptik sharoitda kultivirlanadi. Kultural xonada 16 soatli foto davrda va 5 kLx yorug‘likda havoning xarorati 25⁰S ushlab turiladi.

Meristemani ozuqa muhitiga ekilganidan to 5–6 bargli nihollarni shakillanishigacha o‘rta holda 30-40 kun, ba’zan 2 oydan 8 oygacha vaqtni egallaydi. Muhitlar kambarallashgan sayin yangilanib turiladi va nihollar davriy ravishda yangi steril muhitga qaytadan ekiladi.

Savollar:

1. Apikal meristema deb nimaga aytiladi?
2. *In vitro* sharoiti deb nimaga aytiladi?
3. Meristemani ozuqa muhitiga ekish deb nimaga aytiladi?

O‘QUV MATRIALLARI

26-Ma’ruza

**YUKSAK O‘SIMLIKLAR XUJAYRA
KULTURASINI OLISH.**

Ma’ruza rejasi:

1. YUza ustiriladigan kallus tukimaning ba’zi tsito morfologik va fiziologik tavsifi.
2. Dedifferentsirovka va kallusogenez kuchirib utkazuvchi xujayra kulturasini yaratishning asoslari
3. Xujayralarni ustirish.

Kalit so‘zlar: kallus, sun’iy, ozik muxiti, ajratilgan protoplast, PEG, TSimmerman, usma, gormon, bulmaslik, jaraxat. joyi, usish, regulyatorlari, agregatsiya, dezagregatsiya, xemostat.

Mikroorganizmlardan fark kilib yukori usimliklar xujayra kulturasini biotexnologiyaning nisbotan yangi ob’ektni xisoblanadi.

Monoklokal antitelolar, vaksinalar, biologik faol moddalar ishlab chikarish ularning xayot faoliyatiga asoslangan. Xujayra kulturalari bilan ishlab bu usullarni rivojlaitirishda olimlar katta ishlar kildilar. YUkori usimliklar kulturasini usuli organizmdan tashkarida mavjud buladigan xujayra biologiyasini urganishga asoslangan. Suniy muxitda ustiriladigan usimlik xujayralari polulyatsiyasida spetsifik xususiyatlar movjud: genetik, epigenetik (genlarning differentsial aktivligiga boglik bulgan) va fiziologik. Bu belgilar buyicha geterogen populyatsiyalarni uzok vakt ustirilganda shu ustirish muxitiga mos fenotipga ega bulgan xujayralar yaxshi usadi va populyatsiya evolyutsiyalanadi.

Ustiriladigan kulturadagi uzgaruvchanlik, irsiyat, adaptiv tanlash va evolyutsiya ularni xam yaxshi urganilmagan eksperimental yarotilgan biologik sistema deb aytish imkonini beradi. Ustiriladigan xujayra va usimlik tukimasi asosida sanoat va kishlok xujalik uchun texnologiyalar yaratildi. Dedifferentsirovkavakallusogenezkuchiributkazuvchixujayrakulturasini yaratishning asosiy sifatida. Kultivatsiyalanadigan usimlik xujayrasining asosiy tipikallus xisoblanadi. Kallus- usimlik organlari xujayrasining uyushmagan (neorganizovanny) proliferatsiyasi yuli bilan xosil bulgan tukima. Xar xil kelib chikishga ega bulgan usma (opuxol) li xujayralari ancha kam kultivatsiyalanadi. Usma xujayralari kulturasini yuza va chukur ustirishda tashki kurinishi va xujayra morfologiyasi dorashasida kallusli xujayra kulturasidan kam fark kiladi.

Ular urtasidagi muxim fiziologik fark bu usma xujayralarning gormonlarga boglik emasligi bulib, bu ularning usish muxitiga fitogormon va ularning analoglarini kushmasdan ozik muxitida bulinib usishini ta’minlaydi. Usma xujayralari shu bilan birga normal tuzilishga esa bulgan strukturalar, ular somatik embriogenezi protsessida embrioidlarda ildiz yoki poya organogenezi xosil kilish kobiliyatiga ega

emas. Ba'zi xollarda ular teratomerlar (organga uxshash buzuk strukturalar) xosil kilib, ularning normal rivojlanishi dovom etmaydi.

Kallus xujayralari kuchirib utkazuvchi kulturada tasodifan gormonlarga boglikligi yukaladi. Gormonlarga (auksin va tsitokinin) boglik bulmaslik tablati irsiy genetik (mutatsiyalar natijasida) yoki epigenetik (genlarning ekspressiyasi natijasida) bulishi mumkin. Genetik gormonlarga boglik bulmasini natijasida kallus xujayralari xauddi usma (opuxol) xujayralari kabi namoyon buladi. Epigenetikda esa ular gormonlarga boglik bulmaslik xususiyatini yukotib bu xujayra->usimlik -> xujayra uzgarishida sodir buladi. Bu esa bunday gormonga boglik bulmaslik irsiy xarakterga ega emasligini kursatadi.

Kallusli xujayra bulinishida xosil buladigan kallusli tukima yukori usimliklarga xos xujayra differentsiatsiyasining bir tipidir. Usimlik uchun kallus bu tukima bulib jaroxatlar natijasida sodir buladi va uzok vakt funktsiyalanmaydi. Bu tukima jaroxat joyini ximaya kilib anatomik regeneratsiya uchun ozik moddalar tuplaydi va yoki yukotigan organni regeneratsiyalaydi. Ustiriladigan kallus xujayrasini olish uchun yukori usimliklarning organlari xar xil tukimasi (eksplantlar bulaklari) suniy ozik muxitida in vitro probirkaga. Kolba yoki chashki Petri jaylashtiriladi. Birlamchi kallus olish jarayoni va ustiriladigan kultura steril sharoitlar talab kiladi. Buning uchun aktiv xlor yoki simob (gipoxlorid, sulema, diatsid)li eritmalar yordamida eksplanta sterillanadi, keyin bu eritmalar steril distillangan suv bilan toza yuviladi. Kulturalar ustiriladigan muxit xam sterillanadi. Bu ishlar mikrobiologik bokslarda steril sharoitda olib boriladi. Rasmda xujayra tsikli fazalari kursatilib bunda yana xujayralar fazalarning kaysi birida mitotik tsikldan chikishi va dedifferentsirlangan xolatga utishi yoki dedifferentsirovka notijasida yana kaytadan tsiklga kaytish kursatilgan

S -DNK sintezi fazasi

Y1-presintetik fazasi

Y2-postsintetik faza

M -mitoz

R1 va R2-tinim fazasi

D -differentsirovka

Kupincha kallus olish uchun kulaniladigan eksplant organning bulagi xisoblanadi va xar xil differentsiatsiyalangan xujayralarga ega bulgan tukimadir. Masalan, poyasning bir bulagi uz tarkibida epidermal, birlamchi pustlok porenximasi, kambiy va utkazuvchi sistema, parenxima uzagidan iborat. Birlamchi kallus xujayralarining xar xil tukimalardan kelib chikishi. Kallus tukimalari kulturasining geterogenligini kursatadi, chunki birlamchi differentsiatsiyalangan xujayralarning ba'zi funktsional xususiyatlari xujayraning bir nechta avlodlariga beriladi yoki bular epigenetik noslga beriladigan belgilar xisoblanadi.

Bulinmayotgan, ixtisoslashgan xujayralardan tashkil topgan eksplantada ustirishining boshida uning metabolizmida uzgorishlar kuzatiladi bu jaroxat sintezi, dedifferentsirovka va bulinishga tayyorgarlik jarayonida sodir buladi. Bu jarayonlarni ajratish uchun eksplanta gormonsiz muxitda 3-6 sutka dovomida predinkubatsiya utishi kerak. Bu jaroxat bilan boglik bulgan uzgarishlarni yukotish

imkominigini bermay, balki eksplanta endogen gormonlarining urganilayotgan jarayonlap ta'sirini yukotish imkonligi beradi. YUkoridagi jaraitlarga yamon kilinsa xujayra bulinishida auksin va tsitokinin gruppasidagi gormonlarning oxamiyati olik buladi. SHu bilanbirga maxsus xujayralarnig dedifferentsirovkasi va kallus xujayralarini bulinishni ta'minlashi anik buladi. Bunda auksin va tsitokinin urtasidagi murokkab uzoro munogaboblar kuzatiladi. Muxitda fakat auksinning bulishi maxsus xujayralarini tinch faza Ydan xujayra tsikllining S fazasiga kirishini ta'minlaydi. Lekin yadro ikki sintezi fazasining tugallanishi, oksillar sintezi, xujayralarning mitoz va tsitokinezga utishi uchun muxitga kinetik yoki boshka tsitokinin kushiladi.

Bulinishga tayyorlanayotgan xujayrada RNKning xamma formalari sintezi stimulyatsiyalanadi, tukimoga xos oltigin oksillar yuklari va bulinadigan xujayralar va kallus tukimaga xos oksillar xosil buladi. Bu kuzatishlar shuni kursatadiki dedifferentsirovka notignasida genlar aktivligi va xujayraning oksil sintezi apparati uzgaradi. Poyaning apikal meristemasida dedifferentsirovka va kallusogenez jarayoni uziga xos sodir buladi. Pomidor poyasi meristemasi ozik muxitda joylashtirilgandan keyin mitoz bulinish tuxtadi, xujayralar dedifferentsiatsiyalandi, xajmi oshdi, meristematik xujayralarga xos kurinishlar uzgardi formalar uzgardi, yadro va tsitoplazma strukturasi uzgordi, va shundan keyin ularda bulinish sodir bulib kallus tukima xosil bulishiga olib keladi. Kallus xosil bulishi xamma vakt xam jaroxat xosil bulishi bilan boglik emas. Kallus eksplanta ichki tukimasining proliferatsiyasi natijasida, kesmaning yuza kismi bilan boglik bulmagan xolda, sodir buladi. Usivchi kallus tukima kavatlarini yorib yukoriga karab rivojlanadi. 4-6 xaftadan keyin eksplantada paydo bulgan birlomchi

kallus, toza ozik muxitiga utkaziladi. Transplanta ulchami agarozali ozik muxitda utkazilganda odotda 60dan 100mg massga ega bulib muxit xajmi 30-40 ml. bulishi kerak. Kiska kilib aytganda xar xil differentsiatsiyalangan xujayralar in vitro sharoitida murakkab dedifferentsiatsiya jarayonini utadi, ularishng struktura tuzilishiga, spetsifik funktsiyasiga xos xususiyatlar yukolib, birlamchi kallus xosil kiladi.

YUza ustiriladigan kallus xujayralarning ba'zi tsito-morfologik va fiziologik tavsifi.

Kallus tukimalari kulturasi yarim kattik agarli muxitda (agar- agar kontsentratsiyasi 0,6-1 %) yuza usulda ustirilsa yoki filtr kogosidan kilingan kuprikda yoki penopoli uretandan kilingan disk ozik muxitiga yarimi kirib turgan vaktida ustirish mumkin.

Ozik muxitining asosiy komponenti tukima usimlik va xujayrasi uchun mineral tuzlar (makro- va mikroelementlar), ozikning uglerod manbai (odotda saxaroza yoki glyukoza), vitaminlar, usishining regulyatorlari kiradi. Ba'zan ozik muxiti tarkibiga organik kushimchalar kompleksi kiritiladi (kozein gidrolizati, aminokislotalar aralashmasi, achitki ekstrakti, usimlikning xar xil organlari ekstrakti). Odatda yangi ob'ekt bilan ish boshlaganda standart muxit tarkibi modifikatsiyalanadi, ayniksa organik komponentlar nabori uzgartirib turiladi. YUza uchul bilan ustiriladigan kallus tukimasi parenxima xujayralarining yupka devorli

.ammorf massasi bulib, anik bir anatomik strukturaga ega emas. Massa rangi ok,sargish, yashil, kizil bulib antotsian bilan tulik yoki kisman pigmentatsiyalangan buladi. Kelib chikishi va ustirishi sharoitiga kura kallus tukimasi bulishi mumkin:1) aloxida xujayralarga tez porchalanadigan, suvga boygovak. 2) urta darajadagi zichlikda, meristematik markazlar yaxshi seziladigan.3) zich redutsirlangan kambiy naylar kislmlari bilan. Odatda uzok ustiriladigan kulturada, auksin bor muxitda, yoki auksinning sintetik analogi 2,4 dixlorfenoksiuksus kislotasi bulgan muxitda kallus tukimalari uz pigmentatsiyaning yukotadi va yumshok buladi.

Kallus xujayralari ustirish tsiklida bir kancha bulinishlardan keyin usimliklar xujayralariga xos ontogenez utadi. Ular usishga chuzilib kirishadi, keyin yetilgan kallus xujayralariga uxshab differentsiatsiyalanadi va oxirida degradatsiyalanadi.Kallus tukimalari va organ tukimalari uzlarining ximiyaviy tarkibi bilan odatda fark kiladi.YUza usul bilan ustiriladigan kallus tukimalari kupincha xar xil shtammlar, liniyalar, mutantlarni kolektsiyasini usish xolatida saklash uchun foydalalniladi. Ulardan xujayralar suspenziyasi olinib usimlikning regeneratsiyasida kullaniladi. Usimlik xujayralarini suyuk ozik muxitidachukur ustirish(suspenzion kulturalar).Suyuk ozik muxitida ustiriladigan usimlik xujayralari kulturalari odatda suspenzion kultura deb ataladi.

Aloxida xujayralar, katta bulmagan guruxlar yoki ancha katta agregatlar (>50ta xujayra) suyuk muxitda muallak xolatda ustiriladi. Ularni bu sharoitda ushlab turish uchun xar xil jixozlar va usullar kullaniladi. Suspenzion xujayra kulturalarini olishning birinchi davri bu randomik xodisadir . Bu xar xil sabablarga kura modda almashinuvini kayta kuradigan va konkret sharoitda yukori ko'effetsentiga ega bulgan xujayralar, "yaxshi" liniyalar xosil kiladi. Bunday liniyalarning muxim xarakteristikasi bu yukori darajadagi dezagregatsiya (5-10ta xujayra bir guruxda), xujayralarning morfologik tengligi (katta bulmagan ulchami, sferik yoki oval shakl, zich tsitoplazma), troxeidaga uxshagan elementlarning yukligidir.

Suyuk ozik muxitida xujayra suspenziyasining ustirish kallus tukimalarning yuza ustirish usulidan bir kancha afzalligi bor.Xujayra suspenziyasini kallus tukimani suyuk ozik moddali kolbaga joylashtirilib olinadi. Bunda suspenziya tebratgichda kolba kuyib aralashtiriladi. Suspenziya kulturalarini initsiatsiyalash uchun 2-3g kallus tukimasi 60-100 ml suyuk ozik muxitiga joylashtiriladi.

Birlamchi suspenziya aylanma tebratgichda 100-120 minut aylantirib olinadi. Suspenzion kultura usimlik organi fragmentidan (sabzi ildizi parenximasidan, petrushka, kartoshka tugalali)dan olish mumkin, lekin bu ancha kup ish va vakt talab kiladi. Eksplanta xujayralari bunda birlamchi kallus xosil kilishi kerak, fakat mundan keyin kallusning xujayralari suyuk muxitga tushib liniyalarni beradi va ular suspenziya xosil kiladi.

Kallusni 2.4 D muxitda ustirish, muxitdan Sa^{2+} ionlarini yukotish, transplantani pektinaza bilan ishlov berish suspenziya olish uchun zarurdir. Birlashchi suspenziya sub'kultivatsiyadan oldin 2 kavatli dokada filtrlanadi. Bunda kallusning katta

tukimasi, eksplanta koldigi va katta agregatlardan kutiladi. Suspenzion kulturaning agregatsiyasi darajasi kanday usulda ustirilishiga boglik.

Mikrobiologiyada kulganiladigan ustirish usullari usimlik xujayralarini chukur ustirishda kullaniladi. Davriy yoki okib utuvchi rejimda ochik yoki yopik sistemalardan foydalaniladi. YOpik sistemada davriy rejimda ustirilayotgan xujayra massasi ma'lum xajmdagi muxitda jaylashtiriladi. Ustirishning oxirigacha sistemaga gazlardan tashkari xech narsa kiritilmaydi. YOpik uzluksiz kulturada sistemaga davriy ozik muxiti kiritilib turiladi va eski muxiti ushancha xajmda chikarib turiladi. Xujayralar bunda sistemada ustirishning butun tsikli devonida saklanadi.

Ochik okib utuvchi kulturada davriy (yoki uzluksiz) yangi ozik muxiti kiradi, lekin fakat eski ozik muxitigina olinmasdan, balki xujayra massasining xil bir kismi xam olinadi. Bu jarayonning regulyatsiyasi turbidostat yoki xomostat printsipi asosida amalga oshadi. Turbidostatda yangi ozik berilishiga va suspenziyani tanlash xujayra populyatsiyasi ma'lum zichlikga erishganda amalga oshiriladi. Ozik okib kelishi xakidagi signal reledan keladi. Rele esa optik sistema bilan boglik bulib, u xujayralar zichligini aniklaydi.

Xemostatda esa suyultirish tezligini bir xilda ushlab xujayra bulinishi va suspenziya zichligi bir xilda saklab turiladi. Xemostat printsipi asosida usimlik xujayralari suspenziyasini ustirish xujayra metabolizmini urganish yoki iktisodiy jixatdan muxim maxsulotlarni olish maksadida, xujayra biomassasi olish uchun ustirilidi.

Masalan, YAponiyada xajmi 20000 litrli fermenterdan foydalanib tamaki xujayralari 3 oy devomida xemostat printsipi asosida ustiriladi. Maxsuldorlik juda yukori bulib 1 sutkada 5,5 g/l kuruk xujayra massasini tashkil kildi.

Ustirish tsiklida ustirish kriteriyasi bulib xujayra sonining oshishi, uning xul va kuruk massasi xizmat kiladi. Bunda latent fazada(log)usish kuzatilmaydi.(1); ekponentsiol faza usishning tezlashishi bilan xarakterlanadi (2) ; chizikli, bunda usish tezligi doimiy (3); usishining susayish fazasi(4); statsioner faza(5) va xujayralarning degradatsiyasi fazasi(6).

Ozik muxiti tarkibi, temperatura, rNning boshlangich kiymati, gaz fazasi tarkibi, usish tsiklini ta'sir etadigan faktorlardir. Birlamchi va ikkilanchi metabolizm xar bir turusimligi xujayrasi uchun spetsifik, usimlikning birlamchi xujayralari differentsirovkasi tipiga boglik.

Xujayralar organizmdan tashkaririda ustirishida bir kancha irsiy uzgarishlar kuzatiladi. Bu esa shu usimlikga xos xaraktergi biosintez xususiyatlariga ega bulgan liniyalarini tonlash yoki printsipal yangi moddalarni sintezlaydigan liniyalar olishimkonini beradi.

Xujayra kulturasida usimlarga xos ikkilamchi metabolizm maxsulotlari va shu bilan birga yangi uzgacha birikmalar, alkaloidlar, terpenoidlar, glikozidlar, polifenollar efir moylar va:xzo aniklaydi. Xujayra bulinishi notijasida biomassaning oshishi va ikkilamchi metabolitlarning xosil blishi xar xil vaktida sodir buladi. Ikkilamchi maxsulotlarning xosil bulishining kuchaysishi xujayra populyatsiyasining usishi pasayganda oshib, statsionar fazada maksimumga yetadi.

Lekin ba'zi alkaloidlarning xosil bulishi vakti mitotik aktivlik maksimal bulganda yoki eksponentsial usishda sodir buladi.

Eksponentsial faza oxiridagi ba'zi stress ta'sirlar xujayrada ikkilamchi maxsulotlarning sintezini tezlashtiradi va ular kup mikdorda xosil buladi.

Lekin birlamchi va ikkilashchi metabolizmning uzoro ta'siri ancha murakkab. Inokulyum yoshi, uni tashkil atgan xujayralar morfologiyasi, mitotik aktivligi, ikkilamchi metabolitlar kontsentratsiyasi fakat biomassa usishini belgilamasdan balki maxsulot sintezini xam belgilaydi. Lekin xali kam urganilgan uglerod bilan oziklanish muximdir.

Glyukoza kup xollarda saxarozaga karaganda biomassani usishiga olib keladi. Lekin saxaroza kullanilganda ikkilamchi maxsulot mikdori yukoridir. Bu usulning katchiligi shundaki xujayralar seinusadi(1-3 kun) kulturada uzak vakt (2-3 xafta) ustirish kerak, aseptik sharoitda olib borilini kerak bulgan maxsulot mikdorining kamligidadir.

Aloxida xujayralarni ustirish. Aloxida xujayralarning manbai bulishi mumkin suyuk muxitda ustirilayotgan xujayra, xujayra suspenziyasi, usimlik tukimasi matseratsiyasi(masalan, barg mezofili), yoki membranasini biklagan izolyatsiyalangan prtoplastlar.

Aloxida xujayralarni ustirib klon olish mumkin va bu klon materialni ustirishda uning uzgaruvchanligi, genetik va fiziologik stabiligini urganish mumkin. Bunday aloxida xujayralarni bulinishini stimulini urganish muxim muammodir.

Usimlik tukimasidan yoki xujayra kulturasidan izolyatsiyalangan protoplast xujayra kobigini tiklagandan sung ideal aloxida xujayra xisoblanadi. Kobig xosil bulganga uni xujayrasiga molekula (rek DNK) yoki organellalar, viruslar, bakteriya xujayralarini kiritishda kullash mumkin.

Buning uchun xar xil usullar kullaniladi: mikroineksiya, liposoma bilan kushish, elektr toki bilan kushish va elektr toki makromolekulalarni protoplastlarning toshki membranasini orkali kirishini osonlashtirish. Aloxida xujayralar(izolyatsiyalangan protoplastlar) klon selektsiyasi, gibrid va transformatsiyalangan liniyalar selektsiyasida zarur. Odatda bunday xujayralarga nishonlangan gen kiritiladi yoki nishonlangan belgilar selektiv tonlash olib borish uchun xosil kilinadi.

Savollar:

1. YUkori usimliklar xujayra kulturasini urganish nechta va kanday davrlarga ajratiladi?
2. Kallus tukima va usma tukimalarining uxshashlik va farkini aniklang.
3. Xujayra tsiklining kaysi davrlarida dediferentsiatsiya sodir buladi?
4. YUza ustiriladigan kallus kanday xususiyatlarga ega?
5. Suspenzion kultura nima va u kanday olinadi?
6. Usimlik xujayralarin turbidostat va xemostatik usulda ustirishni tushuntirib bering.
7. Aloxida xujayralar kanday ajratib olinadi?

O‘QUV MATRIALLARI

27-Ma’ruza

**O‘SIMLIK XUJAYRALARI PROTOPLASTINI BIOLOGIK
KONSTRUKTSIYALASH**

Ma’ruza rejasi:

1. Protoplast to‘qisida tushuncha va uni ajratish usullari.
3. Protoplastlarni o‘stirish usullari va sharoiti.
4. Protoplastlarni qo‘shish va unda qo‘llaniladigan induktorlar .

Kalit so‘zlar: protoplast, plazmoliz, mexanik usul, enzymologik , tselyulaza, gemitselyulaza, pektinaza, osmotik stabilizator, turgor, filtrlash, tsentrifugalash, xromosoma, stabiligi, suyuk, NaNO, PVS, elektr toki, somatik, gibridizatsiya, tsibrid, selektiv marker, genetik marker,transplantatsiya.

Protoplast- membrana bilan cheklangan tsitoplazmatik tuzilma bulib, uzida xujayra ichidagi organoidlari, birlamchi struktura bilan xarakterlanib faol metabolism energiya transformatsiyasi va biosintezni amalga oshiradi . Bu suz birinchi marta 1880 yilda D.Xostein tomonidan kullanilgan.

Usimlik xujayrasida protoplast morfologik moslashgan tuzilma bulib plazmolizda kurinadi. Plazmoliz bu tsitoplazmaning xujayra devoriga yakin kavatining usimlikning xujayrasi kattik devoridan ajrashidir. Plazmolizni kurzatish mumkin bir bulak usimlik tukimasini yukori kontsentratsiyami eritmaga joylashtirib. Bunda xujayradan suv chikib ketadi. Xujayra devori orkali suv oson utadi, lekin uz strukturasiga kura ancha mustaxkam va xujayradan suv chikib ketganda uz shaklini kam uzgartiradi. Protoplast esa suv yukotib xajmi kichrayadi, xujayra devoridan ajraladi va xujayra urtasida kisilib tuplanadi. Bunda u uz xayotchanligini yukotmaydi va kerakli muxitga utkazish mumkin.**Protoplastlarni ajratish usullari**

Birinchi marta protoplastlarni ajratish 1892 yilda Dj.Klerk tomonidan bajarilib plazmolizni urganish maksadida amalga oshirildi. U suv usimligi telorez(Stratiotes aloides) bargi tukimasini plazmolizga uchratib keyin xujayra devorini olib tashladi. Bunda protoplastlar ajralishi kuzatildi. SHunday usul bilan piyoz kabigi epidermisi protoplastlarini olish mumkin.

Buninguchuntukima

0,1Msaxarozaeritmasigaprotoplastlarkiskaribuzxujayradevorlaridanajralganchasakla nadi . Keyin utkir pichok(lezviya) bilan epidermis kesiladi va protoplastlar muxitga chikadi. Protoplastlarni bunday usul bilan ajratishga mexanik usul deb ataladi. Bunday sharoitda plazmoliz protoplastlarni xujayra devoridan uzoklashishini ta’minlaydi. Nativ tukimada xujayra devori protoplast bilan mustaxkam struktura va funksional boglik kompleks xosil kiladi. Xujayra devorida teshiklari bulib bu teshiklar orkali protoplazmatik iplar-plazmodesmalar utadi. Undan tashkari xujayra devori komponentlari sintezi tsitoplazmatik strukturalar (Goldji apparati,

endoplazmatik retikulum, mikrokanolchalar) ishtirokida va plazmolemma bilan bogliq bulgan fermentlar ishtirokida sodir buladi. Plazmoliz bu bogliklikni buzadi, protoplast membranasi yuzasi bir kism buzilishi sodir buladi. Usimlik protoplastlarini izolyatsiyalash usullari modifikatsiyalanib mexanik usul ancha yaxshilandi:

- 1) Bu usul bilan uncha kup bulmagan sonda protoplastlar ajratish mumkin
- 2) Ekstentiv plazmolizga uchraydigan tukimalar ishlatiladi.
- 3) shakllangan tukima yoki meristematik tukimodan protoplastlar olish kiyin
- 4) bu usul uzok vakt ketadi va kup mexnat talab kiladi.

Izolyatsiyalangan protoplast olishning printsipial fark kiluvchi usuli bu enzimatik usul. Bunda xujayra devorini yukotish uchun fermentlardan foydalaniladi.

Bu usul bilan birinchi marta zamburuglar xujayra devori (ulitka Uelixa pomatia) shilikkurt oshkozon shirasi ta'sirida yukotldi. Mikrobiologiyada bakteriyalar xujayra devorini buzish maksadida lizotsim ferment kullanaladi. Usimlik xujayralarining devorini fermentlar yordamida buzib protoplast olish 1960 yilda. Koking tomonidan amalga oshirildi. Bu usulning bir kancha afzalliklari bor:

- 1) bir vaktning uzida kup mikdorda protoplast ajratish mumkin.
- 2) protoplastlar kattik osmatik kisilishga uchramaydi.
- 3) xujayralar ancha erkin va ta'sirga uchramaydi.
- 4) bu usul ancha tez amalga oshiriladi.

Usimlik xujayra devorini yukotish uchun 3tindagi ferment preparatlardan foydalaniladi-tsellyulazalar, gemitsellyulazalar va pektinazalar. Bu fermentlarning ta'siri xujayra devorining asosiy komponentlarini buzishiga karatilgan. Usimliklarda bu tsellyuloza, gemitsellyuloza va pektinli moddalardir. TSellyuloza molekulalari ancha mustaxkam asoslar(ostov) xosil kiladi. U gemitsellyuloza, pektinli moddalar, oksillardan tuzilgan amorf matriksda joylashgan. Birlamchi xujayra devorida asosiy struktura komponentitsellyulozaga 30% kuruk massa tugri keladi va yana shuncha pektinli moddalar, oksil va lipidlar,40%ni gemitsellyuloza tashkil etadi.

Mevalardan protoplastlar ajratish uz ichiga 3ta davrni oladi:1) ferment bilan shlav berish .2) xujayra devoridan protoplastlarni ajratish.3) intakt protoplastlarni xujayra bulaklaridan ajratish.

Barglardan protoplast olish bu usulni ancha tokomillashtirishni talab kiladi. Barglar bilan ishlash uslubining farki: 1) bozg tukimasi epidermidan ajratiladi. 2)pektinaza urnida xujayra devorining tsellyulozali komponentini buzuvchi ferment-tselyulaza kullanaladi.

I.Tekebe protoplastlarni ajratish kuyidagi usulini ishlab chikdi: Tulik shakllangan barg(60-80 kunlik) soglom usimlikdan ajratiladi va tez 70%li etanolga botiriladi va shundan keyin 15-20 minut dovomida 10%li gipoxlorit kaltsiyga joylashtiriladi. Sungra barg bir necha marta steril distillangan suv bilan yuviladi. Pastki epidermis sekinlik bilan pintset yordamida olinadi va epidermisdan tozalangan barg skalpel bilan kesilib ulchami 4sm li bulaklarga bulinadi. Epidermis yengil kuchishi uchun bargni steriliatsiyadan keyin ozrok suvini kochirish (sulishi)

yoki bargni kesishdan oldin usimlik ma'lum vakt suvdan tortilishi kerak. pidermisdantozalangan barg plastinkasiga 2 marta fermentlar ta'sir ettiriladi. 1-chi marta pektinaza fermenti ta'sir ettiriladi. Bu ferment tukimani matseratsiyalaydi (xujayralarni bir-biridan ajratadiyumshatadi) 2-chi ferment tsellyulaza bulib , bu ferment xujayra devorini tulik buzadi. YUkoridagi fermentlar aralashmasi bilan bir vakt da ta'sir etish xam mumkin . Buning uchun epidermissiz barg tukimasi fermentlar aralashmasiga joylashtiriladi, uning tarkibida 0,5 % pektinaza fermenti, 2% tsellyulaza 0,7M sorbit yoki manniy buladi. Ferment preparatlarning bu aralashmasi xamma vakt xam effektiv emas. Masalan, arna kalioptilidan protoplas olish uchun tsellyuloza va pektinaza uning ajralishini bostiradi. Bu maksadlarda tsellyulaza-peptinli preparat- ksilanaza kullaniladi. Ksilazanaza raygras, arpa, yunishka, tomaki, kartoshka, sabzi barglaridan protoplast olishda effektivdir. Buning uchun 2,0-5,0 %li kontsentratsiyadan foydalaniladi. Bunda optimal sharoytni tanlash muxim dir, ayniksa xujayra va tukimani ishlov berish vakti muximdir. Ajralayotgan protoplastlar ferment ta'siriga kam uchrashi kerak va ulardan yaxshilab yuvilib tozalanish kerak.

Fermentlar eritmasi bakterial filtrlar orkali utkazilib sterilizatsiyalanadi. Xayotkan protoplastlarni muvoffakiyatli ajratishning eng muxim omili bu osmotik stabilizator tanlashdir. Usimlik xujayrasida xujayra devorining borligi unda suv almanishnini boshkarilishi bilan boglik. Xujayraning surish kuchi uning osmotik xususiyati natijasida shakilanadi, lekin turgor bosim bilan emas. Xujayrada suv mikdorining oshishi turgor bosimini oshishiga va surish xususiyatini posayishiga olib keladi. Xujayraga suvning kirishi turgor bosimining osmotik bosimga tenglashishi bilan tuxtaydi. SHu tarika xujayraning struktura tuzilishi, suv almashinish mexanizmini uz-uzini boshkrishini shakllantiradi. SHu sababli izolyatsiyalangan protoplastlar uchun, muxitining osmotik bosimi muximdir.

Osmotik stabilizatorlar sifatida glyukoza, saxaroza, ksiloza, sorbit, mannit, ba'zan ionli osmotiklar-Sasl, Na NRO , KSl eritmalari kullaniladi. Osmotik faol moddalar 0,3-0,8 mol/l kontsentratsiyada kullaniladi. Xar bir tur uchun va uning fiziologik xolatiga karab osmotiklarning anik kontsentratsiyasi tashlanadi. Muxit ancha gipertonik bulishi kerak, chunki bunda protoplastlar plazmolizlangan xolda buladi. Bunday qaraitda metobolizm va xujayra devori tiklanmaydi. Odatda protoplastlar korongida yoki kuchsiz yorugda izolyatsiyalanadi, rN-5,4-6,2 . Temperatura sharoiti xar xil bulishi mumkin. Masalan, bugdoy uchun +14 S, pomidor uchun +27 S . Protoplastlar stabilligini muxitdagi Sasl va MgCl ning yukori kontsentratsiyasi ta'minlaydi. U xujayraning membrana sistemasiga ta'sir etadi.

Barg tukimasiga fermentlar eritmasi bilan ishlov berish chashka Petrida kulaydir. Inkubatsiyadan keyin barg steril pintset bilan sekin aralashtiriladi. Bunda chashka Petri 15 burchak xosil kilib turish kerak. Protoplastlar enzimatik aralashma bilan tsentrifuga probirkasiga joylashtirilishi kerak. Enzimatik izolyatsiyadan keyin protoplastlar buzilmagan tukima va xujayra koldiklaridan tozalanishi va fermentlardan yuvilishi kerak. Buning uchun tsentrifugalash, filtratsiya va flotatsiya usulidan foydalaniladi.

1-chi usulda (filtratsiya) protoplastlarning tozalanmagan aralashmasi 40 mkmm filtr orkali utkazaladi. Filtrda buzilmagan xujayralar va bulaklar ushlanib koladi. Suv fazasida kolgan protoplastlar aralashmasi, kichik xujayra bulaklar shunday tsentrifugalanadiki bunda protoplastlar chukib, supernatantda xujayra bulaklari koladi. Kayta tsentrifugalanib protoplastlar fermentdan yuviladi va ustirish muxitiga utkazish mumkin. Flotatsiya usuli murt protoplastlar uchun kulllaniladi. Bu shunga asoslanganki, organella va xujayra koldiklariga karaganda protoplastlar zichligi past. Tozalanmagan protoplastlar fraktsiyasi saxaroza(0,3-0,6 mol/l) eritmasi bilan aralashtiriladi va ma'lum tezlikda tsentrifugalanadi. Toza protoplastlar suzib yuradi, bulaklari esa chukmaga tushadi. TSentrifuga tezligi 40-80dan 350 dgacha bulishi kerak.**Xayotchan protoplastlar olish sharoiti.**Protoplastlar olish texnikasi ancha yaxshi ishlab chikilib yengil bajarilada, lekin yashay oladigan protoplastlar olish keyin. Bu kup omillarga boglik-fermentlar torkibi,mikdori, rN eritma osmotik bosimini tanlash zarur .Usimlik materialining fiziologik xolati xam muximdir, uning yoshi, ustirish sharoiti v.xzo. Usishni tezlash-tiradigan omillar xayotchan protoplastlar olish extimolini oshiradi. Masalan, Nicotiana tabacumning xayotchan protoplastlarini olish uchun kuyidagi usish sharoiti zorur. Temperatura-22 S, yoruglik 10000-20000lk 15 soat dovolida, xar xafta azot kushib turish kerak.

Xujayra suspenziyasi va kulturasidan protoplastlar olish uchun eng kulay faza bu logorifmik usish fazasidir.Bu davrda xujayra devori enzymatik ta'sirga yaxshi uchraydi va protoplastlar yaxshi yashab koladi. Protoplastlarning chikishi muxitning tarkibiga xam boglik. Auksin kontsentratsiyasini oshirish va protoplastlarni izolyatsiyasidan oldin saxaroza kontsentratsiyasini tushirish protoplastlar chikishini kuchaytirdi.

Xujayra kulturasi kullanilishidagi nokulaylikdan bittasi bu kulturada xujayralar stabil xromosomlar soniga ega emas. Uzok vakt ustirishlanadigan kulturalar euploid va aneuploid xujayralarga ega. Ulardan usimlik regeneratsiyalanmaydi, bu esa izolyatsiyalangan protoplastlardan usimliklar regeneratsiyasi chastotaning pasaytiradi. Evans.I., O.Gamborg izolyatsiyalanadigan protoplastlar uchun xromosom stabilligini shakllantiruvchi usullarni ishlab chikdilar. Bunda 3ta shoroit muximdir.1) xujayra kulturasini olishda kullaniladigan eksplanta muximdir masalan, barg tukimasi va yosh novda tukimasi uzida uzak tukimasi xujayralariga karaganda kuprok diploid xujayralarga ega ,2) ustirilayotgan xujayralar xromosomasi soniga usishni boshkaruvchi moddalar kontsentratsiyasi ta'sir kiladi. Masalan, kinetinning yukori kontsentratsiyasi poliploidlarning paydo bulishiga olib keladi. 3) Diploid kulturalar olishda selektiv muxitni saklash muximdir, chunki ular bu populyatsiyaning dominantligini ta'min lashga kulaylik yaratadi.

Protoplastlarni ustirishda 2ta texnik usul kullaniladi:1) suyuk tomchi usuli 2) platatsiya-kavatli usuli. 1-chi xolda protoplast suspenziyasi tomchi xalida suyuk muxitga plastmassa chashkasiga joylashtiriladi. Bunda yangi ozik eritmalarni kerakli kontsentratsiyada kushish oson. Lekin bunda protoplastlar xar bir tomchi markaziga agregatsiyalanadi- tuplanadi.Tuplanib bir kancha fenolli va boshka

zaxarli birikmalar xosil kiladi, bu esa muvaffakiyatli usishga xalakit beradi. Bu usul yangi shu bilan kulay emaski, protoplastning individual koloniyasini kuzatish mumkin emas. 2) Boshka keng tarkalgan usul-agarli kultura. Bunda ma'lum xajimdagi protoplastlar suyuk muxitda plastikli chashka Petriga kuyiladi, ushancha xosilda 1%li agar-agarli muxit kushiladi. Temperatura 45 S dan oshmasligi kerak. CHashka Petri parafin bilan kleylanadi va tunkarilgan xolda 28 Sda saklanadi. Bunda protoplastlar bir xalatda fiksatsiyalanadi va 1-1idan ajralgan xolda buladi. Bu usul muxim afzallikka ega: 1ta anik protoplast uchun uning rivojlanishining barcha tartibini kuzatish mumkinxujayra devorining shaklanishi, xujayraning bulinishi, usimlikning rivojlanishi va usishini. Bu usulning kamchiligi shundaki, ular issik agar-agar bilan aralashtirilganda ba'zi protoplastlar nobud buladi.

Bu usulning yana bir varianti "bokuvchi" protoplastlardan foydalanish. Bunda ular Rentgen yoki gamma-nurlar bilan ta'sir ettirilib usish xususiyati bostiriladi. Ular xayotchan protoplastlar bilan kushiladi va kavat xosil kiladi." Bokuvchi" xujayralarni pastki kavatda joylashtirish mumkin. **Protoplastlarni ustirish sharoiti.** Ozikka bulgan talabi bilan protoplastlar butun xujayralarga uxshash. Bir kancha ustirish muxitlari bulib, mineral moddalar N, P, K, S, Ca, Mg, mikroelementlardan Yu, Cu, Mo, B, Mn, Cl, Co kiradi. Kupchilik ustirish muxitida asosiy muammo bufer xolatni xajmda saklashdir. Masalan, kuchsiz fiziologik ishkoriy muxitda KNO tuzi va kuchsiz fiziologik kislotali tuz NH NO. Ximiyaviy kislotali tuz KH PO bilan birgalikda kulaniladi. SHu sababli muxit ozrok kislotali buladi rN 5,6-5,8.

Protoplastlar bulinishini boshlashi uchun kupincha 2-4D, NUK kinetik kushiladi.

Temperatura xam xar xil usimliklar uchun xar xildir. Odatda yukori intensivlikdagi yoruglik protoplastlarga yomon ta'sir kiladi mutadil zichlikda protoplastlarni ekish muxim bulib, zichlik pay bulsa protoplastlar bulinmaydi. Zich ekilganda esa ustirishning oxirgi davrlarida usixga yomon ta'sir kiladi. Protoplastlarning mutadil zichligi kulturada $3 \cdot 10^{-1} \cdot 10^1$ mllda bulishi kerak. Protoplastlardan xujayralar, xujayra kulturasi va usimliklarning regeneratsiyasi. Kulturadagi protoplastlarda xujayra devori xosil bulishi fermentlardan tozalangandan keyin darxol boshlanadi.

YAngidan sintezlangan xujayra devorini fluorestsent mikroskopda kuzatish mumkin. Xujayra devorining regeneratsiyasi keng tarkalgandir. Xosil bulgan xujayrani bulinishiga erishish va undan butun usimlik olish ancha kiyinrok. Lekin bir kancha turlar uchun doimiy xujayra liniyalari va usimliklar olingan (Gleba) protoplastlardan butun usimliklarni olish protoplastlarning totipotentligidan dololat beradi.

Usimliklarning regeneratsiyasi embriogenez yoki kallusni rivojlanib morfogenez induktsiyasi bilan amanga oshiriladi. Sabzi uchun protoplastlarni ustirib embriogenez amalga oshirilgan. Protoplastlar 2,4Dli muxitda ustirilib 8-10 sutkadan keyin bir gurux xujayralar olindi, ulardan embrioidlar, ular kichkina usimta xosil kildi. Ular keyin 2,4D muxitiga utkazilib bir butun usimlik

olindi. Protoplastlardan xosil bulgan xujayralarning proliferativ xususiyati. Xujayraning keyini proliferatsiyasigan karagandi xujayra devori xosil bulishi oson. Butenko R.G. xujayraning proliferativ xususiyatini belgilovchi omillarga kuyidagilarni kiritdi:

- 1) birlamchi usimlik tukilasining tur spetsifikligi va fiziologik xolati,
- 2) protoplastni ajratish usuli va sharoiti.
- 3) protoplastlarni ekish zichligi.
- 4) ozik muxitining tarkibi.

Protoplastlarni kushish. Protoplastlar xujayra devorini xosil kilmasdan oldin kiska vakt dovomida 1-1i bilan kushilishi mumkin. Kushilish spontan-tosodifiy bulishi mumkin. U kupincha 1-pogonali usul bilan protoplastlar ajratilanda sodir buladi va yoki tukima yoki suspensiyon kulturadan ojratilgan protoplastlardan foydalaniladi. Koking YE(1972) fikricha plazmodemaning kengaychishi natijasida spontan kushilish sodir buladi. Plazmodesma orkali usimlik tukilalari 1-1i bilan birikkan.

Protoplastlar kushilishini induktsiyalash usuli.

Ajratilgan protoplastlarga ba'zi moddalarning kushilishi bu jarayonni tezlashtiradi. Xar xil taksangarga xos protoplastlarini kushishni boshlashi fikri va geterokarionlar xosil kilishini Koking YE. kursatib berdi. Ular tur ichida va turlar urtasida protoplastlarni kushishiga erishdilar. Masalan, makkajxori ildizi uchidan va arpadan olingan protoplastlar kushildi. Induktor sifatida 0,25 M NaNO₃ olib, bu modda protoplastlar yashovchanligiga ta'sir kilmadi. SHunday usuli bilan *Nicotiana glauca* va *N. Langsdorffii* protoplastlari kushilib butun usimlik regeneratsiyalandi.

Ishkoriy rNda va Saning yukori kontsentratsiyasida kushilish induktsiyalandi. Protoplastlar 30-40 minut dovomida 37 Sda 50 mMli glitsin NaOH buferida inkubatsiyallandi.

Polietilenglikol effektiv induksiylovchi modda bulib xisoblanadi. PEGning konikarli molekulyar massasi 1540-6000. Protoplastlar aralashmasi oynaning yuzaicha aloxida tamchilar shaklida tomizaladi. Bunda 1 tomchi suspensiyaga 3 tomchi PEG tomiziladi. PEG tayyorlash uchun uning 1g 0.1 M glyukozaning 2 ml eritmasiga arlashtiriladi. Glyukoza eritmasi tarkibida 10,5 mmol/l SaSl 0,7 mmol/l KN RO (rN 5,5) kiradi. 10-15 minutdan sung PEG yuvish yuli bilan yukotiladi.

PEG bulganda protoplastlarning kuchli adgeziyasi kuzatiladi. PEGdan tozalangandan keyin va Sa kushilganda ularning kushilishi sodir buladi. Bu usuldan foydalanib xar xil tipdagi duragaylar olingan, shu jumladan usimlik va xayvon xujayralari protoplastlari duragayi, usimlik va suv utlari protoplastlari duragayi. T.Nagata polivinil spirti (PVS) kushilganda tamaki mezarili protoplastlarining adgeziya va kushilishini kuzatdi. PVS keyin bufer va yukori rN, va yukori kontsentratsiyadagi Sa yordamida yuvildi. Bu moddaning adgeziya kuchi PEGga karaganda pastrok va ular protoplastlar uchun zararli emas. Protoplastlar kushishning bu usulidagi kamchiligi shuki, kup mikdorda kushilgan xujayralar olish juda kiyin. U.TSimmerman protoplastlarni kushishni fizik usulini ishlab chikdi. Bunda induktor sifatida elektr tokining impulsalaridan foydalanildi.

Protoplastlarning kushilish mexanizmi. Kushilish mexanizmning urganish uchun induktorlarning protoplastga ta'sirining umumiy xususiyatlariga e'tibor berish kerak. Protoplastlar noelektrik osmotik stabilizatorlar eritmasida suspenziyalangan balsa masalan, manit yoki saxarozada, kationlarning past kontsentratsiyasida yoki umuman kationlar kushilmasa kushilish kam sodir buladi. Bu fakt shuni kursatadiki, eritmada protoplastlar kulki uning yuzasining elektrokinetik xususiyati bilan aniklanadi. Xujayra yuzasining kutblangan xolatini xujayralarni elektroforez usuli bilan aniklash mumkin. Buning uchun protoplastlar elektr moydanida joylashtiriladi, u yerda ular yuza zaryadiga mos ravishda xarakat kiladi. Xarakatining tezligini bilib xujayra yuziningelektrokinetik YE-potentsialini aniklash mumkin. Protoplastlarni kukshishining xamma usullarida 1-chi davrda ularning agregatsiyasi sodir buladi. Bu esa yuza kismining elektr xususiyatlarining uzgarishi natijasidir.

Elektr impulsi ta'sirida protoplastlar kushilishini kuydagicha tushuntirish mumkin. Kiska vakt davom etadigan impuls protoplastlarning tegib turgan membranalarining dielektrik buzilashga olib keladi. xosil bulgan teshik atrofida lipid molekulalari olmashtirilib, lipid kuprikalar xosil kilishi mumkin va oxirida membranalarining kushilishiga olib keladi. Bu energetik jihatdan kulay xolat bulib, lipidlar onlashinishi bilan bogliq bulgan jarayon xujayra membranasi strukturasi suyuq mozaik xususiyatini kursatib uning okuvchanligi bilan bogliq bulishi mumkin. Xujayra organellalarini kuchiributkazish.

Protoplastlar juda xarakatchan. SHu sababli ular xujayraga yot materialni fakat somatik duragayizatsiya usuli bilan protoplastlarning kushilishi natijasida kiritmasdan balki ularga DNK va boshka xujayralarning organellalarini kiribshda xam foydamanildi. Bu yunalishdagi ishlar xali rivojlanishining boshlangich davrida turibdi. Lekin shunga koromay sabzi. soya, petunya protoplastlarida ekzogen DNKning yutilishi kuzatildi. Genetik manipulyatsiyadan tashkari xujayra organoidlarini kuchirish xam kullaniladi.

Patriks I., Xoffmanns R. hybridaning izolyatsiyalangan yadrosini N. glaucaga muvoffakiyat bilan transplantatsiya kildilar. Transplantatsiya protoplastlarning kuchsiz deplazmoliz sharoitida olib borilib, tsentrifugalash xujayra komponentlarini kushilishi chun kullanilib, zotsim xujayra membranasi modifikatsiyalash uchunkkullanildi. YAngi tayyorlangan protoplastlar mannitning izotonikeritmasida suspenziyalandi.

Savollar:

1. Prototoplast nima?
2. Protoplast kanday kilib ajratib olinadi?
3. Mexanik va enzimologik usullarning afzalligi va kamchiligi nimada?
4. Xayotgan protoplastlar olish kanday sharoit talab kiladi?
5. Protoplastlarni ustirish usullarini tushuntirib bering.
6. Protoplastlarni kushishda kanday moddalardan foydalaniladi?

7. Somatik xujayralar zibridizatsiyasi va undan foydalanish istikbollari kanday?

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

O'QUV MATRIALLARI

28-Ma'ruza

O'SIMLIK TO'QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASINING ZAMONAVIY USULLARI

Ma'ruza rejasi

1. Xozirgi kunda O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi sohasida
2. Farmatsevtik biotexnologiya soxasining rivojlanishi
3. Oksilli ozuqa olish biotexnologiyasi

Kalit so'zlar: Xozirgi kunda O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi sohasida DNK klonlarini yaratish, rekombinant DNK olish eng ilfor, istiqbolli soha sifatida diqqatga sazovor.

Bu ilmiy izlanishning asosiy maqsadi hozirda fan yangiliklaridan hisoblangan DNK klonlarini yaratish va uni insoniyat hayotiga tadbqiq etish borasida qilinayotgan ishlar bilan tanishish, gen injeneriyasi haqida umumiy tushunchalar olish va DNK klonlarini yaratish metodlarini o'rganishdir.

Organizmlar genlari èki genlar majmuasini inson manfaatlarini ko'zlagan holda manipulyatsiya qilinishiga gen injeneriyasi èki genetik injeneriya deb ataladi. Gen injeneriyasi sohasining maqsadi genlarning ichki tuzilishini va xromosomada tutgan o'rnini extièjga mos ravishda o'zgartirib, ularning faoliyatini idora yetishdir. Natijada har qanday tirik mavjudotni, albatta imkoniyat darajasida, maqsadga yana ham ko'proq muvofiqlashtirish yo'li bilan sanoat mièsida oqsil moddalar ishlab chiqarish, o'simlik va hayvon turlarini inson extièjiga mos ravishda o'zgartirish, irsiy va yuqumli kasalliklarni aniq va tez tashxiz qilish, hamda sabablarni aniqlash usullari yaratilmoqda.

Farmatsevtik biotexnologiya soxasining rivojlanishida biotexnologik usullarda biologik faol moddalarni ajratib olish xozirgi kunda eng dolzarb muammolardan biri xisoblanadi. Tadqiqot ob'ekti xisoblangan terapevtik xususiyatlarga ega bo'lgan o'simliklarning genomini o'zgartirgan xolda biologik faol moddalarni yetarli miqdorda ajratib olish imkonini beradi. SHularni xisobga olgan xolda molekulyar tadqiqotlarda hususan rekombinant DNK olish jarayonlarida model o'simlik sifatida qo'llaniladigan ikki o'simlik Papayya (*Caricapapaya L.*) va Arabidopsis (*Arabidopsis Thaliana*)lar tadqiqot ob'ekti qilib olindi. Tadqiqot namunalarining yosh barg to'qimalaridan STAV usulida genom DNK ajratildi. Bu usulni qo'llab o'simlik to'qimasidan genom DNKsi ajratish anchagina samarali va sifatlidir.

Bu usulda barcha o'simlik turlaridan DNK ajratish mumkin bo'lib, ishlatilayotgan reagentlar inson salomatligi uchun xavfsiz va boshqa usullarga qaraganda arzon hisoblanadi. STAV usulida papaya va arabidopsis barg

to'qimasidan genom DNK ajratishning bosqichlari quyidagilardan iboratdir. DNK ajratish uchun to'qima tanlash, to'qimalarni hujayra darajasigachaga parchalash, yirik molekulalarning ajralishi, oqsillardan tozalash. DNK suspenziyasini RNK dan tozalash. DNK molekulalarini cho'ktirish, DNK ni tuzlardan tozalash va eritish. Polimer zanjir reaksiyasi (PZR) usuli asosida papaya va arabidopsis genomini amplifikatsiya qilish o'rganildi. Yillar davomida PZR tirik tizimlarida gen funksiyasi o'rganish uchun juda muhim bo'lgan klonlash endashuvlariga bevosita ta'sir ko'rsatdi. Klonlanuvchi hamma DNK fragmentlari to'rt asosiy bosqichlardan iborat: izolatsiyalab kiritish va vektor DNK, restraksiya fermentlarini ishlatish uchun "èpishqoq" oxirli DNK fragmentlarini kesish (qaysiki, vektorli DNK manbasini bo'lagani), ulangan oxirlarni ligirlash va nihoyat qabul qiluvchi qujayralarga DNK transformatsiyasi, masalan, bakteriya. PZRklonlashko'pgina endoshishlarni ko'rsatadi.

Gel elektroforez usulida genlarning molekulyar massasini aniqlash keltirildi.

STAV usulida papaya va arabidopsis o'simlik to'qimasidan genom DNK ajratish usuli o'rganildi. Ajratilgan DNK kontsentratsiyasi Quantity One 4.6.3 (Bio Rad, AQSH) dasturi yordamida gel fotonusxasi asosida λ fagi DNKsi fluorestsent chiziriga qiyosiy aniqlandi. DNK aralashmasi namunalari 25 ng/ μ l ishchi kontsentratsiyagacha suyultirildi va -20°C haroratda muzlatilgan holda saqlandi.

Dastlab namunalarning DNK kontsentratsiyasi 0,9 % li agaroz gelida, aniq (25 ng/ μ l) kontsentratsiya (λ) faging DNKsiga vizual tarzda taqqoslanib, gel elektroforez usuli yordamida aniqlandi. So'ngra, PZR amplifikatsiya mahsulotlari 3,5 % agaroz gelida tekshiriladi.

Gellar etidium bromid yordamida bo'yaldi va ultrabinafsha nuri ta'sir ettirilib Alpha Imager (Alpha Innotech, AQSH) gel-hujjatlashtiruvchi qurilmada suratga olindi. Genotiplash Reddy va uning hammualliflari usullariga muvofiqholda bajarildi hamda olingan ma'lumotlar Microsoft Excel dasturiga kiritildi.

Ilmiy izlanishlar natijasida STAV usulida dorivor o'simliklardan Papayya (Caricapapaya L.) va Arabidopsis (Arabidopsis Thaliana) o'simliklari barg to'qimasidan genom DNK ajratib olindi. Ajratib olingan DNK kontsentratsiyasi gel elektroforez aniqlandi. Polimeraza zanjir reaksiyasi (PZR) usuli asosida usulida Papayya (Caricapapaya L.) va Arabidopsis (Arabidopsis Thaliana) o'simligi genomini amplifikatsiya qilindi. Gel elektroforez usulida genlarning molekulyar massasini aniqladi..

Oksilli ozik olish. Ma'lumki urta darajada jismoniy ish bajarilganda katta odam ozik ovkat bilan 12,5 kDJ yoki 3ming kalloriya energiya oladi. Bu energiya 75 g shakarda bulishi mumkin. Lekin ovkat bizni fakat energiya bilan emas, balki xujayra va tukimalarni usishi va rivojlanishi uchun zarur oksil, yog, uglevodlar va vitaminlar bilan ta'minlaydi. Xisob kitoblarga karaganda yer yuzida iste'mol kilinadigan oksil yetishmasligi bir yilda 15mln tonnani tashkil etadi. Bioreaktorda yukori zamburuglar mitselliyalarini ustirish.

Iste'mol kilinadigan zamburuglar saprfit organizmlardir.

Evolutsiya jarayonida zamburuglar tuprokda mlovchi mikroorganizmlar va

usimliklar bilan muraklab simbiotik uzaro munosabatlar xosil kildi 50-yillarda biotexnologlar yukori zamburuglar mitselliylarini bioreaktoda ustirish tajribalarini boshladilar.

Tajriba kuyuvchilar yukori zamburuglar vegetativ tanasi uzining mazasi va ozika xususiyatlari bilan zamburuglarning meva tanasiga uxshash deb taxmin kildilar. Kup jixatdan bu taxmin isbotlandi, lekin yukori zam buruglar mitselliylarini ustirish ancha kiyin ish ekan.

Buning uchun tarkibi xar xil aminokislotalar , vitaminlar, shakarlar, mineral elementlarga boy oziki zarur.

Undan tashkari mitselliy ozikli xususiyatga va zamburugli delikates xususiyati ega. edi, u ma'lum maza va xid (aromat) ga ega bulishi kerak.

Mazza va xid tabiiy sharoitda zamburuglar toza xolda tashki muxitdan (tuproq gumusi) oladi yoki simbiontlar yordamida oladi. Xozir zamburug mitselliysiga xid berish uchun ozik muxitiga daraxt ildizi ekstrakti, sut, kovok kaynatmasi, yukori spirtlar va boshkalar kushiladi.

Iste'mol kilinadigan zamburuglar mitselliylari (makromitsetlar) ok zamburug, lisichka va boshk kiradi, chunki ular tarkibida zaxorli moddalar yuk.

Savollar:

1.Oqsilli oziq olish borasida qilinayotgan ishlar va ularning samaradorligi nimada?

2.Xozirgi kunda O'simlik to'qimalari biotexnologiyasini rivojlanishi xaqida ma'lumot bering?

3.Farmatsevtik biotexnologiya soxasining rivojlanishi uchun qanday usullardan foydalanib tadqiqotlar olib boriladi?

4. Oksilli ozuqa olish biotexnologiyasi

LABORATORIYAMASHFULOTLAR MATERIALLARI

1-LABORATORIYAISHI.

**O'ZBEKISTONDA O'SIMLIK XOM ASHYOSIDAN MAXSULOT
TAYYORLASHDA AMALGA OSHIRILADIGAN BIOTEXNOLOGIK
JARAYONLAR BILAN TANISHISH.**

O'zR FA Genomika va bioinformatika markaziga tashrif. O'zbekistonda o'simlik xom ashyosidan maxsulot tayyorlashda utkaziladigan tadqiqotlarni amalga oshirishga mo'ljallangan maxsus laboratoriyalar bilan tanishish.

1. O'simlik ho'jayra va to'qimalari kulturasini laboratoriyasi bilan tanishish.
2. Gen muxandesligi yo'li bilan olingan yangi navlarni saqlash uchun foydalaniladigan.
3. Fetotiron va uning sharoiti bilan tanishish.

Tekshiriluvchi material: O'simlik ho'jayra va to'qimalari kulturasini laboratoriyasi va Fetotiron mahsus laboratoriya xonasi

Reagentlar:

Kerakli anjomlar: xalatda, qalpoqcha, O'simlik ho'jayra va to'qimalari kulturasini laboratoriyasi va Fetotiron mahsus laboratoriya xonasi

Bajariladigan ish tartibi: ekskursiya, kuzatuv.

LABORATORIYA MASHG‘ULOTLAR MATERIALLARI

2-LABORATORIYA ISHI.

O‘SIMLIK XUJAYRA VA TO‘QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI LABORATORIYASIDA ISHLASH TEXNIKA XAVFSIZLIGI QOIDALARI BILAN TANISHISH.

Tadqiqotlarni amalga oshirishga mo‘ljallangan xonalar va asbob-uskunalarining tozaligi, sterilligi tajriba ishlarini amalga oshirishda eng zarur manba hisoblanadi. YA’ni yaxshi steril, toza ishchi joyida tajriba ishlarini olib borish, maxsus asbob uskunalar izlashdan ko‘ra qulayroqdir.

1. Laboratoriyada barcha xodimlar xalatda, qalpoqchada yoki ro‘molda hamda almashtiriluvchi charm oyoq kiyimda bo‘lishlari shart.
2. Xonada chekish, ovqatlanish, oziq-ovqat mahsulotlarini saqlash man etiladi.
3. Laboratoriya tashqarisiga xalatda yoki uning ustiga kiyim kiyib chiqish mumkin emas.
4. Barcha ishlar sterillikka rioya qilish qoidasi asosida olib borilishi lozim: barcha muolajalar gorelka alangasining oldida olib boriladi.
5. Qo‘llarning tozaligini nazorat qilib turish kerak: ish tugagach ish stoli tartibga keltirilib dezinfektsiyalanadi hamda qo‘llar spirt bilan tozalanadi.
6. Barcha laboratoriya idishlari yuvilib sterilizatsiyalanadi.

Biotexnologik laboratoriyani toza tutish zarur. Xar kuni laboratoriya xonasi gigiyenik tozalanadi.

Ajratilgan hujayralar va to‘qimalar bilan kilinadigan barcha nozik ishlar (manipulyatsiyalar) aseptik sharoitda laminar-bokslarda sterillangan uskunalar yordamida bajariladi.

Tekshiriluvchi material: Laboratoriya xonasi, hujayralar va to‘qimalar bilan ishlash uchun muljallangan mahsus laboratoriya xonasi, unda ishlash uchun texnika xavfsizligi qoidalari yozilgan daftari.

Reagentlar: 96% spirt, 20% li fenol.

Kerakli anjomlar: xalatda, qalpoqcha, laminar boks, quritish shkafi, UB nurlatgich, biofiltrlar, Pintsetlar, skalpellar, qaychi, preparaval ignalar, spirt.

Bajariladigan ish tartibi: talabalarqalpoqcha yoki ro'mol hamda almashtiriluvchi charm oyof kiyimlarini kiyib laboratoriya xonasiga kirishadi.

Laminarning barcha yuzasi 96% spirt bilan artiladi.

Sterillangan asboplar, materiallar, o'simlik material tanishadi. Asboplar, materiallar, o'simlik material saqlash qoidalar bilan tanishtiriladi.

Laminar, xonadagi jixozlar va stollar sterilizatsiya qilidadi. Mahsus laboratoriya xonasidan tashqariga chiqiladi.

Mahsus laboratoriya xonasidan tashqariga chiqib, UB nurlatgich yoqiladi va 20 daqiqadan so'ng UB nurlatgich o'chirilib biofiltrlar yoqiladi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

3- LABORATORIYA ISHI.

LAMINAR-BOKS VA UNING ISHLASH QOIDALARI BILAN TANISHISH.

Tekshiriluvchi material: Xujayralar va to'qimalar bilan ishlash uchun muljallangan mahsus laboratoriya, laminar-boks.

Reagentlar: 96% spirt, 20% li fenol.

Kerakli anjomlar: laminar boks, quritish shkafi, UB nurlatgich, biofiltrlar, spirtli yoqgich.

Bajariladigan ish tartibi:

Laminarning boksning barcha yuzasi 96% spirt bilan artiladi.

Laminarning shamollatgichlari yoqiladi. Spirtli yoqgichni ishlash printsipli bilan tanishish. Laminar-boks bo'lmagan hollarda unchalik katta bo'lmagan izolyatsiyalangan xonalarda ishni amalga oshirish mumkin.

Bunday hollarda ishchi yuza qism tez va oson sterillanadigan bo'lishi zarur va u yer ham (masalan: kimyoviy tajribalar stoli) spirt yoki 20% li fenol bilan sterillanadi. Bundan tashqari, ish boshlanguncha, ish davomida va ish tugagandan so'ng ham ishchi yuzaning (stolning) ikki chekasida bunzen gorelkasida alanga yonib turishi lozim.

Yuqorida keltirilgan talablarga javob beradigan steril xona tashkil etilsagina laminar-bokslardagidek steril ekishni muvoffaqiyatli amalga oshirish mumkin. Laminar boksdagi ishlash uchun steril yoki toza xalat va qalpoqcha kiyiladi, qo'llar 96% spirt bilan artiladi. Pintsetlar, skalpellar, qaychi, preparaval ignalar 96% spirtli stakanga solib qo'yiladi.

Xar bir manipulyatsiya oldidan asboplar gorelka alangasida qo'ydiriladi. Sterillik buzilsa ozuqa muhitida tezda mikroorganizmlar (zamburufklar, bakteriyalar) yaxshi rivojlanib, ozuqa muhitining tarkibini o'zgartirib, o'simlik eksplantlarining o'sishini susaytiradi.

Petri likobchalari (2 ta), 500-700 ml-li kimyoviy stakanlar (2 ta) va buyum oynachalar pishiqqo'rozga o'ralgan xolda 160°S da 2 soat davomida quritish shkaflarida sterillanadi. Skalpel, ajratish ninalari, pintsetlar quritish shkafida 140°S da 1 soat davomida sterillanadi.

Idishlar, xalatlar, paxta, qo'roz, ozuqa muhitlar avtoklavlarda burning 1-2 atm bosim ostida va 120°S xaroratda sterilizatsiya materialining xajmiga qarab 20-60 daqiqa ushlab turiladi. Kolbalar, ozuqa muhitli shtativlar, xalatlar, paxta, qo'roz, avtoklavlashdan avval yuqori xaroratga bardoshli qo'rozga o'raladi yoki bikslarga joylashtiriladi.

Metall asboplarni avtoklavlash mumkin emas, chunki bu ta'sirida zanglab qoladi. SHuning uchun ularni quruq issiqhavoda $170-250^{\circ}\text{S}$ temperaturada 1-2 soat davomida sterilizatsiyalash kerak.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

4-LABORATORIYA ISHI.

O'SIMLIKLARNING IZOLIRLANGAN XUJAYRA VA TO'QIMALARINI SUN'IY OZUQA MUXITLARIGA KULTIVIRLASHNING TEXNIKASI

Materiallar va asbob-uskunalar. Kimyoviy stakanlar, kolbalar, 10 ml dan 1 litrgacha bo'lgan o'lchov tsilindrlari, 0,01 ml dan 10 ml gacha bo'lgan pipetkalar yoki dozatorlar, analitik tarozilar, pintsetlar, qaychilar, shpatellar, elektroplitka, magnitli aralashtirgich (meshalka), makro- va mikrotuzlarning matочные eritmalari, vitaminlar, mezoinozit, glitsin, saxaroza, agar-agar.

Bajariladigan ish tartibi: in vitro sharoitida o'simlik hujayra va to'qimalarini kultivirlash uchun ozuqa muxitlarini tayyorlash.

O'simlik hujayra va to'qimalarini o'stirish uchun mo'ljallangan ozuqa muxitlarining komponentlarini 6 ta asosiy guruhlariga bo'lish mumkin, shuningdek ularning kontsentrlangan matочных eritmalarini tayyorlashdagi ketma-ketligi quyidagicha: makroelementlar, mikroelementlar, temir manbalari, vitaminlar, uglerod manbalari, o'sish regulyatorlari.

O'simlik eksplantlarini kultivirlashga mo'ljallangan ozuqa muhitlarini asosi bo'lib mineral tuzlar aralashmasi hisoblanadi. Masalan, azot birikmasining nitrat, nitrit, ammoniy tuzlari shakli, fosforning – fosfat shakli, oltingugurtning – sulfatlar shakli, shuningdek, K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} eriydigan tuzlar kiradi.

Temirning o'simlik to'qimasi oson o'zlashtira oladigan xelatlar $[\text{FeO}_4]$ yoki $\text{Fe}_2\text{O}_4 + \text{etilendiamintet-rauksus kislota (EDTA)}$ yoki uning natriyli tuzi Na EDTA

(trilon B)] shakli qo'llaniladi. Geterotrof kulturalar (kallus va suspenziyalar)ni o'stirish uchun ozuqa muxitiga uglerodning manbai sifatida uglevodlardan 20–60 g/l konsentratsiya miqdorida qo'shiladi.

Odatda disaxaridlar (saxaroza), monosaxaridlar (geksozalar: glyukoza va fruktoza, pentozalar: ksiloza va boshqalar) dan foydalaniladi. Polisaxaridlar ozuqa muhitlarida deyarli qo'llanilmaydi. Faqat tarkibida gidrolitik fermentlar mavjud bo'lgan ba'zi to'qima turlar(o'sma) kraxmal yoki boshqa polisaxaridlar qo'shilgan muhitlarda o'stiriladi. YEtishtirilayotgan (Kultivirlanayotgan) hujayralarning biokimyoviy reaksiyalarni stimullash uchun V (V1, V6, V12), S (askorbin kislota), RR (nikotin kislota) guruh vitaminlari, mezoinozitdan foydalaniladi.

Kallusogenez induktsiyasi uchun ozuqa muhit tarkibiga albatta auksinlar (hujayra dedifferentsirovkasini chaqiruvchi) va tsitokininlar (dedifferentsirlangan hujayralar bo'linishini indutsirlovchi) kirishi shart.

Poya morfogenezi induktsiyasi xolatida auksinlar miqdori kamaygan yoki umuman tugagan bo'lishi mumkin. Tarkibida gormonlar bo'lmagan muxitlarda usma xamda "o'rgangan" hujayralar o'sa oladi.

Ozuqa muhitlarda auksinlar sifatida 0,1-10 mg/l konsentratsiyadagi 2,4-dixlorfenoksiuksu kislota (2,4-D), naftiluksus kislota (NUK) – 0,1-2 mg/l, indoliluksus kislota (IUK) – 1-30 mg/l dan foydalaniladi.

Kallus induktsiyasi uchun auksinlarning yuqori konsentratsiyasi (ko'proq 2,4-D) qo'llaniladi, lekin keyingi ko'chirib o'tkazishlarda konsentratsiyasi kamaytiriladi. Sun'iy ozuqa muhitlar tarkibida tsitokininlar sifatida 0,001-10 mg/l konsentratsiyadagikinetin, benzilaminopurin (BAP), zeatinlar bo'ladi. BAP va zeatin kinetinga qaraganda izolirlangan to'qimalar o'sishini qo'llash va organogenez induktsiyasida anchagina faol. Alohida ozuqa muhitlar auksinlar va tsitokininlardan tashqari o'zida gibberelin kislotani (GK) tutadi. Muhitda GK ning bo'lishi majburiy emas, lekin ba'zi xolatlarda u izolirlangan to'qimaning o'sishini stimullaydi.

Birlamchi kallusni induktsiyalash uchun biologik qo'shimchalar sifatida o'simlik ekstraktlari (muxit umumiy hajmining 10-15%) dan foydalaniladi: tsitokininlar – kinetin va zeatin tutuvchi kokos suti (kokos yonfofining suyuq endospermi), makkajo'xorining yetilmagan donlaridan vytyajki (eng yaxshishi sut pishish davri), shuningdek tsitokinin faolligiga ega birikmalar(NN-difenilmochevina)in vitro sharoitida o'simlik hujayra va to'qimalarini yetishtirish (kultivirlash) uchun suyuq va agarizlangan (qattiq) muhitlardan foydalaniladi.

Agarizlangan muhitlar agar-agar – dengiz o'tlari tarkibida uchrovchi, pH 5,6-6,0 muhitda suv bilan birikkanda gel hosil qiluvchi polisaxaridlar asosida tayyorlanadi.

Odatda muhitga 0,7-0,8 % agardan qo'shiladi. Ba'zan to'ldiruvchi va agar-agarga o'rindosh sifatida poliakrilaidgelllaridan (biogellar) foydalaniladi.

Turli xil ozuqa muxitlar tayyorlangan, lekin ularning ko'pchiligi asosiy ozuqa muhitlarning:

Murasige-Skuga (MS), Uayta, SHenka- Xildebrandta, Gamborga (V5), Linsmayera-Skuga, Xellera, CHapeka a O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmuaboshalarning modifikatsiyalangan vakillari hisoblanishadi. Sun'iy ozuqa muhitlar uchun makro- va mikrotuzlar eritmalari oldindan tayyorlanib olinadi va ko'p marotaba ishlatiladi.

Bular matochnые (kontsentrlangan) eritmalar ularni maxsus sharoitlarda saqlashadi: makro- va mikrotuzlar tiqinli idishlarda muzlatgichda 0...+4 oS xaroratda saqlanadi. Vitaminlar, fitogormonlar, fermentlar, o'simlik ekstraktlarini - 20 oS 5-10 ml li tiqinli idishlarda saqlagan yaxshi. Makrotuzlarning matochnые eritmalarining ishchi kontsentratsiyasi 10-40 marta, mikrotuzlarniki-100-1000 marta, vitaminlarniki – 100 martaga oshadi. Makro- va mikrotuzlarning Matochnые eritmalarini tayyorlashda tuzlar alohida idishlarda qizdirish orqali eritiladi, so'ng to'kib, kerakli hajmgacha keltiriladi.

Sovutilgan mikrotuzlar aralashmasiga ohirgi bo'lib molibden tuzlari eritmasidan, makrotuzlarga esa – magniy tuzlarining eritmalarini (cho'kma hosil bo'lishini oldini olish maqsadida) qo'shiladi. Temir xelatining Matochnые eritmasini boshqa tuzlardan alohidalagan xolda tayyorlanadi va saqlanadi.

Temir xelatini noto'g'ri tayyorlash natijasida kaltsiya va magniy fosfatlari avtoklavlashdan so'ng cho'kmaga tushish mumkin.

Vitaminlarning kontsentrlangan eritmalarini o'ziga mos miqdorda distillangan suv bilan alohida-alohida eritgan xolda tayyorlanadi. Fitogormonlar qoidaga ko'ra suvda yaxshi erimaydi.

SHuning uchun, 10 mg moddani oldindan ko'p bo'lmagan miqdordagi (0,5-1 ml) spirt (auksinlar, gibberelinlar), 0,5-1 n HCl yoki KON (tsitokininlar) da eritiladi, so'ng to'liq eriguncha qizdiriladi (abtsizin kislotasi va kinetindan tashqari) va 10 ml bo'lguncha davom ettiriladi (1 ml 1 mg gormon tutadi) ularni muzlatgichda, 4 qS xaroratda, 1 oy davomida saqlash mumkin.

Makrotuzlar, mikrotuzlarning matochnых eritmalarini, vitaminlar asosidagi ishdan maqsad - Murasige-Skuga ozuqa muhitini tayyorlashdan iboratdir.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

5-LABORATORIYA ISHI.

OZUQA MUHITINI TAYYORLASHNING BAYONI (PROTOK):

Materiallar va asbob-uskunalar. Kimyoviy stakanlar, kolbalar, 10 ml dan 1 litrgacha bo'lgan o'lchov tsilindrlari, 0,01 ml dan 10 ml gacha bo'lgan pipetkalar yoki dozatorlar, analitik tarozilar, pintsetlar, qaychilar, shpatellar, elektroplitka, magnitli aralashtirgich (meshalka), makro- va mikrotuzlarning matochные eritmalari, vitaminlar, mezoinozit, glitsin, saxaroza, agar-agar.

Bajariladigan ish tartibi:

- 1). 1 l suyuq muhitni tayyorlash uchun 1 l hajmdagi stakanda 30 g saxarozaga tahminan 400 ml bo'lguncha distillirlangan suv quyiladi.
- 2). Saxaroza erigandan so'ng makrotuzlar, mikrotuzlarning matochные eritmalari, mezoinozit, glitsin, vitaminlardan kerakli miqdorda qo'shiladi (jadval).
- 3). 950 ml bo'lguncha distillirlangan suvdan quyiladi.
- 4). Eritmaning rN muhiti o'lchanadi. 0,1 n NaOH yoki NSI yordamida uni 5,7-5,8 darajagacha yetkaziladi.
- 5). Muhit 1 l hajmli kolba yoki tsilindrga o'tkaziladiva belgiga yetguncha distillirlangan suv qo'yiladi.
- 6.) Muhit toza konus kolbalarga bo'lib (portsiyalab) (100-250 ml) quyiladi, so'ng agar qo'shiladi, usti alyumin folga bilan yopiladi va avtoklavga joylashtiriladi (avtoklavlanadi).

Nazorat savollari.

1. Ozuqa muxitlari tarkibiga qanday moddalar kiradi va ular in vitro sharoitida o'simlik xujayra to'qimasi kulturasida qanday vazifani bajarishadi?

2. Каковы особенности приготовления и хранения маточных растворов основных компонентов питательных сред?

Ozuqa muhiti (matочный) asosiy qo'shimchalari (komponenti) qanday asosga ko'ra tayyorlanadi va saqlanadi.

4. Kultural muxit tayyorlash ketma-ketligi qanday?

Таблица

Питательная среда Мурасиге и Скуга

Состав	Молярность в среде	Концентрация хранящегося раствора, мг/л	Объем хранящегося раствора на 1 л среды, мл	Условия хранения маточного раствора, °C
Макроэлементы				
KNO ₃	1,88·10 ⁻²	19 000	100	+4
NH ₄ NO ₃	2,06·10 ⁻²	16 500		
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1,50·10 ⁻³	3 700		
CaCl ₂	3,00·10 ⁻³	4 400		
KH ₂ PO ₄	1,25·10 ⁻³	1 700		
Микроэлементы				
MnSO ₄ ·7H ₂ O	9,99·10 ⁻⁵	2 230	10	+4
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	2,99·10 ⁻⁵	860		
H ₃ BO ₃	1,00·10 ⁻⁴	620		
KJ	5,00·10 ⁻⁶	83		
Микроэлементы				
CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,00·10 ⁻⁷	25	1	+4
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	1,00·10 ⁻⁶	250		
CoCl ₂ ·6H ₂ O	1,00·10 ⁻⁷	25		
Источник железа				
FeSO ₄ ·7H ₂ O	1,00·10 ⁻⁴	2 780	10	+4
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	1,00·10 ⁻⁴	3 730		
Источник углерода				
Сахароза	8,80·10 ⁻²	-	30 г/л	-
Витамины и органические добавки				
Мезоинозит	4,90·10 ⁻⁴	10 000	10	-20
Глицин	3,00·10 ⁻⁵	200		
Тиамин-HCl	3,00·10 ⁻⁷	500	1	
Пиридоксин-HCl	2,40·10 ⁻⁶	500		
Никотиновая кислота	4,66·10 ⁻⁶	500		

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

6-LABORATORIYA ISHI.

**O'SIMLIKNING IZOLIRLANGAN HUYAYRA VA TO'QIMASI
KULTURASI BILAN ISHLASH MOBAYNIDA O'TKAZILADIGAN
STERILIZATSIYA METODLARI**

Materiallar va asbob-uskunalar. Kimyoviy stakanlar, kolbalar, 10 ml dan 1 litrgacha bo'lgan o'lchov tsilindrlari, 0,01 ml dan 10 ml gacha bo'lgan pipetkalar yoki dozatorlar, analitik tarozilar, pintsetlar, qaychilar, shpatellar, elektroplitka, magnitli aralashtirgich (meshalka), makro- va mikrotuzlarning matochные eritmalari, vitaminlar, mezoinozit, glitsin, saxaroza, agar-agar.

Bajariladigan ish tartibi: O'simlikning izolirlangan organ, to'qima, hujayra va protoplastlarini muvaffaqiyatli yetishtirishning (kultivirlash) shartlaridan biri sterillikga qat'iy rioya qilishdir, chunki sun'iy ozuqa muhitlarda mikroorganizmlar juda yaxshi rivojlanishadi, bu esa xavfni ikki xissa oshiradi.

Birinchidan, mikroorganizmlarning hayot faoliyati natijasida ozuqa muhitning tarkibi sezilarli darajada o'zgarishi mumkin;

ikkinchidan, o'simlikdan izolirlangan to'qima, hujayra va ayniqsa protoplastlar mikroorganizmlar tomonidan oson shikastlanadi. SHuning uchun barcha tajribalar steril sharoitda – laminar-bokslarda olib boriladi.

Laminar-boks, idishlar, ozuqa muhitlari, o'simlik materiallari sterilizatsiya qilinadi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI
7-LABORATORIYA ISHI.

LAMINAR-BOKS STERILIZATSIYASI.

Materiallar va asbob-uskunalar. laminar-boks, ultrabinafsha nurlar yordamida nurlantirgich.

Reagentlar: 96% spirt, 20% li fenol, 70 % li spirt,

Bajariladigan ish tartibi Laminar-bokslar izolirlangan hujayra, to'qima kulturalari va sterillikni talab qiluvchi boshqa ba'zi ishlarni bajarish uchun mo'ljallangan. Sterillik laminar-bokslarga o'rnatilgan havo almashinib turadigan bakterial filtrlar hisobiga ta'minlanadi.

Ish boshlashdan 20 daqiqa oldin laminar-boksning ichki qismi ultrabinafsha nurlar yordamida nurlantiriladi. Spirtli goretka, 96% li spirt solingan farfor stakan, 70 % li spirt bilan artilgan ozuqa muhiti solingan kolba yoki probirkalar oldindan laminarga joylashtiriladi.

20 daqiqadan so'ng UF o'chiriladi va biofiltrlar yoqiladi. Laminar boksdan ishlash uchun oq xalat kiyiladi va qo'llar 70 % li spirt bilan ishlav beriladi.

Savollar:

1. Laminar-boksni ishlash tartibi.
2. Ultrabinafsha nurlar yordamida nurlantirgichning vazifasi nimdan iborat?
3. 96% spirt bilan qanday jarayon amalga oshiriladi
4. 20% li fenol nima uchun ishlatiladi?
5. 70 % li spirt bilan qaysi materiallar sterillanadi?

LABORATORIYA MASHG‘ULOTLAR MATERIALLARI

8-LABORATORIYA ISHI.

IDISHLARNI STERILIZATSIYALASH.

Materiallar va asbob-uskunalar. Avtoklav, kimyoviy stakanlar, kolbalar, 10 ml dan 1 litrgacha bo‘lgan o‘lchov tsilindrlari, 0,01 ml dan 10 ml gacha bo‘lgan pipetkalar yoki dozatorlar, pintsetlar, qaychilar.

Bajariladigan ish tartibi:

Oldin idishlar detergentlar yoki sulfat kislotalaridagi kaliy bixromatning eritmasi yordamida yaxshilab yuvib olinadi. YUvilgan idishlar distillirlangan suvda chayiladi va quritgich shkafda quritiladi. Sterillangan narsalarni havodan zararlanishini oldini olish kerak, sterilizatsiyadan oldin ular qoplovchi qo‘roq bilan o‘raladi (stakan va kolbalarni alyumin folga bilan faqat o‘rta qismini o‘rash yetarli. So‘ng idishlar quritgich shkafga joylashtiriladi va 160 qS da 2 soat (kerakli harorat qo‘yilgandan keyin) davomida qizdiriladi. Bu vaqt mobaynida nafaqat bakteriyalar balki ularning sporalari ham nobud bo‘lishadi. Yana ham kuchli sterilizatsiyani bosim ostida avtoklavda amalga oshirish mumkin, chunki nam issiq mikroorganizm va sporalarni nobud qiladi.

Avtoklavlash 25-30 daqiqa 2 atm bosim ostida o‘tkaziladi. Asbob-uskunalarni sterilizatsiyalash. Asbob-uskunalar (skalpellar, pintsetlar, ignalar va boshqalar)ni dastlabki sterilizatsiyasi quritgich shkafda 2 soat 140 qS harorat ostida quruq issiqharorat bilan o‘tkaziladi. Metall ob‘ektlarni avtoklavlash mumkin emas: bu ta‘sirida ular zanglab, utmas bo‘lib qoladi. Bevosita ishdan oldin va ish jarayonida asbob-uskunalar (pintsetlar, skalpellar, mikrobiologik xalqalar) laminar-boksda 96% li spirt solingan farfor stakanga qo‘yiladi va spirtovka olovida qizdirilgan xolda yana bir bor sterillanadi. Sterillangan asbob-uskunani faqat bir marta manipulyatsiya uchun ishlatiladi. Yana ishlatish uchun uni kaytadan spirt bilan sterilizatsiyalab, qizdirish kerak.

Ozuqa muhitlarini sterilizatsiyalash. Tarkibida termolabil komponentlari bo‘lmagan ozuqa muhitlarini avtoklavlash yoki bir sutka interval bilan ikki marta qaynatish yo‘li bilan sterilizatsiyalanadi. Issiqqa chidamsiz bo‘lgan organik suyuqliklar bakteriyalardan poralar diametri 0,45 mkm ga teng steril maydaporali bakterial filtrdan o‘tkazish orqali tozalanadi.

O‘simlik to‘qimalari biotexnologiyasi fanidan o‘quv uslubiy majmua

LABORATORIYA MASHG‘ULOTLAR MATERIALLARI

9-LABORATORIYA ISHI.

O‘SIMLIK MATERIALI STERILIZATSIYASI.

Materiallar va asbob-uskunalar. Uruflar, laminar-boks, quritgich shkaf, MS ozuqa muhiti solingan probirkalar, pintsetlar, skalpellar, 96% va 70% li spirt quyilgan flakonlar, spirtovka, steril paxta, 200-300 ml hajmli kolbalar, Petri kosachalari, 100 ml li stakanchiklar, distillirlangan suv, natriy gipoxlorid, xloramin, dezinfektsiyalovchi vosita «Domestos»

Reagentlar: KMnO_4 eritmasida, 70 % li spirt, Ko‘proq 10-80 mg/l kontsentratsiyada streptomitsin va tetramitsin, 200-400 mg/l – ampitsillin, levomitsitin, kanomitsin. SHuningdek, ular bilan bir qatorda 2-10%li xloramin eritmasi, 0,11 % li sulema eritmasi, 5% li formalin eritmasi, 10% li CuSO_4 eritmasi, 5% li fenol eritmasi, 13-18% li vodorod peroksidi eritmasi, 70% li etanol eritmasi va shu kabilardan foydalaniladi.

Bajariladigan ish tartibi:

Steril o‘simlik materiali (epifit va rizosfera mikroorganizmlaridan xoli) ni olish jarayoni bir qancha bosqichlardan iborat.

Birinchi bosqich – dastlabki sterilizatsiya. Materialni qayta ishlash sharoiti ob‘ektga qarab turli variantlarda bo‘ladi.

Saqlovchi organlar (masalan, kartoshka tugunaklari) oqova suvda yaxshilab yuviladi, poya, ildiz yoki barg fragmentlari ham oqova suvda (vodoprovod suvida) yaxshilab yuviladi va spirtga (70 % li eritmaga 1 daqiqaga) joylashtiriladi.

Uruflarning dastlabki sterilizatsiyasi – uning ifloslanganlik darajasiga bo‘liq bo‘lgan eng o‘zoq jarayon. Uruflarning 3 guruhi mavjud: 1 – yuza qismining mikroorganizmlar bilan unchalik sezilarli bo‘lmagan darajada zararlanganligi; 2 – uruflarning faqat yuza qatlamining zararlanganligi; 3 – mikroorganizmlar uruflarning yuza hamda ichki qatlamida bo‘lishi. Birinchi guruhni istalgan sterilizatsiya usuli bilan qayta ishlab zararsizlantirish mumkin. Ko‘pincha bu‘doy, oq jo‘xori (sorgo), karam uruflari bunga misol bo‘la oladi.

Ikkinchi guruh yuza qismining yaxshiroq tozalanishini talab qiladi. Uruflar sovunli suvda, KMnO_4 eritmasida, 70 % li spirtida yuviladi; ba‘zi uruflarni natriy yoki kaliy gipoxlorid bilan yuvilib, steril suvda chayiladi. Bu guruhga latuk, shpinat, rediska, pomidor, makkajo‘xori, sabzi va shu kabi uruflar misol bo‘ladi. Nihoyat **uchinchi guruhning** ichki to‘qimalari zararsizlantirilmaguncha toza bo‘lmaydi. Bunga guruch, kungaboqar, soya donlari, qaraʼay va shu kabilarning uruflari misol

bo'ladi. Uruflar ichki qismining mikroorganizmlar bilan zararlanish foizi o'simlik turi, uruflarning saqlanish davomiyligi va sharoitiga bog'liqdir.

Ikkinchi bosqich – sterilizatsiya. Oldindan sterilizatsiyalangan to'qima yoki organlar sterilizatsiyalovchi eritmaga joylashtiriladi. Sterilizatsiyalovchi moddalar bilan bog'liq bo'lgan barcha ishlar aseptik sharoitda (laminar-boksda) olib boriladi. Sterilizatsiyalovchi agen va uning ta'sir qilish davomiyligi ob'ektga qarab tanlanadi. SHu bilan birga o'simlikning nafaqat tozalik darajasi ta'minlanishi, balki uning hayotchanligi ham saqlanib qolishi kerak.

Eng effektiv va bezarar agentlardan biri bu kaltsiy yoki natriy gipoxlorid (odatda faol xlor kontsentratsiyasi 0,5-1% ni tashkil qiluvchi eritmalar ishlatiladi). SHuningdek, ular bilan bir qatorda 2-10%li xloramin eritmasi, 0,11 % li sulema eritmasi, 5% li formalin eritmasi, 10% li CuSO₄ eritmasi, 5% li fenol eritmasi, 13-18% li vodorod peroksidi eritmasi, 70% li etanol eritmasi va shu kabilardan foydalaniladi.

Sterilizatsiya uchun xlortutuvchi oqartiruvchi eritmalaridan, masalan, "Belizna" yoki dezinfektsiyalovchi vosita «Domestos»dan foydalanish mumkin (1:2, 1:3 nisbatda aralashtirgan holda).

Antibiotiklar bakteriyalar bilan zararlangan o'simlik materiallari uchun qo'llaniladi (masalan, koronchatogallovых o'sma to'qimalari). Ko'proq 10-80 mg/l kontsentratsiyada streptomitsin va tetramitsin, 200-400 mg/l – ampitsillin, levomitsitin, kanomitsin va boshqalardan foydalaniladi.

Uchinchi bosqich – sterilizatsiyalovchi eritmada ob'ektni tozalab olish (poststerilizatsiya). Bunda o'simlik materialini 3-4 qismga bo'lib steril distillirlangan suvda yuviladi va xar bir qismi 10-15 daqiqa ichida suvda turishi kerak.

Ishdan maqsad – izolirlangan o'simlik hujayra va to'qima kulturalari bilan ishlash mobaynida aseptika qoidalariga rioya qilish, steril burdoy yoki sabzi uruflarini olish va ulardan aseptik o'simlik yetishtirishdan iboratdir.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

I

10-LABORATORIYA ISHI.

SABZI VA BUG'DOY URUG'LARI STERILIZATSIYASI.

Materiallar va asbob-uskunalar. Sabzi va bug'doy urug'lari, laminar-boks, quritgich shkaf, MS ozuqa muhiti solingan probirkalar, pintsetlar, skalpellar, 96% va 70% li spirt quyilgan flakonlar, spirtovka, steril paxta, 200-300 ml hajmli kolbalar, Petri kosachalari, 100 ml li stakanchiklar, distillirlangan suv, natriy gipoxlorid, xloramin, dezinfektsiyalovchi vosita «Domestos».

Reagentlar: 2-10%li xloramin eritmasi, 0,11 % li sulema eritmasi, 5% li formalin eritmasi, 10% li CuSO₄ eritmasi, 5% li fenol eritmasi, 13-18% li vodorod peroksidi eritmasi, 70% li etanol eritmasi va shu kabilardan foydalaniladi.

Bajariladigan ish tartibi:. Steril ko'chatlarni yetishtirish bo'yicha o'tkaziladigan ishga kerakli asbob-uskunalar, idishlar va ozuqa muhitlarni sterilizatsiyalash.

1). Idish detergentlar eritmasida yaxshilab yuviladi, oqava suvda 8-10 marta chayiladi. Majburiyat turilganda bir necha soatga xrompikga (sulfat kislota bilan bixromat kaliyning aralashmasi) solib qo'yiladi, iliq suvda chayiladi, so'ng ikki marotaba distillirlangan suvda chayiladi.

2). Toza idish 100-130 qS ga 1 soatga quritgich shkafga qo'yiladi.

3). saqlash uchun mo'ljallangan quruq idishlar paxta tiqinlari, folga yoki qo'rozgi o'rab berkitiladi.

4). Metal asboblari, chashki Petri, qalin qo'rozlarda yaxshilab o'ralib qo'ritish shikafiga joylashtiriladi strellash uchun qo'ruq issiq 160 qS xaroratda 2 soat davomida qo'yiladi.

5). Ozuqa muhitlari bilan to'ldirilgan probirka yoki kolbalar bilan shtativlar, distillirlangan suv bilan to'ldirilgan kolbalar (folga bilan berkitilgan), paxta, marlyani tsellofan qo'rozga o'rab avtoklavga joylashtiriladi va 20 daqiqa 0,5 atm bosimi ostida avtoklavlanadi.

6). Avtoklavlangan materiallar to'qimalarni ko'chirib o'tkazish xonasiga olib o'tiladi va shkaflarga joylashtiriladi.

2-topshiriq. Laminar-boksda ishlash texnikasini o'rganish. Ishlashdan oldin laminar-boksga ish uchun kerakli bo'lgan asbob-uskunalar, idishlar va materiallar joylashtiriladi. UF-lampa yoqiladi. 20 daqiqadan so'ng UF-lampa o'chiriladi va biofiltrlar yoqiladi. Spirtovka yoqiladi. Ko'llar va laminar-boksdagi ish maydoni 70% li spirt bilan artiladi. Steril idishlar va materiallar bilash ishlash mobaynida

qo'lni ochiq steril yuza ustidan olib o'tish mumkin emasligini esdan chiqarmaslik kerak.

Folga va qo'f bilan berkitilgan kolba va boshqa idishlarni quyidagicha ochish kerak: kolba laminar-boksga solinguncha qo'f olib tashlanadi. Idishning tomoqqismidan spirtovkadan qizdirib, folga kuydiriladi, so'ng sekinlik bilan steril pintset yordamida folga chetlari qayirilib olib tashlanadi. Ish tugagandan keyin idishlar yopiladi: idishning tomoqqismi qizdiriladi, steril pintset bilan folgali qopqoq olinadi, ikki tomonidan qizdiriladi va kolba tomoni yopiladi.

Folga sovugandan keyin idishning tomoqqismi maxkam yopiladi. Undan so'ng idishni laminar-boksdan olsa bo'ladi, folga ustidan qo'f o'raladi.

3-topshiriq. Aseptik nihollarni olish uchun uruflar sterilizatsiyasini o'tkazish. Sabzi hamda bufdoy uruflari sovunli suvda yuviladi, suv to'kiladi, uruflar esa KMnO_4 ning och pushti eritmasiga solinadi. 20 daqiqadan so'ng eritma to'kib tashlanadi va uruflar 70% li etanolga 1 daqiqaga solinadi.

Keyingi barcha ishlash laminar-boksda olib boriladi. Oldindan sterillangan uruflar 30 md turli sterilizatsiyalovchi eritmalar (3% li natriy gipoxlorid, 10% li xloramin, 1:2 nisbatda suyultirilgan dezinfektsiyalovchi vosita «Domestos») quyilgan stakanchikga solinadi. Sterilizatsiya davomiyligi – 15 daqiqa. Belgilangan vaqt tugagandan keyin sterilizatsiyalovchi eritmalar to'kib tashlanadi, stakanchaga oz miqdorda steril suv quyiladi. So'ng suv to'kib tashlanib, yangi portsiyasi quyiladi. Suv bilan yuvish xar 15 daqiqa almashtirilgan xolda 1 soat davom ettiriladi.

Uruflar unib chiqishini ikki xil usul o'tkazish mumkin:

1. Uruflar ozuqa muhitlarida unib chiqadi, so'ng o'sishda davom etadi. Bu xolatda ish quyidagicha amalga oshiriladi. Pintset spirtovka olovi yordamida qizdiriladi, sovutiladi va uning yordamida 4-5 dona steril uruflar gormonlarsiz agarizlangan MS muhitli probirkaga solinadi. Probirka alyumin folga bilan steril xolatda yopiladi. Uruflar solingan probirkalar 25 qS xroratda termostatga joylashtiriladi. 4-6 sutka o'tgandan keyin ekilgan maydon va uflarning unib chiqqanligi tekshiriladi. Uruflar unib chiqqandan keyin probirkalar 1000 lk yoruflik va xona xaroratidagi fitostat sharoitga o'tkaziladi.

2. Uruflar suvda namlangan filtr qo'fzlarda undiriladi, so'ng ozuqa muhitlariga o'tkaziladi.

Buning uchun filtr qo'f steril Petri kosachada steril suv bilan namlanadi, so'ng qizdirilib sovutilgan kurak bilan uruflar kosachaga olinadi, bir tekis qilib joylashtiriladi, kosacha yopiladi va burlanishni kamaytirish maqsadida yopishqoq lenta yordamida germetizatsiya qilinadi. Uruflar solingan kosacha 25 qS haroratda termostatga qo'yiladi. 4-5 sutka o'tib uruflar unib chiqqanidan keyin steril pintset

yordamida gormonsiz agarizlangan MS ozuqa muhitli probirkaga solinadi va fitostatga joylashtiriladi. **Ikkinchi** usul probirkada 1-2 ta o'simlikga, ularning normal oziqlanishi ta'minlangan holda o'sish imkonini beradi, lekin uruflarning unib chiqishi bo'yicha qo'shimcha operatsiyalarning o'tkazilishi va o'simliklarning ko'chirib o'tkazilishi zararlanish extimolligini ko'paytiradi.

Turli sterilizatsiya usullarining samaradorligi va uruflarning unib chiqishini solishtirish. Koniqarsiz sterilizatsiya natijasidagi zararlanish foizi va uruflarning unib chiqish foizini aniqlash. Natijalarni jadvalda qayd qilish.

№	Steril- lovchi vosita	Urug'- ni ekish usuli	Sterillashning samarasi			Undirishning samarasi		
			Umumiy urug' soni (dona)	Steril- langan urug'lar soni (dona)	Zarar- langan- lari %	Steril- langan urug'lar soni (dona)	Ungan urug'- lar soni (dona)	O'sish %

Ish mobaynida qo'llanilgan sterilizatsiya agentlari va uruflar unib chiqishida qo'llaniluvchi boshqa usullar samaradorliklari haqida xulosa chiqarish.

Nazorat savollari.

1. in vitro sharoitida o'simlik ob'ektlari bilan ishlash uchun mo'ljallangan idishlar va asbob-uskunalar strelizatsiyasi qanday qilib amalga oshariladi?
2. Termolabil komponentlarni o'zida tutuvchi va tutmaydigan ozuqa muhitlarni sterilizatsiya qilishning usullarini sanab o'ting.
3. Laminarboksni ishga tayyorlash qanday qilib amalga oshiriladi?
4. Laminarboks sharoitida ishlashning asosiy qoidalarini aytib o'ting.
5. O'simlik ob'ektlari sterilizatsiyasini amalga oshirishning asosiy bosqichlarini tavsiflab bering.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

11-LABORATORIYA ISHI.

KALLUS TO'QIMASI KULTURASI

Materiallar va asbob-uskunalar. Tamakining aseptik o'simligi, tamakining kallus kulturasi, steril Petri kosachalari, skalpel, pentset, qaychilar, spirtovka, gugurt, 96% va 70% li etanol quyilgan flakonlar, 2,4-D (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) yoki IUK (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) tutuvchi MS steril ozuqa muhitli Petri kosachalari, steril suv.

Reagentlar: 96% va 70% li etanol quyilgan flakonlar, 2,4-D (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) yoki IUK (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) tutuvchi MS steril ozuqa muhitli

Bajariladigan ish tartibi: Laminar-boks sharoitida tamakining asepti o'simligidan bargni steril qaychi yordamida qirqib olib steril Petri kosachasiga joylashtiriladi. Barglar so'lib qolishini oldini olish uchun eksplantlarning keyingi izolyatsiyasida Petri kosachasiga kam miqdorda steril suvdan quyish tavsiya qilinadi. Sterillangan skalpel yordamida o'rta tomirga yopishib turuvchi bargdan uzunligi 1,5-2 sm, kengligi 1 sm keladigan fragment kesib olinadi. YAxshiroq kallus hosil bo'lishi uchun barg segmentlarining butun yuzasi bo'ylab jaroxatlab chiqish kerak.

Tayyorlab olingan barg eksplantlari auksinlar sifatida 2,4-D yoki IUKni tutuvchi ozuqa muhiti solingan Petri kosachasiga joylashtiriladi. Petri kosachalarini parafilm bilan tamalab 24,5 qS xarorat ostida termostatga qo'yiladi. 4 xaftadan so'ng natijalar ko'riladi, 2,4-D va IUK li muhitlardan olingan kalluslar solishtiriladi. Natijalar daftarga yozib, chizib olinadi.

2. Dastlabki kallusni ko'chirib o'tkazish yoki kallusni saqlash uchun kurak yoki skalpeldan foydalaniladi. Ular yordamida Petri kosachasidagi eski nekrozga uchragan qismlarni olib tashlash mumkin. Sung kallus to'qimasini bir xil 1,5×1,5 sm hajmda kesib olib yangi ozuqa muhiti solingan Petri kosachasiga sterillikka qat'iy rioya qilgan holda ko'chirib o'tkaziladi. Xar bir kosachaga 5-7 bo'lakdan kallus solinadi.

Petri kosachasini Parafilm yoki oziq-ovqat plyonkasi bilan yopib, termostatga 24,5 qS xarorat ostida 3-4 xaftaga qo'yiladi. Muddat oxirida natijalar yozib olinadi va Petri kosachalari kallus to'qimalari bilan birga chizib olinadi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

12-LABORATORIYA ISHI.

**TAMAKIDAN KALLUS TO'QIMASINI OLISH VA UNI
SUBKULTIVATSIYALASH**

Materiallar va asbob-uskunalar. Tamakining aseptik o'simligi, tamakining kallus kulturasini, steril Petri kosachalari, skalpel, pentset, qaychilar, spirtovka, gugurt, 96% va 70% li etanol quyilgan flakonlar, 2,4-D (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) yoki IUK (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) tutuvchi MS steril ozuqa muhitli Petri kosachalari, steril suv.

Reagentlar: 96% va 70% li etanol quyilgan flakonlar, 2,4-D (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) yoki IUK (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) tutuvchi MS steril ozuqa muhitli

Bajariladigan ish tartibi:

Kallus to'qimalarning kulturasini – o'simlik turli organlarining izolirlangan segmentlari hujayralarining poliferatsiyasi natijasida yuzaga kelgan to'qimalarni kulturada o'zoq muddat o'stirilishidir. Kallus to'qimasining hosil bo'lishi va o'sishi auksin va tsitokininlar guruhiga kiruvchi fitogormonlar tomonidan boshqariladi. Auksinlar ta'sirida dedifferentsirovka yuzaga keladi, tsitokininlar ta'sirida esa intensiv bo'linish natijasida kallus hosil bo'ladi. Kallus kulturasini o'simlikning istalgan qismidan initsiirlash mumkin: poya, ildiz, tugunak to'qimalaridan, barg, kurtak va boshqalardan. Bunday fragmentlar eksplant deb ataladi. Tamaki – kallus to'qimalarini olish va uning ustida olib boriladigan keyingi tadqiqotlar uchun klassik ob'ekt hisoblanadi. Tamakining hujayralari oson dedifferentsiyalanadi va bo'linishga o'tib, tez o'suvchi kallus to'qimasini hosil qiladi. Tamakining barg eksplantlaridan kallus olishda eng faol kallus hosil bo'lishi barg asosida, ayniqsa, o'rta tomirga birikib turuvchi qismida kuzatiladi. Kallus to'qimasining egri o'sishi suspensiyalar kabi S-shimon xarakterga ega. U quyidagi bosqichlardan iborat: **boshlanish** (lag-faza), hujayralarning faol bo'linishi kechuvchi logarifmik o'sish, o'sishning sekinlashuvi, stationar va degradatsiyalar. bo'linish va keyingi o'sish xususiyatini saqlab qolish uchun kallus to'qimasining bir qismi yangi ozuqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. Bu usul to'qimalarni passirlash yoki subkultivirlash deb ataladi. To'qimani passirlash cheksiz miqdorda amalga oshirilishi mumkin. Lekin uning ko'p miqdorda takrorlanishi to'qimaning "o'rganib qolishi" ga olib keladi, buning natijasida esa gormonlarga nisbatan avtonomlik hosil bo'lib kallus hujayralarining o'simlik regeneratsiyasi xususiyati sustlashadi yoki umuman yo'qoladi.

Ishning maqsadi – kallus to'qimalarini olish texnikasi va ularni subkultivirlashni o'rganishdan iborat.

Savollar:

1. "Kallus to'qima" tushunchasini aniqlashtirib bering.
2. Kallusogenez jarayoni induktsiyasi uchun zarur bo'lgan asosiy omillarni sanab o'ting.
3. Dedifferentsiya nima? Ushbu jarayonda auksin va tsitokinlar qanday vazifani bajarishadi?
4. Auksin faolligiga ega 2,4-D yoki IUK birikmalarining qaysi biri kallus hosil bo'lishiga ko'proq ta'sir qiladi?
5. Kallus kulturasini yangi ozuqa muhitiga passirlashning ahamiyati nimada?
6. Kalluslarni subkultivirlash qanday tezlik (chastota)da olib boriladi?
7. Kallus to'qimasini yangi ozuqa muhitiga ko'chirib o'tkazishda qanday qoidalarga rioya qilish kerak?
8. Kallus kulturasining o'sish indeksi, o'sishning nisbiy tezligi va biomassaning ikki xissa ortish vaqti qanday usulda tekshiriladi?
9. Kallus to'qima o'sish faolligini tavsiflash uchun o'sish indeksiga qaraganda o'sishning solishtirma (nisbiy) tezligini qo'llashning afzalligi nimada?
10. Kalluslarning o'sishning solishtirma (nisbiy) tezligi bilan biomassaning ikki xissa ortish vaqti qanday bir-biriga bo'liq?

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

13-LABORATORIYA ISHI.

**KALLUS KULTURALARINING MORFOLOGIK VA O'SISH
KO'RSATKICHLARINI ANIQLASH**

Materiallar va asbob-uskunalar. Tamakining aseptik o'simligi, tamakining kallus kulturasini, steril Petri kosachalari, skalpel, pentset, qaychilar, spirtovka, gugurt, 96% va 70% li etanol quyilgan flakonlar, 2,4-D (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) yoki IUK (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) tutuvchi MS steril ozuqa muhitli Petri kosachalari, steril suv.

Reagentlar: 96% va 70% li etanol quyilgan flakonlar, 2,4-D (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) yoki IUK (2 mg/l) va kinetin (0,2 mg/l) tutuvchi MS steril ozuqa muhitli

Bajariladigan ish tartibi: Ishning borishi

1-topshiriq. Turli xil o'simliklarning kallus kulturalarini rangi, yoshi, zichligiga ko'ra tavsiflash.

Ob'ekt	Kallusning tavsifi		
	Rangi	Qo'yilgan vaqti	Zichligi

Kalluslar zichligi va ularning subkultivirlash davomiyligi o'rtasidagi bog'liqlikni aniqlashtirish.

2-topshiriq. Kallus kulturalari o'sish ko'rsatkichlarini hisobga olish. Buning uchun o'sish tsiklining ohirida kalluslarning massasini aniqlash lozim. Kallus to'qimalarining boshlanish va ohirgi massalari to'qimalaridagi ma'lumotlarga asoslangan xolda o'sish indeksi, o'sishning solishtirma tezligini va biomassa ko'payish vaqtini xisoblash kerak.

Natijalar jadval ko'rinishiga keltirilsin.

Ob'ekt	Kallusning boshlang'ich massasi, g	Yetish-tirilgan kallusning umumiy massasi	Kultura-lashning davomiyligi (kunlik)	Indeks baland-ligi	Kunlik o'sish nisbiy-ligi	Bio-massani yig'ilish vaqti (kunlik vaqti)

Turli kallus kulturalarning o'sish jarayonlari tezligi to'rtisida xulosalar chiqarish. Agar muhitida yuzaki usul bo'yicha kallus to'qimasini o'stirish o'zida aniq anatomik strukturaga ega bo'lmagan, yupqa devorli parenxima hujayralarining amorf massasini aks ettiradi.

Massa rangi oq, sariq, yashil, qizil ranglarda bo'lishi mumkin. Kelib chiqishi va o'stirilish sharoitiga ko'ra kallus to'qimasi aniq chegaralangan ʻrovakli, bir biridan oson ajraluvchi hujayralardan; o'rtame'yona zichlikdagi, aniq meristematik o'choqlarga ega; tifiiz, redutsirlangan kambiy va tomirlar zonasiga ega bo'lishi mumkin. Koidaga ko'ra auksin tutuvchi muhitlarda o'zoq muddatli kulturalarda kallus to'qimalaripigmentatsiyasini yo'qotib, ʻrovakli bo'lib qoladi. Kallus kulturalarining bo'yini quyidagi ko'rsatkichlar bo'yicha tavsiflash mumkin: o'sish indeksi, solishtirma tezligi va biomassa ko'payishining vaqti. O'sish indeksi quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi:

$$I = \frac{W_o - W_t}{W_o}$$

W_o – kallusning boshlanfiya massasi, g;

W_t – o'sishning oxirgi tsiklidagi kallus massasi, g.

O'sishning solishtirma tezligi quyidagi aniqlanadi:

$$V = \frac{W_o - W_t}{W_o \cdot t}$$

t – kultivirlashning davomiyligi, sut.

Biomassa ko'payishining vaqti quyidagi formula bilan topiladi:

$$\mu = \frac{\ln 2}{V}$$

Ishning maqsadi – turli o'simliklarning kallus kulturalarini morfologik belgilari va o'sish ko'rsatkichlariga ko'ra tavsiflashdan iborat.

Materiallar va asbob-uskunalar. Kalluslarning boshlanfich massa aniq bo'lgan o'sish tsiklining ohiridagi turli xil o'simliklarning kallus kulturalari, tarozi, skalpel, pintset.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

14-LABORATORIYA ISHI.

XUJAYRA SUSPENZIYALARINING KULTURALARI

Materiallar va asbob-uskunalar. Tamakining fovakli kallus to'qimasi, o'sishning statsionar fazasida turuvchi tamakining suspenszion kulturasi, laminar-boks, Saqlavchi. IUK (3 mg/l), 2,4-D (0,04 mg/l) va kinetin (0,008 mg/l) tutuvchi MS suyuq ozuqa muhiti solingan steril kolbalar, skalpel, pintset, 50-100 ml li steril stakanlar, voronka, poralar diametri 500 mkm ga teng.

Reagentlar: IUK (3 mg/l), 2,4-D (0,04 mg/l) va kinetin (0,008 mg/l) tutuvchi MS suyuq ozuqa muhiti

Bajariladigan ish tartibi: Suspenszion kulturalarni olish va subkultivirlash

Ish aseptik sharoitda olib boriladi. Birlamchi suspensziyani olish uchun kallus bo'lakchalari qizdirilib sovutilgan kurakcha yordamida MS suyuq ozuqa muhiti solingan kolbaga ko'chirilib o'tkaziladi: 50-100 ml muhitga 3-5 gr to'qima. YOsh, faol o'suvchi, yorqin, qarigan qismlari olib tashlangan kallusdan foydalanish kerak. Suspensiya hajmi kolba hajmining 10-20% ini tashkil qilishi kerak (masalan 500 lm hajmli kolbaga 50-100 ml muhit quyiladi).

Kolbaning o'fzi kallus ko'chirilib o'tkazilgandan keyin oldindan qizdirib olingan folgali qopqoq bilan yopilib, ustidan tsellofan yoki qo'roz bilan berkitiladi, qo'l qo'yilib, daqiqasiga 120 oborotli kachalkaga qo'yiladi va 24,5 qS xaroratda termostatga joylashtiriladi. Dastlabki sutkalarda muhitning loyqalanganligi kuzatilsa inokulyatsiya vaqtida bakterial zararlanish ro'y berganligidan dalolat beradi.

Suspensziyalarni quyidagi usul bo'yicha ko'chirib o'tkazish mumkin:

1). Yirik agregatlar cho'kishi uchun suspensiya 1-2 daqiqa tindiriladi va yangi muhit solingan kolbaga 5-10 ml quyib olinadi.

2). Suspensiya 1-2 daqiqaga qo'yib qo'yiladi. Steril pipetka yordamida suspensziyaning yuqori qismidan bir necha millilitr olinib, yangi ozuqa muhitli kolbaga ko'chirilib o'tkaziladi. 3) Poralar diametri 500 mkm ga teng sito yoki neylon filtr yordamida suspensiya tozalab olinadi. Xujayralar cho'kganidan keyin cho'kma usti suyuqligi to'kib tashlanadi, qolgan suspeziyaga esa yangi ozuqa muhit qo'shiladi. Quyida keltirib o'tilgan usullar yordamida suspensziyani ko'chirib olib kolba o'fzi qizdiriladi, oldindan qizdirib olingan folgali qopqoq yordamida berkitiladi, uni ustidan esa tsellofan yoki qo'roz yopilib, kolba keyingi ko'chirib o'tkazishlarga kachalkaga qo'yiladi.

Suspenszion kulturalar fovakli kallus to'qimalarni kalluslar solinadigan ozuqa muhitlari tarkibi bilan bir xil bo'lgan suyuq ozuqa muhitlariga solinib kachalkalarda (minutiga 100-1200 oborotlarda) kolbalarda o'stirilgan xolda olinadi. Xayotchan, intensiv proliferirlanuvchi, katta bo'lmagan hujayraviy agregatlar va aloxida hujayralarga bo'linuvchi kallus kulturalardan foydalanish tavsiya qilinadi.

Suspenziyadagi hujayraviy ko'payishni ta'minlovchi inokulyatning maksimal hajmi (suspenziyadagi hujayralarning kritik kontsentratsiyasi) kultivirlash boshidagi suspenziyaning umumiy hajmining 10-20% ini tashkil qiladi. Inokulyat miqdorining ko'payishi hujayra populyatsiyasi o'sishiga kislorod yetishmovchiligi va muhitda metabolizmning toksik maxsulotlari to'planishi natijasida zarar yetkazadisuspenziyalarni o'stirishning birinchi tsiklining davomiyligi qaysi o'simlik turidan olinganligiga, muhit tarkibiga, kachalkaning aylanish tezligiga qarab odatda 15-20 kunga teng.

Bu vaqt oralifida hujayralarning bir qismi nobud bo'ladi, kallusning dezagregatsiyasi yuzaga keladi va tirik hujayralarning intensiv bo'linishi kuzatiladi. Keyingi tsikllar 2 xaftagacha qisqartiriladi. Suspenziyani kolba devorlarida tirik hujayralardan xalqa hosil bo'lishi bilan ko'chirib o'tkazish kerak. Ishning maqsadi – fovak tipdagi kallus to'qimalaridan suspenzion kulturalarni initsiirlash texnikasini o'rganish va hujayraviy suspenziyani yangi ozuqa muxitga subkultivirlashdan iborat.

Nazorat savollari.

1. Suspenzion kultura olishning asosiy usullarini aytib o'ting.
2. O'simlik hujayrasi suspenzion kulturalarini initsiirlash uchun qo'llaniluvchi kallus to'qimalarga qanday talablar qo'yiladi?
3. Suspenzion kulturalarning o'sish tsiklining o'rtacha davomiyligi qanday?
4. Hujayraviy suspenziya subkultivatsiyasi qay tarzda amalga oshiriladi?

**LABORATORIYA MASHG‘ULOTLAR MATERIALLARI
15-LABORATORIYA ISHI.**

**XUJAYRALAR HAYOTCHANLIGINI VA SUSPENZION
KULTURALARNING AGREGIRLANGANLIK DARAJASINI BAHOLASH**

Materiallar va asbob-uskunalar. Tamakining suspenszion kulturasi, 0,1% li mutilen ko‘ki yoki neytral qizil eritmasi, pipetka, shisha tayoqcha, Goryaeva kamerasi, mikroskop.

Reagentlar:

Bajariladigan ish tartibi: Ishning borishi

Suspensziya preparatini tayyorlash: suspensziyani kolbada silkitish, oz miqdorini pipetka bilan olib, suspensziya tomchisini hisoblash kamerasiga joylashtiriladi. Bo‘yoqdan tomchilatib, qoplagich oyna bilan yopiladi, ortiqcha suyuqlik filtr qo‘oz yordamida artib tashlanadi. Preparat mikroskopning kichik kattalashtiruvchi ob‘ekti ostiga qo‘yiladi va hujayra, agregatlar ko‘rishning 3 qatorida hisoblanadi (kamida uchta preparatlarda ko‘rilishi kerak). Natijalar jadvalga yoziladi.

Fraksiyalar	Preparatlar								
	1			2			3		
	Taxminiy maydoni								
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Yagona xujayra									
Mayda agregatlar (2-5 xuj)									
Oʻrtacha agregatlar (6-20 xuj)									
Yirik agregatlar (21-50 xuj)									
Juda yirik agregatlar (50 dan yuqori)									

Eslatma: o – Bo'yalgan hujayra va agregatlar, n – bo'yalmagan hujayra va agregatlar.

Bitta preparat chizilib. Suspenziya hujayralari morfologiyasi yoziladi (shakli, kattaligi). Suspenziyalar agregirlanganlik (qanday fraktsiyalarga ega, %) va suspenziyalar xayotchanlik darajasi haqida xulosa chiqariladi.

Suspenziyalar bilan ishlash mobaynida uning hayotchanligini inobatga olish kerak. Xujayranin hayotchanligini tsitoplazma xarakatidan, bo'yoqlarning hujayra devoridan o'tish darajasidan, fermentlar faolligi va boshqalardan bilish mumkin. Metilen ko'ki bo'yofi hujayralarni o'ldirmaydi va tirik hujayralar qobifidan tsitoplazmaga o'ta olmaydi. 70% dan ko'p hujayralar ko'k rangga bo'yalmasa suspenziya hayotchan hisoblanadi; agar 50% dan ko'proqhujayralar bo'yalmasa agregat hayotchan hisoblanadi. Neytral qizil yordamida hujayra hayotchanligi tekshirilayotganda tirik hujayralar pushti rangga bo'yaladi. SHu bilan birga o'lik hujayralar kuchsiz ishqor eritmasi qo'shilganda fon bilan bir xil rangda olov rangga ega bo'ladi. Suspenziyalarning miqdoriy hayotchanligini aniqlash uchun hujayra metabolizmida qatnashuvchi moddalar qo'shiladi: fluorestsein-diatsetat hujayrada esterazalar yordamida parchalanib, tirik hujayralar tsitoplazmasining fluorestsentligini belgilovchi fluorestseinni hosil qiladi.

Esterazalar faolligi spektrofotometrda aniqlanadi. Xujayralarni tetrazol tuzlari bilan bo'yash hujayra nafas olish intensivligini aniqlashga yordam beradi. Tadqiqot maqsadiga qarab kultivirlash sharoiti va ozuqa muhitlari shunday tanlanadiki, suspenziya hujayralarning aniq fraktsiyalariga ega bo'lishi kerak. Odatda suspenziyada 4 ta asosiy fraktsiyalar farqlanadi: yakka hujayralar, mayda agregatlar, o'rtacha agregatlar, yirik agregatlar. Agregirlanganlikdarajasi mikroskop ostida ko'rishning bir qancha qatorlarida vaqtinchalik preparatlarda aniqlanadi (1000 hujayradan kam bo'lmagan).

Ishning maqsadi – hujayralarning hayotchanligi va suspenzion kulturalarning agregirlanganlik darajasini baholashdan iborat.

Tamakining suspenzion kulturasini, 0,1% li mutilen ko'ki yoki neytral qizil eritmasi, pipetka, shisha tayoqcha, Goryaeva kamerasi, mikroskop.

Savollar:

1. O'simlik hujayrasi hayotchanligini qanday qilib aniqlash mumkin?
2. Suspenzion kulturalarning agregirlanish darajasiga ko'ra turlarini sanab o'ting.
3. Suspenzion kulturalar agregirlanish darajasiga qanday faktorlar ta'sir qiladi?

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

LABORATORIYA MASHG'ULOTLAR MATERIALLARI

16-LABORATORIYA ISHI.

**O'SIMLIK HUYAYRALARINING KULTURADAGI
DIFFERENTSIROVKASI**

Materiallar va asbob-uskunalar: tamkinining aseptik o'stirilgan o'simligi va kallus kulturasida, laminar-boks, IUK (2 mg/l) va BAP (0,1 mg/l), shuningdek, IUK (0,1 mg/l) va BAP (2,0 mg/l) tutuvchi MS ozuqa muhiti solingan Petri kosachalari, pintsetlar, skalpellar, 96% va 70% spirt quyilgan flakonlar, spirtovka, steril paxta.

Reagentlar:IUK (0,1 mg/l) va BAP (2,0 mg/l) tutuvchi MS ozuqa muhiti, 96% va 70% spirt.

Kulturadagi tamaki hujayralari morfogenezigaga fitogormonlarning ta'siri.

Bajariladigan ish tartibi:Ish aseptik sharoitlarda olib boriladi. Steril tamaki o'simligi barglaridan eksplantlar izolyatsiyalanadi va aseptik tarzda MS agarizlangan muhiti solingan Petri kosachasiga o'tkaziladi. Petri kosachalari yopishtiriladi, qo'l qo'yiladi va 24,5 °S xarorat ostida termostatga qo'yilib, 4-5 hafta ichida inkubatsiya qilinadi. Belgilangan vaqt o'tgandan so'ng ozuqa muhitidagi auksinlar va tsitokinin gormonlar faolligining har xil nisbatlariga asoslangan turli morfogenetik reaksiya analizlar olib boriladi. Natijalar jadvalga qayd qilinadi.

№	Концентрация фитогормонов в питательной среде MS, мг/л		Морфогенетическая реакция
	ИУК	БАП	

Kulturadagi tamaki hujayralari morfogenezigaga fitogormonlarning ta'siri, shuningdek, kallus to'qimalarining kultivirlash davomiyligiga bo'liq xolda morfogenetik xususiyatlari to'rtida hulosasi chiqarish. Morfogeneznining har xil turlari mavjud: somatik embriogenez va organogenez, u o'z navbatida poya, ildiz va floral qismlarga bo'linadi. Somatik embriogenezda kallus hujayralardan poyacha va ildizcha rivojlanuvchi **bipolyar** murakkab o'xshash struktura shakllanadi. Poya organogenezi holatida hosil bo'lgan novda auksini yuqori bo'lgan muhitga ko'chirib o'tkaziladi. Agar morfogenez ildiz organogenezi bo'yicha kechayotgan bo'lsa, ildizlarda novda olib bo'lmaydi. Kallus to'qimasi kulturasida morfogenezni turli faktorlar (omillar) yordamida indutsirlash mumkin:

yoruqlik, xarorat. Ozuqa muhit tarkibi, va o'z navbatida – fitogormonlar nisbatining o'zgarishi. 1955 yilda Skog va Miller kulturadagi hujayra va to'qimalarning gormonal regulatsiyasi to'rtida gipotezani taklif qilishgan. Skog-Miller qoidasiga ko'ra: agar ozuqa muhitida auksinlar va tsitokininlar kontsentratsiyasi nisbatan teng yoki auksinlar kontsentratsiyasi tsitokininlar

konsentratsiyasiga nisbatan bir oz ko'p bo'lsa kallus hosil bo'ladi; agar auksinlar konsentratsiyasi tsitokinlar konsentratsiyasiz nisbatan sezilarli darajada ko'p bo'lsa ildizlar shakllanadi; agar auksinlar konsentratsiyasi tsitokinlar konsentratsiyasiga nisbatan sezilarli darajada kam bo'lsa ko'rtak, novdalar hosil bo'ladi.

YUqori morfogenetik potentsialga ega kalluslar odatda jilosiz (yaltiramaydigan), ixcham, strukturaga ega, o'zida morfogenez zonasini tutuvchi yashil xlorofil tutuvchi qismlarga ega. Keyinchalik u yerda novdalar yoki regenerat-o'simliklar shakllanadi. Fovakli kalluslar yoki orgogenezga umuman qodir emas yoki ulardan fakat ildizlar shakllanadi. Ildizlarning hosil bo'lishi gormonal balansning novdalar hosil bo'lishiga xalaqit beruvchi auksinlar tomon siljiganligidan dalolat beradi.

Ishning maqsadi – ozuqa muhitidagi auksinlar va tsitokinlarning turli nisbatlarini kulturadagi tamaki o'simligining morfogeneziga ta'sirini o'rganishdan iborat.

Savollar:

1. Kulturadagi o'simlik hujayrasi differentsirovkasining asosiy turlarini aytib o'ting.
2. Qaysi omillar o'simlik hujayra va to'qimasining kulturadagi morfogenezi yo'nalishiga ta'sir ko'rsatadi?
3. in vitro sharoitida o'simliklar regeneratsiyasi uchun poya organogenezi va rizogenez jarayoning qanday ahamiyati bor?
4. Suspenzion kultura olishning asosiy usullarini aytib o'ting.
5. O'simlik xujayrasi suspenzion kulturalarini initsiirlash uchun qo'llaniluvchi kallus to'qimalarga qanday talablar qo'yiladi?
6. Suspenzion kulturalarning o'sish tsiklining o'rtacha davomiyligi qanday?
7. Xujayraviy suspenziya subkultivatsiyasi qay tarzda amalga oshiriladi?
8. Suspenzion kulturalar agregirlanish darajasiga qanday faktorlar ta'sir qiladi?
9. Suspenzion kulturalarning agregirlanish darajasiga ko'ra turlarini sanab o'ting.
10. O'simlik hujayrasi hayotchanligini qanday qilib aniqlash mumkin?

MUSTAQIL TA'LIM MASHG'ULOTLARI

1. in vitro sharoitida kulturadagi o'simlik xujayrasining totipotentligi va differentsiyaatsiya turlari.
2. Differentsirovkaning asosiy bosqichlari.
3. Xujayraning kompetent va determinirlangan xolati.
4. in vitro sharoitida yuqori o'simliklar to'qimalarining differentsiatsiyasi va kallus xosil bo'lishi.
5. in vitro sharoitida o'simlik xujayrasining molekulyar-biologik tavsifi va differentsirovkasining biokimyoviy markerlari.
6. in vitro sharoitida kulturalardagi floemogenez va ksilemonogenez stimulyatsiyasining fiziologik jixatlari.
7. in vitro ning birlamchi va adventiv, to'fri va to'fri bo'lmagan morfogenezi.
8. Rizogenez va poya organogenezining morfofiziologik tavsifi.
9. in vitro sharoitida floral organogenez indeksiyasining sharoiti.
10. in vitro sharoitida o'simliklar regenerattsiyasi.
11. O'zoq muddat kultivattsiyalanuvchi o'simlik xujayrasi populyatsiyasi.

3. GLOSSARIY

Termin	O'zbek tilidagi sharhi	Ingliz tilidagi sharhi
ALLEL	Gen. Genlar holatining biri. Masalan: A yoki a.	One of several alternative forms of a gene that occur at a given locus on a chromosome. Most often there are two paired copies of a gene on homologous chromosomes. For each of your gene you get one copy (allele) from each parent. They may be nearly identical in DNA sequence or have slight variations (i.e. mutations).
AMINOKISLOTA	Organik kislota molekulasida bir yoki bir nechta vodorod atomini aminogruppa NH ₂ ga almashinishidan hosil bo'ladi. Bunda NH ₂ gruppaga ko'pincha karboksil gruppaga qo'shni uglerod (alfa (α) uglerod) atomining vodorodi o'rniga kiradi va α aminokislota hosil bo'ladi.	Any of a class of 20 molecules that are combined to form proteins in living things. The sequence of amino acids in a protein and hence protein function are determined by the genetic code
ANTI-KODON	t RNK o'rta qismidagi 3 ta nukleotid (triplet)dan iborat, i RNK ning kodoniga mos keladi. Kodon va antikodon komplementar bo'lsa, t RNK olib kelgan aminokislota ribosomaning katta birligida qoldiriladi va sintezlanayotgan zanjiriga ulanadi.	An anticodon is a unit made up of three nucleotides that correspond to the three bases of the codon on the mRNA. Each tRNA contains a specific anticodon triplet sequence that can base-pair to one or more codons for an amino acid. Some anticodons can pair with more than one codon due to a phenomenon known as wobble base pairing.

BIOPOLIMERLAR	YUqori molekulali tabiiy brikmalar (oqsillar, nuklein kislotalar, polisaxaridlar) bo‘lib, molekulasi ko‘p marotaba takrorlanadigan kichik molekulali monomer yoki ular qismlaridan iborat.	Polymers produced by living organisms; in other words, they are polymeric biomolecules.
GENEALOGIYA	«Genealogia» - so‘zidan olingan bo‘lib, shajara degan ma‘noni bildiradi. Odamning biror belgi-xossasining avlodlarda irsiylanishini tadqiq etadi.	Genealogy is a family history, is the study of families and the tracing of their lineages and history.
GENETIK INJENERIYA	Gen muhandisligi rekombinant DNKlar texnologiyasi. Genetik va biokimyoviy usullar yordamida organizm yoki hujayra biologik axborotni o‘zgartirish bilan tabiatda uchramaydigan, yangi xususiyatga ega bo‘lgan genlar to‘plamini va shu asosda yangi shtamm, nav va zotlarni yaratish.	Modification of the natural DNA sequence of a gene or genes. Genetic engineering is the basis of the modern biotechnological revolution, to which we owe such inventions as insulin-producing bacteria.
GENETIK KOD	Nuklein kislotalar molekulasida irsiy axborotning nukleotidlar ketma-ketligida berilishidan iborat. Genetik kod 3ta xarf nukleotiddan iborat bo‘ladi. Bu triplet deyiladi.	Three bases (e.g. 5'CGC3') in a DNA or RNA sequence specify a codon, which codes for an amino acid (e.g. arginine) in a protein. Genes are frequently tens of thousands of base-pairs long. Usually the codons of an exon are in phase within an uninterrupted open reading frame giving rise to long chains of amino acids after ribosomal translation.
GENLAR DREYFI (genetik avtonom jarayonlar)	Tasodifiy omillar ta’sirida kichik populyatsiyalarda genlar uchrash tezligining o‘zgarishi. Odatda populyatsiyalarda irsiy o‘zgaruvchanlik	Practice of "stimulating biased inheritance of particular genes to alter entire populations. It has been proposed as a technique for changing wild populations of harmful

	kamayishga olib keladi. Qarindosh-ururlar orasidagi nikohlar ortib ketganida bu holat kuchayadi. Bunda populyatsiyada selektiv ahamiyati bo‘lmagan genlar saqlanib qolishi va ko‘payishi mumkin.	organisms such as mosquitoes to be less dangerous.
GENOM	Genlar yig‘indisi. Xromosomalarning gaploid to‘plami. Genomning genotipdan farqi shundaki, u ayrim zot yoki navni emas, balki bir turni xarakterlab beradi.	A complete set (n) of chromosomes (hence, of genes) inherited as a unit from one parent plus one sex chromosome from the other parent in heterogametic individuals. The full genome sequences are available for hundreds of bacteria and viruses, human, and model organisms like mouse, frog, worm and fruit flies.
GENOTIP	Organizmning irsiy asosi. Diploid to‘plamdagi barcha genlar yig‘indisi.	he part (DNA sequence) of the genetic makeup of a cell, and therefore of an organism or individual, which determines a specific characteristic (phenotype) of that cell/organism/individual. Genotype is one of three factors that determine phenotype, the other two being inherited epigenetic factors, and non-inherited environmental factors.
GOMOLOGIK XROMOSOMA	Kattaligi, shakli, genlari bir xil bo‘lgan juft xromosomalar.	A couple of homologous chromosomes, or homologs, are a set of one maternal and one paternal chromosomes that pair up with each other inside a cell during meiosis.
DNK	Dezoksiribonuklein kislota. Faqat odamdagina emas, balki barcha boshqa eukariotlarda, shuningdek, prokariotlarda irsiy axborot	The molecule that encodes genetic information. DNA is a double-stranded molecule held together by weak bonds between base pairs of

	saqlovchi sanaladi.	nucleotides. the four nucleotides in dna contain the bases stranded molecule held together by weak bonds between base pairs of nucleotides. The four nucleotides in DNA contain the bases: adenine (A), guanine (G), cytosine (C), and thymine (T). In nature, base pairs form only between A and T and between G and C; thus the base sequence of each single strand can be deduced from that of its partner.
i RNK	informatsion RNK. U o‘zida DNK dan ko‘chirib olingan axborotni saqlaydi va oqsil sintezi jarayonida matritsa (qolip, andaza) vazifasini bajaradi. SHuning uchun u i-RNK, matritsa-RNK si deb ham yuritiladi.	RNA that serves as a template for protein synthesis.
INTRON	i RNK nig «axborotsiz» qismlar yirindisi.	The DNA base sequences interrupting the protein-coding sequences of a gene; these sequences are transcribed into RNA but are cut out of the message before it is translated into protein. Compare exons.
IRSIYAT	Irsiylanish jarayoni orqali organizmlarning avlodlar almashinishi davomida irsiy ma'lumotlarni avloddan-avlodga o‘tkazish jarayoni.	The passing of familial elements from one generation to the next.
MODIFIKATOR GENLAR	Organizmdagi belgi va xususiyatlarning rivojlanishida ishtirok etmay, balki boshqa asosiy genlarning ta'sirini o'zgartiruvchi, ya'ni bevosita emas, bilvosita ta'sir etuvchi genlardir.	Genes that have small quantitative effects on the level of expression of another gene

NUKLEIN KISLOTA	YUqori molekulyar biopolimer bo'lib, juda ko'p monomerlardan tuzilgan organik birikma. Uning monomeri nukleotidlar bo'lib, nuklein kislota polinukleotid hisoblanadi.	A large molecule composed of nucleotide subunits.
PIRIMIDIN	DNK ning birinchi zanjiridagi purin azotli asosiga komplementar holatda 2 chi zanjirida joylashgan azotli asos.	Nitrogen-containing organic bases made from a single ring structure. Includes cytosine and thymine (DNA) and uracil (RNA) that base-pair with purines to form the rungs in the DNA double helical ladder.
POLIMORFIZM	Ko'p shakllilik bir tur doirasida bir-biridan keskin farqqiluvchi individlarning mavjudligi.	A Difference in DNA sequence among individuals. Genetic variations occurring in more than 1% of a population would be considered useful polymorphisms for genetic linkage analysis. Compare mutation.
PROMOTOR	Operondan oldinda joylashgan triplet guruhlaridan biri bo'lib, RNK va DNK sintezini katalizlovchi RNK polimeraza bilan birikish xususiyatiga ega.	A site on DNA to which RNA polymerase will bind and initiate transcription.
PURIN	Ko'sh zanjirli DNK molekulasining 1-zanjirida adenin va timindan iborat asos. Komplementarlik qoidasiga binoan 1-zanjirdagi purin asosi qarshisida 2-zanjirda pirimidin asosi turadi.	A nitrogen-containing, single-ring, basic compound that occurs in nucleic acids. The purines in DNA and RNA are adenine and guanine.
r RNK	RNKLar ribosomaning har ikkala subbirliklari tarkibida bo'ladi.	A class of RNA found in the ribosomes of cells.
t RNK	Transport ribonuklein kislota. RNK polimeraza	A class of RNA having structures with triplet

	fermenti ishtirokida DNK matritsasida sintezlanadi. t RNK quyi molekulyar massaga ega bo‘lib, 75-85 nukleotiddan tashkil topgan. U beda bargi tipidagi ko‘rinishda bo‘ladi. Ribosomalarga aminokislotalarni tashish vazifasini o‘taydi.	nucleotide sequences that are complementary to the triplet nucleotide coding sequences of mRNA. The role of tRNAs in protein synthesis is to bond with amino acids and transfer them to the ribosomes, where proteins are assembled according to the genetic code carried by mRNA.
URATSIL	Pirimidin asoslari; RNK va erkin nukleotidlar tarkibiga kiradi.	A common pyrimidine found in RNA, it base pairs with adenine and is replaced by thymine in DNA. Methylation of uracil produces thymine. It turns into thymine to protect the DNA and to improve the efficiency of DNA replication. Uracil can base pair with any of the bases depending on how the molecule arranges itself on the helix, but readily pairs with adenine because the methyl group is repelled into a fixed position.
TSITIZIN	Nuklein kislotalarning tarkibiy qismi bo‘lgan nukleotidlarni hosil qiluvchi 4 ta azotli asosning bittasi. Komplementarlik printsipiga asosan tsitozinli azotli asos qarshisida guanin azotli asos turadi.	Pyrimidine base found in RNA and DNA. Cytosine ($C_4H_5N_3O$) forms base-pairs with guanine only. It may become methylated where it occurs consecutively to guanine in the DNA sequence (see 5-methylcytosine).
EKZON	Gen (DNK)ning genetik axborotga ega bo‘lgan aminokislotalar ketma-ketligini ifodalovchi (kodlovchi) qismi. Ekzonlar intron bilan gallashib turadi.	The protein-coding DNA sequences of a gene. Compare introns.
EKSPRESSIYA	Namoyon bo‘lish - muayyan gen tomonidan aniqlanuvchi belgining fenotipda organizmning yashash sharoitiga qarab namoyon	Production of observable/detectable characteristics of an organism, usually due to the synthesis of protein.

	bo'lish darajasi.	
--	-------------------	--

. ILOVALAR	231
-------------------	------------

4.1. FAN DASTURI231

**O‘zbekiston Respublikasi Sog‘liqni saqlash vazirligi
Toshkent farmatsevtika instituti**

“Tasdiqlayman”

O'quv va tarbiyaviy ishlar bo'yicha
prorektor Z.A.Yuldashev _____
2019 yil“ ____ ” _____

**O'SIMLIK TO'QIMALARI BIOTEXNOLOGIYASI
FANININGISHCHI O'QUV DASTURI**

Ta'lim sohasi: 510000 – Sog'liqni saqlash

Ta'lim yo'nalishi: 5320500 - Biotexnologiya (Farmatsevtik biotexnologiya)

Umumiy o'quv soati - 260

Shu jumladan:

Ma'ruza: -56 soat (7semestr-28 soat; 8semestr-28 soat)

Laboratoriya mashg'ulotlari: -98 soat(7semestr-42 soat; 8semestr-56 soat)

Mustaqil ish: -102 soat (7semestr-51 soat; 8semestr-51 soat)

Toshkent – 2019

Fanning ishchi - o'quv dasturi **Sog'liqni saqlash vazirligi** 201____yil
“____”____dagi _____- sonli buyrug'i bilan (buyruqning____- ilovasi)
tasdiqlangan

“O'simlik to'qimalari” fani dasturi asosida tayyorlangan.

Ishchi-o'quv dasturi Toshkent farmatsevtika instituti MUK201 ____yil
“____”____dagi _____- sonli bayoni bilan tasdiqlangan.

Tuzuvchilar:

X.T.Zairova- TFI, Biotexnologiya kafedrasining mudiri k.f.n., dotsent
H.A.Ubaydullaeva - TFI, Biotexnologiya kafedrasining katta o‘qituvchisi.

Taqrizchilar:

G‘.U. Qobilov - Toshket kimyo texnologiyalari insituti, biotexnologiya kafedrasini
mudiri
G.Yu.Malikov -Toshkent farmatsevtika instituti, «Toksikologik, organik va
biologik kimyo» kafedrasidotsent, b.f.n.

Sanoat farmatsiyasi
fakulteti dekani:

2019 yil “_____” _____Mamatqulov Z.O‘.

“Biotexnologiya; kafedrasini
mudiri:

2019yil “_____” _____Zairova X.T.

KIRISH

1.O‘quv fani o‘qitilishi bo‘yicha uslubiy ko‘rsatmalar

Ta’lim maqsadi davr bilan, ijtimoiy hayot bilan uzviy bog‘liq. Ijtimoiy hayotdagi tub burilishlar, fanning intensiv rivojlanishi, ta’lim modernizatsiyasi, yangi didaktik imkoniyatlar, insonparvarlashtirish shubhasiz ta’lim maqsadini ham tubdan o‘zgartirdi. Ta’lim maqsadining tubdan o‘zgarishi ta’lim mazmunida o‘z ifodasini topadi.

O‘simliklar biotexnologiyasi fanini o‘qitishnin vazifasi pedagog kadrlarni qayta tayyorlash va malaka oshirish kursi tinglovchilariga hozirgi zamon o‘simliklar biotexnologiyasi hamda ularga chegaradosh bo‘lgan fanlar yutuqlariga asoslangan holda xujayralar asosida yangi texnologik jarayonlar yaratish va o‘simliklar biotexnologiyasi nazariyasining asoslaridan bilim berishdan iboratdir. Hozirgi kunda bu sohani jadal sur‘atlarda rivojlanishi natijasida, zamon talabiga javob bera oladigan mutaxassislarni tayyorlash talab etilmoqda. Shu bilan birga:

Fanning vazifasi

- talabalarni zamonaviy biotexnologiyaning rivojlanish yo‘nalishlari va yutuqlari;
- zamonaviy biotexnologiya usullari o‘rganish maqsadlarida biotexnologik izlanishlarning asosiy yo‘nalishlari;
- gen va hujayra muhandisligi haqida tasavvurga ega bo‘lishi;
- biotexnologiyaning molekulyar yo‘nalishlarini;
- o‘simlik gen muhandisligi va transgen o‘simliklarni;

Talaba:

- o‘simliklar hujayra muhandisligi yutuqlarini, ferment va oqsil muhandisligi usullari haqidabilimlarga ega bo‘lishi;
- «O‘simlik to‘qimalar biotexnologiyasi» fanini o‘zlashtirish jarayonida talaba:
- O‘simliklar biotexnologiyasi sohasidagi muammolar, eng so‘nggi yutuqlar va yangi ishlanmalar;
- O‘zbekistondagi biotexnologiya muammolarini bilishi va ulardan foydalana olishi **ko‘nikma va malakalarini egallashi;**
- O‘simliklar va ularning manbalaridan oqilona foydalana olish;
- olingan natijalarni eksperimental va statistik tahlil qila olish;
- O‘simliklar biotexnologiyasi sohasida yangilarni yarata olish talaba

tasavvurga ega bo‘lishi kerak:

- Biotexnologiya rivojlanishining asosiy yo‘nalishlari haqida;
- fanning usuli va tadqiqot ob’ektlari;
- virus, bakteriya, zamburug‘, o‘simlik va hayvon hujayrasining tuzilishiga oid fundamental tadqiqotlar;
- biotexnologiyada qo‘llaniladigan biomolekulalar;
- uglevodlar, lipidlar va oqsillarning tuzilishi va funksiyalari;
- hujayralar va tirik organizmlarning kimyoviy tarkibi **bilish va ulardan foydalana olishi;**
- nuklein kislotalarning tarkibi;
- DNK va RNK qo‘sh zanjirining tuzilishi;
- hujayra metabolizmi;
- rekombinant DNK olish va gen injenerligi;
- hujayra biotexnologiyasi;
- ajratib olingan hujayra va to‘qimalarni o‘stirish texnikasi **bo‘yicha ko‘nikmalariga ega bo‘lishi lozim;**

Farmatsevtik biotexnologiya fanining boshqa fanlar bilan integratsiyasi:

Farmatsevtik biotexnologiya fanini mukammal o'zlashtirish uchun talabalar quyidagi fanlardan yetarli bilim, ko'nikma va malakaga ega bo'lishlari kerak:

- biologik kimyo;
- mikrobiologiya;
- Fizik kimyo;
- Organik kimyo

1-jadval

2.Ma'ruza mashg'ulotlari

№	Ma'ruza mavzulari	Dars soatlari hajmi
1.	O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi faninig mox'iyativavazifalari	2
2.	O'zbekistonda o'simliklar biotexnologiyaning rivojlanish tarixi	2
3.	Xujayra va to'qimalar biotexnologiyasi.xujayra tuzilishi. xujayra organoidlari va ularda boradigan jarayonlar	2
4.	O'simlik to'qimalari va ularning ahamiyati	2
5.	O'simliklardan ajratib olingan to'qimalarni o'stirish usulini rivojlanish bosqichlari	2
6.	O'simlik xo'jayra va to'qimalari biotexnologiyasi soxasidaqo'llaniladigan usullar	2
7.	O'simlik to'qimalari kulturasida ozuqa muxitlarining ahamiyati.	2
8.	O'simlik to'qimalar kulturasida foydalaniladigan ozuqa muxiti tarkibi. o'simlik to'qimalarni oziqlanishi.	2
9.	O' 'simliklarni o'stirish regulyatorlari	2
10.	Xujayra ozukasini tayyorlash va saqlash. ifloslanish muammolari o'simlik anatomiyasi va rivojlantirish sharxi.	2
11.	Ajratib olingan xujayra va to'qimalarni o'stirish texnikasi	2
12.	Vektor dizayni va konstruktsiya, vektor tarkiblari. promotorlar va inkonserlar.	2
13.	Mikroprotektli bombardimon orkali transformatsiyalash dnkni ko'chirib o'tkazish	2
14.	Dnk, rnk va oksil molekulalarining biosintezi	2
15.	Transformatsiya qilingan to'qimalarni regeneratsiyasi va selektsiyasi.	2
16.	Kallusni ko'chirish va selektsiya skrining qilish.	2
17.	O'simliklar biotexnologiyasi ma'lumotlarni to'plashva boshqarish	2

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

18	Kallus to'qimalar kulturasini	2
19	Kallusli xujayralarni o'ziga xosligi	2
20	Xujayra suspenziyalari kulturasini	2
21	Kallusli to'qimalarda morfogenezi	2
22	O'simliklarni klonal mikroko'paytirish	2
23	Ajratilgan o'simlik xujayra va to'qimalari bilan ishlash jarayonida sterillash usullari	2
24	O'simtalarni steril o'stirish usullari va bosqichlari:	2
25	Organizmlarda apikal meristemalarni ajratish va o'stirish	2
26	Yuksak o'simliklar xujayra kulturasini olish.	2
27	O'simlik xujayralari protoplasti biologik konstruksiyalash	2
28	O'simlik to'qimalari biotexnologiyasining zamonaviy usullari	2
Jami:		56

Ma'ruza mashg'ulotlari multimedia qurilmalari bilan jixozlangan auditoriyada akademik guruxlar oqimi uchun o'tiladi.

Darsni olib borish rejasi (xronoharita):

1. O'qituvchining mavzu bo'yicha kirish so'zi - 5 daqiqa;
2. Talabalarning bilimni og'zaki usulda mavzuga tegishli savollar bilan tekshirish -30 daqiqa;
3. Mavzuni tushuntirish: o'qituvchi talabalarning bergan javoblariga qarab, yo'l qo'yilgan xatoliklarni tuzatib, javoblarni umumlashtiradi - 10 daqiqa;
4. Kundalik daftarni tekshirish: (Berilgan mavzu bo'yicha konspektni tekshirish, laboratoriya ishlarini tekshirish) – 20 daqiqa;
5. Laboratoriya ishini bajarish: (mavzuga tayyor, kundaligi to'g'ri yozilgan talabaga laboratoriya mashg'ulotini bajarish uchun ruxsat beriladi. O'qituvchi tomonidan texnologik jarayon va ishini bajarish tartibini nazorat qilib boriladi) -80 daqiqa;
6. Bajarilgan ishini qabul qilish - 40 daqiqa. Jami: 120 daqiqa.

3. Laboratoriya mashg'ulotlar

№	Laboratoriya mashg'ulotlarning mavzulari (barcha) 7-semestr	Soatlar xajmi
1.	1-laboratoriya ishi. O'zbekistonda o'simlik xom ashyosidan maxsulot tayyorlashda amalga oshiriladigan biotexnologik jarayonlar bilan tanishish.	4

O‘simlik to‘qimalari biotexnologiyasi fanidan o‘quv uslubiy majmua

2.	2-laboratoriya ishi. O‘simlik xo‘jayra va to‘qimalari biotexnologiyasi laboratoriyasida ishlash texnika xavfsizligi qoidolari bilan tanishish.	4
3.	3-laboratoriya ishi. laminar-boks va uning ishlashqoidolari bilan tanishish.	4
4.	4-laboratoriya ishi. O‘simliklarning izolirlangan xujayra va to‘qimalarini sun‘iy ozuqa muxitlariga kultivirlashning texnikasi	6
5.	5-laboratoriya ishi. Ozuqa muxitini tayyorlashning bayoni (protok):	6
6.	6-laboratoriya ishi. O‘simlikning izolirlangan xujayra va to‘qimasi kulturasi bilan ishlash mobaynida o‘tkaziladigan sterilizatsiya metodlari	6
7.	7-laboratoriya ishi. laminar-boks sterilizatsiyasi.	6
8.	8-laboratoriya ishi. idishlarni sterilizatsiyalash.	6
8semestr		
9.	9-laboratoriya ishi. o‘simlik materiali sterilizatsiyasi.	6
10	10-laboratoriya ishi. sabzi va bufdoy uruflari sterilizatsiyasi.	6
11	11-laboratoriya ishi. Kallus to‘qimasi kulturasi	6
12	12-laboratoriya ishi. Tamakidan kallus to‘qimasini olish va uni subkultivatsiyalash	6
13	13-laboratoriya ishi. Kallus kulturalarining morfologik va o‘sinh ko‘rsatkichlarini aniqlash	8
14	14-laboratoriya ishi. Xujayra suspenziyalarining kulturalari	8
15	15-laboratoriya ishi. Xujayralar hayotchanligini va suspenzion kulturalarning agregirlanganlik darajasini baholash	8
16	16-laboratoriya ishi. O‘simlik xujayralarining kulturadagi differentsirovkasi	8
jami		98

Laboratoriya mashg‘ulotlar multimedia qurilmalari bilan jixozlangan auditoriyada har bir akademik guruhga alohida o‘tiladi. Mashg‘ulotlar faol va interfaol usullar yordamida o‘tiladi, “Blits-texnologiyasi” va o‘rgazmali materiallar qo‘llaniladi.

TALABALAR TOMONIDAN OLINADIGAN AMALIY KO‘NIKMALAR

MAVZU AMALIY KO‘NIKMA			
1	in vitro	sharoitida	Biotexnologiya, uning rivojlanish davrlari va

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

	kulturaldagi o'simlik xujayrasining totipotentligi va differensiyaatsiya turlari.	farmatsiyadagi roli Farmatsevtik biotexnologik preparatlar bozori xaqida ko'nikmaga ega bo'ladi.
2	Differensirovkaning asosiy bosqichlari.	Bioob'ektlar klassifikatsiyasi, tuzilishi, morfologiyasi xaqida ko'nikma xosil bo'ladi.
3	Xujayraning kompetent va determinirlangan xolati.	Biotexnologiyada laboratoriya hamda sanoat miqyosida qo'llaniladigan jarayonlar, bioreaktorlar, ularning turlari va ishlash printsiplari
4	in vitro sharoitida yuqori o'simliklar to'qimalarining differensiatsiyasi va kallus xosil bo'lishi.	genetika, molekulyar biologiya fanlarining qisqacha vujudga kelish tarihi, sohada erishilgan yutuqlar, genetika qonunlari, molekulyar biologiyaning asosiy postulati, E. coli bakteriyasi
5	in vitro sharoitida o'simlik xujayrasining molekulyar-biologik tavsifi va differensirovkasining biokimyoviy markerlari.	Oqsil biosintezida kechadigan jarayonlar xaqida amaliy ko'nikma xosil bo'ladi.
6	in vitro sharoitida kulturalardagi floemogenez va ksilemonogenez stimulyasiyasining fiziologik jixatlari.	Gen muxandisligida nukleaza fermentlarining vazifasi ularning funksiyasi shuningdek plazmidlardan vektor konstruktsiya yaratish mexanizmi xaqida amaliy ko'nikma xosil bo'ladi.
7	in vitro ning birlamchi va adventiv, to'g'ri va to'g'ri bo'lmagan morfogenezi.	Gen muhandisligi, rdnk texnologiya asosida olinadigan dori vositalari, antibiotiklar, normoflora preparatlari xaqida ko'nikmaga ega bo'ladi
8	Rizogenez va poya organogenezinin morfofiziologik tavsifi.	Gen muhandisligi, rdnk texnologiya asosida olinadigan transgen o'simliklar, o'simlik plazmidlari, agrobakterial transformatsiya usullari xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi.
9	in vitro sharoitida floral organogenez indeksiyasining sharoiti.	Kallus to'qima xosil bo'lishining mexanizmi xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi.
10	in vitro sharoitida o'simliklar regeneratsiyasi.	Gen muhandisligi, kasalliklar etiologiyasi, irsiy kasalliklar va ularni davolash usullari xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi
11	Uzoq muddat kultivatsiyalanuvchi o'simlik xujayrasi populyasiyasi.	. Gen muhandisligi, rdnk texnologiya asosida olinadigan transgen hayvonlar, transgen hayvonlar olish usullari xaqida ko'nikmaga ega

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

		bo'lishadi.
12	.	Genlar ketma-ketligini o'qish xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi.
13		Bakteriya genlarini xujayraga transformatsiya qilish va genlarni klonlash haqida ko'nikmaga ega boladi.
14		O'simlik genlarini klonlash haqida ko'nikmaga ega boladi.
15		Transgen organizmlar yaratishda praymer dizayn haqida ko'nikmaga ega boladi.
16		Internet tizimida biror bir tirik organizmning nukleotidlar ketma-ketligini aniqlash xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi .
17		Turli xil guruhga mansub fermentlarni immobilizatsiya qilish usullari xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi.
18		Proteomika va metabolomika xaqida ko'nikmaga ega bo'lishadi.

4. Mustaqil ta'lim

3jadval

	Mustakil ta'lim mavzulari	Dars soatlari xajmi
5-semestr		
1.	in vitro sharoitida kulturadagi o'simlik xujayrasining totipotentligi va differentsiyaatsiya turlari	
2.	Differentsirovkaning asosiy bosqichlari.	
3.	Xujayraning kompetent va determinirlangan xolati	
4.	in vitro sharoitida yuqori o'simliklar to'qimalarining differentsiatsiyasi va kallus xosil bo'lishi.	
5.	in vitro sharoitida o'simlik xujayrasining molekulyar-biologik tavsifi va differentsirovkasining biokimyoviy markerlari.	
6.	in vitro sharoitida kulturalardagi floemogenez va ksilemonogenez stimulyatsiyasining fiziologik jixatlari.	
7.	. in vitro ning birlamchi va adventiv, to'fri va to'fri	

O'simlik to'qimalari biotexnologiyasi fanidan o'quv uslubiy majmua

	bo'lmagan morfogenezi	
8.	Rizogenez va poya organogenezining morfofiziologik tavsifi.	
9.	Polimer zanjir reaksiyasining mexanizmi.	
10.	in vitro sharoitida o'simliklar regeneratsiyasi.	
11.	Uzoq muddat kultivatsiyalanuvchi o'simlik xujayrasi populyatsiyasi.	
	Ja'mi	74

Mustaqil o'zlashtirilgan mavzular bo'yicha talabalar tomonidan referatlar tayyorlanadi va uni taqdimoti tashkil qilinadi.

5. Fan bo'yicha kurs ishi rejalashtirilmagan.

6. Fan bo'yicha ishlab chiqarish amaliyoti

Ishlab chiqarish amaliyoti ta'lim jarayonida taqdim etilgan nazariy bilimlarni mustahkamlash va talabalarning amaliy ko'nikmalarini shakllantirishga qaratilgan. “ O'simlik to'qimalar biotexnologiyasi ” fanidan ishlab chiqarish amaliyoti

rejalashtirilgan bo'lib, amaliyot bazasi qilib dori shakllarini tayyorlaydigan dorixonalar belgilangan. Institutda olgan nazariy bilimlarini ishlab chiqarish jarayonida mustahkamlash, dorixonada ishlab chiqariladigan dori turlarini tayyorlash, ishlab chiqarilgan dori vositalarining sifatini baholash, bemorlarga tayyor dori turini berish tartibi bilan tanishish, farmatsevt-texnologning kelgusi ish faoliyatiga amaliy ko'nikma hosil qilish.

	Amaliyot o'tash kunlarining rejas	Amaliyot o'tiladigan joy
1	Amaliyotni o'tash tartibi. Rejalar va xavfsizlik qoidalari.	Toshfarmi Biotexnologiya kafedrası
2	Biotexnologik ishlab chiqarish jarayonlari bilan tanishish	O'zRFA “Genomika va Bioinformatika markazi

7. Fan bo'yicha talabalar bilimni baholash va nazorat qilish mezonlari

2018-2019 o'quv yili qabulidagi talabalar SSV2018 yil 05 dekabrda «Tibbiyot oliv ta'lim muassasalarida talabalar bilimni nazorat qilish va baholash tizimi to'g'risidagi Nizomi» bo'yicha) “5” baholik tizimda baholanadi va tegishli mezonlar ishlab chiqiladi.

2017-2018 o‘quv yilida qabul qilingan va undan yuqori kurslarda ta‘lim olayotgan talabalar 100 ballik tizimda baxolanadi.

Baxolash usullari	Ekspress testlar, yozma ishlar, og‘zaki surov		
Baholash mezonlari	86-100 ball “a’lo” - fanga oid nazariy va amaliy tushunchalarni to‘la o‘zlashtira olish, tasniflanishini bilish. -fanga oid o‘rganilayotgan biologik faol moddaga to‘la ta’rif bera olish; -Mikroorganizmlardan biofaol moddalarni ajratib olish -Biotexnologik jarayonlarni mustaqil ketma ketlikda tanlay olish; - Biotexnologiya ob’ektlarini tanlash -Gen muxandisligi usullarini bilish		
	71-85 ball “yaxshi” - Biotexnologik jarayon xaqida mustaqil fikr yuritish; -texnologik jarayon bosqichlarini to‘g‘ri aks ettira olish; - Biotexnologiya ob’ektlarini tanlash -Biotexnologik ishlab chiqarish xaqida o‘tkaza bilish va tegishli xulosa chiqarish.		
	55-70 “qoniqarli” -texnologik jarayon bosqichlarini to‘g‘ri aks ettira olish; -tayyorlanayotgan dori shaklining texnologik jarayoniga ta’sir etuvchi omillarni aniqlash; -tayyorlanayotgan dori shaklini me’yoriy xujjat asosida sifat nazoratini o‘tkaza bilish va tegishli xulosa chiqarish.		
	0-54 “qoniqarsiz” -o‘tilgan fanning nazariy va amaliy tushunchalarni bilmaslik; - texnologik jarayon bosqichlari haqida tassavurga ega emaslik; - me’yoriy xujjatlar asosida tayyorlanayotgan dori shaklining sifatiga baho bera olmaslik;		
	Reyting baxolash turlari	Maks . ball	O‘tkazish vaqti
	Joriy nazorat: Laboratoriya mashg‘ulotlarida faolligi, savollarga to‘g‘ri javob berganligi, laboratoriya topshiriqlarni bajarilganligi uchun	45	Semestr boshlangandan ikkinchi mashg‘ulotdan oxirgi mashg‘ulotga qadar har bir mashg‘ulotda 100 ballik tizimda joriy baholanadi, so'ngra

O‘simlik to‘qimalari biotexnologiyasi fanidan o‘quv uslubiy majmua

			ushbu ballar yig'indisidan o'rtacha ball chiqarilib, 0,45 koeffitsientga ko'paytiriladi.
	Mustaqil ta'lim	5	
	Oraliq nazorat: Laboratoriya mashg'ulotida og'zaki so'rov ko'rinishida qabul qilinadi. Ma'ruzachi o'qituvchi va laboratoriya mashg'uloti o'qituvchisi tomonidan birgalikda o'tkaziladi. Oraliq nazorat savollari va retsept topshiriqlari 2 hafta avval e'lonlar doskasiga joylashtiriladi. Oraliq nazorat 2marta sikl davomida olinadi. Har bir Oraliq nazorat 10 ballni tashkil etib, umumiy ball 20 deb hisoblanadi. undan: (86-100 %) 17,2-20,0 A'lo "5" (71-85 %) 14,2-17,2 Yaxshi "4" (55- 70 %) 11-14,2 Qoniqarli "3" (0-54 %) 11 balidan kam Qoniqarsiz "2"	20	Har bir semestrning 7 haftasida
	Yakuniy nazorat (yozma, og'zaki, test)	30	14 haftada
	JAMI	100	

Asosiy va qo'shimcha o'quv adabiyotlar xamda axborot manbalari Asosiy adabiyotlar

1. X.M.Kamilov, M.M.Raximov, D.Yu.Adilbekova Biotexnologiya asoslari. darslik, Toshkent. 2010-yil, -480b.
2. S.N.Orexov Farmatsevticheskaya biotexnologiya.- Uchebnoe posobie. M.: Geotar media, 2012g.
3. Yu.O.Sazikin Biotexnologiya M.: Geotarmedia, 2008g.

Qo'shimcha adabiyotlar

1. Mirziyoev SH.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz. Toshkent, "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 29 b.
2. Mirziyoev SH.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 47 b.
3. Mirziyoev SH.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. "O'zbekiston" NMIU, 2017. – 485 b.
4. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi "O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha harakatlar strategiyasi to'g'risida"

- gi PF-4947-sonli Farmoni. O‘zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to‘plami, 2017 y., 6-son, 70-modda
5. B.Glik, Dj.Pasternak «Molekulyarnaya biotexnologiya: Prinsipi i primeneniye» Per.s angl.-M.: Mir, 2002g.-589str.
 6. Sasson A. Biotexnologiya: sversheniya i nadejd'i. Per. s angl./Pod red., s predisl. i dopoln. V. G. Debabova.— M.: Mir, 1987.-411 str.
 7. Elinov N.P. Osnov'i biotexnologii. «Nauka», S.Peterburg 1995g. -600str.
 8. T.G.Volova Biotexnologiya. Novosibirsk: izdatelstvo sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii nauk, 1999g. -252str.
 9. N.S.Egorov, A.V.Oleskin, V.D.Samuilov. Biotexnologiya: problemi i perspektivi. M.: «V'isshaya shkola», 1987g. -159str.
 - 10.V.G.Debabov, V.A.Livshits. Biotexnologiya: sovremennye metody sozdaniya promishlennix shtammov mikroorganizmov. M.: «Visshaya shkola», 1988g. -208str.
 - 11.R.G.Butenko, M.V.Gusev, A.F.Kirkin i dr. Biotexnologiya: kletochnaya injeneriya. M.: «Visshaya shkola», 1987g. -127str.
 - 12.I.V.Berezin, N.L.Klyachko, A.V.Levashov i dr. Biotexnologiya: immobilizovannie fermenti. M.: «Visshaya shkola», 1987g. -159str.

Internet va Ziyonet saytlari

1. www.ziyonet.uz
2. www.nehudlit.ru
3. www.molbiol.ru
4. www.nature.uz
5. www.pedagog.uz
www.maik.ru

O‘simlik to‘qimalari biotexnologiyasi fanidan o‘quv uslubiy majmua

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO‘YXATI

Asosiy adabiyotlar

1. Ibrahim, A. S., El-Shihy, O. M., & Fahmy, A. H. (2010). Highly efficient *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of elite Egyptian barley cultivars. *American–Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 4, 403–413.
2. Li, J. F., Park, E., Arnim, A. G., & Nebenfuhr, A. (2009). The FAST technique: A simplified *Agrobacterium*-based transformation method for transient gene expression analysis in seedlings of *Arabidopsis* and other plant species. *Plant Methods*, 5, 6–21.
3. Liu, G., & Godwin, I. (2012). Highly efficient sorghum transformation. *Plant Cell Reports*, 31, 1–9.
4. Lowe, B. A., Prakash, N. S., Way, M., Mann, M. T., Spencer, T. M., & Boddupalli, R. S. (2009). Enhanced single copy integration events in corn via particle bombardment using low quantities of DNA. *Transgenic Research*, 18, 831–840.
5. Ozawa, K. (2009). Establishment of a high efficiency *Agrobacterium*-mediated transformation system of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, 176, 522–527.
6. C. Neal Stewart, Jr. *Plant biotechnology and genetics: principles, techniques, and applications* John Wiley & Sons, Inc. 2008.—416 p.
7. Nigel G. Halford. *Plant Biotechnology Current and Future Applications of Genetically Modified Crops*, John Wiley & Sons Ltd, 2006.—317 p.

Ko‘shimcha adabiyotlar

1. Brookes G, Barfoot P (2007): GM crops: The first ten years—global socio-economic and environmental impacts. *AgbioForum* 9:1–13
2. Gianessi, L.P., Silvers, C.S., Sankula, S. and Carpenter, J.E. (2002) *Plant Biotechnology: Current and Potential Impact for Improving Pest Management in US Agriculture: An Analysis of 40 Case Studies*. Washington: National Center for Food and Agricultural Policy.

3. Conservation Tillage and Plant Biotechnology (CTIC) (2002): How New Technologies Can Improve the Environment by Reducing the Need to Plough.
4. James C (2006): Global Status of Transgenic Crops, Various Global Review Briefs from 1996 to 2006. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA).
5. Jasa P (2002): Conservation Tillage Systems, Extension Engineer, Univ Nebraska.
6. Kovach J, Petzoldt C, Degni J, Tette J (1992): A Method to Measure the Environmental Impact of Pesticides. New York's Food and Life Sciences Bulletin, NYS Agricultural Experiment Station, Cornell Univ, Geneva, NY, p 139, 8 pp annually updated.
7. Lazarus W, Selley R (2005): Farm Machinery Economic Cost Estimates for 2005, Univ Minnesota Extension Service.
8. Rigo et al. (2002): Genetically Modified Crops in Argentina Agriculture: An Opened Story. Libros del Zorzal Buenos Aires, Argentina.
9. Brookes G, Barfoot P (2007): GM crops: The first ten years—global socio-economic and environmental impacts. AgbioForum 9:1–13
10. Gianessi, L.P., Silvers, C.S., Sankula, S. and Carpenter, J.E. (2002) Plant Biotechnology: Current and Potential Impact for Improving Pest Management in US Agriculture: An Analysis of 40 Case Studies. Washington: National Center for Food and Agricultural Policy.
11. Conservation Tillage and Plant Biotechnology (CTIC) (2002): How New Technologies Can Improve the Environment by Reducing the Need to Plough.
12. James C (2006): Global Status of Transgenic Crops, Various Global Review Briefs from 1996 to 2006. International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications (ISAAA).
13. Jasa P (2002): Conservation Tillage Systems, Extension Engineer, Univ Nebraska.
14. Kovach J, Petzoldt C, Degni J, Tette J (1992): A Method to Measure the Environmental Impact of Pesticides. New York's Food and Life Sciences Bulletin, NYS Agricultural Experiment Station, Cornell Univ, Geneva, NY, p 139, 8 pp annually updated.
15. Lazarus W, Selley R (2005): Farm Machinery Economic Cost Estimates for 2005, Univ Minnesota Extension Service.
16. Rigo et al. (2002): Genetically Modified Crops in Argentina Agriculture: An Opened Story. Libros del Zorzal Buenos Aires, Argentina.