Q.D.DAVRANOV, B.S.ALIKULOV

# BIOTEXNOLOGIYA

darslik



**Q.D.DAVRANOV, B.S.ALIKULOV**

# BIOTEXNOLOGIYA

*O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligi Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti kengashining 2022 yil 31-martdagi 9-sonli yig‘ilish qarori bilan, oliy ta’lim muassasalarining 60510100-biologiya va 60710200-biotexnologiya ta’lim yo‘nalishlari talabalari uchun darslik sifatida tavsiya etilgan*

**Toshkent - 2022**

**UO‘K:**
**KBK:**
**D34**

**BIOTEXNOLOGIYA: Oliy ta’lim muassasalarining 60510100-biologiya va 60710200-biotexnologiya ta’lim yo‘nalishlari talabalari uchun darslik. Q.D.DAVRANOV, B.S.ALIKULOV. – *Toshkent,* 2022. “Lesson press” nashriyoti, - 452 b.**

Mazkur darslik bugungi kunda tezkorlik bilan rivojlanib borayotgan biotexnologiya fanining asosiy tushunchalarini nazariy va amaliy jihatlarini tavsiflashga bag‘ishlangan bo‘lib, u oliy ta’lim muassasalarining 60510100-biologiya va 60710200-biotexnologiya ta’lim yo‘nalishlari o‘quv rejasidagi Biotexnologiya fani o‘quv dasturining mazmuni asosida shakllantirilgan.

Этот учебник описывает теоретические и практические аспекты быстро развивающихся концепций биотехнологии и основан на содержании учебной программы по биотехнологии в учебной программе высшего образования 60510100-Биология и 60710200-Биотехнология.

*This textbook describes the theoretical and practical aspects of the rapidly evolving concepts of biotechnology and is based on the content of the Biotechnology curriculum in the Higher Education Curriculum 60510100-Biology and 60710200-Biotechnology.*

**Mas’ul muharrir**

**Z.Ismailov** - Samarqand davlat universiteti professori, biologiya fanlari doktori

**Taqrizchilar**

**A.Xolliyev** - Buxoro davlat universiteti professori, biologiya fanlari doktori

**X.Keldiyarov** - Samarqand davlat universiteti Biologiya fakulteti dekani, biologiya fanlari nomzodi, professor

**© Q.D.DAVRANOV, B.S.ALIKULOV, 2022.**

## MUNDARIJA

**SO‘ZBOSHI**..... 6

**1-BO‘LIM. BIOTEXNOLOGIYANING NAZARIY ASOSLARI**..... 9

**I bob. BIOTEXNOLOGIYA FANIGA KIRISH**……..... 9
1§. Biotexnologiya tushunchasi va fanining mohiyati hamda ahamiyati... 9
2§. O‘zbekistonda biotexnologiyaning rivojlanish tarixi..... 15
**II bob. BIOTEXNOLOGIK OBYEKTLAR TAVSIFI, ULARGA QUYILGAN TALABLAR VA TANLASH USULLARI**..... 27
3§. Mikroorganizmlar asosida biotexnologik produsentlarni yaratish usullari..... 27
4§. Biotexnologik jarayonlarning xomashyosi va ulardan olinadigan mahsulotlar..... 37
**III bob. FERMENTLAR MUHANDISLIGI**..... 54
5§.Fermentlarning umumiy tavsifi..... 54
6§. Fermentlar ishlab chiqarish biotexnologiyasi..... 63
7§. Fermentlar immobilizatsiyasi va ularning xillari..... 100
**IV bob. GEN MUHANDISLIGI**..... 108
8§. Gen muhandisligining mohiyati va asosiy tushunchalari..... 108
9§. Gen muhandisligining bosqichlari..... 123
**V bob. HUJAYRA MUHANDISLIGI**..... 132
10§. Hujayra muhandisligining mazmuni va asosiy tushunchalari..... 132
11§. O‘simliklarni mikroklonal ko‘paytirish..... 153

**2-BO‘LIM. AMALIY BIOTEXNOLOGIYA**……..... 162

**VI bob. QISHLOQ XO‘JALIK BIOTEXNOLOGIYASI**..... 162
12§. Tuproq mikrobbiotexnologiyasi..... 162
13§. Simbiotik azotfiksatsiya va uning ahamiyati..... 166
14§. Chorvachilikda biotexnologiyalardan foydalanish..... 195
15§. Veterinar tibbiyotda biotexnologiyalardan foydalanish..... 228
**VII bob. OZIQ-OVQAT BIOTEXNOLOGIYASI**..... 234
16§. Biotexnologik jarayonlarning eng muhim biokimyoviy asoslari..... 234
17§. Oziq-ovqat va oziqa mahsulotlari ishlab chiqarishda biotexnologiya. 288
**VIII bob. BIOLOGIK FAOL VA DORIVOR MODDALAR BIOTEXNOLOGIYASI**..... 317
18§. Aminokislotalar ishlab chiqarish..... 317
19§. Organik kislotalar ishlab chiqarish..... 350
20§. Oqsil preparatlari ishlab chiqarish..... 361
21§. Turli tarkibli oziqa preparatlari ishlab chiqarish..... 377
22§. Bakterial o‘g‘itlar ishlab chiqarish texnologiyasi..... 390
23§.Entomopatogen preparatlar ishlab chiqarish biotexnologiyasi..... 395
**IX bob. BIOTEXNOLOGIYANING ZAMONAVIY YO‘NALISHLARI**..... 405

24§. Nanobiotexnologiya..... 405
25§. Ekobiotexnologiya..... 416
**X bob. BIOTEXNOLOGIYA VA XAVFSIZLIK. BIOTEXNOLOGIYA VA TA'LIM**..... 425
26§. Biotexnologiya va bioxavfsizlik..... 425
27§. Biotexnologiya va ta'lim..... 433
**XOTIMA**..... 444
**FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR VA MANBALAR RO'YXATI**……. 446

## SO‘Z BOSHI

Insoniyatni rivojlanishining bosqichlari hayotiy muhim bo‘lgan fan yoki iqtisodiyot tarmog‘ining ustuvor rivojlanishi bilan tavsiflanadi. Ibtidoiy jamoa davrida yashagan insonning asosiy faoliyati ovchilik bilan bog‘liq bo‘lgan, ammo har xil sabablarga ko‘ra ov qilish qiyinlashib borgani sari, insoniyatda o‘troq hayot tashkil topa boshlagan, bu esa sivilizatsiyaning dastlabki ko‘rinishlarini paydo bo‘lishiga turtki bo‘lgan. Masalan, dastlab chorvachilik, keyinroq esa dehqonchilik ishlariga asos solina boshlangan. Keyinroq, inson o‘zi uchun qulayroq bo‘lgan sharoitni qidirib topish bilan shug‘ullangan va shu joyda hayot kechirib qolgan, bu esa taxminan Yer yuzidagi millatlarni va xalqlarni hozirgi geografik joylashishiga asos bo‘lgan. Shuning bilan bir davrda oziq-ovqat tayyorlash usullari takomillashib va kengayib borgan. Oqibatda inson bundan taxminan 6-8 ming yillar ilgari o‘zi bilib-bilmasdan non, vino, pivo tayyorlashda bijg‘ish jarayonidan foydalangan. Bu jarayonlarni asosini spirtli bijg‘ish tashkil etadi. Keyinroq, bugungi kun klassiklari tomonidan tan olingan, bijg‘ishning boshqa xillari ham qo‘shilib borgan. Xuddi o‘sha davrlarda zamonaviy biotexnologiyaga asos solingan. Ammo XX asrgacha biotexnologiyaning rivojlanishi bir tartibda bo‘lmagan.

Zamonaviy biotexnologiya bir necha fanlarni o‘zaro munosabatlari chegarasida paydo bo‘ldi. U ko‘p tarmoqli, biologik va muhandislik fanlari asosida faoliyat ko‘rsatuvchi ilmiy-amaliy yo‘nalish hisoblanadi. Biotexnologiyaga bo‘lgan qiziqish va talablar unga taalluqli bo‘lgan har xil fan sohalarni rivojlanishiga asos bo‘ldi va uni yo‘nalishini aniqlab berdi, chunki busiz biotexnologiya sanoat miqyosiga ko‘tarila olmas edi. Eng avvalo bu mutlaqo yangi sifatga ega bo‘lgan mahsulotlarni ishlab chiqarilishi, biotexnologik moddalarni bir-biridan ajratish, ularni tozalashni zamonaviy usullarini yaratilishi, shu tufayli apparatlar hamda ushbu jarayonlarni butunlay yangi xillari va yo‘nalishlarini paydo bo‘lishiga olib keldi. Shuningdek, biotexnologiyaning asosini mikrobiologiya, biokimyo, molekulyar biologiya, genetika, organik, noorganik va analitik kimyo fanlarining nazariy hamda amaliy yutuqlari tashkil etib, u kimyo va oziq-ovqat sanoatlarining jarayonlari va jihozlarini ham o‘z ichiga qamrab oladi.

Biotexnologiya fan sifatida zamonaviy biologiyaning eng muhim sohasi hisoblanadi va u XX asrning oxirlariga kelib, dunyo fani hamda iqtisodiyotining eng yetakchi sohasiga aylandi. Biotexnologiyaning dunyo miqyosida tan olinishi 1953-yilda Djeyms Uotson va Freksis Kriklarni DNKni ikki spiralli fazoviy tuzilishini e’lon qilgan buyuk yangiligidan boshlandi. Biologiyada yangi yo‘nalish - gen muhandisligini shartli ravishda 1972-yilda Bergni laboratoriyasida rekombinant DNK molekulasini sintez qilingan kundan boshlangan deb hisoblash mumkin. Albatta, bu yangilik biotexnologiyani boshqa zamonaviy fanlar orasida mavqieni yanada ko‘tardi. Bu sohada xizmat qilgan buyuk olimlar A.A.Baev, A.N.Belozerskiy, Eyveri, G.Gamov, K.Korana, F.Jakob, J.Mono, Bekvista, Yu.A.Ovchinnikov, A.S.Spirin, R.V.Petrov va boshqalarni XX asr biotexnologiyasini rivojlanishiga qo‘shgan hissalari beqiyosdir. O‘tgan asrning 50-yillarida biologiyada yana bir yangi yo‘nalish - hujayra muhandisligi va shunga aloqador bo‘lgan hujayra biotexnologiyasi paydo bo‘ldi. Bu yo‘nalishni asoschilari P.F.Uayt (AQSh) va

R.Gotre (Fransiya) bo‘lganlar. Rossiyada o‘sha davrlarda A.A.Kursanov va R.G. Butenkolar bu sohada juda katta va chuqur ilmiy va amaliy ishlarni olib borganlar. Genetik va hujayra muhandisligi, zamonaviy biotexnologiyaning eng muhim asosini aniqlovchi va uni yo‘naltiruvchi kuch bo‘ldi desak xato bo‘lmaydi. O‘tgan asrning oxirlariga kelib bu ikki yo‘nalishni usullari juda ham rivojlanib ketdi, bu esa biotexnologiyaning inqilobiy rivojlanishiga asos bo‘ldi.

Bugungi kun talablaridan kelib chiqqan holda oziq-ovqat sanoatida, agrosanoatda, farmatsevtikada faoliyat ko‘rsatayotgan zamonaviy mutaxassis, biotexnologiya usullaridan nafaqat xabardor bo‘lmog‘i, ularni yaxshi bilmog‘i, ulardan o‘z sohasida unumli foydalanmog‘i zarur. Ayniqsa, qishloq xo‘jalik va oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishni ko‘paytirish, ularni sifatini yanada yaxshilash, ekologik xafvsiz mahsulotlar yetishtirish, atrof-muhitni muhofaza qilish bo‘yicha olib boriladigan ishlarga bosh bo‘lmog‘i lozim.

Qo‘lingizdagi darslikni tayyorlashda butun jahon biotexnologiyasining bugungi holatidan kelib chiqqan holda ilmiy, amaliy va uslubiy tajribalar asosida, biotexnologiya fanidan pedagogik kadrlar, qishloq xo‘jaligi va oziq-ovqat biotexnologiyasi bo‘yicha mutaxassislar tayyorlashda hamda biotexnologiya sohasida ilm qilayotgan magistrlar, tadqiqotchilar va yosh olimlarga yordam bera oladigan to‘plam tayyorlashga harakat qilindi. Shuni ham alohida ta’kidlash lozimki, ushbu darslik o‘zbek tilida biotexnologiya sohasida yozilgan dastlabki fundamental darsliklardan biridir.

Zamonaviy biotexnologiya ko‘p tarmoqli ilmiy-amaliy yo‘nalish bo‘lib, u biologiya (mikrobiologiya, genetika, molekulyar biologiya, biokimyo) va muhandislik fanlari yutuqlari asosida paydo bo‘lgan. Biotexnologiyaning rivojlanishi, o‘z navbatida, unga tegishli bo‘lgan bir necha fanlar bo‘yicha olib boriladigan ilmiy-amaliy izlanishlarni jadallanishiga olib keldi. Ayniqsa, mikroorganizmlar asosida xilma-xil fiziologik faol moddalarni sintez qilish, buning uchun kerakli va iqtisodiy samara beradigan, raqobatbardosh mikrob produsentlarini yaratish, ulardan kerakli mahsulotni ajratib olishni yo‘lga qo‘yish, shu maqsadda o‘simlik va hayvon hujayra va to‘qimalaridan foydalanish masalalari bo‘yicha erishilgan yutuqlar yuqoridagi fikrlarni tasdiqlaydi.

Biotexnologiya ko‘p tarmoqli bo‘lganligi uchun ham, uning barcha yo‘nalishlari mazmunini bir darslikda mujassamlashtirish ancha muammoli vazifa. Shunday bo‘lishiga qaramasdan, ushbu darslikda biotexnologiya fanining tarixi, kechagi, bugungi holati va ertasi haqida tushunchalar berildi. Darslikda zamonaviy biotexnologiyaning ilmiy, amaliy va uslubiy asoslarini yoritishga harakat qilindi, xususan, mikroorganizmlarni ko‘paytirish usullari, ulardan fiziologik faol birikmalar ajratish, ulardan foydalanish, alohida ajratib olingan hujayra va to‘qimalarni o‘stirish texnikasi, o‘stirish sharoiti va ozuqa muhiti, o‘simliklarni klonal mikroko‘paytirish, tuproq biotexnologiyasi, bakterial o‘g‘itlar, entomopatogen preparatlar tayyorlash, chorvachilikda biotexnologik jarayonlardan foydalanish usullari, veterinariya preparatlari olish masalalari yoritildi.

Darslikda oziq-ovqat biotexnologiyasiga doir aminokislotalar, organik kislotalar, oqsil moddalari, turli tarkibli ozuqa preparatlari, vitaminlar, lipidlar, ferment preparatlari ishlab-chiqarish texnologiyalari keltirildi. Shu bilan birqatorda, ferment preparatlari olish, ularni tozalashda ishlatiladigan usullar alohida bayon

qilindi.Shuningdek, biotexnologik jarayonlarni eng muhim biokimyoviy asoslari: bijg‘ish, fotosintez, nafas olish jarayonlarining biokimyosini ochib berishga harakat qilindi. Biotexnologiyada bioxavfsizlik masalasi eng asosiy, munozaralarga ega bo‘lgan muammo bo‘lganligi uchun ham bu masala alohida ko‘rib chiqildi. Darslikda biotexnologiya va ta’lim masalasi, biotexnologiya mutaxassisligi bo‘yicha kadrlar tayyorlash bo‘yicha xorijiy mamlakatlar tajribalari keltirildi.

Mazkur darslik o‘zbek tilida chop etilgan birinchi fundamental adabiyotlardan biri bo‘lganligi uchun ham u xato va kamchiliklardan holi emasligi muqarrar. Shuning uchun ham mualliflar darslikni mazmun va mohiyatini tuzatish bo‘yicha beriladigan maslahatlarni bajonidil qabul qiladi hamda taklif va mulohazalarda qatnashganlarga o‘zining minnatdorchiligini bildiradi.

**Mualliflar**

# 1-BO‘LIM. BIOTEXNOLOGIYANING NAZARIY ASOSLARI

## I bob. BIOTEXNOLOGIYA FANIGA KIRISH

### 1§. BIOTEXNOLOGIYA TUSHUNCHASI VA FANINING MOHIYATI HAMDA AHAMIYATI

Biotexnologiya yoki biologik jarayonlar texnologiyasi biologik agentlar, ularning majmualari (mikroorganizmlar, o‘simliklar va hayvon hujayralari, ularning komponentlari) dan kerakli mahsulotlar ishlab chiqarish maqsadida foydalaniladigan texnologiyalardir.

Manbalar va adabiyotlarda “Biotexnologiya” atamasiga mutaxassis olimlar tomonidan turli xil ta’riflar berib kelinmoqdaki, fanning hozirgi rivojlangan davrida ham bu borada aniq to‘xtamga kelinmagan. Quyida biotexnologiya sohasining yetuk olimlari tomonidan ushbu atamaga berilgan ta’riflarga to‘xtalib o‘tamiz:

Anbash, A.Xemferi, N.Millislarning (1975) fikriga ko‘ra, “Biotexnologiya - yangi biokimyoviy ishlab chiqarishlar mahsulidir (vitaminlar, antibiotiklar)”.

A.Xasting (1983) fikri bo‘yicha “Biotexnologiya - pivo, vino, pishloq, vitaminlarni sanoat asosida ishlab chiqarish jarayonidir”.

A.A.Baev (1986), Yu.A.Ovchinnikov (1982)lar “Biotexnologiya - biologik jarayonlarni ishlab chiqarishga joriy etish to‘g‘risidagi fan” deb ta’riflashgan.

Shuningdek, bir qator muhokamalarda biotexnologiyaning moddalarni biosintez usuli orqali oziqa olish fanining bo‘limi sifatida “bioinjeneriya” sohasi bilan bog‘liqligi, biologik tizimlar asosidagi sanoat jarayoni ekanligi, katta miqdordagi sanoat asosida biokatalizatorlar faoliyati orqali moddalar olish va atrof muhitni himoya qiladigan fan ekanligi qayd qilingan.

Biotexnologik jarayonlardan mikroorganizmlar, o‘simlik va hayvon hujayralari hamda to‘qimalari, hujayra organellalari, ularni o‘rab turgan membranalardan sof holatda oqsil, organik kislotalar, aminokislotalar, spirtlar, dorivor moddalar, fermentlar, gormonlar va boshqa organik moddalarni (masalan, biogaz) ishlab chiqarish (sintez qilishda), tabiiy qazilmalardan sof holda metall ajratish, oqova suvlarni tozalash va qishloq xo‘jalik yoki sanoat chiqindilarini qayta ishlash kabi sohalarda keng foydalaniladi. Fan sifatida XX asrning 60-yillaridan shakllana boshlagan biotexnologiyaning tarixiga chuqurroq nazar tashlasak, mikroorganizmlar yordamida “bijg‘itish”, “achitish” jarayonlari insoniyat tomonidan qadimdan keng ishlatilib kelinayotganligining guvohi bo‘lamiz. Sutdan qatiq, uzumdan vino va sirka, achitqilar yordamida - non tayyorlash va boshqa bir qancha biotexnologik jarayonlarning qachon ixtiro qilinganligi hozircha aniq ma’lum emas. Umuman, olganda yuqorida zikr etilgan, mikroorganizmlar yordamida amalga oshiriladigan biotexnologik jarayonlardan hozirgacha ham insoniyatning ro‘zg‘or yuritishida keng qo‘llanilib kelinmoqda.

Biotexnologiyaning asosini zamonaviy mikrobiologiya tashkil etadi. Mikrob hujayralari ko‘z ilg‘amas, juda kichik bo‘lganligi sababli, ularni yuzasi hajmiga nisbatan juda baland va shuning uchun ham oziqa moddalarni hujayraga diffuziyasi juda yuqori, bu esa mikrob metabolizmini o‘ta tezkorlik bilan o‘tishiga asos bo‘lib xizmat qiladi. Biotexnologiyaning mohiyatini tushunish uchun misollarga murojaat qilaylik. Bakteriya hujayrasi har 20-60 minutda, achitqi zamburug‘lari 1,5-2,0 soatda

ikkiga bo‘linib ko‘paysalar, sut emizuvchilar hujayralarining ikkiga bo‘linishi uchun 24 soat kerak bo‘ladi. Bir kecha-kunduzda og‘irligi 500 kilogrammli bo‘lgan qoramol 500 gramm oqsil moddasi to‘plasa, 500 kilogramm achitqi zamburug‘i 500 tonna yoki undan 1000 marotaba ko‘proq oqsil to‘playdi. Qolaversa, mikrob yetishtirish na ob-havoga va na faslga bog‘liq. Ularni eng arzon oziqa muhitida har xil chiqindilar, kletchatka, metanol, metan gazi va vodorodda o‘stirish mumkin. Mikroorganizmlar nafaqat oqsil, balki turli fermentlar, yog‘lar, vitaminlar, polisaxaridlar va boshqa bir qator foydali mahsulotlar sintez qiladi.

Bugo‘nga kelib, zamonaviy biotexnologik usullar va gen muhandisligi yordamida farmatsevtika uchun interferonlar, insulin, somatotropin, gepatitga qarshi vaksina, fermentlar, klinik tadqiqotlar uchun diagnostik ashyolar (giyohvandlik, gepatit va boshqa bir qator yuqumli kasalliklarni aniqlash uchun test tizimlar, biokimyoviy tekshirishlar uchun turli xildagi reaktivlar, egiluvchan biologik plastmassalar, antibiotiklar, va boshqa ko‘plab bioaralashmali mahsulotlar) ishlab chiqariladi. Pivo, spirt, kir yuvish vositalari ishlab chiqarish, to‘qimachilik va teri oshlash kabi jarayonlarda ishlatiladigan ferment preparatlari ishlab chiqarish va qo‘llash ham keng yo‘lga qo‘yilgan.

Biotexnologiyaning asosiy yo‘nalishlarini, shartli ravishda, quyidagicha guruhlash mumkin:

- oziqa mahsulotlari biotexnologiyasi;
- qishloq xo‘jaligida ishlatiladigan preparatlar biotexnologiyasi;
- sanoat mahsulotlari biotexnologiyasi;
- dorivor moddalar, diagnostika va reaktivlar biotexnologiyasi;
- biogidrometallurgiyada ishlatiladigan biotexnologiya;
- tabiatni muhofaza qilish uchun zarur bo‘lgan biotexnologiyalar.

Odatda, mikroorganizmlarni foydali va zararli deb o‘rganishga harakat qilinadi. Bu fikr mutlaqo to‘g‘ri emas. Fikrimizcha, barcha mikroorganizmlar foydali, chunki ular tabiatda modda almashinuvida faol qatnashadi va ko‘plab xilma-xil hayotiy zarur moddalar sintez qiladi. Binobarin, mikroorganizmlar biz yashab turgan dunyoning eng qudratli ishlab chiqaruvchi kuchidir. Ular har xil fizik-kimyoviy muhitga chidamli, tez moslanuvchan, turli oziqa muhitida yashash qobiliyatiga ega. Biologik jarayonlarda achitqi zamburug‘lari, mikromitsetlar, bakteriyalar va aktinomitsetlar kabi mikroorganizmlardan foydalaniladi. Butun mavjudot mikroorganizmlarsiz yashay olmaydi, ammo mikroorganizmlarning o‘zi esa yashayveradi. Aytaylik, ovqat hazm qilish tizimida faol qatnashadigan mikroorganizmlar miqdori kamayib ketsa, disbakterioz va u bilan bog‘liq bo‘lgan boshqa kasalliklar ro‘y beradi. Yana bir misol, tuprog‘i sterillangan, ya’ni mikroblari o‘ldirilgan tuvaklarga o‘simlik o‘tkazib barcha kerakli mineral o‘g‘itlarni ham sterillangan holda solsangiz, ko‘chat 4-5 kundayoq so‘lib qoladi.

XXI asrga zamonaviy biotexnologiya ulkan yutuqlar bilan kirib keldi. Inson genomining to‘la o‘qilishi, oldindan rejalashtirilgan xususuyatlarga ega bo‘lgan shtammlarni yarata bilish, qarimaslik sirlarini ochish sari intilish, bir so‘z bilan aytganda abadiylikka intilish, bugungi kun fani yutuqlari oldida afsona emasligi hammaga ma’lumdir. O‘tgan asrning 80 – 90 yillaridan boshlab, dunyo olimlarining “XXI asr - biotexnologiya asri bo‘ladi” degan bashoratomuz so‘zlari bejiz emasligi ko‘plab misollar bilan o‘z tasdig‘ini topmoqda. Rivojlangan, zamonaviy

biotexnologiya fanining asosida uning ulkan yutuqlar manbayi bo‘lmish mikroorganizmlar dunyosi yotadi. Shunday ekan erishilgan yutuqlarda ko‘z ilg‘amas, kichik organizmlarning ham o‘z o‘rni bor, albatta.

Keling, endi ushbu tarmoqlarning respublikamizda rivojlanishi uchun nimalarga e’tibor berishimiz lozimligi haqida fikr yuritaylik. Dastlab, e’tiborimizni butun jahon diqqat e’tiborida turgan oqsil tanqisligi muammosiga qaratmoqchimiz. Statistik ma’lumotlarga ko‘ra: dunyoda oqsil tanqisligi yiliga deyarli 12 –15 mln. tonnani tashkil etadi. Bu bilan bog‘liq bo‘lgan quyidagi ma’lumotlar sizlarni befarq qoldirmaydi deb o‘ylaymiz: Dunyo bo‘yicha 850 mln. dan ortiq kishi oqsilga muhtoj, shundan 200 mln. dan ortiqrog‘i 5 yoshgacha bo‘lgan bolalardir. 50 mln. dan ortiq kishi ochlikdan vafot etadi, ulardan 40 mln dan ortiqrog‘i yosh bolalardir. 1 sutkada o‘rtacha 11000 yosh bola hayotdan ko‘z yumadi.

Oqsil muammosini hal qilish uchun dastlabki urinishlar eru-xotin Tausonlarning achitqilar va bakteriyalarni o‘stirish uchun parafindan foydalanishni taklif etishgandan boshlangan edi. T.A.Tauson achitqilarning parafindan oksidlanish jarayonining ayrim oraliq mahsulotlari va $B_1$ vitaminini sintez qilishini isbotlab berdi. Bu dastlabki urinishlar edi, albatta. Shundan keyin S.I.Kuznetsova, B.I.Isochenko, L.D.Shturim, G.N.Mogilevskiy va boshqa shu kabi olimlarning izlanishlari, nazariy va amaliy tajribalari ko‘pgina mikroorganizmlar uglevodorodlarni oksidlay olishi mumkinligini rad etib bo‘lmas darajada isbotladi. Bu tadqiqotlar insoniyat oldida, ayniqsa oqsil tanqisligi o‘tkir muammo bo‘lib turgan bir paytda e’tiborni o‘ziga jalb etadi. Fransiya, Italiya, Yaponiya va AQSh kabi jahonning rivojlangan mamlakatlarida ham neftdan oqsil olish muammolarini yechish uchun ilmiy izlanishlar olib borildi va bir qadar o‘z yechimini topdi.

Achitqi va bakteriyalar parafindan biomassa hosil qilish uchun o‘ziga kerakli bo‘lgan uglerodni va hujayraning hayotiy faoliyati uchun energiya manbayi bo‘lib xizmat qiladigan, oqsil va vitaminlarni sintezlaydigan, raqib va dushmanlardan himoya qiladigan vodorodni topib oladilar. Shuning uchun ham biosintezning nihoyatda yuqori bosqichda o‘tishi va o‘ta mahsuldorligi ajablanarli hol emas. Fikrimizning isboti sifatida quyidagi misollarni keltirmoqchimiz: Mikroorganizmlar 1t. mu’tadil tuzilishdagi parafinlardan (10% namlikdagi tayyor mahsulotga hisoblanganda) 580 – 630 kg oqsil saqlagan 1 t. biomassa hosil qiladi. Ayni paytda fermentativ gidroliz jarayonini amalga oshiruvchi zavodlarda, esa shuncha miqdordagi achitqi mahsuloti ishlab chiqarish uchun 5,5–6,4 tonna mutlaqo quruq holatdagi yog‘och qipiqlaridan foydalanadilar. Oradagi farq albatta jiddiy, qolaversa, parafinda yog‘ochga nisbatan uglerod va vodorodlar miqdori nihoyatda ko‘p bo‘lib, biosintez jarayoniga sezilarli ta’sir ko‘rsatadi. Gidroliz mahsulotlaridan farqli ravishda bu mahsulotni oqsil – vitaminli konsentrat (OVK) deb yuritila boshlandi. Uzoq vaqtlar davomida olib borilgan ilmiy izlanishlar natijasida, OVK ning chorva mollariga va insonlarga bezarar ekanligi isbotlandi. Keling, shu o‘rinda e’tiborimizni chorvachilikda oqsilga bo‘lgan talabga qarataylik. Dastlab e’tiboringizga quyidagi statistika ma’lumotlarini havola etmoqchimiz: mamlakatimizda, birgina parrandachilik kompleksi 200000 t. oziqa ishlatiladi, bu oziqaga 20000 t. OVK, 200 t. amilaza, 200 t. sellyulaza, 80 t. lizin va 60 t. metionin qo‘shish kerak bo‘ladi. Xo‘sh, bularning o‘rnini qanday qondirish mumkin? Ma’lumki, don chorvachilik uchun asosiy energiya va oqsil manbayi hisoblanadi. Parrandachilikda deyarli 100%,

cho‘chqachilikda 80%, qoramolchilikda 30% oziqa - bu makkajo‘xori, arpa, bug‘doy va javdar kabi boshoqli ekinlar donlari hissasiga to‘g‘ri keladi. Hayvonlarning mahsuldorligini unga beriladigan oziqaning to‘yimliligi, shuningdek undagi oqsilning tanqis aminokislotalarga boyligini ta’minlaydi. Biroq, asosiy yem-xashak ekinlari – makkajo‘xori va bug‘doy – bu talablarga javob bermaydi. Fikrimizning isboti sifatida qishloq xo‘jalik fanlari doktori G.V.Redchikovning quyidagi ilmiy ma’lumotini keltiramiz: “Bug‘doy, arpa, makkajo‘xori donida oqsil miqdori juda kam bo‘lib, eng muhimi cho‘chqa bolalari uchun zarur bo‘lgan lizinning atigi 23 – 37%, jo‘jalar uchun esa atigi 20 – 32% mavjud. Lizinning buncha yetarli bo‘lmagan miqdorini ham hayvonlar to‘laligicha o‘zlashtira olmaydilar, ya’ni cho‘chqa arpa doni tarkibidagi lizinning 26, makkajo‘xoridagi lizinning 72, bug‘doydagining 50 foizini o‘zlashtirishi mumkin xolos. Ma’lumki, hayvonlar oziqadagi faqat tanqis aminokislotalar ulushiga teng keladigan oqsil qismidan samarali foydalanish qobiliyatiga ega. Bundan kelib chiqadigan bo‘lsak, don oziqasiga eng qimmatli komponent – oqsil, agar u lizinga to‘yinmagan bo‘lsa, hayvonlar organizmi ularni o‘z organizmlari va to‘qimalarida oqsil hosil qilishga emas, boshqacharoq aytganda go‘sht, sut, tuxum yoki jun hosil qilishga emas, balki ichki energiya manbayi sifatida sarflaydilar. Donda tanqis aminokislotalar sifatida treonin va triptofan yetishmasa ham shu holat yuz beradi. Xo‘sh, boshoqli ekinlardagi bunday tabiiy yetishmovchilikni qanday bartaraf etish mumkin? Buning uchun donli oziqa tarkibiga baliq va suyak uni, sut kukuni, soya (donidan yog‘i ajratib olingandan keyin qolgan shrot yoki kunjarasi) va oziqa achitqisini qo‘shish kerak. Mutaxassislarning hisoblariga ko‘ra, ishlab chiqarish hajmining eng yuqori unumdorligi sharoitida qoramollarni boqish uchun baliq va suyak uni, sut kukuni, soya kunjarasi ishlatilib, 1995–2000 yillarda chorvachilikning oqsilga bo‘lgan talabini bor yo‘g‘i 28–30% miqdorida qondiradi. Bu yetishmovchilikni bartaraf etish uchun biotexnologiyada sanoat mahsulotlari eng avvalo chorvachilikni kompleks omuxta yemi bilan boyitishga mo‘ljallangan turli mahsulotlardan foydalaniladi. Ular orasida oziqa achitqisi alohida o‘rin tutadi. Oziqa achitqisi – to‘yimlilik xususiyati bo‘yicha barcha yuksak o‘simliklardan ustun turadi. Hayvon oqsil ratsionining 25% ni achitqi zamburug‘i oqsili tashkil etadi. Bu oqsil samaradorligi bo‘yicha sut oqsili – kazeindan kam farq qiladi. Achitqi oqsilining 80% dan ko‘prog‘i o‘zlashtiriladi. Achitqi oqsilining hazm bo‘lish koeffsiyenti qoramollar, qo‘ylar va jo‘jalarda 83– 91% oralig‘ida o‘zgarib turadi. Ularning ustun tomoni shundaki, aynan achitqi tarkibida donli oziqada yetarli bo‘lmagan tanqis aminokislotalar ko‘p bo‘ladi. Bir tonna achitqida 41–42 kg tanqis aminokislota (lizin) bo‘lsa, 1 t. arpa va so‘lida bu miqdor 10 marotaba kamdir. Boshqa tanqis aminokislotalar (treonin, metionin, triptofan) achitqida arpa va sulidagidan 3–5 marta ko‘p. Glutamin kislota esa 1 tonna achitqida 65–110 kg atrofida bo‘lib, dondagidan ancha ko‘p bo‘ladi. Bu ko‘rsatkichlar achitqining uncha ko‘p bo‘lmagan miqdori (hajmiga nisbatan 5–6%) o‘simlik oqsilining sifatini va hazm bo‘lishini keskin ortishiga hamda ular sarfini ancha kamaytirishga imkon yaratilishini ko‘rsatadi.

Mikrob biotexnologiyasi sanoati taklif etayotgan oziqa achitqilari, B guruhi vitaminlarining ham manbayi bo‘lib hisoblanadilar. Ma’lumki, chorva mollari uchun zarur bo‘lgan vitaminlardan hatto birortasi yetishmagan taqdirda ham chorva mollari me’yoridagidek rivojlana olmaydilar. Modda va energiya almashinuvi buzilib, organizmning himoya kuchi zaiflashadi. O‘simlik oziqasida esa vitamin kam bo‘ladi

va hatto bor vitaminlar ham ularni tayyorlash, saqlash va qayta ishlash vaqtida tez buziladi, ayrim hayotiy zarur bo‘lgan vitaminlar esa o‘simliklarda umuman hosil bo‘lmaydi. Oziqa achitqisi tarkibida arpa, so‘li, no‘xat va soyaga nisbatan– riboflavin ($B_2$) miqdori 20–75 marta, pantaten kislotasi ($B_3$ vitamini) 5–10 marta, xolin ($B_4$) esa 2–6 marta ko‘p bo‘ladi. Bu vitaminlar hayvon organizmida aminokislotalar almashinuvida, o‘simlik oziqasidagi proteindan foydalanishda va oqsil biosintezida hal qiluvchi rol o‘ynaydi. Shuni ham ta’kidlash lozimki, oziqa achitqisida $B_{12}$ (sianokobalamin) vitamini bo‘lmaydi. U o‘simliklarda ham sintez bo‘lmaydi. Uni faqat odam va hayvonlar ichagida yashovchi bakteriyalar va aktinomitsetlar sintez qiladilar. Cho‘chqalar, parrandalar va yosh qoramollarda bu vitamin juda kam hosil bo‘ladi. Shu bilan birga $B_{12}$ vitamini qon hosil bo‘lishda, metionin, xolinnuklein kislotalar sintezida, oqsil, yog‘lar va uglevodlarning almashuvi jarayonida muhim ahamiyatga ega. $B_{12}$ vitamini yetishmasligi jo‘jalar, cho‘chqa bolalari, qo‘zichoq va yangi tug‘ilgan buzoqlarning o‘sishdan qolishiga, kasallanishiga va o‘limiga olib keladi, hamda chorva mollari mahsuldorligini kamaytirib, o‘simlik oziqasi oqsilining hazm bo‘lishini qiyinlashtiradi. Shuning uchun ratsionga unchalik ko‘p bo‘lmagan miqdorda $B_{12}$ vitamini qo‘shish (1 tonna oziqa hisobiga bor yo‘g‘i 0,015–0,025 gramm) ajoyib natijalar berib, yuqoridagi barcha ko‘ngilsizliklarning oldini oladi. Mikrobiologik biotexnologiya sanoatida esa $B_{12}$ vitaminini atsetonbutil ishlab chiqarishdagi chiqindilarni metanobakteriyalar bilan achitish orqali olish mumkin.

Bundan tashqari chorvachilikda biotexnologik sanoatning ajoyib mahsuloti – fermentli preparatlardan foydalanib qo‘shimcha go‘sht va sut yetishtirish mumkin. Ratsion tarkibiga qo‘shilgan ferment preparatlari tirik organizmga, ayniqsa, ular ancha yosh bo‘lganda oziqa moddalarining yaxshi hazm bo‘lishida yordam beradi. Shu tufayli cho‘chqa bolalari, buzoqlar va qo‘zichoqlar o‘sishi tezlashadi. Ularning o‘rtacha sutkali vazni 10–12% ga ortadi, oziqa sarfi tejaladi. Biroq bu hali hammasi emas. Yaxshi oziqa massasini sut achituvchi bakteriyalar hosil qiladigan sut kislotasi bilan qishga silos tayyorlash, konservalash mumkin. Silos tayyorlanganda oziqa moddalari, jumladan, vitaminlar odatdagi pichan tayyorlashdagiga nisbatan ancha kam nobud bo‘ladi. Demak, chorvachilikni rivojlantirishning eng muhim tomonlaridan biri – bu oziqa sifatini takomillashtirishdir.

Shuningdek, bugungi kunda bakteriyalar va zamburug‘lardan foydalangan holda odamning ovqatlanish ratsionini takomillashtirish ham muhim masalalardan biriga aylandi. G‘alla va boshqa qishloq xo‘jalik ekinlarini yetishtirish uchun qanchalik kuch g‘ayrat va mehnat sarf qilinishi hech kimga sir emas. Shuningdek, chorvachilikda ham buni ko‘rish mumkin. Misol tariqasida quyidagi ma’lumotlarni e’tiboringizga havola etmoqchimiz: Har bir tonna hayvon oqsili sintezi uchun kamida 4,8–4,9 tonna yengil hazm bo‘ladigan oziqa oqsili sarf qilishga to‘g‘ri keladi. Agar biz is’temol qiladigan hayvon mahsulotlarini alohida olib ko‘radigan bo‘lsak, quyidagi manzara namoyon bo‘ladi: 1 t sut oqsilini tayyorlash uchun 3,8– 4,0 t; 1 t. tuxum oqsili uchun – 3,9–4,1 t; 1 t. parranda go‘shti oqsili uchun – 4,5–4,7 t; 1 t. mol go‘shti oqsili uchun esa 9,3–9,7 t. hisobiga oziqa oqsili sarflanishi aniqlangan. Hayvonlarni bunday katta – sarf xarajatlar bilan uzoq vaqt parvarish qilish chorva mahsulotlaridagi oqsil tannarxining qimmatlashib ketishiga olib keladi.

Biotexnologiya, mikrobiologiya va kimyo fanlari ijodiy hamkorlikda oziqa moddalari, birinchi navbatda ularning eng muhim va qimmatli qismi – oqsil olishning

zamonaviy texnologiyalarini ishlab chiqdi. Ya'ni, achitqi zamburug'lar oziqa mahsulotlarining tarkibini boyitishning eng asosiy manbalaridan biri ekanligi isbotlandi. Shuningdek, *Candida* avlodiga mansub, tez rivojlanuvchi achitqilar va sekin o'sadigan *Sacchoromyces* avlodiga mansub achitqi zamburug'lar vakillari nonvoychilik va pivochilik sohalarida ishlatilishi barchamizga ma'lumdir. Mazkur mikroblar yordamida o'ta tanqis aminokislotalar – lizin, triptofan, treonin va metionin ishlab chiqarish yo'lga qo'yilgan. Aminokislota va achitqilardan birinchi navbatda eng asosiy oziqa mahsuloti, rizq-ro'zimiz bo'lgan nonning oziqa qiymatini oshirishda foydalanish mumkin. Olimlarning aniqlashicha, nonda oqsil miqdori unchalik ko'p emas: javdar unidan tayyorlangan nonning 100 grammida hammasi bo'lib 6,5 grammgacha, bug'doy unidan tayyorlangan nonda – 8,3 gramm oqsil bo'ladi, xolos. Biroq, olimlar o'rta yoshli kishining bir kunda 450 g non yeyishi tufayli oladigan oqsil miqdori bor – yo'g'i 29 grammga ya'ni uning o'rtacha sutkalik ehtiyojining uchdan biriga teng kelishini aniqlaganlar. Shuningdek, nonda lizin, triptofan, metionin yetishmaydi. Umuman bug'doy nonining biologik qiymati 38% ni tashkil etsa, oqsilning sof parchalanishi 33% ga teng. Xo'sh, qanday usullar bilan nonning biologik samaradorligini oshirish mumkin? Bunda bizga yana biotexnologik jarayon orqali olingan lizin yordam berishi mumkin. Olimlarning ta'kidlashlaricha: 1 t unga atigi 150 gramm lizin qo'shilganda nondagi oqsil sifati keskin oshishi aniqlangan. Bug'doy uniga birgina tanqis aminokislota – lizin qo'shilgandagina natijalar ana shunday. Agar un tarkibiga yetishmayotgan barcha tanqis aminokislotalar qo'shilsa, nima bo'ladi? Demak, bug'doy uniga tanqis aminokislotalarga boy bo'lgan aminokislotalarni, zamburug'larni (xamirturush) solish orqali biz aminokislotalar tarkibi va biologik qimmati bo'yicha sut va tuxum oqsillariga yaqin va mol go'shti oqsillaridan qolishmaydigan non mahsulotlarini olishimiz mumkin. Xamirturush faqatgina tanqis aminokislotalarga emas, balki vitaminlarning miqdori va sifati bo'yicha ham ancha boydir. Umuman, biotexnologiya va sanoat mikrobiologiyasining rivojlanishi faqat ko'p tonnali qimmatli oziqa ishlab chiqarishni emas, balki turli xildagi fiziologik faol moddalar ishlab chiqarish imkonini ham beradi.

Bu borada biotexnologiya sanoati imkoniyatlari beqiyosdir. Ularning yana bir tarmog'i o'simlik qoldiqlaridan (shox–shabba, g'o'zapoya, makkajo'xori poyasi, somon) shakar va uning o'rnini bosuvchi mahsulotlar ishlab chiqarishdir. Mikrobiolog olimlarning tajriba–sanoat sinovlari va hisoblarining ko'rsatishicha, 1 t. quruq yog'ochdan 450 – 500 kilogrammga yetkazib shakar yoki bir kubometr zichlangan yog'och qipig'i, daraxt parchalari va o'tindan esa 180 – 200 kg gacha shakar olish mumkin. Olingan toza shakar moddasi mikrobiologiya sanoati uchun oqsil moddalari achitqilari, vitaminlar, spirt va bir qator moddalar va mahsulotlar ishlab chiqarishga yaroqli bo'ladi. Xuddi shu yo'l bilan glyukoza ishlab chiqarish ham mumkin. Bunda yana biotexnologlar yordamiga tayanamiz. Buning uchun o'simlikning sellyuloza saqlovchi qoldiqlariga kimyoviy yoki fermentativ ishlov beriladi va natijada 55% glyukoza va 45% fruktozalardan iborat sharbat olish mumkin. Bunday aralashma shirinligi bo'yicha biz odatlangan saxarozaga tenglashib, sanoat yo'li bilan olinadigan lavlagi shakari o'rnini bosishi mumkin. Glyukozaizomerazaning kashf etilishi va uning keng qo'llanilishi shakarli moddalar ishlab chiqarish yo'lida katta burilish yasadi. Immobilizatsiya qilingan bu ferment

yordamida AQSh, Yaponiya, Daniya, Finlandiya kabi bir qator rivojlangan mamlakatlarda qand lavlagidan emas, balki ancha arzon va yetarli bo‘lgan xom-ashyo makkajo‘xori donidan millionlab tonna shakarli oziqa mahsulotlari ishlab chiqarilmoqda. 2000 yilning o‘zida 3 mln. tonna glyukoza fruktoza sharbati ishlab chiqarilgan va bu jarayon uchun zarur bo‘lgan glyukozaizomeraza fermenti 40 mln. AQSh dollari hajmida ishlab chiqarilgan. Bugungi kunda biotexnologiya sanoati shirin moddalar ishlab chiqarish sohasida mutlaqo yangi sahifa ochmoqda. Bu borada dastlabki samarali ishni Angliyaning Kent universiteti professori K.Stesi bajardi, u o‘z xodimlari bilan hamkorlikda zamonaviy biotexnologiya va gen muhandisligi usullari bilan shakarga nisbatan ming marta shirinroq bo‘lgan oqsil sintez qiladigan genni ajratib oldi va bakteriyaga (*E. coli*) o‘tkazdi. Bakteriya bu mahsulotni ishlab chiqara boshladi. Shuni alohida ta’kidlab o‘tish lozimki, yangi transgen mikrob-organizm, odam organizmi tana haroratidan yuqori haroratda o‘sib ko‘payadi. Shuning uchun ham u inson uchun umuman xavfli emas. Ayni paytda biotexnologik ishlab chiqarish amaliyotida quyidagi shirin ta’m beruvchi mahsulotlar ishlab chiqarilmoqda. Aspartam-200,0, Stevozid-150,0, Taumatin – saxarozadan 3000,0 marotaba shirin bo‘lgan mahsulotlardir. Bularning barchasini sintez qiluvchi genlari ichak tayoqchasi (*E.coli*) bakteriyasiga transformatsiya qilingan va sanoatda foydalanilmoqda. Bunday mikroorganizmlarni sanoat miqyosida ko‘paytirish juda katta samara berishi tabiiy holdir. Ayni vaqtda mamlakatimizda shakar mahsulotiga bo‘lgan talabni qondirishda bu usul juda asqotadi deb hisoblaymiz. Bundan tashqari mikrobiologik sintez yo‘li bilan olingan oqsil va boshqa oziqa moddalardan, sun’iy oziq-ovqat mahsulotlari tayyorlash maqsadida foydalanilganda to‘la qiymatli oziqa ishlab chiqarishni amalda cheklanmagan hajmda tashkil qilish mumkin.

## 2§. O‘ZBEKISTONDA BIOTEXNOLOGIYANING RIVOJLANISH TARIXI

Biotexnologiya O‘zbekiston uchun nisbatan yosh soha va fanlardan bo‘lib, uning rivojlanish tarixi qadimiy biotexnologiyalar non yopish, qatiq tayyorlash kabilar istisno etilganda, yaqin o‘tmishga borib taqaladi. Bu borada, O‘zbekistonda biotexnologiya fanining rivojlanishiga katta hissa qo‘shgan ayrim yirik olimlar haqida qisqa ma’lumotlar berib o‘tishni lozim topdik. Zeroki ularning ulkan mehnatlari tufayli mamlakatimizda mahalliy biotexnologiya sohasi paydo bo‘ldi va rivojlanmoqda.

**Asqar G‘aniyevich Xolmurodov** (1939-1997) – Qashqadaryo viloyatida tug‘ilgan. 1960 yilda O‘rta Osiyo Universitetini tamomlagan. So‘ngra 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 O‘zFA Mikrobiologiya instituti direktori O‘zR FA muxbir a’zosi (1987) va haqiqiy akademigi (1989) shuningdek, O‘zR FA Prezidiumi bosh ilmiy kotibi (1988) va vitseprezident (1990) lavozimlarida faoliyat yuritgan. 1994-yilda O‘zbekiston Respublikasi Oliy majlisiga deputat bo‘lib saylangan va fan, ta’lim, madaniyat va sport qo‘mitasini boshqargan.



***A.Xolmurodov***

Asqar Xolmurodov biokimyo va biotexnologiya sohasida dunyo tan olgan yirik olimlardan biri hisoblanadi. Ilmiy faoliyati davomida 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 kitobi chop etilgan.

Bundan tashqari “Транспорт жирорастворимых витаминов” (1980) va “Мембранный транспорт коферментных витаминов и коферментов” (1982) nomli monografiyalarida birinchi marta almashinmaydigan biologik faol birikmalar guruhining membranada tashilishi, retsepsiyasi va bog‘lanish mexanizmlari haqidagi ma’lumotlarni tizimlashtirganligi uchun dunyo bo‘yicha fundamental ahamiyatga ega bo‘lgan qo‘llanma hisoblanadi, shu sababli bir qancha davlatlarda xorijiy tillarga tarjima qilingan. Bundan tashqari AQSh da chop etilgan “Tiaminfosfatlar” bo‘yicha tayyorlagan uslubiy qo‘llanma ham dunyo miqyosida ahamiyatga ega bo‘lgan muhim ishlanma hisoblanadi. Asqar Xolmurodov qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalar uchun nikotin kislotasi o‘rnini bosuvchi “Kornik” nomli oziqa preparatini yaratgan va amaliyotga joriy etganligi uchun nufuzli Xalq Xo‘jaligi Yutuqlari Ko‘rgazmasining bronza medaliga sazovor bo‘lgan. Bundan tashqari, Asqar Xolmurodov akademik A.V.Palladin nomidagi mukofotga sazovor bo‘lgan. AQSh ning “Кто есть кто в науке и технологиях” nomli faxriylar kitobiga 1996-1997 yillarda sovrindor sifatida nomi kiritilgan va maxsus diplom bilan mukofotlangan.



***A.Muzaffarov***

**Ahror Muzaffarovich Muzaffarov** (1909-1987) – botanika, ekologiya, algologiya, gidrobiologiya, gidroekologiya va suv o‘tlari biotexnologiyasi sohalari bo‘yicha faoliyat olib borgan yirik olim. O‘zR FA ning haqiqiy a’zosi (1960). O‘zR FA Botanika institutining direktori (1956-1960), O‘zR FA Prezidiumi a’zosi va kimyo-texnologiya va biologiya fanlari bo‘limining akademik - kotibi (1966-1970), O‘zR FA Mikrobiologiya bo‘limi rahbari (1970-1977), keyin esa shu bo‘lim asosida mikrobiologiya institutini tashkil etib unga rahbarlik qilgan (1977-1985).

Mamlakatning ko‘plab orden, medallari va mukofotlariga sazovor bo‘lgan. Markaziy Osiyo suv havzalarining ekologik va tipologik o‘ziga xosligini chuqur o‘rganib, ulardan suv o‘tlarining serhosil shtammlarini ajratib, ularning ochiq havoda va yopiq uskunalarda o‘stirish usullarini yaratgan hamda ular asosida yangi

biotexnologik jarayonlarning yaratilishiga rahbarlik qilgan. O‘nlab monografiyalar va 200 dan ortiq ilmiy maqolalar chop ettirgan. Abu Rayxon Beruniy nomidagi davlat mukofoti sovrindori (1979). O‘zbekistonda xizmat ko‘rsatgan fan arbobi.

**Salima Asqarovna Asqarova** (1922-1997) – O‘zR FA qoshidagi institut maqomiga ega bo‘lgan Mikrobiologiya bo‘limining tashkilotchisi va birinchi direktori. Asosiy ilmiy yo‘nalishi mikroorganizmlar fiziologiyasi va biokimyosiga bag‘ishlangan. Respublikamizda qishloq xo‘jalik ekinlarini mikrobiologik usulda himoya qilish muammolari bo‘yicha yirik ilmiy loyihalarni amalga oshirgan. O‘zbekiston mikrobiologlar jamiyati asoschisi va birinchi prezidenti. O‘zbekistonda sanoat mikrobiologiyasi rivojlanishiga qo‘shgan katta hissasi va pedagogik, ilmiy tashkiliy ishlardagi samarali mehnatlari uchun xizmat ko‘rsatgan fan arbobi darajasiga erishgan, xalq maorif a’lochisi, biologiya fanlari doktori, professor. Uning rahbarligida 20 dan ortiq fan doktorlari va fan nomzodlari tayyorlangan.

**Axmad Pochchaevich Ibragimov** (1928-2008). Taniqli molekulyar genetik, biokimyogar olim, biologiya fanlari doktori, professor, O‘zR FA akademigi (2000), O‘zbekistonda xizmat ko‘rsatgan fan arbobi (1989) unvonlari sohibi.

1928-yilda ko‘hna Turkiston shahrida tug‘ilgan. 1950 yilda Toshkent Farmatsevtika institutini tamomlagan. 1954 yilda O‘zR FA Kimyo institutining aspiranturasida tahsil olib, kimyo fani bo‘yicha nomzodlik dissertatsiyasini himoya qilgan. 1954-1957 yillar davomida Samarqand Davlat Qishloq xo‘jalik institutida Organik va biologik kimyo kafedrasi mudiri, 1957 yildan boshlab O‘zR FA Yadro fizikasi institutining radiotsion kimyo laboratoriyasini boshqargan. 1966-yilda “G‘o‘za urug‘ida fizik-kimyoviy, biokimyoviy va gamma nurlari ta’sirida ayrim muhim biologik moddalarning o‘zgarishini tadqiq etish” mavzusidagi doktorlik dissertatsiyasini himoya qilgan. 1967-yilda O‘zR FA Biokimyo instituti direktorining muovini va ayni paytda Nuklein kislotalar biokimyosi laboratoriyasiga rahbarlik qilib kelgan. 1969 yildan professor. 1976 yilda u boshqarayotgan laboratoriya O‘zR FA O‘simliklar eksperimental biologiyasi instituti tarkibiga o‘tkazilib “Molekulyar genetika” laboratoriyasi nomi bilan atala boshlandi. 1984 yili O‘zR FA muxbir a’zosi. Asosiy ilmiy yo‘nalishini o‘simliklar hujayrasining tashkiliy tuzilishi, genetik axborot funksiyasi hamda ushbu jarayonlarning ontogenetik va revolyutsion ko‘rinishi, stress omillar – ionlashtiruvchi nurlar va har xil kasalliklar ta’siriga genetik axborot sistemalarining chidamliligi masalalarini yechishga bag‘ishlagan.



***A.Ibragimov***

**Mirzaatxam Mirzahakimovich Raximov** (1943-2013) –1943-yilda Toshkent shahrida tug‘ilgan. Oliy ma’lumotni M.V.Lomonosov nomidagi Moskva Davlat Universitetida olgan. Ushbu oliygohda aspiranturada tahsil olib kimyo fanlar

nomzodi ilmiy unvoniga sazovor bo‘lgan (1968). O‘zbekistonda biotexnologiya fanining tashkilotchilaridan biri hisoblanadi. O‘zbekiston Milliy Universiteti va boshqa qator oliy o‘quv yurtlarida biotexnologiya kafedralari va markazlarini tashkil etgan. Asosiy ilmiy yo‘nalishi fermentativ kataliz asosida biotexnologik jarayonlar yaratish bo‘lsada, biologiya, tibbiyot, kimyo, oziq-ovqat va boshqa yo‘nalishlarda o‘ta keng faoliyat olib borgan yirik olimdir.

Mirzaatxam Raximov biotexnologiya va fizik-kimyoviy biologiya yo‘nalishlari bo‘yicha yetakchi ilmiy salohiyatli olim. Uning rahbarligida geterogen tizimlarda fermentativ katalizning nazariy hamda amaliy jihatlari ishlab chiqilgan va mukammallashtirilmoqda, enzimologiya muhandisligi, membrana katalizi, gen muhandisligi va nanobiotexnologiya ustida keng qamrovli ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. 1969-yildayoq olim tomonidan ilgari surilgan va tahlil qilingan, geterogen va membranali tizimlarda kataliz jarayonida ishtirok etuvchi fermentlarni faol markazi gomogen tizim fermentlari faol markaziga nisbatan boshqacha “topografiya”ga ega ekanligi keyingi ilmiy ishlarida asosli ekanligini isbotladi.



***M.Raximov***

Mirzaatxam Raximov boshchiligidagi ilmiy jamoaning lipolitik fermentlarni o‘rganish asosidagi natijalari boshqa sinf fermentlarini - proteinaza, amilaza, pektinaza va boshqalarni o‘rganishda o‘z tasdig‘ini topdi. Ushbu natijalar boshqa olimlar tomonidan ham taassuf etildi hamda jahon ilmiy ommasi hamda fanida tan olindi. Membrana katalizi - yangi yo‘nalish bo‘lib, fanni yangi yo‘nalishi bo‘lib, membrmuqobiliya va enzimologiyani o‘zaro bog‘lanishi orqali rivojlanmoqda va biologik tizimlardagi jarayonlarni, membranaga bog‘liq kataliz reaksiyalarini o‘rganadi. Mitoxondriya membranalarida va boshqa organellalardagi fermentativ jarayonlarni hamda immobillangan fermentlarni membrana bog‘lovchi ferment tizimlari modellarini aynan shu soha doirasida o‘rganiladi.

Mirzaatxam Raximov tomonidan biologik membranalarni tarkibini boshqarilishi va nazariy jihatdan butunligi endogen fermentlarga bog‘liqligi, (masalan, fosfolipazalarga, proteazalarga va proteinkinazalarga) ilgari surilgan gipoteza alohida ahamiyatga egadir. Hozirgi vaqtda ushbu fermentlarni stress hollarda va patologik jarayonlarda jarohatlangan membranalarni rivojlanishida hamda tashqi muhit ta’siri va fiziologik o‘zgarishlarga membranalarni moslashuvida ishtirok etishi haqida ilmiy ma’lumotlar olingan. Ushbu izlanishlar tibbiyot va o‘simlikshunoslikda alohida ahamiyatga molikdir.

Mirzaatxam Raximovning ilmiy izlanishlari amaliy jihati ayniqsa, tibbiyot va biotexnologiya sohasiga tegishlidir. Immobillangan fermentlarni oziq-ovqat sanoatida qo‘llashni maqbulligini birinchilardan bo‘lib ko‘rsatgan. Ma’lum ilmiy ishlanmalar yuqori sezuvchanlikka ega tashxis usullarga va immunofermenttashxisga

bag‘ishlangan. Ko‘pchilik ilmiy ishlanmalar tadbiq qilingan va turli sohalarda tadbiq qilinmoqda. 600 ga yaqin ilmiy maqolalar, o‘quv qo‘llanmalar, darsliklar va patentlar muallifi. U “Mehnat Shuhrati” ordeni bilan mukofotlangan.

**Abdusattor Abdukarimovich Abdukarimov.** 1942 yilda Toshkent viloyatida tug‘ilgan. Oliy ma’lumotni Toshkent Davlat Universitetida olgan (1966). 1961-1967 yillarda O‘zR FA Yadro fizikasi institutida faoliyat yuritgan. 1967-1969 yillarda O‘zR FA Biokimyo instituti aspiranti, shu institutda 1967-1992 yillarda kichik, katta ilmiy xodimi va laboratoriya mudiri, 1982 yilda respublikamizda ilk bor gen muhandisligi laboratoriyasini tashkillashtirgan. 1979-yilda akademiklar Yo.X.To‘raqulov va D.X.Xamidovlar rahbarligida fan doktori ilmiy darajasiga erishgan. 1992-2010 yillarda O‘zR FA Genetika va o‘simliklar eksperimental biologiyasi instituti direktori lavozimida faoliyat olib bormoqda. 1994 yildan O‘zR FA muxbir a’zosi, 2000 yildan O‘zR FA akademigi. Ilmiy faoliyati gen muhandisligi va molekulyar genetikaga asoslangan biotexnologiya fanini rivojlantirishga bag‘ishlangan. Gen muhandisligi bo‘yicha O‘zR FA va DFTQ sining transgen o‘simliklar yaratish bo‘yicha qo‘shma dasturi “Geninmar” ning ilmiy rahbari, ilmiy texnik kengash raisi, institutning molekulyar genetika bo‘limi mudiri, ayni paytda O‘zR o‘simlik genetik resurslarini saqlash va o‘rganish bo‘yicha DFTQ tarkibidagi muvofiqlashtiruvchi kengash raisi.



***A.Abdukarimov***

O‘simlik genetik resurslarini saqlash bo‘yicha FAO xalqaro instituti (IPGRI) ning Markaziy Osiyo mamlakatlari bo‘yicha muvofiqlashtiruvchi kengash rahbari. Uning asosiy ilmiy yo‘nalishi Respublikamizda ekiladigan g‘o‘za navlarini gen muhandisligi usuli bilan yanada yaxshilash muammolariga bag‘ishlangan. Shu bilan bir paytda g‘o‘zaning yangi navlarini yaratishning molekulyar, fiziologik, genetik va seleksion hamda agrotexnologik asoslarini bir tizimga keltirish borasida samarali mehnat qilmoqda.

“Umumiy biologiya” darsligi mualliflaridan biri, xalq ta’limi vazirligining biologiya fanini o‘qitish uslubiy kengashi raisi sifati jamoat ishlarida ham faol ishtirok etib kelmoqda. Bir darslik, bitta monografiya va 100 dan ortiq ilmiy maqolalar muallifi, 4 nafar fan doktori va 11 nafar fan nomzodlariga ilmiy rahbarlik qilgan. Ayni kunlarda ham yoshlarga ilmiy rahbarlik qilish bilan birga O‘zbekistonning molekulyar genetika va biotexnologiya fani yutuqlarini jahon miqyosiga olib chiqish va rivojlantirish bo‘yicha samarali mehnat qilmoqda. “Do‘stlik” ordeni bilan taqdirlangan.

**Mashhura Egamovna Mavloniy.** 1934-yilda Toshkentda tug‘ilgan. Mikrobiolog olim, O‘zbekiston Fanlar akademiyasi akademik (1989), O‘zbekistonda xizmat ko‘rsatgan fan arbobi (1994), biologiya fanlari doktori (1971). Toshkent politexnika institutining kimyotexnologiya fakultetini tugatgan (1957).

O‘zbekiston Fanlar akademiyasi Botanika instituti ilmiy xodimi (1960—61), katta ilmiy xodimi (1962—65), 1965-yildan O‘zbekiston Fanlar akademiyasi Mikrobiologiya bo‘limi (1977-yildan instituti)da sanoat mikrobiologiyasi laboratoriya mudiri. O‘zbekistonda sanoat mikrobiologiyasi asoschisi. U O‘rta Osiyoda ilk bor sanoat mikroorganizmlari kolleksiyasini yaratdi. Zararkunanda mikroorganizmlarga qarshi kurash usullarini ishlab chiqdi. Sporasiz zamburug‘lar tasnifining yangi sxemasini tuzdi. Gamma va lazer nurlari ta’sirida sanoat uchun muhim bo‘lgan faol mutantlar topdi va amaliyotga tatbiq etdi.



***M.Mavloniy***

**Qaxramon Davranov.** 1945-yilda Qashqadaryo viloyatida tug‘ilgan. 1967- yilda Toshkent farmatsevtika institutini tamomlagan. U mikroorganizimlar asosida yangi biotexnologiyalar yaratishning ilmiy asoslarini ishlab chiqish va amaliyotga tatbiq etish bo‘yicha o‘z maktabini yaratgan yirik biolog olim. Qaxramon Davranovning ilmiy ishlari – mikrobiologiya va biotexnologiya fanlarining rivojiga qo‘shilgan fundamental ulushdir. U jahonda birinchi bo‘lib mikroorganizmlar maqsadli ravishda o‘zi yashayotgan sharoitga moslashish uchun lipaza fermentining molekulyar shakllarini sintez qilishini va bu jarayon mikrob hujayrasida sintez bo‘ladigan tabiiy ingibitor ishtirokida boshqarilishini isbotlab bergan.

Qaxramon Davranov 300 ga yaqin ilmiy maqolalar muallifi, ulardan 90 dan ortig‘i yuqori impakt faktorga ega bo‘lgan jurnallarda chop etilgan va ularga 400dan ortiq havolar keltirilgan. 1972-yildan kimyo fanlari nomzodi, 1984-yildan biologiya fanlari doktori, 1991-yildan professor. Hozirgacha 3 ta darslik, 4 ta o‘quv qo‘llanma va 3 ta monografiya chop etgan.

Qaxramon Davranovning ilmiy kashfiyotlari 1 ta Yevro-Osiyo patenti, 30 ta mamlakatimiz patenti va sobiq ittifoqning mualliflik guvohnomalari bilan muhofaza qilingan. Uning ilmiy faoliyati mikrobiologik sintez natijasida hosil bo‘ladigan mahsulotlarni ajratib olish, baholash va amaliyotga tatbiq etish bilan bog‘liq. Ayniqsa mikroorganizmlar sintez qiladigan lipaza (yog‘larni parchalovchi fermenti)ni o‘rganish bo‘yicha bajargan ishlari, dunyo hamkasb olimlari orasida tan olingan. U lipolaktin, lipomikrosporin, lipomixin, lipopenil olish texnologiyalarini yaratgan.



***Q.Davranov***

Lipolaktin – spetsifiklikka ega bo‘lmagan yog‘ parchalovchi ferment bo‘lib, uning produsenti – Oospora lactis mikromitseti O‘zbekiston tuproqlaridan ajratilgan va bugungi kunda u Butun Rossiya sanoat mikroorganizmlari kollektsiyasida (VNII Genetika, Moskva) *Oospora lactis* F-500; Ukraina Milliy Akademiyasi Mikrobiologiya va virusologiya instituti huzuridagi mikroorganizmlar Depozitariyasida *Oospora lactis* IBM F-100073; O‘zFA Mikrobiologiya instituti mikroorganizmlar kolleksiyasida *Oospora lactis* – O‘zLM 2 nomerlari ostida deponirlangan. Q.Davranov va uning rahbarligidagi ilmiy jamoa tomonidan *Oospora lactis*ni o‘stirish, ko‘paytirish, undan lipolaktin ajratib olish texnologiyasi ishlab chiqilgan, bu texnologiya va uning reglamenti Ladijin shahridagi NPO “Enzim”da ishlab chiqarishga tatbiq qilingan. Lipolaktin – kir yuvish vositalari tarkibiga kiritilgan va teri xom-ashyolarini hamda ipak sanoati chiqindilarini yog‘sizlantirishda sinovlardan o‘tkazilgan. Lipolaktin asosida Lipokrin va Unikal nomli biodestruktor hamda organik chiqindilarni kompostlovchi – Kompanaza preparatlari yaratilgan va ishlab chiqarilmoqda.

Q.Davranov bugungi kunda “mikrob-tuproq-o‘simlik” tizimida tashqi muhit ta’sirlariga chidamli bo‘lgan, muayyan sharoitda o‘simliklarni o‘sishi, rivojlanishi, hosildorligini oshiruvchi hamda hosilining sifatiga ijobiy ta’sir ko‘rsatuvchi mikrob preparatlarni yaratish va ularni amaliyotga tatbiq etishga qaratilgan ishlarni amalga oshirmoqda. “Yer malhami”, “Zamin M”, “Bist”, “Psevdorizobin” va “Fitobiosol” kabi biopreparatlari mamlakatimiz qishloq xo‘jaligi amaliyotiga joriy etilgan.

**Ibrohim Yo‘lchiyevich Abduraxmonov**. 1975-yilda Namangan viloyatida tug‘ilgan. 2017-yildan O‘zbekiston Respublikasi innovatsion rivojlanish vaziri. O‘zbekiston Fanlar Akademiyasi va Jahon Fanlar Akademiyasi akademigi.



***I.Abduraxmonov***

1997 yilda Toshkent davlat universiteti (hozirgi O‘zbekiston Milliy universiteti), 2001 yilda Texas A&M universiteti (AQSh) ni tamomlagan. 1997-1998 yillarda Genetika va o‘simliklar eksperimental biologiyasi institutida kichik ilmiy xodim, aspirant lavozimlarida ishlagan. 2002-2012 yillarda - O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Genetika va o‘simliklarning eksperimental biologiyasi instituti Genomik texnologiyalar markazi laboratoriyasining ilmiy xodimi, katta ilmiy xodimi, loyiha rahbari. 2012-2017-yillarda O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Genomika va bioinformatika markazi direktori lavozimida ishlagan. Ibrohim Abdurahmonovning bevosita rahbarligida dunyoda birinchi marta g‘o‘za

o‘simligida “muvozanatsiz bog‘lanish” usulida tola sifati va hosildorligini boshqaruvchi elita navlarida tola rivojlanishi genlarini mobilizatsiya qilishda qo‘llaniladigan o‘ziga xos genlar aniqlandi.

Shuningdek, O‘zbekiston g‘o‘zasi germplazmasi kollektsiyasiga mansub g‘o‘za navlarining molekulyar genetik pasportlari yaratildi, ular O‘zbekiston Respublikasining intellektual mulkini himoya qilish uchun asos bo‘ldi. U Texas universiteti va AQSH Qishloq xo‘jaligi departamentidagi hamkasblari bilan hamkorlikda g‘o‘za genlarini (RNK interferensiyasini) “o‘chirish” hamda ushbu texnologiyani amaliyotda qo‘llash texnologiyalarini ishlab chiqdi. Ushbu gen-nokaut texnologiyasi yordamida ildiz tizimi rivojlangan, sifatli, uzoq pog‘onali, serhosil va ertapishar g‘o‘za navlari olindi. Ibrohim Abdurahmonov 2010 yilda qishloq xo‘jaligi va paxta genomikasi sohasida rivojlanayotgan mamlakatlar Fanlar akademiyasining mukofotiga sazovor bo‘lgan, 2013 yilda ICAC tashkilotining g‘o‘za sohasidagi yilning eng yaxshi tadqiqotchisi sifatida e’tirof etilgan.

**Azimova Shaxnoz Sadikovna**. 1951-yilda Toshkent shahrida tug‘ilgan. O‘zbekiston Respublikasi Fan Arbobi, biologiya fanlari doktori (1988), professor (1993). Toshkent davlat universiteti Kimyo fakultetini tamomlagan. Molekulyar biologiya va gen muhandisligi bo‘yicha yetakchi olim.

Shaxnoz Azimova rahbarligida farmatsevtika, biotexnologiya, molekulyar biologiya, gen muhandisligi va molekulyar genetika sohalarida ilmiy tadqiqotlar olib borilib, O‘zbekistonda birinchi marotaba rekombinant (sun’iy) oqsillar olish usuli ishlab chiqilgan. Shu jumladan, vaksina va diagnostikumlar yaratish maqsadida odam gepatit B virusi yuza rekombinant oqsillari olingan va monoklonal antitanalar hosil qiluvchi gibridomalar olish texnologiyasi ishlab chiqilgan. O‘simliklardan ajratib olingan ikkilamchi metabolitlarni turli xil rak hujayralariga nisbatan va antimikrob faolliklarini tekshirish yo‘lga qo‘yilgan. Gepatit B, Gepatit C, OITS va sifilisni aniqlashga mo‘ljallangan IFA diagnostik test-tizimlarini sanoat miqyosida ishlab chiqish texnologiyasi yaratilib, amaliyotga joriy qilingan va seriyali ishlab chiqilmoqda. Bugungi kunda turli xil infektsion kasalliklar jumladan, COVID 19, gepatit B va C viruslari, onkogematologik kasalliklar diagnostikasi uchun zamonaviy, mahalliy PSR test to‘plamlarini sanoat miqyosida ishlab chiqarish texnologiyasi yaratilgan. Shaxnoz Azimova ilm-fan sohasida o‘zining maktabini yaratgan olima ayol hisoblanadi. Hozirgi vaqtgacha 350 dan ortiq ilmiy ishlari chop etilib, ular jumlasiga uning bosh muharrirligida xalqaro “Springer” (New York-Heidelberg-Dordrecht-London) nashriyoti tomonidan 8 jildlik “Natural compounds: Plant Sources, Structure and Properties” – Alkaloids (1 jild), Natural Sesquiterpene Esters (2 jild), Cycloartane Triterpenoids and Glycosides (1 jild), Phytoecdysteroids (1 jild), Triterpene glycosides (2 jild), Flavonoids (1 jild) va 2 jildlik (992 bet) “Lipids, Lipophilic Components And Essential Oils From Plant



***Sh.Azimova***

Sources” to‘plamlar, 30 dan ortiq ixtiroga patent va 10 dan ortiq yangi ishlanmalarga mualliflik guvohnomalari kiradi. 2005-yildan hozirgi kungacha - O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi, O‘simlik moddalari kimyosi instituti laboratoriya mudiri lavozimida ishlab kelmoqda. “Mehnat shuhrati” ordeni bilan taqdirlangan.



*T.Gulyamova*

**Tashxan Gafurovna Gulyamova**. Biologiya fanlari doktori (1999), professor (2011), O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi tizimidagi tadqiqot institutlarida 1972-yildan buyon faoliyat ko‘rsatib kelmoqda. 1986-yildan boshlab O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Mikrobiologiya institutining “Fiziologik faol birikmalar biokimyosi va biotexnologiyasi” laboratoriyasida turli lavozimlarda, jumladan, 1997-yildan laboratoriyasi mudiri lavozimida ishlab kelmoqda. Tashxan Gulyamova Rossiya, Shveytsariya, AQSh, Yaponiya, Angliya, Kanada kabi rivojlangan mamlakatlarning yetakchi mikrobiolog va biotexnolog olimlari bilan yaqin hamkorlik aloqalarini o‘rnatgan.

Tashxan Gulyamova rahbarligidagi ilmiy maktab O‘zbekistonda ajratilgan mikroorganizmlarda tetrapirol birikmalari sintezining regulyatsiyasi, yangi biotexnologik ishlanmalar uchun mikroorganizmlar xilma-xilligi, g‘o‘zaning vertitsillozli vilt kasalligida biologik nazorat, O‘zbekiston dorivor o‘simliklarining endofitik mikrobiotasi, O‘zbekiston dorivor o‘simliklarining endofit zamburug‘larining metabolitlari, diabetga qarshi o‘simliklar endofitlaridan a-amilaza ingibitorlarini olish va keng ko‘lamli bioprotektiv preparatlar yaratish uchun endofit zamburug‘lardan melanin substansiyasini olishga qaratilgan bo‘lib, bu borada u kishi tomonidan olib borilgan tadqiqotlarda muhim ilmiy-amaliy natijalarga erishilgan. Tashxan Gulyamova tomonidan yaratilgan bir qator ishlanma va texnologiyalar mamlakatimiz iqtisodiyot tarmoqlarida amaliyotga joriy etilgan.

**Zafar Fayzullayevich Ismailov**. 1955-yilda Samarqand shahrida tug‘ilgan, biologiya fanlari doktori (1996), professor (2022). Samarqand davlat universitetining biotexnologiya ilmiy maktabi asoschisi. U o‘zining ilmiy faoliyati davomida 1996-2021 yillarda GKNT RUz №3427, UzFFI №27/98, OT-F2-30, I-OT-2017-3-4 kabi respublika, USAIDA TA-MOU-97-CA16-012, STCU UZB-111, USAID-CDR/CAR CA-23-036, ICGEB-TWAS kabi xalqaro loyihalarda rahbar, yetakchi ilmiy xodim va muvaqqat jamoa a’zosi sifatida faoliyat olib borgan. Mazkur loyihalar doirasida amalga oshirilgan tadqiqotlarda O‘zbekiston tuproqlari mikroorganizmlarining xilma-xilligi va ahamiyati o‘rganilgan, tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning qishloq xo‘jalik ekinlari vegetatsiyasidagi ahamiyati aniqlangan, ulardan foydalanish bo‘yicha amaliy



*Z.Ismailov*

tavsiyalar ishlab chiqilgan, choʻl hududlarida keng tarqalgan ayrim galofit oʻsimliklar biomassasining bioyoqilgʻi manbalar sifatidagi potensiali baholangan, chorvachilikning organik chiqindilari va oʻsimliklar biomassasini qayta ishlashga asoslangan bioyoqilgʻilar olish texnologiyasi ishlab chiqilgan va amaliyotga joriy etilgan. Zafar Ismailov genetika, biotexnologiya va biologiyaga oid dolzarb muammolar boʻyicha nufuzli jurnallarida 100 dan ortiq ilmiy maqolalar chop etgan, 3 ta darslik va 2 ta oʻquv qoʻllanma muallifi. Zafar Ismailov oʻz faoliyatida biotexnologiyaning ustuvor sohalarida ta'lim va fanning integratsiyasiga katta e'tibor qaratgan. Bugungi kunda olim rahbarlligidagi ilmiy jamoa stress omillar ta'siridagi hududlar oʻsimlik va tuproq tarkibidagi mikroorganizmlarning biotexnologik potentsialini baholash hamda parrandachilikning ozuqa bazasini soʻvoʻtlar ishtirokida boyitish yoʻnalishlarida izchil tadqiqotlar olib borishmoqda.

**Sulaymon Boʻriyevich Boʻriyev.** 1946-yilda Buxoro viloyati, Qorakoʻl tumanida tugʻulgan. 1963 yil Toshkent davlat universitetining biologiya va tuproqshunoslik fakulteti, biologiya yoʻnalishining 1-kursiga talabalik safiga qabul qilingan. Universitetning 4 va 5 kurslarini Moskva davlat universitetida oʻqigan.

1968-yil Respublika fanlar akademiyasi biokimyo ilmiy-tadqiqot instituti gormonlar biokimyosi laboratoriyasida Akademik Yo.X.Toʻraqulov rahbarligida stajyor-tadqiqotchi boʻlib faoliyat koʻrsatgan. 1970-1993 yillarda fanlar akademiyasi Mikrobiologiya instutida akademiklar A.M.Muzaffarov va A.G.Xolmurodovlar rahbarligida kichik ilmiy va katta ilmiy xodim lavozimlarida ilmiy-tadqiqot ishlarini bajarib, 1977-yili biologiya fanlari nomzodi ilmiy darajasi boʻyicha, 1993-yil biologiya fanlari doktorligi himoyalaridan oʻtgan.



***S.Boʻriyev***

Sulaymon Boʻriyevning ilmiy tadqiqot ishlari mikroskopik suvoʻtlar va yuksak suv oʻsimliklarini koʻpaytirish hamda ularni xalq xoʻjaligining turli sohalarida qoʻllashga qaratilgan boʻlib, olim tadqiqotlar natijasida 500 dan ortiq maqola, tezis, monografiya, oʻquv qoʻllanmalar chop ettirgan, bir qancha ishlanmalarga mualliflik guvohnomalarini olgan. 2020-yilda "Doʻstlik" ordeni bilan mukofotlangan.

**Zaxro Raxmatovna Axmedova.** 1955-yilda Toshkent viloyati Yuqori Chirchiq tumanida tugʻilgan, 1976-yili Toshkent davlat universitetini tamomlagan. U 1976-yildan OʻzR FA Mikrobiologiya institutida ishlab kelmoqda, 2003 yildan 2021-yilgacha "Mikroorganizmlar fermentlari", bugungi kunda "Tabiatni muhofaza qilish biotexnologiyalari" laboratoriyasi mudiri lavozimida faoliyat koʻrsatib kelmoqda. Biologiya fanlari doktori, professor.

Zaxro Axmedovaning asosiy ilmiy yo‘nalishi qishloq xo‘jaligi, oziq-ovqat, tibbiyot, farmatsevtika sanoatining barcha tarmoqlarini biologizatsiya yo‘nalishiga o‘tkazish, kimyoviy vositalar, moddalar, mineral o‘g‘itlar sarfini kamaytirish yoki batamom voz kechish, atrof-muxit himoyasi va ekologik muvozanatni saqlash, mikroorganizmlar va ulardan olinadigan noyob biologik moddalarni tahlil qilish va ishlab chiqarishga tatbiq etishdan iboratdir. Olima tarafidan dunyo miqyosida birinchi marotaba tabiiy oqsil+oqsil o‘zaro ta’siri, munosabatlari, o‘rganilib, ularning mikrob hujayrasida yog‘ni parchalovchi lipaza fermentining turli formalarini hosil bo‘lish mexanizmi ochib berilgan va ushbu nazariya kasallangan inson to‘qimalaridagi nekrotik hujayralarni, jarrohlik septik yaralarini davolash uchun proteolitik fermentlar ingibitorini yaratishga asos soldi. Atrof muhit himoyasi, tuproq unumdorligini oshirish, har yili to‘planadigan qishloq xo‘jaligi ekinlari chiqindilari utilizatsiyasi va ulardan biologik qiymatga ega moddalar olish uchun Z.R.Axmedova respublikamiz hududida keng tarqalgan bazidial zamburug‘lardan foydalanish imkonini ochib berdi. Ushbu izlanishlar davomida qo‘ziqorinda veratril-alkogol-oksidaza fermenti mavjudligini ilk bor kashf etdi. Lignotsellyuloza chiqindilaridan qandlar, omuxta yem, oqsillar, ayniqsa, kimyoviy usulda olib bo‘lmaydigan aromatik moddalar olish mumkinligini isbotladi, bunda 32 kD ega glyukan olishda va uning saraton kasalini oldini olish xususiyatini aniqlashda o‘z hissasini qo‘shdi.



***Z.Axmedova***

Zaxro Axmedova 2018-yilda “Mehnat shuhrati” ordeni bilan mukofotlangan.

**Botir Achilovich Hasanov**. 1946-yilda Qoraqalpog‘iston Respubikasi To‘rtko‘l shahrida tug‘ilgan. Millati o‘zbek. 1968-yilda Toshkent davlat Universitetining biologiya – tuproqshunoslik fakultetini tamomlagan. Biologiya fanlari doktori (1993), professor (2005). Botir Hasanovning ilmiy tadqiqot ishlari zang zamburug‘larining giperparazitlari, O‘rta Osiyo va Qozog‘istonda boshoqli o‘simliklarning asosiy parazitlarini tadqiq etishga qaratilgan bo‘lib, olim tomonidan parazit zamburug‘larga qarshi ishlab chiqilgan tavsiya va ishlanmalar mamlakatimiz qishloq xo‘jaligi amaliyotiga keng joriy etilgan.

Biotexnologik ishlab chiqarish nazariyalarini yaratish, uni amaliyotga tadbiq etish bo‘yicha O‘zR FA Mikrobiologiya instituti, O‘zR FA O‘simlik moddalari kimyosi instituti, M.Ulug‘bek nomidagi O‘zbekiston Milliy Universiteti, Sharof Rashidov nomidagi Samarqand davlat universiteti, Toshkent kimyo-texnologiya instituti, Buxoro davlat universiteti, Guliston davlat univesiteti olimlari ham faol ilmiy izlanishlar olib bormoqdalar. Jumladan, bugungi kunda **b.f.d., professor Shohista Toshmuxamedova** virusli antigenlarni aniqlash uchun immunoferment-tahlillar va gidrolitik fermentlarni tozalash usullarini takomillashtirish hamda ularni tibbiyotda qo‘llash; **b.f.d., professor Lyudmila Zaynitdinova** o‘simlik xomashyolarini biokonversiyalash va bioyoqilg‘i ishlab chiqarish, oqova suvlarni

tozalash, pestitsidlarning biodegradatsiyasi, mikroorganizmlar tomonidan nanozarralar biosintezi, sulfidli rudalarni biologik yuvish; **b.f.d., professor Nortoji Xo‘jamshukurov** entomapatogen va insektisid mikrob preparatlari yaratish va qishloq xo‘jalik ekinlarini biologik himoya qilish, mikrob preparatlaridan foydalanishning qishloq xo‘jalik ekinlari mahsuldorligiga ta’siri va ekologik asoslari; **b.f.d., professor Shaxlo Miralimova** probiotik mikroorganizmlar, probiotik mikroorganizmlarning antimikrobial peptidlari, inson mikroflorasi, uning patologik holatlar bilan aloqasi hamda probiotik preparatlarni orqali patologik holatlarni bartaraf etish; **b.f.d., professor Sayyora Murodova** mahalliy bakteriyalar shtammlari asosida o‘simliklarning stress sharoitlarga chidamliligini oshiruvchi yangi, raqobatbardosh mikrob preparatlarini yaratish va ularning amaliy ahamiyatini baholash; **b.f.d., professor Zabardast Buriyev** patogenlarga chidamlilikni belgilovchi klaster genlar oilasini klonlash, tavsiflash va molekulyar evolyutsiyasini o‘rganish hamda bu genlarning biotexnologiyadagi ahamiyati; **b.f.d., professor Zoir Shokirov** o‘simliklarning stress sharoitlarga moslashuvini kuchaytirish uchun mikroorganizmlarning simbiotik xilma-xilligidan foydalanish bo‘yicha keng qamrovli tadqiqotlar olib borishmoqda.

# II bob. BIOTEXNOLOGIK OBYEKTLAR TAVSIFI, ULARGA QUYILGAN TALABLAR VA TANLASH USULLARI

## 3§. MIKROORGANIZMLAR ASOSIDA BIOTEXNOLOGIK PRODUSENTLARNI YARATISH USULLARI

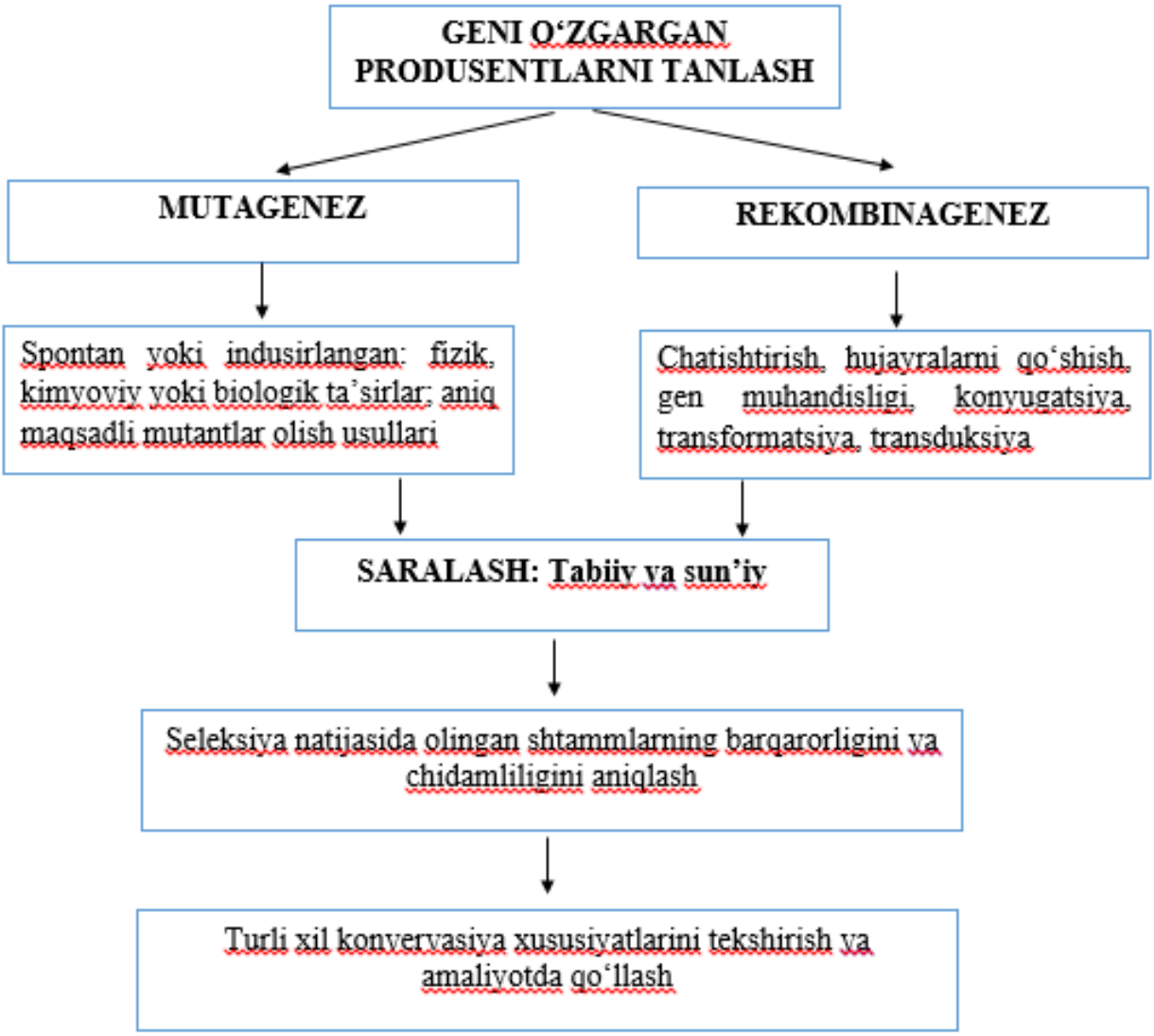
Mikrob biotexnologiyasining rivojlanish tarixi ko‘p ma’noda XX asrning ikkinchi yarmi bilan bog‘liq. O‘tgan asrning 40-yillarida mikroorganizmlardan penitsillin olish texnologiyasining yaratilishi bu fan rivojiga ijobiy burilish yasadi. Penitsillin ishlab chiqarilishining yo‘lga qo‘yilishi va muvaffaqiyat bilan ishlatilishida keyingi avlod antibiotiklarini qidirib topish, ularni ishlab chiqarish texnologiyalarini yaratish va qo‘llash usullari ustida tadqiqotlarni tashkil etishni taqozo qildi. Bugungi kunda yuzdan ortiq antibiotiklarni ishlab chiqarish texnologiyalari amaliyotga tadbiq qilingan. Antibiotiklar ishlab chiqarish bilan bir qatorda aminokislotalar, fermentlar, gormonlar va boshqa fiziologik faol birikmalar tayyorlash texnologiyalari ham yaratila boshlandi. Bugungi kunda tibbiyot va qishloq xo‘jaligi uchun zarur bo‘lgan aminokislotalar (ayniqsa, organizmda sintez bo‘lmaydigan aminokislotalar), fermentlar va boshqa fiziologik faol moddalar ishlab chiqarish texnologiyalari keng miqyosda yo‘lga qo‘yilgan. Oxirgi 20-30 yilda mikrob oqsilini olish texnologiyasi rivojlanib ketdi. Insoniyat uchun o‘ta zarur bo‘lgan bu mahsulotni ishlab chiqarish bilan bir qatorda undan unumli va oqilona foydalanish yo‘llari amalga oshirilmoqda. Oqsil ishlab chiqarishda har xil chiqindilaridan (zardob, go‘sht qoldiqlari) va parafindan foydalanish mumkinligi isbotlangan. Hozirgi paytda buning uchun metan va metanoldan foydalanish mumkinligi ham ko‘rsatib o‘tilgan. Keyingi vaqtda, mikrob biotexnologiyasining rivojlanishi immobillangan fermentlar va mikroorganizmlar tayyorlash texnologiyalarining yaratilishi bilan uzviy bog‘liq bo‘ldi. Immobilizatsiya qilingan fermentlarning har xil jarayonlarda ishlatilishi (fermentlar muhandisligi) bu biokatalizatorlardan foydalanishni yanada faollashtirib yubordi. Endilikda fermentlarni bir marotaba emas, bir necha marotaba uzluksiz ishlatish imkoniyati vujudga keldi.

Mikroorganizmlar faoliyati va imkoniyatidan foydalanish ularning samarador turlarini (shtammlarini) yaratish bilan bevosita bog‘liq. Bunday vazifani mikrobiologlar bilan uzviy hamkorlikda genetiklar va gen muhandisligi usullaridan xabardor bo‘lgan boshqa mutaxassislar amalga oshiradilar. Mikrob preparatlarini ishlab chiqarishni faollashtirishning yana bir yo‘li ikki yoki undan ortiq bo‘lgan, biri ikkinchisining faolligini oshirib beraoladigan mikroorganizmlar assotsiatsiyasidan foydalanishdir. Bu yo‘l hozirgi vaqtda fermentlar, antibiotiklar, vitaminlar va metan gazi olishda hamda oqova suvlarni tozalash jarayonlarida keng qo‘llanilib kelinmoqda. Biotexnologiyaning asosini ko‘p hollarda mikrob faoliyati tashkil qiladi. Shunday ekan faol mikroorganizmlar yaratish, ularni faglardan va tashqi salbiy muhit ta’siridan asrash masalalari ham eng muhim vazifalardan biridir. Shu kabi qator o‘ta muhim muammolarni yechishda nafaqat mikrobiologlar, biokimyogarlar, biotexnologlar, balki muhandislar va texnologlar ishtirok etishlari zarur bo‘ladi. Bu esa, biotexnologiya fanini yaxshi o‘zlashtirib olish uchun yuqorida eslab o‘tilgan fanlardan xabardor bo‘lmoqlikni taqoza etadi. Biotexnologiya

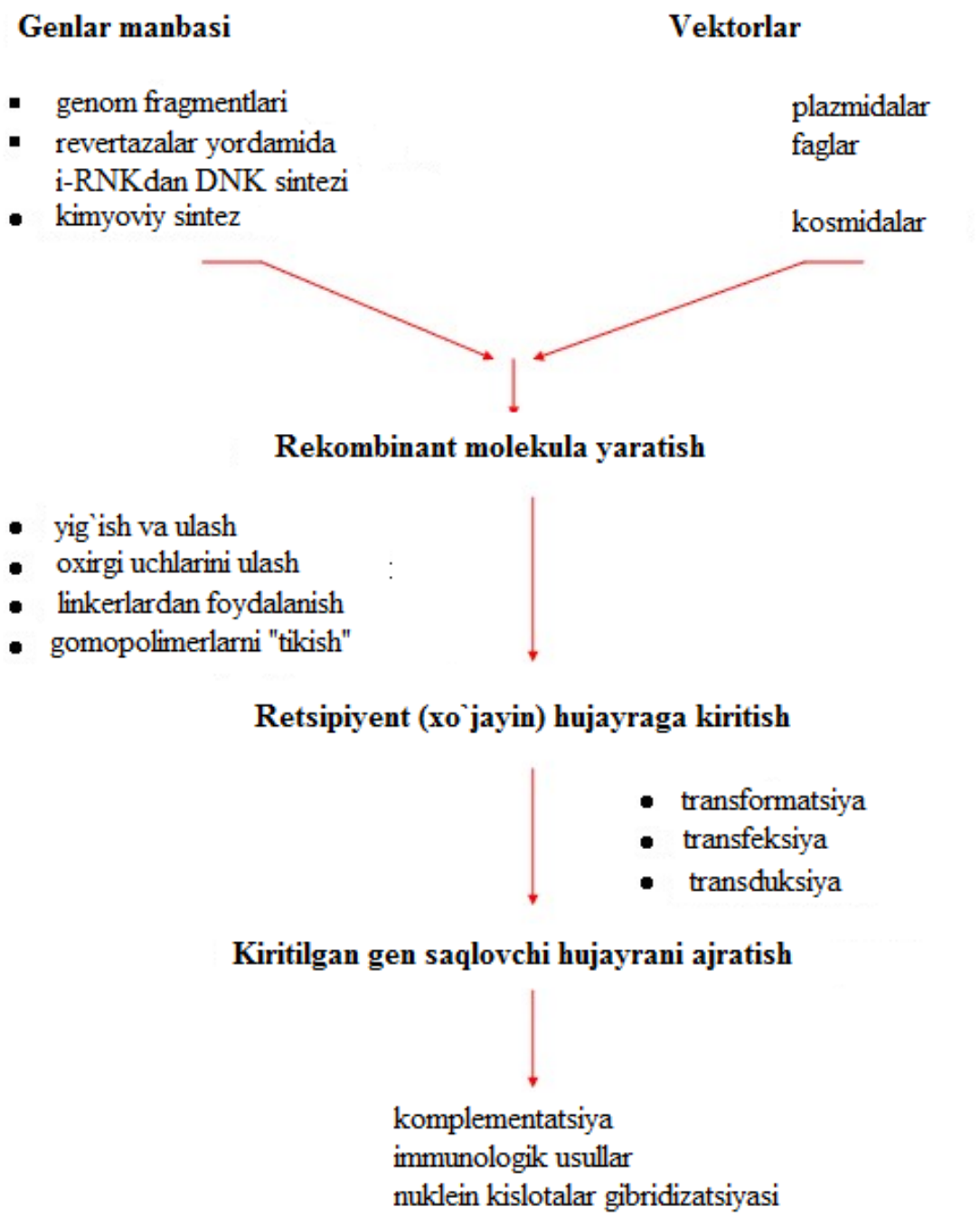
sanoatida produsent sifatida prokariotlar (bir hujayrali, yadrosi mukammal bo‘lmagan organizmlar) bakteriyalar, aktinomitsetlar, rikketsiylar va tuban eukariotlar (bir va ko‘p hujayrali, yadrosi mukammal, xromosomalari maxsus lipoproteid tabiatli membranalar bilan o‘ralgan), achitqi va mitselial zamburug‘lar, eng sodda jonivorlar va suv o‘tlari hamda ularning har xil usullar (seleksiya, mutagenez, hujayra va gen muhandisligi) orqali olingan mutantlaridan foydalaniladi.

Bugungi kunda biotexnologik jarayonlarda tabiatda tarqalgan 100 mingdan ortiq turga mansub bo‘lgan mikroorganizmlardan faqatgina bir necha yuztasi ishlatiladi, xolos. Biotexnologiya jarayonlarida ishlatish uchun tavsiya etiladigan produsentlarga bir qator talablar qo‘yiladi, ularning umumiylari quyidagilardan iborat:

- o‘sish tezligining balandligi;
- arzon oziqa muhitida o‘sishi;
- boshqa mikrofloraga va fagga chidamliligi;
- yuqori mahsuldorligi.

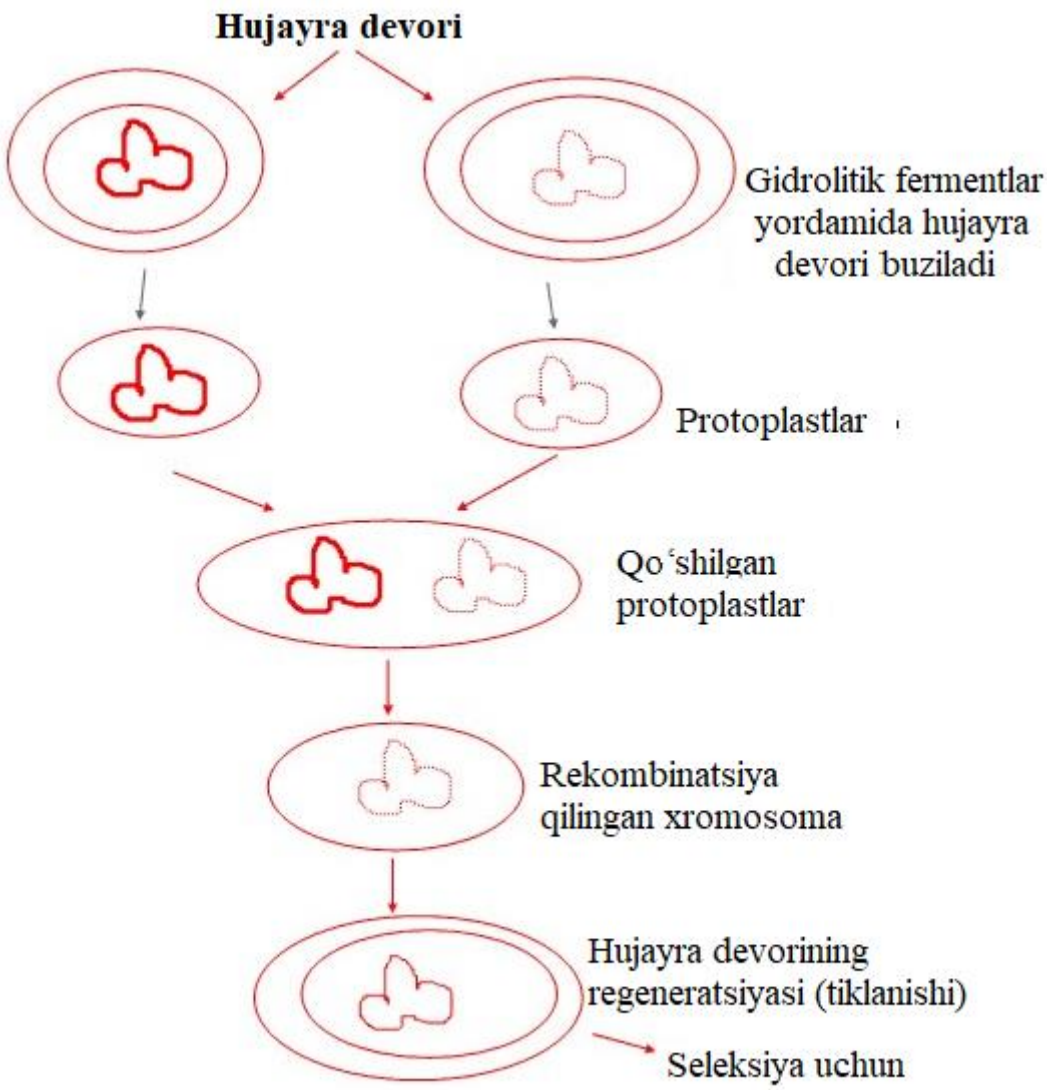



**1-rasm.** Mikroorganizmlar seleksiyasi




**2-rasm.** Genlarni klonlash strategiyasi

Mikroorganizmlarning tabiiy shtammlarini mahsuldorligi ko‘pincha talab darajasidan past bo‘ladi. Mahsuldor shtammlar yaratish uchun, yo‘naltirilgan seleksiya usulidan foydalaniladi. Buning uchun kimyoviy mutagenlar yoki radiatsion nurlardan foydalaniladi. Seleksiya va tanlov ishlari ba’zida yillab vaqt egallaydi, natijada mikrob mahsuldorligini 100 va undan ham ko‘proq marotabalab oshirish mumkin bo‘ladi. Masalan, hozirgi davrda sanoat usulida ishlatib kelinayotgan penitsillin antibiotigi sintez qiladigan produsentning faolligi dastlabki shtammlarga qaraganda 10 ming marotabadan oshib ketgan.




**3-rasm.** Protoplastlarning qo‘shilishi orqali mahsuldor mutant shtammlar olish mexanizmi

Yuqori faollik yoki mahsuldorlikka ega bo‘lgan shtamm yaratish uchun seleksioner, tabiiy shtammni genetik materiallarini o‘rganish borasida o‘ta murakkab, o‘ta nafis ishlarni amalga oshirishi lozim bo‘ladi. Bunda, genlarning rekombinatsiyasi bilan bog‘liq bo‘lgan barcha usullardan, xususan: konyugatsiya, transduksiya, transformatsiya va boshqa genetik jarayonlardan foydalanishga to‘g‘ri keladi.

Masalan, konyugatsiya usuli (bakteriyalar orasida genetik materiallar almashish), neft qoldiqlarini faol parchalovchi *Pseudomonas putida* shtammini yaratishda samarali foydalanilgan edi. Ko‘pincha transduksiya (bakteriya viruslari-bakteriofaglar yordamida bir bakteriyadan boshqa bakteriyaga genlar o‘tkazish) va amplifikatsiya (kerakli genlarni nusxa sonini ko‘paytirish) usullaridan keng foydalanish orqali har xil fiziologik faol moddalar sintez qiluvchi hosildor shtammlar yaratilgan. Ko‘pgina mikroorganizmlarda antibiotik sintez qiluvchi genlar va ularni boshqaruvchilari xromosomalarda emas, balki plazmidalarda (xromosomadan tashqaridagi DNK) joylashgan bo‘ladi. Bunday paytda amplifikatsiya orqali (hujayradagi plazmidalar sonini ko‘paytirish) shtammlarning hosildorligini oshirish

mumkin. Seleksiya ishlarini yana bir yo‘li bu har xil bakteriyalar protoplastlarini bir-biriga birlashtirish natijasida genetik rekombinantlar olish yo‘lidir (3-rasm).

*Streptomyces reptomyces* bakteriyasining ikki xil shtammlaridan olingan protoplastlarni bir-birlariga birlashtirish oqibatida S-rifamitsin sintez qiluvchi hosildor shtamm yaratilgan. Rifamitsin sintez qilmaydigan *Nocardia mediterranei* shtammlari protoplastlarini bir-birlariga qo‘shish oqibatida rifamitsinni 3 yangi hosilasini sintez qiluvchi shtamm yaratilgan. Protoplastlarning qo‘shilishi orqali tabiiy sharoitda bir-birlari bilan qo‘shilmaydigan mikroorganizmlarni genetik materiallarini birlashtirish ham mumkin.

**Mikroorganizmlarni tabiatdan ajratish usullari.** Mikroblar dunyosi keng va xilma-xildir. Ularga prokariotlar, bakteriyalar, aktinomitsetlar, rikketsiylar va qisman eukariotlar-achitqi zamburug‘lari, ipsimon zamburug‘lar, eng sodda jonivorlar va suv o‘tlari kiradi. Ularni umumlashtirib turgan xususiyatlari-kichikligi bo‘lib, ular faqat mikroskop ostida yaqqol ko‘rinadilar. Hozirgacha mikroorganizmlarning 100 mingdan ko‘proq turlari aniqlangan. Aniqlanmaganlari ham shundan ko‘proq bo‘lsa ajab emas. Shuncha ko‘p mikroorganizmlardan keraklisini qanday tanlab olish mumkin, qanday qilib vitaminlar, oqsil moddalari, antibiotiklar, dekstrin, qo‘yingki, bizga kerakli bo‘lgan moddalarni ishlab chiqarish imkoniyatiga ega bo‘lganlarini tanlab olishimiz mumkin?

Bu savollarga javob olish uchun eng avvalo mikroorganizmlarni ajratishni to‘g‘ri yo‘lga qo‘yish zarur. O‘ziga xos joylardan, ya’ni yog‘ parchalovchi ferment sintez qiladigan mikroorganizmlarni – yog‘ zavod tuproqlaridan; uglevodorod oksidlovchilarni - benzin quyish shaxobchalari tuproqlaridan, vinochilikda qo‘l keladigan achitqilarni - tok o‘simligidan, kislorodsiz sharoitda sellyuloza parchalovchi va metan hosil qiluvchilarni yirik shoxli hayvonlarni og‘iz bo‘shlig‘idan qidirmoq va ajratmoq darkor. Ajratib olingan tajriba nusxalari maxsus tarkibga ega bo‘lgan suyuq oziqa muhitiga o‘tkaziladi. Bu oziqa muhiti elektiv oziqa muhiti deb ataladi. Bu muhit tarkibi va sharoitini tanlab, o‘zgartirish natijasida maxsus biotexnologik sharoit uchun zarur bo‘lgan mikroorganizmlar ajratib olinadi. Tanlov omillariga eng avvalo, energiya manbayi, uglerod, azot manbalari, rN, harorat, bosim va boshqalar kiradi. Masalan, amilaza fermenti ishlab chiqarish muammosini yechish uchun yagona uglerod manbayi qilib kraxmal; proteaza fermenti uchun oqsil moddalar; sellyulaza fermenti uchun sellyuloza saqlovchi moddalardan foydalaniladi. Shu tarzda mikroorganizm to‘plamlari olinadi.

Keyingi bosqich toza kulturani (shtamm yoki mikroorganizm deb atash mumkin) ajratish. Buning uchun quyuq oziqa muhiti ishlatilib, uni yuzasiga, oldingi bosqichdan olingan mikroorganizmlar to‘plami ekiladi. Petri likobchasiga ekilgan mikroorganizmlar alohida-alohida to‘plamlar hosil qilib o‘sib chiqadilar. Alohida unib chiqqan to‘plamlar, qayta ekish natijasida toza produsent (ma’lum fiziologik faol modda (FFM) sintez qiluvchi mikroblar) kulturasi ajratib olinadi. Ko‘pchilik hollarda bu kultura bir turga mansub mikroorganizmlardan iborat bo‘ladi.

Mikroorganizmlar tanlashning ikkinchi yo‘li mikroorganizmlar to‘plamida mavjud kulturalar orasidan tanlab olish. Bu holda mikroorganizmlarni fiziologiyasi va biokimyosini o‘rganish asosida amalga oshiriladi. Masalan, antibiotiklar hosil qiluvchilarni aktinomitsetlar orasidan; gidrolitik fermentlar sintez qiluvchilarni

gramm musbat bakteriyalar orasidan; etanol hosil qiluvchilarni esa achitqi zamburug‘lar orasidan axtarmoq lozim bo‘ladi.

Ajratib olingan mikroorganizmlarda maqsadli moddalar (fermentlar, antibiotiklar, vitaminlar) sintez qilish xususiyatlari asosiy ko‘rsatkich bo‘lib xizmat qilsada, zamonaviy biotexnologiya produsentlarga bir qator qo‘shimcha talablar quyiladi. Eng avvalo, bu talablar quyidagilardan iborat:

- o‘sish tezligining yuqoriligi;
- arzon oziqa muhitida o‘sish qobiliyati;
- boshqa mikroorganizmlar bilan zararlanishdan saqlanish xususiyati;
- fagga chidamliligi.

Darhaqiqat, bu ko‘rsatkichlar maqsadli moddalarni tannarxining pastroq bo‘lishi uchun xizmat qiladi. Bir hujayralilar, ko‘p hujayrali hayvonlarga nisbatan sintez qilish jarayonining balandligi bilan farq qiladi. Masalan, yuqorida ta’kidlanganidek, og‘irligi 500 kg keladigan buqa bir sutkada atigi 0,5 kg oqsil sintez qiladi. Shuncha miqdordagi oqsilni bir sutkada 5 g achitqi zamburug‘i sintez qilishi mumkin. Bunday tezlikda ko‘payish imkoniyati barcha mikroorganizmlarga ham xos emas. Masalan, oligotrof mikroorganizmlar juda ham sekin ko‘payadi. Bu guruhga kiruvchi mikroorganizmlar kam tekshirilgan bo‘lsada, ularni har xil fiziologik faol moddalar hosil qilish xususiyati juda katta qiziqish uyg‘otmoqda. Shuning uchun ham mikroorganizmlarning o‘sishi, ko‘payishi va rivojlanishiga ta’sir etuvchi omillarni o‘rganish ham nazariy, ham amaliy ahamiyat kasb etadi.

Biotexnologiya nuqtai nazaridan fotosintez qiluvchi mikroorganizmlar alohida e’tiborga loyiq. Ular o‘zlarining hayot sharoitlarida quyosh energiyasini yutib, hujayra uchun zarur bo‘lgan bir qator moddalar sintez qiladilar va bu jarayonda karbonat angidridni qaytarish va suvni oksidlash (sianobakteriyalar va ba’zi bir eukariotlar), havodagi azotni yutish (prokariotlar) imkoniyatlariga egalar. Boshqacha qilib aytganda, eng arzon energiya va uglerod manbayi, qaytarish ekvivalentlari va azot hisobidan hayot kechirishlari mumkin. Bu borada, fotosintetik mikroorganizmlarning asosiy farqi va ustunligi ham shundan iborat.

Fototrof mikroorganizmlar - ammiak, vodorod, oqsil moddalar va boshqa biopreparatlar olish uchun istiqbolli manbalardan hisoblanadi. Bu guruhga kiruvchi mikroorganizmlar yaqin kelajakda gen muhandisligi yo‘li bilan quyosh energiyasi asosida qurilajak yangi biotexnologiyalar yaratishda katta ahamiyat kasb etishi turgan gap. Faqatgina fototrof mikroorganizmlarni genetikasi va molekulyar biologiyasini chuqur bilmaslik bu yo‘nalishning juda sekin rivojlanishiga sabab bo‘lib turibdi.

Biotexnologiya uchun qulay manba, bu termofil mikroorganizmlar asosida yaratilgan jarayonlardir. Termofillar yuqori darajada o‘sadilar (60-80$^{o}$C), ba’zilari esa undan ham balandroq haroratda (110$^{o}$C), qaynoq suv chiqadigan manbalarda, ayniqsa katta okean taglaridan otilib chiqadigan suvlarda (3000$^{o}$C) gacha yashay oladigan mikroorganizmlar topilgan. Bunday baland haroratda boshqa mikroorganizmlar o‘sa olmasligi aniq. Termofil mikroorganizmlar asosida spirtlar, aminokislotalar, fermentlar, molekulyar vodorod sintez qiladiganlari ilmiy adabiyotlarda keltirilgan. Termofillardan foydalanish sterilizatsiyaga ketadigan xarajatlarning pasayishiga sabab bo‘ladi. Bundan tashqari ularda (termofillarda) o‘sish tezligi va metabolitik faollik mezofillarga nisbatan 1,5-2,0 barobar baland turadi. Termofillar hosil qiladigan fermentlar o‘zlarining mu’tadilligi bilan ajralib turadi. Masalan, *Thermus*

*caldophilus* yoki *Thermus aguaticus* hosil qiladigan proteaza fermenti haroratga, organik erituvchilar, oksidlovchilar, detergentlar ta'siriga o‘ta chidamliligi bilan ajralib turadi. Shuning bilan bir vaqtda ular oddiy haroratda past faollikka ega. Masalan, *Thermus caldophilus* dan ajratilgan proteazaning faolligi 20$^{o}$C da 75$^{o}$C ga nisbatan 100 marotaba pastroq. Fermentning bu xususiyati juda katta ahamiyatga ega, masalan, oziq-ovqat sanoatida. Termofilllarni yana bir afzal tomoni bioreaktorlarni sovutish bilan bog‘liq. Termofillarni o‘stirish uchun ishlatiladigan reaktorlarfermentyorlar, atrof muhit haroratidan bir muncha baland haroratda ishlashini hamda yuqori haroratda issiqlikni tez o‘tkazilishini hisobga olgan holda, bioreaktorlarni soddalashtirilgan chizmalaridan foydalanish mumkin. Xususan, issiq harorat beruvchi uskuna, aeratsiya, aralashtirgich, ko‘pik bosuvchi uskunalari ancha soddalashgan bo‘lishi mumkin, bu esa ancha mablag‘ iqtisod qilinishiga olib keladi.

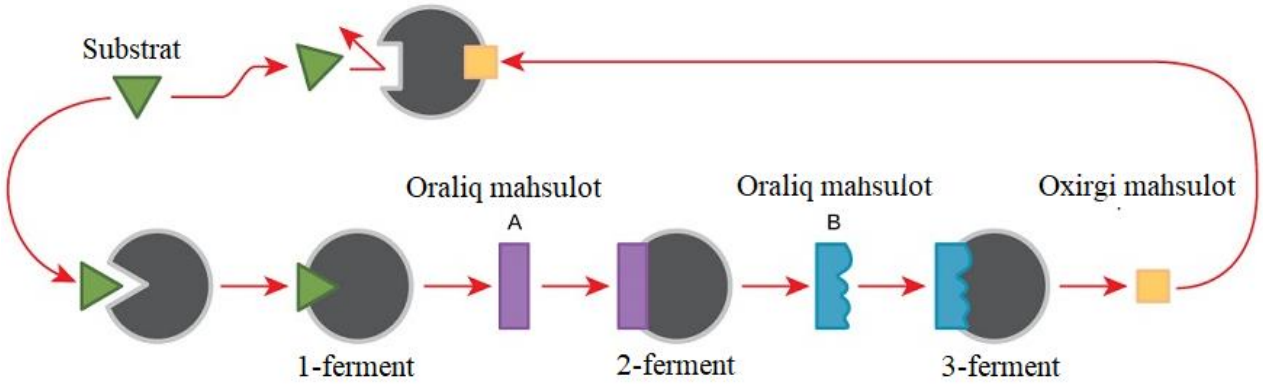
Biotexnologik jarayonlar uchun zarur manbalarni ajratish, tanlash juda muhim bosqich bo‘lsada, oddiy tanlash bilan kerakli, barcha xususiyatlari (faolligi, o‘sish tezligi, texnologiyaga mosligi, mu'tadilligi) to‘g‘ri keladigan mikroorganizmlarni topish o‘ta mushkul masala. Shuning uchun ham tanlab olingan mikroorganizmlarning ba'zi bir xususiyatlarini, uning tabiatini kerakli yo‘nalishda o‘zgartirish lozim bo‘ladi. Buning uchun esa seleksiya usullaridan foydalaniladi. Xuddi shu yo‘llarni qo‘llash natijasida mikroorganizmlarning faolligi o‘n, yuz va undan ham ortiqroq marotaba ko‘payishi mumkin.

**Mikroorganizmlar seleksiyasi usullari.** Mutantlar DNK ni tashkil etuvchi nukleotidlar ketmaketligining o‘zgarganligi sababli, nasldan-naslga o‘tuvchi irsiy xususiyati o‘zgargan hujayralardir. Seleksiyaning bosh yo‘li - produsentlarni tavakkal qilib tanlashdan genom tuzilishini aqliy o‘zgartirishgacha bo‘lgan yo‘ldir. Shunga qaramasdan, tasodif tanlash usuli mikrob biotexnologiyasi uchun juda katta rol o‘ynaydi. Shu yo‘l bilan uzoq vaqtlar mobaynida pivo, vino, oziq-ovqat (non) achitqilari, sirka, propion kislotalari hosil qiluvchi bakteriyalar tanlab olingan. Bu yerda, bosqichma-bosqich tanlov haqida gap ketadi, ya'ni har bir bosqichda tanlab borish. O‘zidan oldingi bosqichdagisidan faolroq bo‘lgan shtammlarni tanlab olish yo‘li bilan biotexnologiya talablariga javob bera oladigan shtammlarni tanlash mumkin bo‘ladi. Bu usulni kamchiligi, biotexnologik jarayonlarning birdaniga ko‘tarilmasligidir. Bunday mutantlar DNKsida o‘zgarishlar juda ham kam uchraydi. Umuman olganda, irsiyat o‘zgarishi uchun (mutatsiya bo‘lishi uchun) gen o‘rta hisobda $10^{6}$-$10^{8}$ marotaba ikkilanishi lozim. Shunga qaramasdan, bu usulning imkoniyatlari hozircha tugagani yo‘q. Mikrob hujayralari soni ko‘p bo‘lgan (1 ml suyuqlikda kamida $10^{9}$ hujayra bo‘lgan) sharoitda va katta hajmda, uzoq vaqt to‘xtovsiz o‘stirish natijasida yangi mutantlar ko‘proq hosil bo‘lishi kuzatilgan. Bunga misol qilib, *Saccharomyces uvarum* achitqisining mahsuldorroq va spirtga chidamli mutantini ko‘rsatish mumkin. Bu achitqini uzoq vaqt o‘stirish natijasida (650 soat), hatto, 10% li spirt eritmasiga chidamli bo‘lgan mutanti hosil bo‘lgan.

Indutsirlangan (mutatsiyani birdaniga, sakrab hosil qiluvchi omil) mutagenez - seleksiyani tez va soz o‘tkazishga olib keladigan omillardan biridir. Bunday xususiyatlarga ultrabinafsha, rentgen nurlari, ba'zi-bir kimyoviy moddalar (etilmetansulfonat, N-metil-N-nitro-Nnitrozoguanidin va boshqa nitrozaminlar) akridin bo‘yoqlar, bromuratsil va boshqalar kiradi. Bu omillar ta'sir qilganda

DNKning birlamchi tuzilishi buziladi. Bu usul bilan seleksiya qilganda ham bosqichma-bosqich, mikroorganizm klonlari (hujayra yoki mikroorganizmlar to‘plami) barcha kerakli xususiyatlari bo‘yicha biokimyoviy tekshiruvdan o‘tkaziladi va eng faollari ajratib olinib, mutagenlar bilan qayta ta’sir etiladi. Bu jarayon toki, ko‘zda tutilgan natijaga erishilgo‘ngacha olib boriladi. Bu usulning eng katta kamchiligi – ko‘p mehnat talab qilinishi hamda mutatsiyaning nima hisobidan bo‘lganligini bilmaslikdir. Masalan, og‘ir metallarga chidamli mutantlar to‘g‘risida fikr yuritilganda, bakteriyalar tomonidan kationlarni yutish tizimining pasayganligi, hujayra tomonidan yutilgan metallarni chiqarib tashlash jarayonining tezlashganligi, bakteriyalarning og‘ir metallar ta’siri ostida susayishi sistemasini qayta qurilishi sabab bo‘lgan bo‘lishi mumkinligi bayon qilinadi.

Molekulyar genetika fani yutuqlari seleksiyani yangi, o‘ta ta’sirchan yo‘lining yaratilishiga olib keldi, u ham bo‘lsa mutantlarni, ko‘zda tutilgan mahsulotga kimyoviy o‘xshash bo‘lgan moddalarga nisbatan mu’tadilligidir. Bu usul kerakli mahsulot sintezida qatnashadigan fermentlar tizimini boshqarishga asoslangan. Ma’lumki, kerakli mahsulot miqdorining oshishi, shu mahsulotni sintez qiluvchi fermentlar faolligining pasayishiga yoki shu ferment sintezining to‘xtashiga olib keladi (4-rasm).




**4-rasm.** Oxirgi mahsulot bilan boshqariladigan biosintez yo‘li

Masalan, glyukoza va $NH_4^+$ ishtirokida bakteriyalar hujayralarida barcha hayotiy zarur azot saqlovchi moddalar sintezi bo‘ladi. Agar oziqa muhitiga u yoki bu aminokislota solinsa, sintez tez to‘xtaydi. Xuddi shunday ta’sirni, tuzilishi oxirgi mahsulotga o‘xshash bo‘lgan - muqobillar ham ko‘rsata oladi.

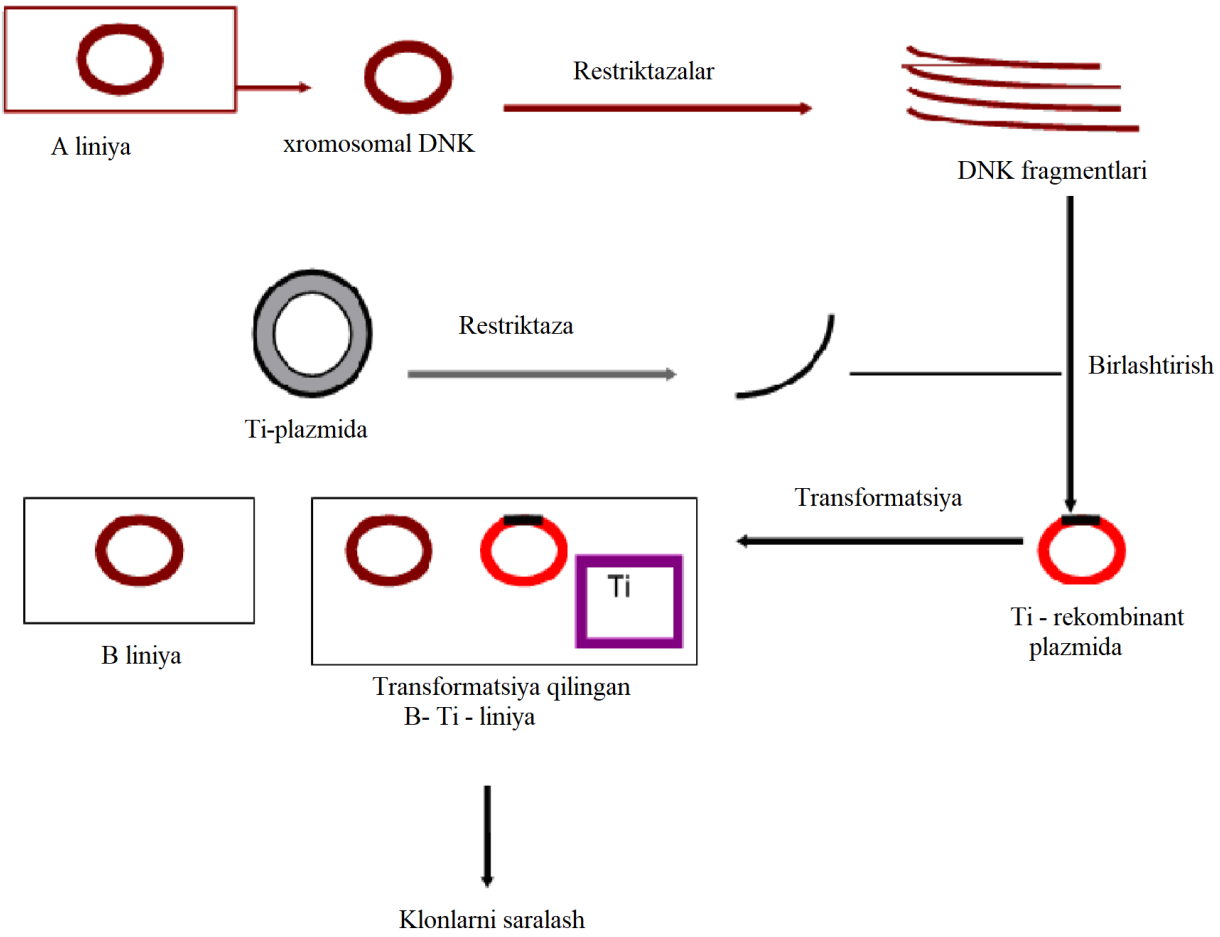
Masalan, aminokislotalarning muqobillari oqsil sintezi jarayonida oqsil strukturasiga kira olmaydi, oqibatda bunday sharoitga tushib qolgan hujayrada «ochlik» boshlanadi va hujayra o‘sishdan to‘xtaydi. Shunday og‘ir sharoitda bir yoki ikkita (umuman uncha ko‘p bo‘lmagan) hujayralar yashab qolish imkoniyatiga ega bo‘ladi. U ham bo‘lsa, fermentativ faolligini boshqarish tizimi buzilgan mutantlar. Bu holdagi mutatsiyalar o‘ta baland produsentlar yaratilishiga olib keladi.

Intermediatdan keyingi bosqichi berkitilgan mutantlarda oxirgi mahsulot emas, balki oraliq mahsulotni to‘planishiga erishiladi. Bunday mutantlar auksotrof mutant bo‘lib, oziqa muhitiga faqatgina berkitilgan reaksiyaning mahsuloti qo‘shilgandagina o‘sish qobiliyatiga ega bo‘ladi. Shuning bilan birga supressorli (o‘rnini bosadigan) mutantlar ham mavjud bo‘lib, ularda yetishmay turgan mahsulot sintezini alternativ yo‘l bilan to‘plash imkoni bo‘ladi. Bu holda dastlabki holatga (yovvoyi holatga)

qaytgan organizm D moddasiga muhtojlik sezmaydi va bir vaqtning o‘zida S moddasini o‘ta yuqori hosildor mutanti hisoblanadi.

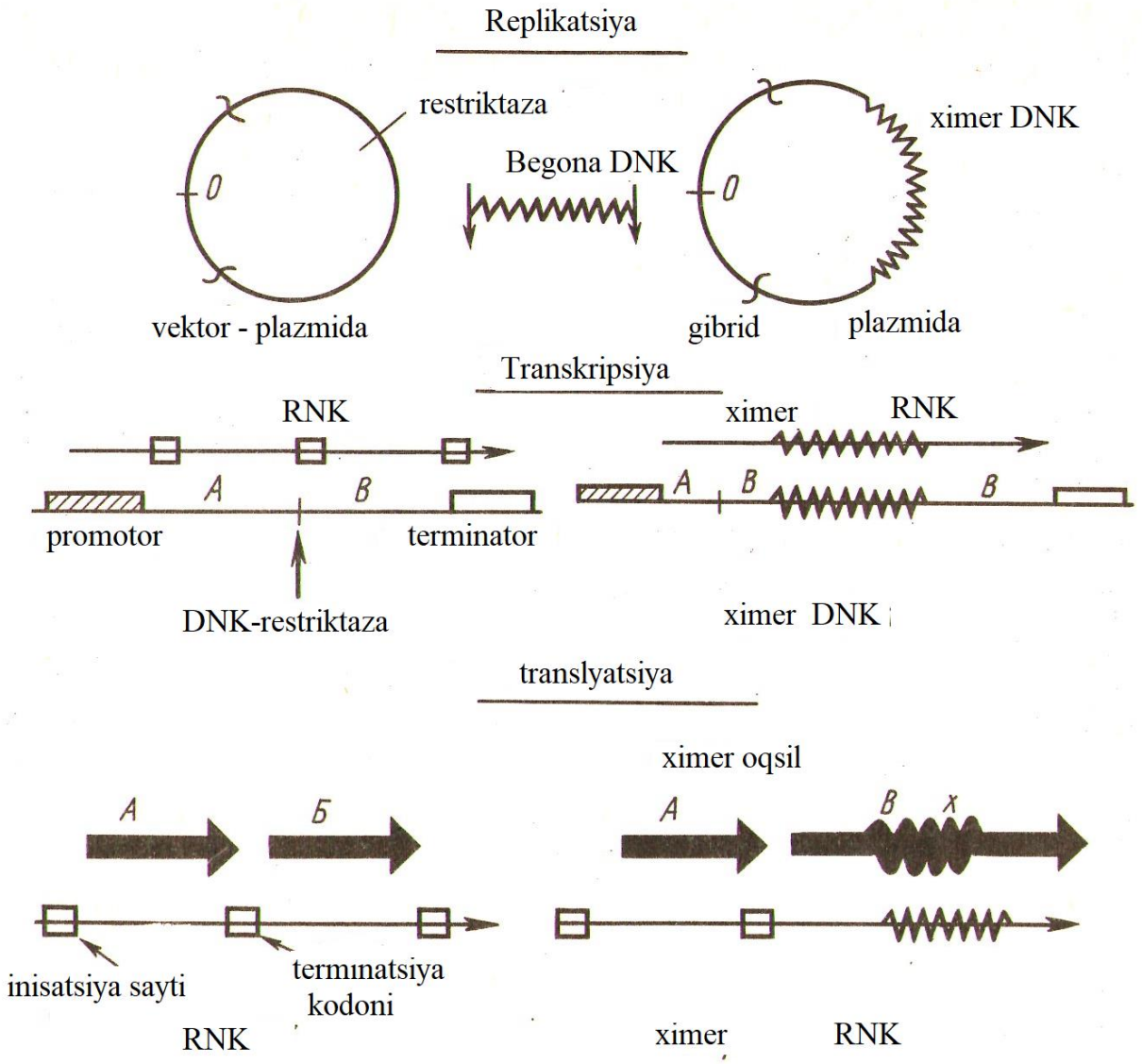
Shunday qilib, seleksiyaning bu yo‘li mikroorganizmlarni prototrofdan auksotrof (ma’lum moddalarga) holatiga o‘tib borishiga asoslangan. Ba’zi vaqtlarda teskari ya’ni auksotrofdan prototrofga o‘tkazish masalasini yechishga to‘g‘ri keladi. Masalan, mu’tadil sharoitda o‘simlik hujayralari fitogormonlarsiz (auksinlar, sitokininlar) o‘smaydilar. Oxirgi yillarda o‘simlik hujayralarini shunday klonlari topildiki, ular triptofanni indolatsetamidga, keyin esa auksin tipidagi tabiiy gormon - indolilsirka kislotasiga aylantirib beradi. Ajratilgan klonlarning ba’zilari sitokininga o‘xshagan, zlatinribozin gormoni sintez qilish mumkinligi ham isbotlangan. O‘simlik to‘qimalarining bu turda mutantlanishi, o‘simlikda rak shishlarini hosil qiladilar, chunki ular nazoratsiz o‘sadilar. Bunday klonlar asosida ko‘plab muhim ahamiyatli birikmalar sintez qilish mumkin.

**Gen muhandisligi usullari yordamida biotexnologik produsentlarni yaratish**. O‘tgan asrning 70–yillarida biotexnologiyada yangi tajriba texnologiyasi – genetik (gen) muhandislik yaratildi. Bu usulning asosida hujayradan tashqarida rekombinant DNK yaratish yotadi.




**5-rasm.** Plazmida DNK si va bakteriya hujayrasidan foydalanib genni klonlash chizmasi

Bu texnologiyadan foydalanish oqibatida genlarni sof holda ajratish, ularni modifikatsiya qilish, birini ikkinchisiga ulash, “genlar majmuasi” yaratish, oqibatida butunlay yangi xususiyatga ega bo‘lgan oqsil sintez qilish imkoniyati yaratildi va uni oqsillar muhandisligi deb ataldi (5-rasm).




**6-rasm**. Prokariot hujayralarga begona genetik axborot kiritish

Bu usul hujayra fermentlarini barcha jarayonlar boshlanishini yoki oxirini tanishiga asoslanganida. Matritsadan nusxa olish yoki matritsada ishlaydigan fermentlar uchun jarayonni boshi va oxiri oralig‘idagi nukleotidlarlarni birin-ketinligi qanday bo‘lishi ahamiyat kasb etmaydi. Har xil organizmlarni DNKsi bir tipda bo‘lganligi sababli, bu texnikani organizmni turi yoki avlodi kabi ko‘rsatkichlarga bog‘liqlik tomoni yo‘q. Boshqacha qilib aytganda, bugungi kunda har qanday organizm genini boshqa organizmga o‘tkazish mumkin. Bu jarayonni yaxshi tashkil qilish uchun eng avvalo yaxshi ishlangan xo‘jayin-vektor tizimiga ega bo‘lish kerak. Vektor deganda, ma’lum mikroorganizmda mustaqil replikatsiyaga uchray oladigan DNKni kichik molekulasi tushuniladi. Bu bakteriofag yoki plazmida bo‘lishi

mumkin. Vektor begona DNK molekulasiga kirish va ekspressiya bo‘lish bilan bog‘liq bo‘lgan xossalarga ega bo‘lishi talab etiladi.

Vektor gen bilan ligaza fermenti yordamida birikkandan keyin rekombinant DNK hosil bo‘ladi. Keyin, bu birikma (vektor gen) mikroorganizm hujayrasiga yuboriladi (transformatsiya) va u yerda amplifikatsiya (ko‘payish) amalga oshadi. Natijada bir genning bir necha nusxasi – klon paydo bo‘ladi. Shuning uchun ham bu yo‘lni klonlash deb ataladi. Agar klonlash maqsadida hamma genlar saqlovchi odam DNK si ishlatilsa, odamning gen kutubxonasi (klonoteka) hosil bo‘ladi. Bu usulda bakteriyalarga klonlashtirilgan inson, hayvon yoki o‘simliklar genlari to‘g‘ridan-to‘g‘ri bakteriyada faoliyat ko‘rsata olmaydi. Bunday genlarning ishlab ketishi uchun esa, ularni bakteriyadan ajratish, bakteriya genini boshqaruvchisi (regulyatori) bilan jihozlash va qaytadan bakteriyaga kiritish zarur. Bugungi kunda har xil genlar saqlovchi va kerakli mahsulot sintez qiluvchi bir qator transgen bakteriyalar yaratilgan va muvaffaqiyat bilan ishlatilib kelinmoqda. Shu sababli ham tabiiy shtammlar yordamida olinadigan mahsulotlar (birinchi avlod mahsulotlari) bilan bir qatorda transgen shtammlar yordamida rekombinant oqsillar (ikkinchi avlod mahsulotlari)ni sanoat miqyosida ishlab chiqarish yo‘lga qo‘yilgan. Biologik mahsulotlarni uchinchi avlodi–tabiiy oqsillarning vazifalarini to‘liq bajara oladigan, ammo tabiiy bo‘lmagan mahsulotlarni sintez qilish natijasida paydo bo‘ladi.

Gen muhandisligi usullari (rekombinant DNK texnologiyasi) tibbiyot uchun zarur bo‘lgan qimmatbaho oqsil moddalari ishlab chiqarish yoki ko‘p tonnalik oqsil moddalari ishlab chiqarish jarayonlarida keng qo‘llanib kelinmoqda. Eng avvalo, inson organizmida sintez bo‘ladigan va dorivor modda sifatida ishlatiladigan oqsil hamda peptidlarni sintez qilishni yo‘lga qo‘yish katta ahamiyat kasb etadi.

Gen muhandisligi muammolari bilan shug‘ullanadigan olimlarning asosiy vazifalaridan biri ham shunday birikmalarni yetarlicha sintez qila oladigan bakteriyalar shtammlarini yaratishga bag‘ishlangan. Bu jarayonning asosiy qiyinchiliklari, shtamm yaratish bilan bog‘liq emas, balki, yaratilgan shtammda sintez qilingan oqsil moddalarini kerakli me’yorda ushlab turish, ularni modifikatsiyaga uchrab, mikroorganizm hujayrasida parchalanib ketmasligi uchun sharoit yaratish bilan ham uzviy bog‘liqdir. 6-rasmda hujayraning ferment tizimini jarayonni boshlanish va tugash signalini bilishi hamda bu jarayonlar orasidagi nukleotidlarni ketma-ketligiga befarq ekanligi ko‘rsatilgan.

## 4§. BIOTEXNOLOGIK JARAYONLARNING XOMASHYOSI VA ULARDAN OLINADIGAN MAHSULOTLAR

Har qanday ishlab chiqarish jarayoni xomashyo tanlash bilan boshlanadi. Butun dunyo bo‘yicha biotexnologik mahsulotlar ishlab chiqarish hajmi taxminan har yili bir million tonna miqdorida oshib bormoqda. Mikrobiologiya sanoatida qo‘llaniladigan xomashyoning 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 esa boshqa 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 xomashyo ko‘p tonnalik bo‘lib, mahsulotning umumiy bahosining 40-65% ini tashkil etadi va sarf- xarajatda birinchi o‘rinni egallaydi. Oziqa substrati yoki oziqa muhiti yuqorida ta’kidlanganidek suyuq, qattiq va gazsimon komponentlardan tashkil topgan uch shakldagi murakkab tizimdir.

Biotexnologik jarayonlarda foydalaniladigan xomashyo va undan olinadigan mahsulotlar turli tumandir (1-2 jadvallar).

1-jadval

**Foydali mahsulotlar olishda qo‘llaniladigan biologik agentlar va asosiy xomashyo guruhlari**

| Xomashyolar | Biologik agentlar | Mahsulotlar |
|---|---|---|
| Melassa, shakarqamish sharbati, o‘simlik polimerlari, gidrolizatlari, shakar, spirt, organik kislotalar va turli xil toza mahsulotlar, neft mahsulotlari (parafin) | Mikroorganizmlar hujayrasi (bakteriya, aktinomitset, zamburug‘, sodda hayvonlar), hayvon va o‘simliklarning (hujayra va gen muhandisligi yo‘li bilan olingan) hujayrasi | Bakterial o‘g‘itlar va o‘simliklarni himoya qilish mahsulotlari, yashovchanlik beruvchi biomassa, vaksina va diagnostikumlar |
| Yarim tayyor mahsulotlar, sodda organizmlar biotransformatsiyasi. Tabiiy gaz, vodorod, qishloq va o‘rmon xo‘jaligi chiqindilari | Viruslar, bakteriofaglar, hujayra komponentlari: membrana, xloroplast, fermentlari, protoplast, mitoxondriya, hujayra ichki va boshqalar | $CH_4$- yoqilg‘i (biogaz) Toza mahsulotlar, medikamentlar, dori va reagentlar, gormonlar va boshqa biotransformatsiya mahsulotlari; organik kislota va polisaxaridlar |
| Ishlab chiqarish, chorvachilik chiqindilari va meva sabzavotlarni qayta ishlash chiqindilari. Maishiy xizmat chiqindilari, oqava suvlar, zardoblar (sut mahsulotlariniki). Kartoshka, g‘alla va boshqa kraxmal saqlovchi mahsulotlar. O‘simlik chiqindilari, yashil barglar, rudalar, neft | Hujayra ichki mahsulotlari: fermentlar, kofermentlar. Immobillangan mikroorganizm hujayralari, hayvon, o‘simliklar va ularning ichki hujayra mahsulotlari | Yem-xashak preparatlari (oqsillar); Oziq-ovqat mahsulotlari, ekstraktlar, gidrolizatlar, spirt, organik erituvchilar, antibiotik, ferment, aminokislotalar, vitaminlar, metallar, metalmaslar, mono-klonal antitelolar |

2-jadval

**Jahon miqyosida biotexnologik mahsulotlarning sotilish hajmi va uning kelajakda o‘sishi**

| Mahsulotning qo‘llanilish sohalari | Mahsulot | AQSh dollarida sotilish hajmi, mln | Kelajakda sotilishning o‘sishi, % |
|---|---|---|---|
| Energetika | Etanol | 6124 | 8 |
| Oziq ovqat ishlab chiqarish | Fruktozali sharbatlar | 3000 | 10 |
| | Vitaminlar | 1500 | 8 |
| | L-glutamin kislota | 1100 | 0 |
| | Xushbo‘y qo‘shilmalar | | |
| | Mikrobiologik toza fermentlar | 300 | 0 |
| | Polisaxaridlar | 200 | 3 |
| | Organik kislotalar | 40 | 8 |
| | Texnik fermentlar | 1090 | 4 |
| | | 600 | 9 |
| Farmakologiya | Antibiotiklar | 19260 | 7 |
| | Polisintetik steroidlar | 4000 | 20 |
| | Monoklonalli antitellolar vaksina | 700 mln.doll. | 7 |
| | | 1900 | |
| Qishloq xo‘jaligi | O‘sishni tezlatuvchi antibiotiklar | 535 | 7 |
| | Aminokislotalar | 490 | 10 |
| | Vitaminlar | 170 | 8 |
| | O‘simliklarni biologik himoyalash mahsulotlari | 45 | 3 |
| | Bioprotein | 45 | 10 |

Sanoatda ishlab chiqariladigan ko‘pgina fermentlar hujayraning sirtida joylashgan yoki uning oziqa muhitida to‘plangan bo‘ladi. Bundan tashqari, biosintez mahsulotlarining ko‘pchiligi hujayra parchalanganda oziqa muhitida to‘planadi. Ba’zi bir oraliq metabolitlar zahira oziqa vazifasini o‘taydi, qachonki asosiy oziqa manbayi tugaganda hujayra undan foydalanadi. O‘stiriladigan biomanba va oziqa muhiti fizik-kimyoviy xususiyatlari orasida uzviy bog‘liqlik mavjudki, bunda bir tarafdan fizik-kimyoviy faktorlar (pH, N, $O_2$, osmotik bosim) produsentlarning 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 muhitida kechayotgan jarayonlar davomiyligi qay holatda ketayotganligi kuzatib borishni taqozo etadi.

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

organik mahsulotlar, birlamchi va ikkilamchi fotosintez mahsulotlar zahirasi xomashyo vazifasini o‘tashi mumkin. Biroq, biotexnologiyada har bir aniq mikroorganizm turlari, oziqa mahsulotlari va organik xomashyolarni (laktozalar, saxarozalar va kraxmaldan tashqari) dastlabki kimyoviy ishlovlarsiz o‘zlashtira olmaydilar. Ko‘pgina holatlarda sellyuloza saqlovchi xomashyolar kimyoviy yoki fermentativ gidroliz qilinadi va ingibirlaydigan aralashmalaridan (fenol, furfurol, oksimetilfurfurol) tozalangandan keyingina biotexnologik ishlab chiqarishda qo‘llanilishi mumkin.

Tabiiy gaz, tosh ko‘mir va yog‘och qipig‘i, texnik spirt va sirka kislotalari olishda xomashyo vazifasini o‘tab, o‘z navbatida mikrobiologik ishlab chiqarishda a’lo darajadagi xomashyo hisoblanadi. Ko‘pchilik biotexnologlarning asosiy e’tibori organik xomashyolardan oson assimilyatsiya qilish jarayonida ba’zi bir mikroorganizmlargina (masalan, *Aspergillus* zamburug‘i turlari, *Bac.subtillis* va boshqalar) ajrata oladigan, murakkab amilolitik fermentlar kompleksi talab etadigan, organik xomashyo - kraxmalga qaratilgan.

Kraxmalning ko‘pgina qismi etanol ishlab chiqarishda va fruktozali sharbatlar tayyorlashga sarflanadi. Yer yuzida esa kraxmal saqlovchi xomashyolar miqdori chegaralangan va shuning uchun ko‘pchilik olimlar biotexnologik maqsadlarda melassa, glyukoza saqlovchi boshqa mahsulotlar, metanol va etanoldan foydalanishni tavsiya etganlar. Xomashyo saralashda tanlangan produsentning fiziologik xususiyatlari bilan bir qatorda, uning tannarxi ham muhim hisoblanadi (3-jadval).

3-jadval

**Asosiy mikrobiologik xomashyolarning tannarxi to‘g‘risida ma’lumot**

| **Xomashyo** | **Uglerod saqlashi, % hisobida** | **1 t. glyukoza ekvivalenti, dollar hisobida** |
|---|---|---|
| Makkajo‘xori kraxmali | 100 | 64-91 |
| Glyukoza | 100 | 290 |
| Saxaroza xomashyolari | 105 | 133 |
| Rafinirlangan saxaroza | 105 | 629 |
| Melassa | 50 | 140 |
| Sirka kislota | 100 | 550 |
| Metanol | 94 | 160 |
| Etanol | 130 | 430 |
| Metan | 180 | - |
| Makkajo‘xori yog‘i xomashyolari | 200 | 105 |
| Palma yog‘i | 200 | 300 |
| Parafinlar | 218 | - |

**An’anaviy uglerod manbalari**. Mikrob sintezida uglerod saqlovchi mahsulotlar asosiy xomashyolar hisoblanadi. Sanoat asosida ishlab chiqarishda keng qo‘llaniladigan uglerod manbalari 4-jadvalda aks ettirilgan.

Ko‘pchilik mikroorganizmlar uglerodni juda yaxshi assimilyatsiya qiladi. Katabolizmda uglerodlar molekulasi tuzilishi (to‘g‘ri, halqasimon, tarmoqlangan) va uglerod atomlari oksidlanish darajasi muhim ahamiyat kasb etadi. Yengil va qulay bo‘lgan xomashyolar saxaroza, geksozalar, ko‘p atomli spirtlar (glitserin, mannit) va karbon kislotalardir. Yaqin vaqtlargacha ko‘pchilik mikroorganizmlarning organik kislotalarni parchalay olmaydi, deb hisoblanar edi.

4-jadval

**Mikrob sintezida qo‘llaniladigan asosiy uglerod manbalari**

| Substrat | Asosiy mahsulot saqlashi | Tavsifi |
|---|---|---|
| Kristall glyukoza | 99,5% quruq moddaga (QM) aylantirilgan eruvchan modda (EM) | 9% suv, 0,07% gacha kulli mahsulotlar, shu bilan birga 0,004% dan kam bo‘lmagan temir saqlaydi |
| Texnik saxaroza | Saxaroza 99,75% dan ko‘proq | Namligi 0,15% gacha, kulli mahsulot 0,03% |
| Texnik laktoza | 92% dan kam bo‘lmagan laktoza | Namligi 3%, kulli mahsulot 2% va 1% sut kislota saqlaydi. |
| Gidrol | 70% dan kam bo‘lmagan QM ga aylantirilgan EM | Sharbatsimon suyuqlik, EM asosan glyukoza, kulli mahsulot 0,7% gacha, rN 4,0. |
| Kraxmal | QM 80% ko‘proq | QMga aylantirilgan kulli mahsulot 0,35-1,2% |
| Sirka kislota | 60% dan ko‘proq sirka kislota | Formaldegid va 1% gacha chumoli kislota saqlaydi |
| Sintetik etil spirti | 92 % dan ko‘proq etanol | 0,21% gacha izopropil spirt va 15 mg/l gacha organik kislota saqlaydi. |
| Suyuq parafinning qisqa fraksiyasi | 87-93% n-Alkanlar | 0,5% gacha aromatik uglevodorodlar va 0,5% gacha oltingugurt saqlaydi |

***Izoh*.** QM-quruq mahsulot; EM-eruvchan modda.

Biroq, amalda ba’zi bir mikroorganizmlar anaerob sharoitda organik kislotalarni muvaffaqiyatli parchalashi va ular asosida ko‘plab biofaol moddalar sintez qilishi ma’lum. Ko‘plab mikrobiologik xomashyolar asosida kichik molekulali spirtlarni (metanol, etanol) hosil qilish mumkin va bu jarayon kimyoviy sintezga nisbatan bir qator afzalliklarga ega ekanligi ma’lum. Ko‘pchilik achitqilarning *Candida, Hansenula, Rhodosporidium, Endomycopsis* kabi turlari etanolni assimilyatsiya qilish qobiliyatiga egadir. *Pichia, Candida, Torulopsis* kabi achitqi turlari va *Methylomonas, Protaminobacter, Flavobacterium* kabi bakteriya turlarining biomassasida yuqori miqdorda oqsil saqlashi (60-70%) hamda metanol hosil qilish jarayonida oziqa manbayi sifatida ugleroddan foydalanishlari aniqlangan. 1939-yilda V.O.Touson tomonidan turli xil mikroorganizmlarning turlari n-alkanlar energiyasi va neftning ba’zi bir fraksiyalarini uglerod manbalari sifatida foydalanish qobiliyatiga ega ekanligini isbotlangan. Uglevodorodlar boshqa mikrobiologik xomashyolarga nisbatan farqi suvda yomon erishi bilan ajralib turadi. Shuning uchun ham tabiatda mikroorganizmlarning faqatgina ba’zi bir turlarigina uglevodorodlarni assimilyatsiya qilish qobiliyatiga egalar xolos.

**Ishlab chiqarishdagi qo‘shimcha mahsulotlar**. Ilgari ishlab chiqarishning ko‘pgina qimmatbaho qo‘shimcha mahsulotlariga chiqindi sifatida qaralar edi. Shulardan biri yuqori molekulali parafinlardir. Ular ko‘pincha dengizlarga tashlab yuborilar edi. Hozirgi vaqtda parafinlardan kimyoviy va mikrobiologik ishlab chiqarishda juda qimmatli xomashyo sifatida foydalaniladi. Shuningdek, makkajo‘xori so‘tasi maydalanib, qayta ishlanib, undan kraxmal va glyukoza olingandan so‘ng qoladigan suv kanalizatsiyaga oqizilardi. Hozirgi vaqtda esa bu suv bug‘lantirilib ekstrakt olinadi va undan mikrobiologik ishlab chiqarilishda samarali foydalanilmoqda. Mikrobiologik manba sifatida, shuningdek, kimyoviy ishlab chiqarishning chiqindi mahsulotlari (qahrabo, ketoglutar, adipin kislotalarning karbon kislota bilan aralashmalari) hamda sulfit kuli, g‘alla va kartoshka bardasi, melassa, gidrol va boshqalar muvaffaqiyatli qo‘llanilmoqda.

Mikrobiologik ishlab chiqarishda kraxmaldan glyukoza ishlab chiqarishning qo‘shimcha mahsulotlari bo‘lgan melassa va gidroldan muvaffaqiyatli foydalanilmoqda. Melassa yuqori darajada saxarozaga o‘xshash shakarlar (43-57%) saqlashi bilan tavsiflanadi.

Mikrobiologik ishlab chiqarishda qator boshqa qo‘shimcha mahsulotlardan ham foydalaniladi.

Hozirgi vaqtda fotosintezning birlamchi mahsulotlari, shu jumladan birinchi navbatda yog‘ochlar va o‘simliklarni oqsilsizlantirilgan sharbatlari asosiy xomashyo zahirasi sifatida e’tirof etilmoqda.

**Oziqaning mineral manbalari. Azot.** Bakterial hujayralarda quruq biomassaga nisbatan azot 12% gacha, mitselial zamburug‘larda esa 10% gacha mavjud bo‘ladi. Mikroorganizmlar organik va anorganik azot manbalaridan to‘liq foydalanish qobiliyatiga egadirlar. Ma’lumki, bakteriyalar aktinomitsetlar, mikromitsetlar va achitqilarga nisbatan azotga o‘ta talabchandir. Hayvonlar va o‘simliklar hujayralari ham azot manbalariga talabchanligi bilan tavsiflanadi. Biomassada mahsuldorlik doimo ham maqsaddagi metabolit mahsuldorligi va o‘stirish jarayoniga bog‘liq bo‘lmasdan azot manbalariga ham bog‘liq bo‘ladi.

5-jadval

**Lavlagi melassasining kimyoviy tarkibi**

| Nomlari | Moddalar saqlashi, % hisobida | |
|---|---|---|
| | o‘rtacha | achitqilar uchun mu’tadil |
| Quruq mahsulot | 75-77 | - |
| Saxaroza | 45 | - |
| Invertli shakar | 0,5-1,2 | - |
| Raffinoza | 0,5-1,0 | - |
| Shakarga aylanishi | 46-48 | 50 |
| Kolloidlar | 3-4 | - |
| Yuqori sifatliligi | 62-65 | 65 |
| Kulli moddalar | 6,6-7,5 | 7 |
| K2O | 2,5-3,5 | 3,5 |
| MgO | 0,1-0,24 | - |
| CaO | 0,5-0,8 | 1,0 |
| Umumiy aminli azot | 1,1-1,5 | 1,4 |
| Gidrolizgacha | 0,2-0,35 | - |
| Gidrolizdan keyin | 0,5-0,6 | 0,4 |

6-jadval

**Melassaning aminokislotalar tarkibi** (100 grammda quruq modda hisobida)

| Aminokislotalar | Quruq mahsulot, mg/100 g | Aminokislotalar | Quruq mahsulot, mg/100 g |
|---|---|---|---|
| Lizin | 41 | Izoleysin | 13 |
| Gistidin | 24 | Serin | 101 |
| Arginin | 26 | Glutamin kislota | 2534 |
| Asparagin kislota | 251 | Prolin | 103 |
| Treonin | 41 | Glitsin | 117 |
| Alanin | 118 | Leysin | 120 |
| Sistin | juda kam | Tirozin | 89 |
| Valin | 89 | Fenilalanin | 35 |
| Metionin | 120 | | |

7-jadval

**Mikrobiologik ishlab chiqarishda asosiy xomashyo sifatida qo‘llaniladigan qo‘shimcha mahsulotlar**

| Mahsulot | Tavsifi | Qo‘llanilish sohasi |
|---|---|---|
| Sulfit kuli | QM 4,0-4,5% shundan EM 3,3-3,5% | Oziqa achitqisi ishlab chiqarishda |
| Kartoshka bardasi | QM 4,3-4,5% shundan EM 2,0-2,2% | Oziqa achitqisi ishlab chiqarishda |
| Arpa bardasi | QM 7,3-8,1% shundan EM 2,5-2,9% | Oziqa achitqisi ishlab chiqarishda |
| Gidrol | QM 76-78%, shundan aylanadiganlari 50% shakarga | Antibiotiklar, achitqilarini chiqarishda etanol ishlab |
| Solod suslosi | QM 15-20%, shundan EM (maltoza, dekstrinlar) 8-12%, vitaminlar | Achitqi, bakteriya va aktinomitsetlarni o‘stirishda |
| Sut zardobi | QM 6,5-7,5%, shundan laktozalar 4,0-4,8%, oqsillar 0,5-1,0%, yog‘lar 0,05-0,4%, vitaminlar | Laktonlar, etanol, achitqilar olishda |
| Oqsilsizlantirilgan o‘simlik sharbati | QM 5-8%, shundan EM 0,8-2,0%, aminokislotalar, vitaminlar | Oziqa achitqilarini o‘stirishda |
| Oqsilsizlantirilgan kartoshka sharbati | QM 4,0-5%, shundan EM 0,5-1,0%, vitaminlar, aminokislotalar | Antibiotiklar va non mahsulotlari achitqilarini ishlab chiqarishda |
| Yog‘ochsozlik qoldiqlari | QM 6-9%, shundan EM 3-4%, organik kislotalar 0,3-0,4% | Oziqa achitqilarini o‘stirishda |
| Torf gidrolizati (parchalanishdagi) | QM 48-52%, shundan EM 26-33% (galaktoza, glyukoza, mannoza, ksiloza, ramnoza); guminli mahsulotlar | Oziqa achitqilari olishda |
| Bug‘doy kepagi | QM 90-92%, shundan ekstraktiv mahsulotlar 48-50%, kraxmal 25-30%, oqsillar 11-13%, yog‘lar 2,5-3,0%, sellyulozalar 15-17% | Fermentlar ishlab chiqarishda |

***Izoh.*** (QM) - quruq mahsulot; (EM) – suvda eruvchan moddalar.

Biomassani o‘stirish jarayonida, 1litrga 30g oziqa saqlovchi muhit tarkibida 0,3-0,4% miqdorida azot bo‘lishi talab etiladi. O‘stirishning davriy jarayonida, o‘sishning 6-12 soatlarida (eksponensial fazada) azot manbayi tugaydi, natijada biosintez jarayoni uchun yana azot saqlovchi manbalarga ehtiyoj tug‘iladi.

8-jadval

***A.niger* kulturasi mutant shtammining limon kislotasi biosintezi va biomassa to‘plashiga mineral azot manbalarining ta’siri**

| Azot manbayi | Yuza qatlamda o‘stirilganda | | Suyuqlikda o‘stirilganda | |
|---|---|---|---|---|
| | AQB, g/l | Limon kislotasi, g/l | AQB, g/l | Limon kislotasi, g/l |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 6,2 | 40 | 12 | 82 |
| $(NH_4)_2HPO_4$ | 4,2 | 59 | 15 | 95 |
| $NH_4Cl$ | 5,5 | 60 | 14 | 101 |
| $KNO_3$ | 5,0 | 30 | 11 | 30 |
| $Ca(NO_3)_2$ | 3,5 | 35 | 9 | 30 |
| $NH_2CONH_2$ | 6,9 | 58 | 15 | 88 |

**Izoh**. AQB-absolyut quruq biomassa.

Ko‘pchilik achitqilar ammoniy sulfat, ammoniy fosfat kabi ammiak tuzlarini hamda ammiakning suvdagi eritmalarini yaxshi o‘zlashtirsada, azot kislotasi tuzlarini yaxshi o‘zlashtira olmaydi. Faqatgina achitqi zamburug‘ining ba’zi bir turlarigina nitratlarni o‘zlashtirish qobiliyatiga egadirlar. Ba’zan, azot manbayi sifatida oziqa muhiti tarkibiga mochevina qo‘shilishi ham mumkin. Yo‘naltirilgan biosintez jarayonida, masalan sellyulotik fermentlar sintez qiluvchi *Peniophora gigantea* zamburug‘i hujayrasida organik azotlar (asparagin, pepton va boshqalar) biokimyoviy faollikni oshirib yuborishi qayd etilgan.

**Fosfor -** hujayrada eng kerakli komponentlardan biri hisoblanadi. Bundan tashqari mikroorganizmlar uchun yana 10 xildagi mineral elementlarlar zarur bo‘lib, ular juda kam miqdorda talab etiladi ($10^{-3}$-$10^{-4}$ M). Agar mikroorganizmlar yordamida olinadigan maqsaddagi metabolitlar tarkibida mikroelementlar saqlasa, mikroorganizmlarning mikroelementlarga bo‘lgan talabi ortib boradi. Masalan, $B_{12}$ vitamini biosintezida oziqa muhiti tarkibiga kobalt kiradi, tugunak bakteriyalar hujayrasida tiamin biosintezi uchun molibden va bor stimulyatorlik qiladi. Mis esa bir qator fermentlarda substratdan elektronlarni kislorodga o‘tkazishda ishtirok etadi (9-jadval).

**Oziqani kompleks boyituvchilar**. Kulturalarni o‘stirish amaliyotida hatto prototrof mikroorganizmlar ham oziqa muhitida vitaminlar, aminokislotalar, sitokininlar va boshqa biologik faol moddalar ishtirok etganda yaxshi o‘sishi qayd etilgan. Antibiotiklar erasi boshlangandan so‘ng shu bilan bog‘liq holda oziqa muhiti tarkibini arzonlashtirish va iqtisodiy sarf xarajatlarni mu’tadillashtirish haqidagi savollarga javob topish muammosi paydo bo‘ldi.

9-jadval

**Mikroorganizmlar va ularning asosiy funksiyalarida ishtirok etuvchi makro- va mikroelementlar**

| Element | Manba | Bajaradigan vazifasi |
|---|---|---|
| **Makroelementlar** | | |
| C | Organik mahsulotlar, $CO_2$ | Hujayra materialining asosiy komponenti |
| O | Organik mahsulotlar, $O_2$, $H_2O$, $CO_2$ | Hujayra materialining asosiy komponenti |
| H | Organik birikmalar, $H_2$, $H_2O$ | Hujayra materialining asosiy komponenti |
| N | Organik birikmalar, $NH_4^+$, $NO_3^-$, $N_2$ | Hujayra materialining asosiy komponentlari |
| S | Organik birikmalar, $SO_4^{2-}$, $HS^-$, S0, $S_2O_3^{2-}$ | Sistein, metionin, tiaminpirofosfat, A koferment, biotin va boshqalarning komponenti |
| P | $HPO^{42-}$ | Nuklein kislota, fosfolipidlar, nukleotid va boshqalar komponentlari |
| K | $K^+$ | Hujayrani asosiy anorganik kationi, ba’zi bir fermentlar kofaktori |
| Mg | $Mg^{2+}$ | Ko‘pgina fermentlar kofaktori (masalan, kinaz), hujayra membranasida ishtirok etadi, tRNK aminoatsillanishida qatnashadi, |
| Ca | $Sa^{2+}$ | Fermentlar kofaktori, ekzofermentlarda qatnashadi (amilaza, proteaza, Sa-dipikolinat), endosporada zarur komponent |
| Fe | $Fe^{2+}$ | Sitoxromda saqlanadi, ko‘pgina fermentlar kofaktori, |
| **Mikroelementlar** | | |
| Zn | $Zn^{2+}$ | Alkogoldegidrogenaza, ishqoriy fosfataza, aldolaza, RNK va DNK polimerazada ishtirok etadi. |
| Mn | Mn | Bakterial peroksidismutazada saqlanadi; ba’zi fermentlar kofaktori (fosfoenolpiruvatkarboksikinaza, sitratsintetaza va boshqalar). |

| | | |
|---|---|---|
| Na | $Na^+$ | Membrana jarayonlarida ishtirok etadi. |
| Cl | $Cl^-$ | Galofil bakteriyalarda uchraydi. |
| Mo | $MoO_4^{2-}$ | Nitratreduktaza, nitrogenaza, formiatde-gidrogenaza, ksantindigidrogeneza va boshqa fermentlarda saqlanadi. |
| Se | $SeO_3^{2-}$ | Glitsinreduktaza va formiatdegidrogenazada ishtirok etadi. |
| Co | $Co^{2+}$ | $B_{12}$ vitamini kofermentlarida, glutamat-mutazalar, metilmalonil-SoA-mutazalar va boshqa fermentlarda saqlanadi |
| Cu | $Cu^{2+}$ | Sitoxromoksidaza, oksigenaza va boshqalarda ishtirok etadi. |
| W | $WO_4^{2-}$ | Ba'zi bir formiatdegidrogenazalar saqlaydi. |
| Ni | $Ni^{2+}$ | Ureazada uchraydi; vodorodli bakteriyalar avtotrof o'sishda ehtiyoj sezadi. |

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. Mikrobiologik sintezda makkajo'xori ekstraktidan tashqari achitqilar avtolizati, ekstrakti va gidrolizati, kartoshka tuganagi hujayrasidan olinadigan sharbat, sut zardobi, bug'doy kepagi ekstrakti kabi mahsulotlar ham keng qo'llaniladi. Ba'zan baliq va go'sht peptonlari qo'shiladi. Hayvon hujayralarini o'stirishda hayvonlar qoni plazmasi va yo'ldosh ekstraktlari qo'llaniladi. O'simliklar hujayrasini yoki yuksak mitsellial zamburug'larni o'stirishda oshqovoq ekstrakti, g'o'za bargidan ham foydalaniladi.

**Ko'piklanishni bosuvchi moddalar**. Mikroorganizmlarni suyuqlikda aerob o'stirilganda ko'pik hosil bo'lishi va ko'piklanish jarayoni asosiy rol o'ynaydi. Ko'piklanish jarayonining hosil bo'lishi fazalar orasidagi bog'liqlikni oshirib, aeratsiyalanadigan havo bilan oziqa muhiti orasidagi massa almashinishini buzadi. Oziqa muhitining ko'piklanishga bo'lgan chidamliligi va reologik xususiyati (yuzaga yopishqoqligi) oziqa muhiti tarkibiga (shakar, lipidlar, oqsillar saqlashi, struktura hosil qiluvchi tuzlar), sterilizatsiya rejimiga va oziqa aeratsiyasiga bog'liq bo'ladi. Chidamli ko'piklanish rejimini yaratish uchun turli xil mexanik va kimyoviy ko'piklanishni oldini oluvchi vositalar va ularning kombinatsiyalaridan foydalaniladi. Hozirgi vaqtda muvaffaqiyatli foydalanib kelinayotgan sintetik ko'piklanish oldini oluvchi vositalarga silikonlar, propinollar, kontramin va polishakllinni misol qilib keltirish mumkin.

**Kislorod va suv**. Aerob mikroorganizmning molekulyar kislorodga bo'lgan ehtiyoji oksidlanuvchi uglerod manbasi va uning fiziologik xususiyatiga hamda mikroorganizmlarning o'sish faolligiga bog'liq bo'ladi.

10-jadval

**Makkajo‘xori ekstraktining kimyoviy tarkibi**

| Mahsulot | Tarkibi, % | Mahsulot | Tarkibi, % |
|---|---|---|---|
| Quruq mahsulot | 45-55 | Sut kislotasi | 5,0-11,5 |
| Saxaroza | 0,1-11 | Uchuvchan kislotlar | 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 kislota | 10-27 | Prolin | 16-20 |
| Sistin | 2-4 | Serin | 12-20 |
| Glutamin kislota | 35-88 | Treonin | 4-11 |
| Glitsin | juda kam | Tirozin | 5-10 |
| Gistidin | 2-4 | Triptofan | 5-10 |
| Izoleysin | 35-42 | Valin | 8-18 |
| Leysin | 27-42 | Lizin | 16-37 |
| **Quruq modda saqlashi, mkg/g** | | | |
| Riboflavin | 7-12 | Biotin | 15-55 |
| Tiamin | 80-100 | Nikotin kislota | 120-180 |
| Pantoten kislota | 80-140 | | |
| **Kulli moddalar saqlashi, % hisobida** | | | |
| Kaliy | 25-35 | Natriy | 4-6 |
| Kalsiy | 12-18 | Temir | 1-2 |
| Fosfor ($P_2O_5$) | 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 |

1 kg achitqi biomassasi biosintezi uchun 0,74-2,6 kg erigan kislorod talab etiladi. Intensiv holda produsent substratdagi uglerod manbayiga bog‘liq bo‘lmagan holda 1 litr oziqada minutiga 0,83-4,0 mg kislorodni assimilyatsiya qiladi. Oziqada erigan kislorod miqdori juda kam bo‘lib, bu harorat, bosim, emulgirlangan va despirslangan eritma komponentlar miqdoriga bog‘liq bo‘ladi. 0,1 MPa (1 kg s/sm$^2$) bosim va 30$^o$C haroratda 1 l distillangan suvda erigan kislorod miqdori maksimal holda 7,5 mg ni tashkil etadi.

Odatda oziqa muhitida maksimal holatda erigan kislorod miqdori 25 mg/l bo‘ladi. Oziqa muhitidagi zahira kislorod miqdori aerob produsentlarni 0,5-2 minut hayotchanligini saqlab turishi mumkin. Suyuq oziqa muhitida o‘stirish jarayonida zahira kislorod miqdori oziqadagi havo aeratsiyasiga bog‘liqdir. Kislorod

adsorbsiyasi tezligi esa oziqa muhitining aralashtirilish intensivligi o‘sishiga qarab oshib boradi.Mikroorganizmlar biomassaning o‘sish davrida maqsaddagi metabolit sintez bo‘lish davridagiga nisbatan ko‘proq kislorod talab etishi isbotlangan. Shakar saqlovchi substratlarda o‘suvchi ko‘pchilik aerob mikroorganizmlarda kislorodga bo‘lgan talabning eng yuqori miqdori 0,05-0,10 mg/l, ya’ni oziqaga aralashtirilgan barcha kislorodning 3-8% ini tashkil qiladi. Mikroorganizmlar biomassasida suv 80-90% ni tashkil etadi. Oziqa muhitini tayyorlayotganda toza, rangsiz, ta’msiz va qoldiqsiz 2874-73 standartiga muvofiq keluvchi suvdan foydalanish talab etiladi. Oziqa tayyorlanadigan suv tarkibida 50 mg/l dan kam bo‘lmagan xloridlar va 60 mg/l dan kam bo‘lmagan sulfitlar bo‘lishi lozim. Metal ionlari miqdori esa quyidagicha bo‘lishi talab etiladi (mg/l): mishyak-0,05, ftor-1,5, rux5,0, mis-3,0, qo‘rg‘oshin-0,2.

11-jadval

**20ºC haroratda despirgirlangan va emulgirlangan komponentlarning suvdagi (mg/l) eritmalarining kislorod adsorbsiyasiga bog‘liqligi**

| Saxaroza | | Kungaboqar yog‘i | | Biomassa | |
|---|---|---|---|---|---|
| Miqdori,% | $O_2$ adsorbsiyasi | Miqdori,% | $O_2$ adsorbsiyasi | Miqdori, % | $O_2$ adsorbsiyasi |
| 0 | 8,2 | 0 | 8,9 | 0, | 8,0 |
| 2,5 | 7,8 | 0,05 | 11,6 | 3,0 | 4,1 |
| 5,0 | 7,2 | 0,10 | 18,9 | 6,0 | 2,4 |
| 7,5 | 6,6 | 0,15 | 19,0 | 9,6 | 1,5 |
| 10,0 | 5,9 | 0,20 | 22,3 | 16,0 | 1,2 |
| 15,0 | 4,8 | 0,25 | 24,0 | 32,0 | 0,8 |

12-jadval

**Suvda kislorodning adsorbsiya bo‘lishiga aeratsiya va oziqa muhitining aralashtirilishiga bog‘liqligi**

| 1 minutda beriladigan havo miqdori ($m^3/(m^3/min)$) | Aralashtirgichning aralashtirish chastotasi, tez/min | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 500 | 800 | 1000 | 1200 |
| 0,35 | 1,3 | 4,0 | 7,5 | 14,5 | 15,1 |
| 0,65 | 3,5 | 7,3 | 12,1 | 19,1 | 22,1 |
| 1,00 | 6,0 | 10,0 | 15,0 | 23,0 | 24,0 |
| 1,30 | 7,5 | 13,9 | 18,0 | 26,0 | 28,0 |
| 1,60 | 11,0 | 15,5 | 20,0 | 27,0 | 29,0 |

**Mikroorganizmlarni o‘stirish uchun oziqa muhitlari.** Oziqa muhiti tarkibini tuzishda asosan mikroorganizmlar fiziologiyasi e’tiborga olinadi. Kulturalar katologini tuzishda ushbu qobiliyatdan tashqari uning pH ko‘rsatkichi va harorati ham asosiy rol o‘ynaydi. Mutaxassislar oldida turgan vazifalar: aniq shtamm - produsentning maqsaddagi mahsuloti uchun uglerod, azot, fosfor va boshqa manbalarning iqtisodiy va ekologik jihatlarini e’tiborga olgan holda, komponentlarni tanlab mu’tadil oziqa muhiti tarkibini tuzishdan iboratdir. Ushbu maqsadni amalga oshirishda, matematik rejalashtirishni eksperiment usullaridan foydalanilgan holda laboratoriya tajribalari olib boriladi. Asosiy mahsulot miqdori uning konversiya koeffsientini ($Y_{P/S}$ va $Y_{X/S}$ ) hisoblash bilan aniqlanadi. Mu’tadil o‘stirish jarayonida metanol va glyukozani konversiya va biomassa koeffitsiyenti ($Y_X$) taxminan 0,5 ga, etanol uchun - 0,70-0,75; geksadekan uchun - 1,0-1,1; suyuq parafinlar uchun esa - 1,2-1,3 ni tashkil etadi. Bu esa shuni ko‘rsatadiki, davriy o‘stirish jarayonida, 1 l oziqa muhitida 30 g biomassani yetishtirish uchun 60 g metanol, 40 g etanol, 30 g geksadekan yoki 24 g suyuq parafin talab qilinadi. Metanolning 1,0% yoki etanolning 1,5-2,0% miqdorgacha ko‘tarilishi mikroorganizmlar uchun zararli ta’sir etadi. Glyukoza, saxaroza, fruktoza va boshqa kichik molekulali shakarlarni miqdori 7-8% dan ko‘proq bo‘lishi ham ko‘pchilik mikroorganizmlarning o‘sishini to‘xtatadi. Konstruktiv metabolizmda azot saqlovchi mahsulotlar miqdori, biomassa va uning mahsuldorligi hisoblanib chiqilganda 5%gacha azot foydalanilmay qolishi aniqlangan. Mineral azotdan tashqari qator mikroorganizmlar oziqa muhitiga qo‘shilgan oqsil azoti, peptidlar va aminokislotalarni ham o‘zlashtirish qobiliyatlariga egadirlar. Mikroorganizmlarning oziqa tarkibidagi minerallarga bo‘lgan aniq ehtiyojini aniqlash uchun toza holdagi komponentlar (kristall holdagi tuzlar) va distillangan suvdan tashkil topgan sintetik oziqa muhititayyorlash orqali topiladi.

13-jadval

**1 litr oziqa muhitida 30g biomassa hosil qilish uchun zarur bo‘ladigan mineral elementlar miqdori**

| Komponentlar | Miqdori, g/l |
|---|---|
| Azot manbayi - $(NH_4)_2SO_4$ | 12 |
| Fosfor manbayi - $KH_2PO_4$ | 1,3 |
| Magniy manbayi – $MgSO_4$ | 1,5 |
| Makroelementlar - Fe, Ca, Mg | $10^{-3}$ |
| Mikroelementlar - Cu, Co, Zn, Mo, Mn | $10^{-4}$ |

Shunday qilib, oziqa muhiti tarkibini tuzishda quyidagi formuladan foydalanish mumkin:

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

Bunda: $C_i$ - oziqa muhitining balanslashtirilgan (i =1,2, .., n) komponent miqdori; $A_i$ - tanlangan kultura uchun i komponent konversiya koeffsienti; $S_0$ - oziqadagi zahira komponentini biomassadagi miqdor birligi.

Prototrof kulturalar uchun o‘sishni jadallashtiruvchi moddalarni eksperimental tajribalar asosida yaratilgan aniq tizimi keltirilgan (14-jadval).

14-jadval

**Oziqa muhiti tarkibidagi o‘stiruvchi faktorlar va ularning hujayra metabolizmidagi funksiyasi**

| O‘stirish manbasi | Funksiyasi | Miqdori, mkg/l | |
|---|---|---|---|
| | | minimal | maksimal |
| K vitamini | Dastlabki mexanionlardan elektronlar tashish (masalan, fumaratreduktazada) | 0,001-0,01 | 0,01-0,5 |
| Biotin | Karboksillanish reaksiyasini katalizlovchi prostetik fermentlar tarkibiga kiradi | 0,002-0,01 | 0,01-1,00 |
| Folin kislota | Xuddi kofermentlar singari bir uglerodli guruh tashuvchilarda ishtirok etadi | 0,02 | 0,03-05 |
| n-aminobenzol kislota | Xuddi kofermentlar singari bir uglerodli guruh tashuvchilarda ishtirok etadi | 0,01 | 0,2 |
| Tiamin ($B_1$-vitamini) | Tiamintrifosfat dekarboksilaza, transaldodaza va transketolaza prostetik guruhlarida qatnashadi | 0,01-0,03 | 1-100 |
| Piridoksin ($B_6$-vitamini) | Piridoksalfosfattransamilaza va dekarboksilaza aminokislotalari kofermentidir | 0,1 | 10-1000 |
| Siankobalamin ($B_{12}$ vitamini) | Koferment singari guruhlanish reaksiyalarida qatnashadi (masalan, glutamatmutaza) | 0,1 | 5-1000 |
| Pantoten kislota | A kofermentni old moddasi va atsil tashuvchi oqsillarni prostetik guruhi | 4 | 20-1000 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| Riboflavin ($B_2$-vitamini) | Flavonukleotidlar: flavinmononukleotid va flavinadenindinukleotidlarning old moddasi | 5 | 10-1000 |
| Nikotin kislota | Qator degidrogenazalarning kofermentlari NAD va NADF ni old moddasi. Letsitin va atsetilxolin tarkibiga kiradi hamda lipidlar sintezida ishtirok etadi | 5-10 | 100-1000 |
| Xolin | Lipidlar sintezida ishtirok etadi, litsitin va atsetilxolin tarkibiga kiradi | 20 | 1000-2000 |
| Inozit | Inozin kislotalar holida purin asoslari sintezida ishtirok etadi | 1000 | 2000-6000 |
| Purin va pirimidin asoslari | Ribonukleotidlar tarkibiga kiradi | 1000 | 5000-10000 |

15-jadval

***Saccharomyces cerevisae* achitqisining o‘sishiga salbiy ta’sir etuvchi ba’zi bir aralashmalar miqdori (% hisobida)**

| Aralashma | O‘sishni sekinlashtirishi | O‘sishni tezlashtirishi |
|---|---|---|
| Organik kislotalar:<br>Qaxrabo<br>Chumoli<br>Sirka<br>Moy<br>Sut | <br>0,001<br>0,0085<br>0,02<br>0,005<br>1,35 | <br>0,1<br>0,2<br>0,2<br>0,05<br>- |
| Oltingugurt oksidlari | 0,0025 | - |
| Nitritlar | 0,0005 | - |
| Shakllin | 0,09 | - |
| Natriy ftorit | 0,002 | - |
| Og‘ir metallar:<br>Mis<br>Kumush<br>Mishyak | | <br>0,005<br>0,000001<br>0,0005 |

**Qo‘shimcha ingredientlar.** Oziqa muhiti tayyorlash uchun odatda produsentning biosintetik faollligi va o‘sishiga ta’sir etuvchi aralashmalardan tashkil topgan texnik va standart bo‘lmagan mahsulotlardan foydalaniladi. Aralashmalar va qo‘shimcha mahsulotlar fermentatsiya davrida ijobiy (oqsil, aminokislotalar, organik kislotalar, mineral mahsulotlar va boshqalar), yoki ba’zan salbiy ta’sir ko‘rsatishi mumkin.

# III bob. FERMENTLAR MUHANDISLIGI

## 5§. FERMENTLARNING UMUMIY TAVSIFI

Fermentlar-tirik hujayralar tomonidan sintez bo‘ladigan oqsil tabiatli molekulalar bo‘lib, ular har bir hujayrada bir necha yuzlab uchraydi va har xil vazifalarni bajaradilar. Ular o‘ziga xos bo‘lgan biologik katalizatorlardir. Fermentlar organizm uchun juda zarur moddalar hisoblanadi, agar fermentlar bo‘lmaganda hujayradagi reaksiyalar juda ham sekinlik bilan o‘tib, hayotni ushlab turish imkoniyati bo‘lmas edi. Fermentativ reaksiyalarni tezligi odatdagi kimyoviy reaksiyalarga qaraganda $10^{14}$ marotaba tezroq kechishi aniqlangan. Kimyoviy reaksiyalarni xuddi shunday samara bilan kechishi uchun 600-700$^{o}$C va 200-300 atm. bosim zarur bo‘lishi ham aniqlangan. Morfologik har-xil hujayralarda fermentlar soni va ularni xilma-xilligi ham har xil bo‘ladi. Masalan, prokariot hujayralarda 3000 ga yaqin oqsil moddalari aniqlangan bo‘lsa, eukariotlar hujayralarida bu son 40000 dan ortadi. Organik hayotda fermentlar eng murakkab birikma hisoblanadi. Ular 20 ta har xil aminokislotalardan tuzilganlar. Har bir oqsil uchun o‘ziga xos bo‘lgan aminokislotalar ketma-ketligi ma’lum. Fermentlarni molekulyar og‘irligi bir necha mingdan, bir necha milliongacha bo‘ladi.

Fermentlar o‘ziga xos bo‘lgan spetsifiklikka va faollikka ega. Bu esa fermentlarni, bizga ma’lum bo‘lgan boshqa kimyoviy birikmalardan ajratib turadi.

Fermentlar o‘zlarining spetsifikliklari bo‘yicha uch guruhga bo‘linadilar:

1. Nisbatan past spetsifiklikka ega bo‘lgan fermentlar. Bu guruhga barcha gidrolitik fermentlar: amilazalar, lipazalar, pektinazalar, sellyulazalar, esterazalar va boshqalar kiradilar. Yuqorida ko‘rsatilgan fermentlar har xil tezlikda polimer, oligomer hamda past molekulali substratlarga ta’sir ko‘rsatadilar.
2. Bir-birlariga o‘xshash strukturaga ega bo‘lgan bir guruh substratlarga ta’sir etuvchi fermentlar, bunday fermentlarni guruh spetsifikligiga ega bo‘lgan fermentlar deb ataladi. Bu guruhga misol qilib, har-xil geksozalarni fosforillash reaksiyasini olib boruvchi geksokinaza –fermentini ko‘rsatish mumkin.
3. Absolyut spetsifiklikka ega bo‘lgan fermentlar. Bunday fermentlar faqatgina birgina substratni o‘zgartiruvchi reaksiyani kataliz qila oladilar yoki strukturasi juda ham yaqin bo‘lgan substratlarni o‘ta sekinlik bilan o‘zgartirishlari mumkin. Bu fermentlar stereo spetsifilikligi bilan tavsiflanadi. Masalan, degidragenazalar vodorod atomini substratdan kofermentning nikotinamid yadrosini o‘ta aniq tomoniga o‘tkazadilar.

Fermentlarni faolligini past molekulali organik birikmalar yoki metall ionlari bilan boshqarib turish mumkin. Hujayra jarayonlarini boshqarishni bu mexanizmi, murakkab biosintetik jarayonlarda ishtirok etuvchi fermentlarga xos bo‘lib, dastlabki fermentlardan birini, oxirgi mahsulot bilan ingibirlanishi bilan belgilanadi va oqibatda butun jarayonni sekinlashuviga yoki butunlay to‘xtab qolishiga olib keladi.

**Fermentlarni ajratish**. Biologik manbalardan fermentlarni preparatlar sifatida ajratib olish har xil maqsadlar uchun olib boriladi. Jumladan:

- fermentlarni fizik-kimyoviy xususiyatlarini o‘rganish, ularni ta’sir etish sharoitlarini aniqlash, har xil kritik sharoitlarga nisbatan mu’tadilligini belgilash, kinetik xususiyatlari va tuzilishini aniqlash;

- sanoat, tibbiyot va ilmiy izlanishlar uchun kerak bo‘lgan fermentlarni ishlab chiqarish;
- fermentlarni immobilizatsiya qilish.

Ba’zi-bir fermentlar hujayra organellalari yoki membranalar bilan bog‘langan holatda bo‘ladilar, shu sababli ham ularni ajratish biroz qiyinroq o‘tadi. Bunday holatlarda bog‘langan fermentlarni ajratish jarayonini yengillashtiruvchi moddalar maxsus detergintlardan foydalaniladi. Fermentlarni ajratib olish jarayonida inaktivatsiyaga uchrashining asosiy sabablaridan biri, ularni proteolizmi hisoblanadi. Barcha organizmlar hujayralari har xil spetsifiklikka ega bo‘lgan proteometrik fermentlar saqlaydilar. Ajratishni metodologiyasining buzilishi proteolitik fermentlar ta’sirida peptid bog‘larini buzilishiga, oqibatda esa ajratib olinmoqchi bo‘lgan fermentni inaktivatsiyasiga olib keladi. Shuni ham esda saqlash zarurki, ferment faolligini yo‘qolishi uchun birgina ferment bog‘ini parchalanishi kifoya. Har qanday oqsil hujayradan ajratilish jarayonida ma’lum miqdorda o‘zini tabiiy holatini o‘zgartiradi. Shuning uchun ham fermentni ajratish juda ham murakkab jarayon hisoblanadi. Fermentlarni xossalaridan kelib chiqqan holda ularni ajratishni har xil texnologik ishlovlari ma’lum. Masalan, oqsillarni organik erituvchilarda eruvchanligini xilma-xilligi, ularni etanol, atseton, izopropanol, ammoniyni sulfat tuzi eritmalarining har xil konsentratsiyasida cho‘kishini belgilasa, oqsillarni molekulyar og‘irligidagi farq, ultrafiltratsiya, gelfiltratsiya usullaridan foydalanishni, molekulalardagi zaryadlarni xilma-xilligi, ionalmashinuv xromatografiyasi va preparativ elektroforez usullaridan foydalanishni taqozo qiladi.

Fermentlar har xil biologik manbalardan ajratilishi mumkin: hayvon organlari (bezlar, jigar, ichak), o‘simlik organlari (urug‘, maysa) va mikroorganizmlar. Hayvon organlari yengil gomogenizatsiya bo‘ladi, shuning uchun ham ulardan fermentlarni ajratib olish uchun izotonik eritmalardan ko‘proq foydalaniladi. Izotonik eritmalar hayvon hujayrasidagi organellalarni parchalanib ketishdan saqlaydi. Fermentlarni o‘simlik organlaridan, zamburug‘ va bakteriyalardan ajratish biroz murakkabroq sharoitda olib boriladi. Bunga sabab ularni hujayra devorlarini murakkabligi va qattiqligidir. Bunday organizmlardan olingan nusxa alyuminiy oksidi yoki qum, ba’zan shisha siniqlari bilan aralashtirib eziladi, nusxalarni ezishdan oldin muzlatish va keyin eritish yaxshi natijalar berishi kuzatilgan. Bir qism hujayralar presslash orqali ham buziladi. Ba’zida o‘simlik va mikrob hujayralari gidrolitik fermentlar, masalan, lizotsim bilan ishlov berilganda yaxshi buziladi. Xitinazalar va glyukanazalar yordamida mikroskopik zamburug‘larni protoplastlari ajratib olinadi. Ko‘pchilik mikroorganizmlar suyuq oziqa muhitida ekilganda, fermentlarni hujayradan tashqaridagi metabolitlar sifatida oziqa muhitiga chiqaradilar, bu esa fermentlarni ajratib olishni va ularni tozalash jarayonini biroz bo‘lsada, yengillashtiradi.

Agar o‘simlik hujayralarini gomogenizatsiya qilish mobaynida vakuolalar parchalanib ketsa, undagi proteolitik fermentlar tashqariga chiqib, ajratib olinmoqchi bo‘lgan fermentga salbiy ta’sir ko‘rsatadilar. Bunday holatda ferment ajratib olinmoqchi bo‘lgan massaga proteazalarni ingibitorlarini qo‘shish yaxshi natijalar beradi. Bundan tashqari, o‘simliklar ko‘pincha fenolli birikmalar saqlaydilar, ular osongina oksidlanib, fermentlarni faolligini pasaytirib yuboradilar. Bunday hollarda

ferment ajratmoqchi bo‘lgan manbalardan dastlab fenol birikmalarni ajratib tashlash tavsiya etiladi.

**Fermentativ reaksiyalar kinetikasi**. Fermentativ reaksiya oqsil molekulasini tashkil qiluvchi aminokislotalarni sirtida joylashgan funksional guruhlar ishtirokida amalga oshadi. Bu guruh nafaqat substratlarni ferment bilan bog‘lanishini, balki ularni o‘zgarishini ham ta’minlab beradi. Bu fermentativ reaksiyalar o‘tish jarayonida nafaqat organik substratlarni molekulalarini ichidagi o‘zgarishlar, balki reaksion muhitda ishtirok etayotgan boshqa birikmalar bilan o‘zaro ta’sir etishi ham mumkin. Fermentativ reaksiyani belgilab beruvchi bosqich, bu jarayonni boshida sodir bo‘luvchi ferment – substrat kompleksini hosil bo‘lishidir. Bu kompleks ferment molekulasining alohida qismida paydo bo‘lib, bu qismni fermentning faol markazi deb ataladi. Keyinchalik ferment – substrat kompleksi, ferment va reaksiyaning mahsulotigacha parchalanadi. Ammo ferment–substrat kompleksi, mahsulot paydo bo‘lmasdan oldin dissotsiatsiyaga ham uchrashi mumkin. Har ikki holda ham, (reaksiya chapga yoki o‘ngga ketganda ham) fermentni regeneratsiyasiga uchrab, yangi aktga tayyor bo‘ladi. Quyida mana shu jarayonni tenglamasi keltirilgan:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \quad (1)$$

$k_1, k_{-1}, k_2$ – lar tegishli reaksiyalarni konstantalari hisoblanadi.

Ideal sharoitda $k_{-1}+k_2$ konstantalar yig‘indisi, ferment–substrat kompleksining o‘zgarish mumkin bo‘lgan konstantalarni barchasini, shu kompleks hosil bo‘lish konstantasiga $k_1$ bo‘lingani $K_m$ ya’ni Mixaelis konstantasiga teng bo‘ladi va bu jarayon quyidagicha o‘tadi:

$$\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_m \quad (2)$$

Mixaelis konstantasi ($K_m$) millimol/l. da, agar erimaydigan substrat bo‘lsa, mg da o‘lchanadi. Har xil substrat spetsifiklikka ega bo‘lgan fermentlar uchun $K_m$ ning miqdori taxminan 0,015 – 250 mM oralig‘ida bo‘ladi. $K_m$ eng muhim ko‘rsatkichlardan biri bo‘lib, uning kattaligi reaksiyaning pH, harorat ko‘rsatkichlariga qarab o‘zgarib turadi. Agar ferment bir necha substratga ta’sir etsa $K_m$ kattaligi bir-biridan ancha farq qilishi mumkin.

Mixaelis konstantasi yordamida ferment-substrat kompleksining konsentratsiyasini aniqlash mumkin:

$$[ES] = \frac{[E] \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad (3)$$

Agar substratni konsentratsiyasi katta bo‘lib, reaksiya muhitidagi barcha ferment substrat bilan kompleks holatda bo‘lsa, reaksiya tezligi eng yuqori bo‘ladi. Fermentlarni reaksiya tezligining maksimumi ($V_{max}$) bir-biridan ancha farq qiladi va taxminan 0,5-500 atrofida bo‘ladi. $K_m$ singari $V_{max}$ ham pH, harorat va substratning

kimyoviy tabiatiga bog‘liq bo‘ladi. $V_{max}$ni aniqlash uchun quyidagi formuladan foydalanish mumkin:

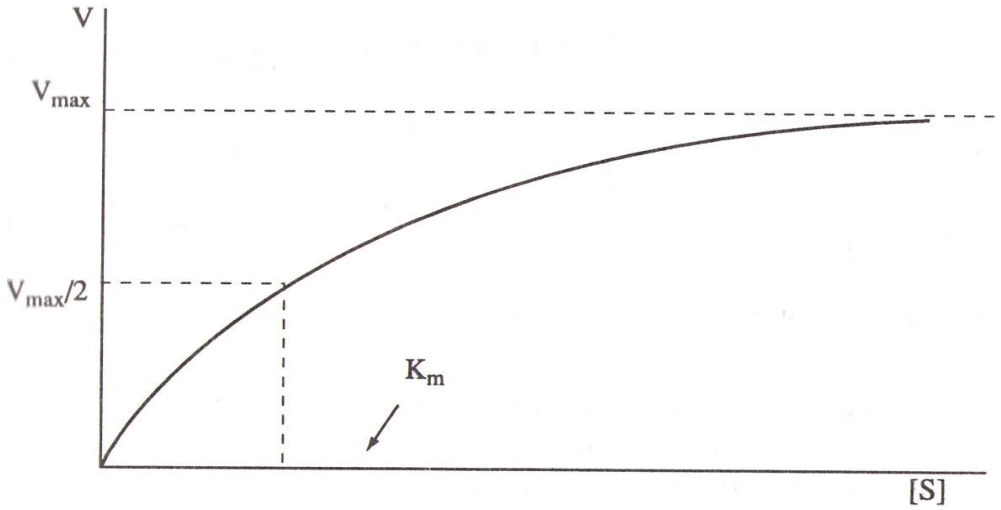
$$V_{max}=k_2[ES], \quad (4)$$

$k_2$-ferment substrat kompleksidan [ES] hosil bo‘ladigan mahsulotning konstantasi.

Bir tomondan boshlang‘ich tezlik va maksimal tezlik orasidagi, ikkinchi tomondan substratning konsentratsiyasi oralig‘idagi bog‘liqlikni aniqlovchi tenglama – Mixaelis-Menten tenglamasi deb ataladi va quyidagicha izohlanadi:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \quad (5)$$

Mixaelis konstantasining ko‘rsatkichi fermentni konsentratsiyasiga bog‘liq emas. Quyidagi rasmda aniqlovchi egri chiziqlar ko‘rsatilgan:




**7-rasm**. Mixaelis konstantasi ko‘rsatkichi va ferment konsentratsiyasi munosabati

Bu chizmadan ko‘rinib turibdiki, $K_m$ son jihatidan maksimal tezlikdagi substrat miqdorining yarmiga teng ekan. Agar substratning konsentratsiyasi [S], $K_m$ dan ancha kam bo‘lsa, unda biz 1-tartibli reaksiyani ko‘ramiz:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m} \quad (6)$$

Agar substrat konsentratsiyasi $K_m$ dan ancha ko‘p bo‘lsa: $V=V_{max}$ [7]. Unda bunday reaksiya nollik tartibda bo‘ladi.

Oraliq holatlarda, ya’ni substrat konsentratsiyasi ko‘rsatkichlari Mixaelis konstantasiga teng yoki unga yaqin bo‘lsa, aralashgan reaksiya tartibli bo‘lib, bunday holatda tenglama:

$$V=V_{max}/2, \quad [S]=K_m \quad [8]$$

ko‘rinishda bo‘ladi.

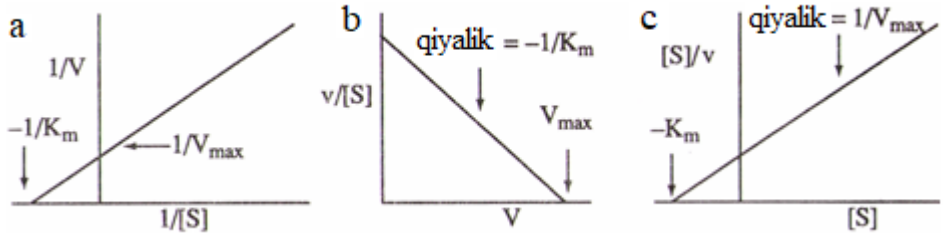
Mixaelis-Menten tenglamasiga algebraik boshqa ko‘rinish berish ham mumkin.

Ma’lumki, Mixaelis-Menten tenglamasi reaksiya tezligi bilan substrat konsentratsiyasi va Mixaelis konstantalari orasidagi miqdoriy bog‘liqlikni izohlab beradi, ammo shu ko‘rsatkichlarni (5) tenglama asosida aniq topish murakkab ish hisoblanadi. Shuning uchun ham Mixaelis-Menten tenglamasini bir necha o‘zgartirilgan variantlari taklif qilingan bo‘lib, ular (9), (10) va (11) tenglamalarda izohlangan:

Laynuiver-Berk tenglamasi:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{[S]} \cdot \frac{1}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}} \quad (9)$$

Bu tenglamaga asosan, $1/_{[S]}$ va $1/_{[V]}$ koordinat tizimida chizilgan chizma, to‘g‘ri, egilgan burchakni tangensi bo‘lib, u $K_m/V_{max}$ ga teng, ordinata o‘qidan o‘tgan nuqta $1/V_{max}$ ga, abssissa o‘qidan o‘tgan nuqta esa $1/K_m$ ga to‘g‘ri keladi. Mana shu tizim koordinatalarida chizilgan chizma, $V_{max}$ va $K_m$ ni aniqlash imkonini beradi (8-rasm).




**8-rasm**. Fermentlarning kinetik tavsiflashning grafik usuli

Edi-Xofst tenglamasi:

$$\frac{v}{[S]} = \frac{V_{max}}{K_m} - \frac{v}{K_m} \quad (10)$$

V va V/[S] koordinatalar tizimida, eksperimental materiallar grafikka solinganda, to‘g‘ri chiziq hosil qiladi va u orqali $V_{max}$ va $K_m$ ni miqdorini aniqlash juda ham oson bo‘ladi. (8-b- rasm) Xeyns tenglamasi:

$$\frac{[S]}{v} = \frac{[S]}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \quad (11)$$

Xeyns tenglamasi orqali [S]/v va S koordinatalar tizimida grafik chizish mumkin. Abssissa o‘qidan o‘tadigan chiziqni nuqtasi $K_m$ ga $1/V_{max}$ esa qiya chizig‘iga teng bo‘ladi (8-c-rasm).

8-rasmda kinetik ko‘rsatkichlarni Laynuiver-Berk (a), Edi-Xofst (b) va Xeys (c) tenglamalari asosidagi chizmalar ko‘rsatilgan. a=bc+d to‘g‘ri chiziqli tenglamada

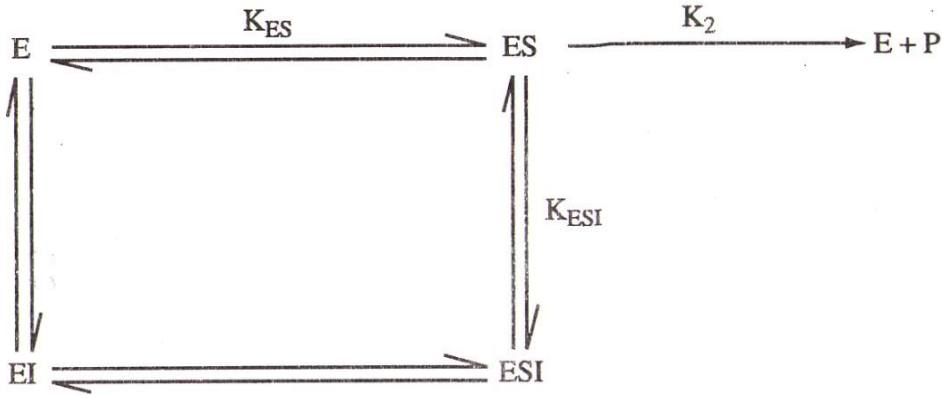
b - to‘g‘ri qiya burchagining tangensiga teng, d – Y o‘qidan kecib o‘tgan nuqtaga teng, d/b- nisbati esa, X o‘qining kesib o‘tgan nuqtasiga teng. Yuqorida aks ettirilgan, materiallardan ko‘rinib turibdiki, grafik analiz uslublarini ishlatishdan asosiy maqsad $K_m$ va $V_{max}$ kattaliklarini aniqlashdan iborat.

$V_{max}$ - fermentni aylanish sonini boshqacha qilib aytganda, 1 molekula fermentni vaqt birligida ($k_{cat}$) gi fermentativ aktlarni miqdorini aniqlash imkonini beradi. Bu kattalik quyidagi tenglama asosida topiladi:

$$k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E]_0} \quad (12)$$

Bu yerda $[E_0]$ – fermentlarni faol markazini konsentratsiyasi.

Shuni ham ta’kidlash lozimki, faol markazning molyar konsentratsiyasi, har doim ham fermentlarni molyar konsentratsiyasiga to‘g‘ri kelavermaydi. Bunga sabab molekulasida bittadan ko‘proq faol markaz saqlovchi fermentlarni borligidir. Katalitik konstantalarni fizik mohiyati shundan iboratki, u butun jarayonni o‘tish samaradorligini ko‘rsatib beradi yoki boshqacha qilib aytganda reaksiyani chegaralovchi omillarni to‘plamini aniqlab bera oladi. Bu ko‘rsatkich fermentlardan amaliyotda foydalanishda katta ahamiyat kasb etadi. Subbirliklardan tashkil topgan, yoki bir necha faol markaz saqlagan fermentlarni kinetik kattaliklarini aniqlash biroz murakkab bo‘ladi. Agar reaksiya davrida bu markazlar orasida o‘zaro ta’sir aniqlansa, yuqoridagi chizmalarda to‘g‘ri chiziqlik buziladi. Normal hujayralarda fermentlarni faolligini susayishi, ularni faolligini fiziologik boshqarishni asosiy usullaridan biri hisoblanadi. Shuning uchun ham, fermentlardan amaliyotda foydalanilganda, ingibitorlarni tipini va ingibirlanishini qanchalik chuqur o‘tishini aniqlash katta ahamiyatga ega.




**9-rasm**. Fermentativ reaksiyalarning ingibirlanishini umumiy chizmasi ($K_{ES}$, $K_{ESI}$, $K_{EI}$ –dissotsiyatsiya konstantalari)

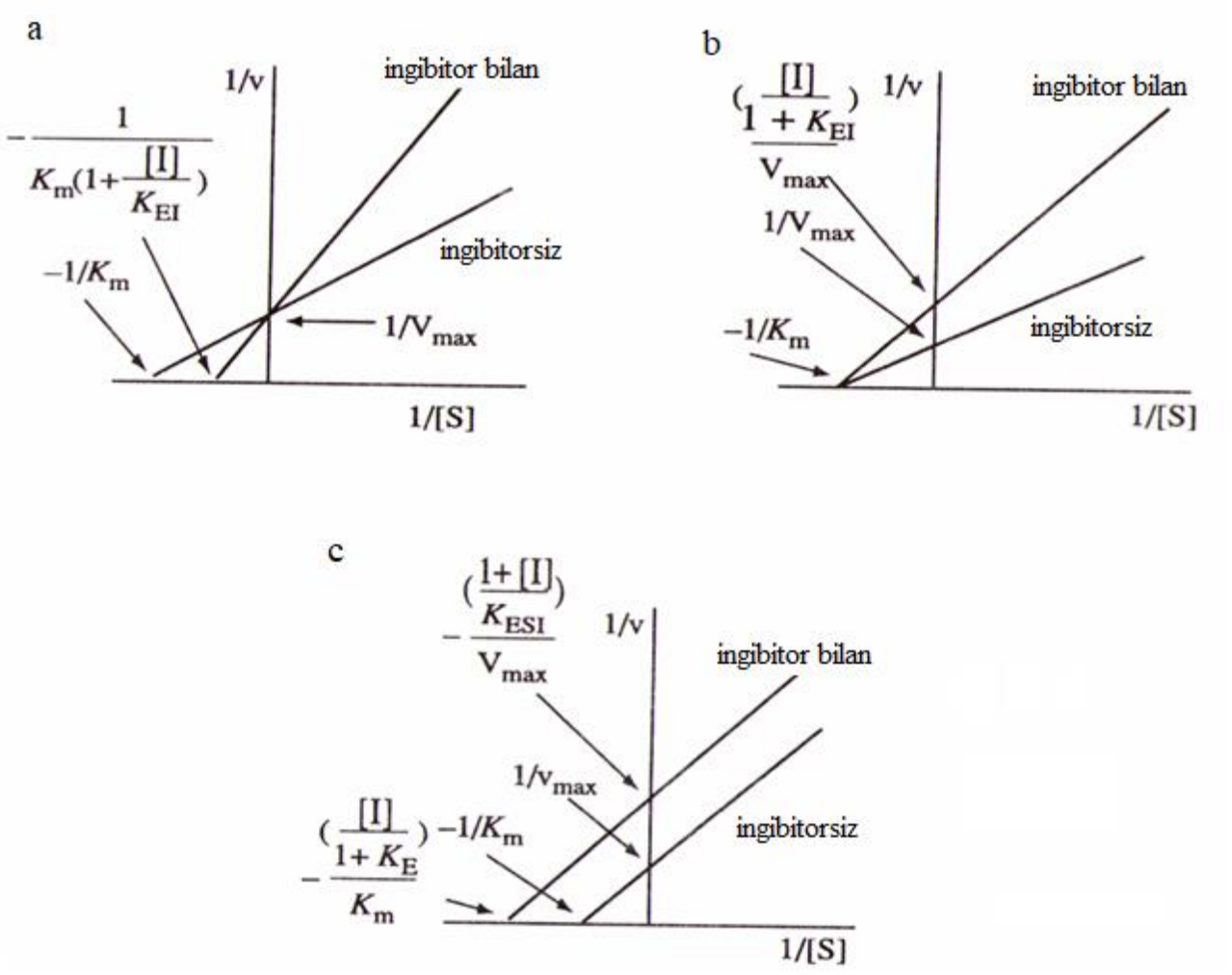
Qaytar va qaytmas ingibirlanish jarayonlari ma’lum. Ingibitor ferment bilan kovalent bog‘lanib, bir yoki bir necha funksional guruhini modifikatsiya qilsa, ekvimolyar konsentratsiyada ko‘pincha ferment faolligi butunlay yo‘qoladi, bunday holatda qaytmas ingibirlanish sodir bo‘ladi. Agar ingibitor ferment bilan kovalent bog‘lari orqali bog‘lanmasdan uni faolligini tushursa-yu, hosil bo‘lgan kompleks ma’lum vaqt o‘tgach yoki reaksion muhit sharoitini o‘zgartirish yoki boshqa yo‘llar

bilan hosil bo‘lgan ferment–ingibitor kompleksi buzulsa, bunday ingibirlanish tipini qaytar ingibirlanish deb ataladi. Bunday ingibirlanishni Mixaelis-Menten (5) tenglamasi orqali miqdoriy aniqlash mumkin. 9-rasmda qaytar ingibirlanish jarayoni keltirilgan bo‘lib, unda ferment, substrat va ingibitor orasida sodir bo‘ladigan barcha o‘zaro ta’sir izohlangan.

Keltirilgan rasmda ESJ kompleksi aktivligini yo‘qotgan kompleks sifatida qaraladi. Bu chizmaga asosan, barcha tizimlar dinamik tenglikda, hattoki mahsulotni hosil bo‘lishi ham bu tenglikni unchalik sezilarli darajada o‘zgartira olmaydi.

Bu chizmaning kinetik ko‘rsatkichlarini tenglamasi murakkab ko‘rinishga ega:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}}\left[1 + \frac{[I]}{K_{ESI}}\right] + \frac{K_{ES}}{V_{max}}\left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}}\right]\frac{1}{[S]} \qquad (13)$$




**10-rasm**. Raqobatli (a), raqobatsiz (b) va raqobat bo‘lmagan (c) ingibirlanishning Laynuiver-Berk koordinata tizimidagi tegishli kinetik ko‘rsatkichlarining chizmasi

Albatta, bu tenglamani eksperimental natijalar olish maqsadida ishlatish unchalik foydali emas. Ammo, konstantalarga nisbatan ma’lum imtiyozlar berilsa, bu tenglama biroz soddalashadi. Ingibirlanishni tipini aniqlash uchun Laynuiver-Berk koordinata tizimlari ishlatilishi mumkin. Dissotsiatsiya konstantalarini ahamiyatiga qarab, qaytar ingibirlanish uch: raqobatli, raqobatsiz va raqobat bo‘lmagan tipda bo‘lishi mumkin.

*Raqobatli ingibirlanish*. Agar $K_{ES} = \infty$ deb qaralsa, ES kompleksi ES ni I bilan hamda EI ni S bilan bog‘lanishi orqali ham hosil bo‘la olmaydi. Bunday holatda (13) tenglama quyidagi ko‘rinishda bo‘ladi:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_{ES}}{V_{max}}\left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}}\right]\frac{1}{[S\}} \quad (14)$$

Laynuiver-Berk koordinatalarida to‘g‘ri, raqobatli ingibirlanishni tavsiflaydigan chiziq bo‘lib, u reaksiyani ba’zi-bir muhim parametrlarini hisoblash imkonini beradi (10a-rasm). Raqobatli ingibirlanish o‘z mohiyati bo‘yicha, bir markaz uchun ingibitor va substratni raqobatini izohlaydi.

*Raqobatsiz ingibirlanish***.** Agar $K_{ESI} = K_{EI}$ ga teng deb hisoblansa, substratni ferment bilan bog‘lanishi, ingibitorni bog‘lanishiga ta’sir etmaydi. Bunday holatda (13) tenglama, quyidagi ko‘rinishga ega bo‘ladi:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}}\left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}}\right] + \frac{K_{ES}}{V_{max}}\left[1 + \frac{[I]}{K_{EI}}\right]\frac{1}{[S]} \quad (15)$$

Laynuiver-Berk koordinata tizimida tenglama to‘g‘ri izohlanadi va reaksiyaning eng muhim ko‘rsatkichlarini aniqlash imkoniyatini beradi (10b-rasm). Raqobatsiz ingibirlanish davrida ferment va fermentsubstrat kompleksi nofaol holatga o‘tadilar. Bu esa, substratni konsentratsiyasini ko‘payishi, ingibirlanish jarayoniga ta’sir ko‘rsatmaydi degani bo‘ladi. Raqobatsiz ingibirlanish o‘zining mana shu xossasi bilan raqobatli ingibirlanishdan farq qiladi. Faollik ko‘rsatish uchun metall ionlariga muhtojlik sezgan fermentlar, ularni kompleks hosil qiluvchi agentlari bilan raqobatsiz ingibirlanish mexanizmi asosida ingibirlanadi.

*Raqobat bo‘lmagan ingibirlanish*. Agar $K_{EI} = \infty$ deb qabul qilinsa, fermentni ingibitor bilan kompleks hosil qilishi butunlay mumkin bo‘lmaydi, unda asosiy tenglama (13) quyidagi ko‘rinishga ega bo‘ladi:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}}\left[1 + \frac{[1]}{K_{ESI}}\right] + \frac{K_{ES}}{V_{max}}\frac{1}{[S]} \quad (16)$$

Laynuiver-Berk tenglamasi koordinata tizimidagi parallel to‘g‘ri chiziqlar orasidagi masofa ingibitorni ta’sir darajasini ko‘rsatadi (10c-rasm). Shuni ham ta’kidlash kerakki, monosubstratli reaksiyalarda raqobat bo‘lmagan ingibirlanish juda ham kam uchraydigan holat bo‘lib, u polisubstratli reaksiyalarda ko‘p uchraydi.

**Ferment – oqsillar muhandisligi**. O‘zgarib turadigan atrof muhit sharoitlariga tirik organizmni moslashib borishi, muayyan organizmlar hujayralaridagi makromalekulalarning tuzilishlarini o‘zgarishiga olib keladi. Fermentlarni evolyutsiyasi ham juda uzoq vaqt davom etgan jarayon. Taxmin

qilishicha, million yillar avval o‘sha davrdagi tashqi muhit ta’siri sababli, fermentlar o‘zlarining bugungi muqobillariga nisbatan anchagina yuqori haroratga chidamli bo‘lganlar. Xuddi shuningdek o‘sha davr fermentlarining molekulyar og‘irligi hozirgisidan ancha baland bo‘lganligi ham ma’lum. Bunday xususiyat faqatgina fermentlarga emas, balki hujayradagi barcha makromolekulalarga ham xos bo‘ladi. Molekulyar massani kichiklanishi, nuklein kislotalari va fermentlarni makromolekulalarini optimal holatga tushishi, evolyutsiya jarayonining eng muhim natijalaridan biridir. Agar fermentlarni issiqqa chidamliligini pasayib borishini sabablarini muhokama qilsak, bunday evolyutsion o‘zgarishlar vaqt o‘tishi, atrof-muhit sharoiti o‘zgarib borishi bilan hujayra uchun shunday makromolekulalarni sintez qilish qulayroq bo‘lganligi bilan tushuntirilishi mumkin. Ma’lumki, termostabil fermentlar hujayra ichidagi qo‘shimcha bog‘larni bo‘lishi zarurligini talab qiladi, bu esa hujayra uchun energetik jihatdan foydasiz hisoblanadi.

Bugun biologiyaning eng yangi yo‘nalishlaridan biri - oqsil muhandisligi - ma’lum oqsil molekulasini sintez qiluvchi gen darajasida shu oqsil molekulasini sun’iy o‘zgartirish muammolari bilan shug‘ullanadi. Bunday izlanishlardan maqsad faol markazdagi yoki uning yonidagi alohida aminokislotalarni boshqasi bilan almashtirish va bunday modifikatsiyani ferment faolligi hamda stabilligiga ta’sirini o‘rganishdan iborat. Olingan natijalar asosida faolroq va kritik sharoitda stabilligi balandroq ferment sintez qilish strategiyasi yaraladi. Bunday texnologiyani nuqtaviy mutatsiya usuli deb ataladi. Metod gendagi bitta nukleotidni almashtirish asosida olib boriladi. Masalan, AAG kodoni lizinni bog‘lab olishni amalga oshiradi. Agar bu kodonda adenin (A) guanin G bilan almashtirilsa, kodon GAG ko‘rinishini oladi, bu esa lizinni emas, uni o‘rniga glutamin kislotasini birlashtirib olishga olib keladi. Ilmiy asoslangan nuqtai nazarga ko‘ra, gomologik fermentlardagi deyarli barcha o‘zgarishlar nuqtaviy usul natijasida amalga oshgan. Oxirgi davrlardagi, DNK ni sekvenlash (DNK tarkibidagi nukleotidlarni birin-ketinligini o‘qish) asosida olingan natijalar nuqtaviy mutatsiya usulidan yo‘naltirib foydalanish mumkinligini ko‘rsatmoqda. Nuqtaviy mutatsiya quyidagicha amalga oshiriladi: tekshirishga mo‘ljallangan genni klonlanadi, masalan fag-m13 vektoriga kiritiladi. Fag DNK sini bir zanjirli, halqali, spiralsimon molekulasi replikatsiya davrida ikki spiralli molekulaga aylanadi. Undan keyin tekshiriladigan gen saqlovchi bitta zanjir alohida ajratib olinadi va tekshiriladigan qism asosida o‘xshash oligonukleotid molekulasi sintez qilinadi. Ammo sintez mutatsiya bo‘lishi kutiladigan joyda amalga oshirilmasligi shart. Keyin ligaza fermenti yordamida oligonukleotid DNK zanjiri tarkibiga kiritiladi. Undan keyin, maxsus ishlab chiqilgan uslublar yordamida mutant DNK saqlovchi klonlarni selektiv ajratiladi. Bu usul alohida aminokislotalarni fermentativ kataliz jarayonidagi rolini aniq ko‘rsatib beradi. Haqiqatdan ham, modifikatsiya chaqirgan samarani aniqlash uchun fermentni umumiy xossalarini oldindan bilish shart. Birgina aminokislotani almashtirish qanday o‘zgarishlarga olib kelganligini sof holda ajratib olingan fermentlarni taqqoslab o‘rganish orqali amalga oshiriladi.

**Izofermentlar**. Bir hujayra joylashgan har xil genlarni mahsuli bo‘lgan va bir xil reaksiyani kataliz qiluvchi fermentlarga izofermentlar deb ataladi. Izoferment atamasiga baho berganda xato qilmaslik lozim. Chunki, fermentlarni ajratish va

tozalash jarayonlarida ulardan ko‘pchiligi qisman denaturatsiyaga (proteoliz, vodorod bog‘larini uzilishi, kofaktorlarni ajralib ketishi) uchraydi. Bunday hodisalar organik erituvchilar ta’siridan, pH ko‘rsatkichini me’yoridan u yoki boshqa tomonga siljishidan, reaksion muhit haroratini o‘zgarishidan va boshqa ta’sirlar oqibatida sodir bo‘ladi. Oqibatda oqsil molekulasidagi umumiy zaryad miqdorida o‘zgarish paydo bo‘ladi. Shunday paytlarda xuddi sifat jihatidan butunlay yangi oqsil izoferment bor ekaniga o‘xshab qoladi. Amaliyotda esa qisman denaturatsiyaga uchragan fermentni o‘zi bo‘lib chiqadi. Shuning uchun ham izofermentlarni bor ekanligini aniqlash uchun dodetsilsulfat natriy saqlagan muhitda elektroforez qilib tekshirib ko‘rish tavsiya qilinadi. Bunday sharoitda oqsilni fazoviy strukturasi buziladi, polipeptid uzun holatga o‘tadi va oqsillarni bo‘linishi molekulaning haqiqiy zaryadi hisobidan amalga oshadi. Izofermentlarni bo‘lishi deyarli barcha fermentlar misolida ma’qullangan. Ammo izofermentlar evolyutsion jarayonlar natijasida paydo bo‘lganmi yoki ular mutatsiyani oqibatimi, aniq aytish qiyin. Nima bo‘lganda ham izofermentlarni hilma-xilligi, modifikatsiyaga uchragan fermentlarni har xil organizmlar uchun odatdagi xos ekanligidan guvohlik beradi. Biotexnologiya maqsadlari uchun izofermentlarni borligi, ularni faolliklarini va kritik sharoitlarga mu’tadilligi har xil bo‘lganligi bilan qiziqarlidir.

**Multifermentli oqsillar**. Bir molekulasi ikki yoki undan ko‘proq fermentativ faollikka ega bo‘lgan, alohida yoki bir-birlari bilan kimyoviy bog‘langan oqsillarni multiferment oqsillar deb ataladi. Oxirgi vaqtlarda multiferment komplekslarni multiferment polipeptidlar deb ataladigan bo‘ldi. Misol tariqasida *E.coli* bakteriyasidan ajratilgan, molekulyar og‘irligi 86 kDa teng bo‘lgan, aspertatkinaza va gomoserindegidrogenaza faolliklariga ega bo‘lgan polipeptidni ko‘rsatish mumkin.

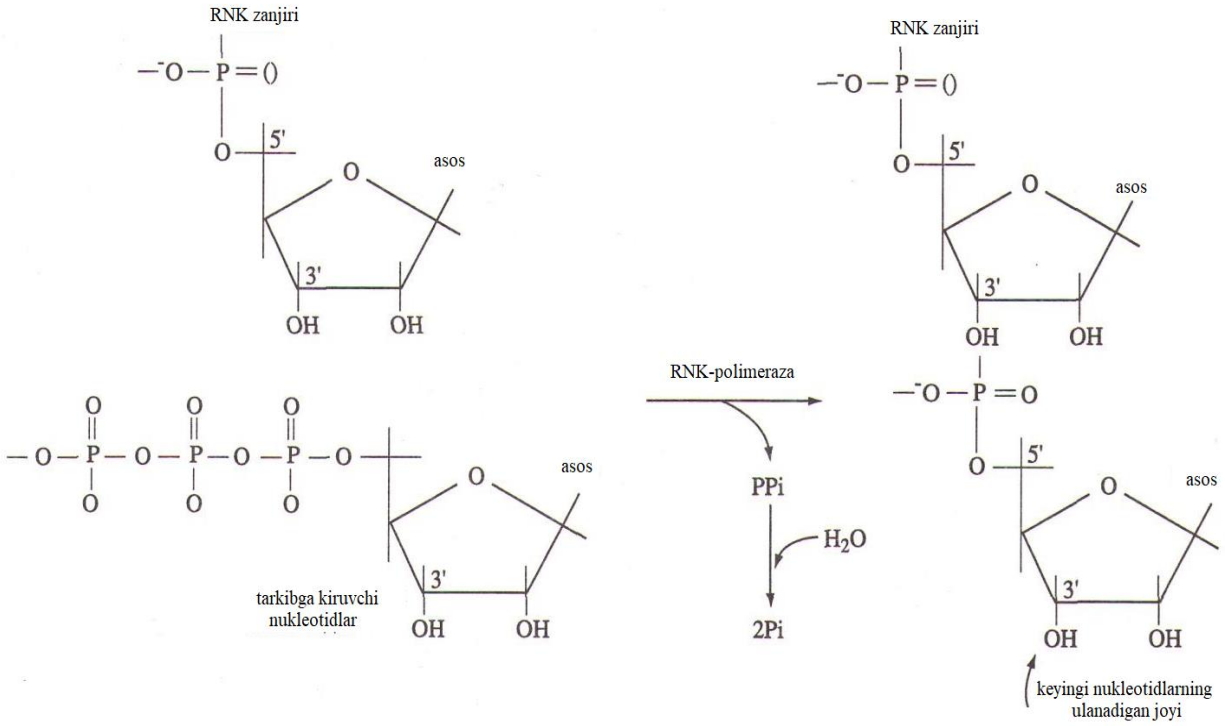
Diqqatga sazovor bo‘ladigan fermentlardan yana biri – yog‘ kislotalarini sintezida faol ishtirok etuvchi polipeptid-yog‘ kislotalar sintaza fermentidir. Bu ferment atsetil-KoA ni karboksillash reaksiyasidan tashqari yog‘ kislotalarini biosintezi jarayoning birinketin keladigan barcha bosqichida ishtirok etadi. Biotexnologiya nuqtai nazaridan shuningdek, aromatik aminokislotalar–L-triptofan, tirozin va fenilalanin biosintezining birin-ketin keladigan bir necha reaksiyalarini kataliz qiluvchi multiferment polipeptid ham katta ahamiyat kasb etadi. Multiferment polipeptidlarni qiziqarli tomoni shundan iboratki, ular o‘ta murakkab o‘tadigan o‘zgarishlarni yengillashtiradi, hamda barcha jarayonlarni boshqarish uchun imkoniyat yaratib beradi.

## 6§. FERMENTLAR ISHLAB CHIQARISH BIOTEXNOLOGIYASI

Fermentlar katalitik faol biopolimerlarning juda katta sinfi bo‘lganligi uchun, ularni ishlab chiqarish va ishlatish texnologiyalarini alohida ko‘rib chiqish maqsadga muvofiqdir. Fermentlar sanoatida, bir-biridan butunlay farq qiladigan ikki texnologiyani, ya’ni fermentlarni olish va ularni ishlatish texnologiyalarini farqiga e’tibor berish zarur. Bu texnologiyalar fermentlarni biosintezi (mikroorganizmlar fermentlari to‘g‘risida gap ketganda), ajratish, tozalash, alohida holatlarda immobilizatsiya qilish va ularni amaliyotda qo‘llash bosqichlarini o‘z ichiga oladi. Yaqin kelajakda fermentlar yordamida insoniyat uchun o‘ta zarur bo‘lgan

muammolar: ekologik toza oziqa moddalari olish, energiyani tejash texnologiyalari, atrof muhitni muhofaza qilish, chiqindisiz yoki kam chiqindili biotexnologiyalar yaratish va boshqalar muammolarni hal qilish mumkin bo‘lishi bashorat qilinmoqda.

**Fermentlar biosintezini boshqarish**. Oqsil biosintezidagi (jumladan biologik faol oqsillar ham) unchalik ko‘p bo‘lmagan, javobi hozircha topilmagan kichik masalalar e’tiborga olinmaganda, umuman bu muammo juda yaxshi o‘rganilgan. Oqsil strukturasi haqidagi axborot, ketma-ket keladigan 4 nukleotidlar: ATR, STR, GTP va TTR ko‘rinishida DNK molekulasidan joy olgan. Fermentlarni birlamchi strukturasida bir aminokislotani joylashishi 3 nukleotidning ketma-ket kelishi bilan aniqlanadi, bunday ketmaketlik triplet deb ataladi. 4 nukleotid borligini e’tiborga olsak, 4·4·4=64 variantdagi triplet bo‘lishi mumkin, shuning uchun ham bor yo‘g‘i 20 ta aminokislotani sintezi juda ham oson o‘tadi. Oqsil biosinteziga javobgar bo‘lgan gen (DNK ning ma’lum bir bo‘lagi) to‘g‘ridan-to‘g‘ri oqsil biosintezida ishtirok etmaydi. Eukariotlarda DNK yadroda, oqsil sintez qiluvchi apparat esa sitoplazmada joylashadi. Oqsil sintez qiluvchi apparatni boshqarish boshqa nuklein kislota – RNK orqali amalga oshiriladi. Bu RNK axborot-RNK deyiladi va ilmiy adabiyotlarda m-RNK deb belgilash qabul qilingan. Ikki zanjirli DNK dan bir zanjirli m-RNK ga axborotni o‘tishi transkripsiya deb ataladi va bu jarayon RNK-polimeraza deb ataluvchi fermentlar yordamida amalga oshadi.



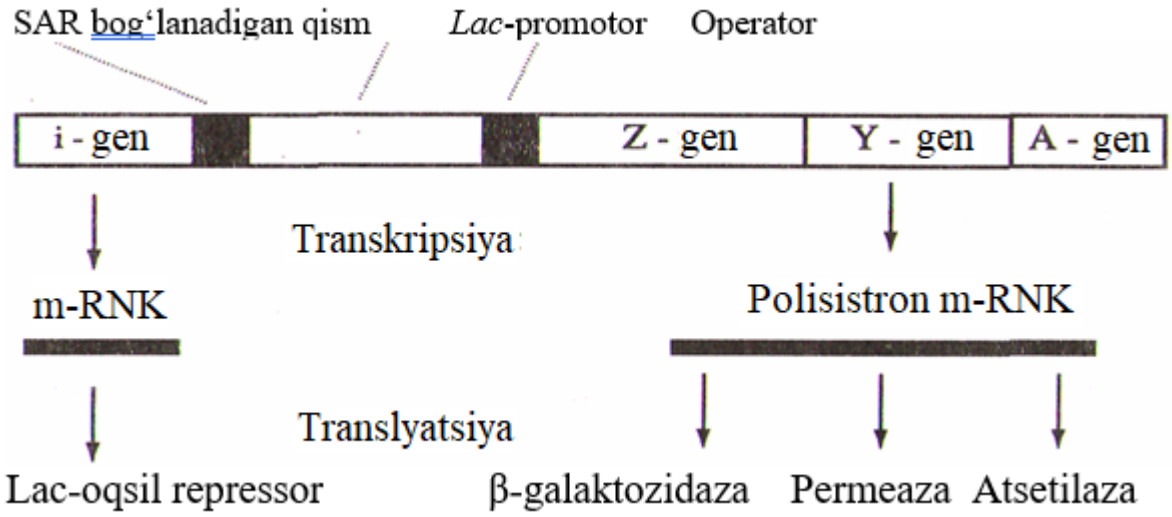

**11-rasm**. RNK polimeraza II fermenti ishtirokida RNKni sintez bo‘lishi

m-RNK molekulalari DNKning transkripsion birlik deb ataladigan ma’lum qismidan “ajralib” chiqadi. RNK biosintezida substrat sifatida ribonukleozid uch fosfatlar ishlatiladilar. RNK- transkript sintezi $5^1$ –dan $3^1$-oxiriga qarab amalga oshadi. Bunda, o‘sayotgan RNK zanjirni $5^1$-uchfosfat, $3^1$-oxirida esa –OH gruppa joylashadi va bu joy fosfodiefirli bog‘ni paydo bo‘lish joyi bo‘lib xizmat qiladi. Bu

reaksiya RNK-polimeraza fermenti ishtirokida amalga oshadi. RNK sintez bo‘ladigan maydonda DNK molekulasining ikki spiralini bir-biridan “ajralishi” (16-18 juft asoslar) sodir bo‘ladi, va shunday qilib, DNK-matritsasi zanjiridan sanalib ajraladi. DNKda transkripsion birlik bir tomondan promotor (transkripsiyaga turtki beruvchi qismsi) bilan, ikkinchi tomondan esa terminator ( terminatsiya qiluvchi qism) bilan chegaralanib turadi.

m-RNK nukleotidlarini ketma-ketligidan tegishli oqsilni aminokislotalarini ketma-ketligiga axborot uzatish o‘ta murakkab jarayon bo‘lib, uni translyatsiya deb ataladi. Organizmlarni yashash sharoiti doimo o‘zgarishlarga uchrab turadi. Shuning uchun ham, tabiiy tanlov natijasida, o‘zini genetik faolligini mana shu o‘zgaruvchi muhitga javoban o‘zgartirib yoki boshqarib tura olgan organizmlar ustivorlikka ega bo‘lgan deb taxmin qilish mumkin. Genetik ekspressiyani boshqarish organizmga mana shu vaqtda zahirada bo‘lgan usullarni tanlash uchun kerakli darajada moslashuvchanlik imkoniyatini yaratadi, bu esa reproduksiya tezligini maksimal holatda ushlab turishga imkon yaratadi va atrof-muhitni noqulay sharoitiga nisbatan mu’tadillikni ta’minlaydi. Masalan, qulay uglerod manbayi saqlovchi boy muhitda o‘suvchi bakteriyalar o‘zlarini zahiralarini noqulayroq, uglerod manbayi bo‘lgan substratlarni parchalash uchun zarur bo‘lgan fermentlar sintez qilishga sarf qilmasalar, juda ham tez o‘sib, ko‘payadilar. Hujayra o‘zlarini bu metabolik funksiyalarini faqatgina oziqa muhitida kerakli komponentlar bo‘lmaganidagina ishlatishlari kerak. Prokariotlarda genetik faollikni nazorat qilishni eng samarali va oddiy yo‘li - transkripsiya darajasida nazorat qilishdir. Xuddi mana shu tipdagi boshqarishni ishlatilish misollari *E.coli* va boshqa bakteriyalarda juda ko‘plab kuzatilgan. Transkripsion nazoratni namoyon qiluvchi klassik misollardan biri– disaxaridlar laktozani glyukoza va galaktozagacha parchalab beruvchi ferment β-galaktozidazani sintezini boshqarish tizimidir. Bu fermentni sintezi oziqa muhitida laktoza bo‘lganda, ammo me’yoriy manba - glyukoza bo‘lmaganda induksiya bo‘ladi. Induksiyadan keyin β-galaktozidazani sintez bo‘lish tezligi taxminan 1000 marotaba oshadi va muhitda induktor borida mana shu darajada saqlanib turadi. β-galaktozidazani induktori sifatida laktozadan tashqari, uning muqobillari ham xizmat qiladilar. Shulardan biri allolaktoza-laktoza metabolizmining oraliq mahsulotlaridan biri. β-galaktozaning past konstitutsion darajasi indutsirlanmaydigan hujayralar uchun xarakterli bo‘lib, laktozani induktori allolaktozaga aylantirish uchun yetarlidir. Muhitdan induktor chiqarib tashlagandan keyin m-RNK miqdori tezda pasayadi. Bunga sabab m-RNK nukleotidlargacha parchalanib ketadi. m-RNK ni yarim umri bir necha minutdan iborat. Shuning uchun ham m-RNK ni ma’lum darajada ushlab turush uchun doimiy ravishda induksiya bo‘lib turishi lozim. Deyarli barcha prokariotlarni m-RNK si metabolik mustahkam emas. m-RNK ni mana shu xususiyati, transkripsion boshqarish mexanizmi bilan birga, hujayraga faqat kerakli oqsilni tanlab sintez qilish imkoniyatini yaratadi. Aniq bir metabolik zanjirga kiruvchi genlarni kodlovchi genlar, genomda qator klasterlar ko‘rinishida joylashadi. Klasterda o‘zaro funksional aloqador bo‘lgan har qaysini transkripsiyasi umumiy promotorda inisiatsiya bo‘ladigan genlar guruhi, bu genlarni ekspessiyasini nazorat qilishga imkon yaratadi. Bir polisistronli m-RNK hosil bo‘lishi bilan genlar klasterini transkripsiyasi, induksiyadan keyin tegishli funksiyani bajarish uchun zarur bo‘lgan barcha oqsillarni birdaniga paydo bo‘lishini ta’minlaydi.

F.Jakob va J.Mono *E.coli* bakteriyasi yordamida laktozani utilizatsiya qilishni analiz qilib chiqqanlar. Mana shu eksperiment bakterial genlarni boshqarish mexanizmini yaqqol ko‘rsatib beradi va shu asosida birinchi marotaba operonni struktura hamda funksional tuzulish modeli yaratilgan. Laktozani utilizatsiya qilish uchun hujayraga ikki birbiriga chambarchas bog‘langan genlarni mahsulotlari (sistronlar) kerak bo‘lar ekan.



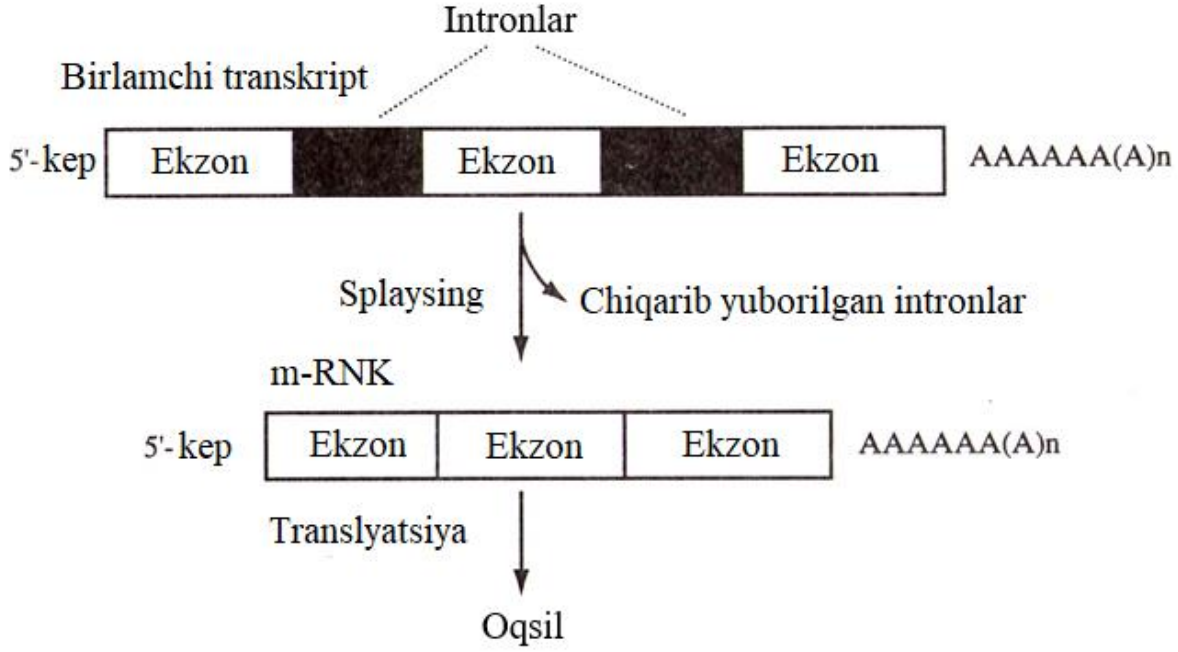

**12-rasm.** *Lac*-operonning faoliyat chizmasi

Permeaza fermenti laktozani hujayraga transport qilib beruvchi ferment. Uchinchi gen A-galaktozid-transatsilaza fermentini kodlovchi gen bo‘lib, u Z va Y genlari bilan aloqador holatda boshqariladi-yu, ammo laktozani utilizatsiyasiga to‘g‘ridan-to‘g‘ri aloqador emas. Har uchala oqsillar sintezi bitta umumiy politsistronli $_{M}$RNK sintezi orqali induksiya bo‘ladi. $_{M}$RNKni transkripsiyasi va translyatsiyasi Z-Y-A yo‘nalishida sodir bo‘ladi. Odatda, induktor yo‘qligida bu genlarni transkripsiyasi juda ham past va hujayrada juda ham kam miqdorda V-galaktozidaza va permeaza uchraydi. Z, Y va A genlarni transkripsiyasi operatorni boshqarish qismsi nazoratida turadi. Operator qismsida transkripsiya I genni mahsuloti bo‘lgan repressor bilan boshqarib turiladi. Repressorni induktor molekulasi bilan bog‘lanishi, repressor-operator kompleksini dissotsiatsiyasini chaqiradi va shu orqali transkripsiyaga imkon yaratib beradi. Shunday qilib, Z,Y va A genlar o‘zlarini transkripsiyasini nazorat qilib turuvchi promotorli va operatorli qism bilan operon hosil qiladi. Operon deganda, umumiy induktor yoki effektor molekulalari bilan bog‘lanish orqali boshqarib turiladigan, repressor nazoratida turgan bir-biriga kirib ketgan genlar to‘plami tushuniladi. Negativ regulyator oqsilga misol qilib, Lac-repressorni ko‘rsatish mumkin. Bunday regulyatorlar nazoratda bo‘lgan genlarni ekspressiyasini bosib turadi. O‘z navbatida, repressorni ta’siri past molekulali effektorlar (bu holatda allaktoza repressor rolini bajaradi) bilan nazorat qilib turiladi. Ammo, bundan tashqari Lac-operon pozitiv regulyator-oqsil nazoratida ham bo‘ladi. Bu oqsil bir vaqtning o‘zida *E.coli* ning har xil katabolit tizimini boshqarishda ishtirok etadi. Bu regulyatorni ta’siri bilvosita optimal uglerod manbayi bo‘lgan glyukoza bilan nazorat qilib turiladi. Glyukoza hatto laktoza ishtirokida ham Lac-operon genlarini transkripsiyasini ingibirlab turadi. Glyukozani ta’siri to‘g‘ridan-

to‘g‘ri emas, balki o‘rtada turuvchi modda orqali amalga oshadi. Bunday modda vazifasini siklik AMF (s-AMF) bajaradi. sAMF ni hujayra ichidagi miqdori bir-birini muvozanatda saqlab turuvchi ikki jarayon–adenilatsiklaza ishtirokidagi sintez va fosfodiesteraza ta’sirida o‘tadigan degradatsiya orqali nazorat qilib turiladi. Glyukoza yo‘qligida hujayra sAMF miqdori yuqori, glyukoza bo‘lganida esa past darajada bo‘ladi. sAMF nitranskripsiyaga ta’siri SAR-oqsil (katabolit genlarini faollashtiruvchi oqsil) bilan o‘zaro ta’sir natijasida amalga oshadi. SAR-oqsil transkripsiyani faqat sAMF bilan kompleks holatda stimulyatsiya qiladi. SAR-sAMF ni DNK bilan bog‘langan joyi *Lac* promotorga kirib turadi. SAR-sAMF bog‘langanda promotorni strukturasini o‘zgartiradi va faqat shundan keyingina RNK-polimeraza bilan o‘zaro ta’sirga kirisha oladi degan taxminlar ham bor. Shunday qilib, *Lac*-operonni ekspressiyasini boshqarish (regulyatsiya) uchun ikki tipdagi nazorat qiluvchi faktorlar bo‘lib, ulardan har biri o‘z navbatida muhit sharoiti ta’sirida turadi. Hujayrada juda ham kam miqdorda reprossor molekulasi bo‘lib, ular induktor (laktoza) ni o‘ta past konsentratsiyasida ham inaktivatsiyaga uchraydi. SAR-sAMF kompleksining tegishli bog‘lanish markazi bilan o‘zaro ta’sir tizimi transkripsiyani bir tekisda boshqarish imkonini yaratadi. sAMF past konsentratsiyada bo‘lganda transkripsiya kamroq, chunki SAR-aktivator oqsilning ko‘pchiligi nofaol holatda bo‘ladi. sAMF miqdori oshganda, oqsilni ko‘proq qismi SAR-sAMF holatida bo‘ladi, bu esa operondagi transkripsiya genlarini kuchaytiradi. Har xil tipdagi eukariot organizmlarning hujayralari bir qator bir xil oqsillar sintez qiladilar, ammo bir-birlaridan ma’lum tipga xos (spetsifik) bo‘lgan oqsillar to‘plami bo‘yicha farqlanadilar. Bundan tashqari, har bir oqsilni miqdori (sintez darajasi), hujayrani tipiga va rivojlanish bosqichiga qarab o‘zgarib turadi. Mana shuni munosabati bilan eukariotlar genlari ikki tipga bo‘linadilar: ulardan biri hujayrani universal funksiyasini ushlab turish bilan band bo‘lsa, ikkinchisi, ixtisoslashgan funksiyani bajaradi. m-RNKni ma’lum to‘plamini va oqsillarni ekspressiyasi genetik regulyatsiyani ko‘rsatib turadi. Eukariotlarda genlarni regulyatsiya qilish mexanizmini o‘rganish zamonaviy molekulyar biologiya va genetikaning eng jadal rivojlanib kelayotgan yo‘nalishlaridan biri hisoblanadi. Eukariot organizmlarda genlarni ekspressiyasini molekulyar mexanizmi haqidagi zamonaviy fikrlar asosan, rekombinant DNK metodlaridan foydalanib olingan natijalarga asoslangan. Ammo, eukariot genlarni strukturasi va regulyatsiyasi haqidagi fikrlar hozirgacha aniq bir holatga kelganicha yo‘q. Yuqorida ko‘rsatib o‘tilganidek, prokariot genlarni regulyatsiyasi regulyator oqsillarni dnk molekulasidagi regulyatsiya uchustkasi bilan o‘zaro ta’siri hisobida amalga oshadi. Ekariot genlarda ham xuddi shunday bo‘ladi. Har xil ekariotik hujayralardan va ularni viruslaridan bir qator genlar va ularga ulangan regulyator oqsillar individual holatda ajratib olingan hamda o‘rganilgan. m-RNK hosil bo‘lishini nazorat qilish yadroning ichida va bir necha har xil bosqichlarda amalga oshirish mumkin. Eukariotlarni ko‘p genlari translyatsiya qiladigan qismlari (ekzonlar) bilan bir qatorda, oqsillar aminokislotalarni ketma-ketligi haqida axborot tashimaydigan ammo, transkripsiya qiluvchi (intronlar) ketma-ketlik saqlaydi. Ekzonlarni uzunligi 1000 juft nukleotiddan oshmaydi (13-rasm).

Genlar matritsasidan birlamchi transkript RNK-polimeraza ishtirokida hosil bo‘ladi. RNK molekulasining $5^1$-oxiri (transkripsiyada birinchi bo‘lib sintez bo‘ladi) m-RNK bilan ribosomani bog‘lovchi molekulagacha qurilib bitadi. Bu jarayon barcha

molekulalar sintezi tamom bo‘lganga qadar davom etadi. RNKni sintezi RNK-polimeraza terminatsiya ketma-ketligiga yetguncha davom etadi. Shu joyda transkripsiya to‘xtaydi. Undan keyin maxsus ferment-poly(A)-polimeraza - har bir RNKtranskriptni $3^1$-oxiriga 100dan 200gacha adenil kislota poly(A), molekulasini ulab, birlamchi RNK-transkript hosil bo‘lish jarayonini tugatadi. Poly(A) ni funksiyasini aniq emas, taxmin qilinishicha, bu qism RNKni keyingi protsessingiga va yetilgan $^M$RNKni yadrodan sitoplazmaga transport bo‘lishiga yordam beradi.




**13-rasm.** Birlamchi transkriptdan m-RNK protsessingi

RNK-transkriptni yetilgan m-RNK molekulasiga aylanish mobaynida har bir molekula RNK-transkriptdan RNKning intron ketma-ketligi o‘ziga xos ravishda ajralib tushadi. Intronlar kesilgandan keyin ekzonlar bir-birlari bilan ulanib, butun molekulani hosil qiladilar. Genlar ekspressiyasining nazorati transkripsiyani o‘zi darajasida yoki splaysing darajasida amalga oshirilishi mumkin. Bundan tashqari eukariotik hujayralarda DNK nukleosomalardan tashkil topgan, ular o‘z navbatida yuqoriroq qatordagi xromatinli strukturalarni tashkil qiladilar. Xromatinlarni lokal strukturasiga bog‘liq ravishda DNKni bu qismlari RNK-polimeraza fermenti ta’sir etishiga qulay yoki noqulay holatda bo‘lishlari mumkin, ya’ni xromatinni strukturasi transkripsiyani boshqarishga ta’sir etishi mumkin. Eukariotlarda transkripsiya to‘g‘ridan-to‘g‘ri translyatsiya bilan bog‘liq bo‘lmaganligi uchun, boshqaruvchi m-RNK yordamida (ishlatilib) sitoplazmatik nazorat bo‘lishi ham mumkin. Bu mexanizmlarni barchasi DNKni tegishli boshqarish qismlariga ta’sir etuvchi ixtisoslashgan oqsillarni ishtirokini talab qiladi. Ammo, hozirgacha boshqaruvchi oqsillarni tabiati haqidagi ilmiy axborotlar yetarlicha emas. Ma’lumki, mikroskopik zamburug‘larda induksiya va repressiya mexanizmlari prokariot organizmlarnikiga juda yaqin. Bu barcha gidrolitik fermentlarga (amilaza, pektinaza, sellyulaza, ksalanazalar) tegishli bo‘lib, ularda sintez faqat organizmni tegishli substratbilan (polimerlar) kontaktidan keyin boshlanadi. Hayvonlarda, murakkab oqsillar va fermentlarni sintezini tanlab modulyatsiya qilib turadigan qator gormonlar hamda

boshqa birikmalar ma’lum. Masalan, jigarda fenobarbital - o‘zini keyingi metabolitik o‘zgarishlarida ishtirok etuvchi fermentlarni konsentratsiyasini oshiradi, xolesterin esa, uning sintezida ishtirok etuvchi birinchi fermentni sintezini bosib qo‘yadi (repressiya). Eukariotlarda ba’zi-bir genlar, o‘zlarini funksional vazifalaridan kelib chiqqan holda, har xil vaqt oralig‘ida ekspressiya bo‘lib tursa, boshqalari hamisha ekspressiya bo‘lish holatida bo‘ladi. Keyingilarga misol qilib, DNK sintezida va oqsilni gidrolitik parchalanishida (yangilanishida) ishtirok etuvchi fermentlar kiradi. Bu fermentlar konstitutiv bo‘lib, eritrotsitlardan tashqari barcha eukariot organizmlar uchun xarakterlidir. Ko‘plab oqsillar yuqori eukariotlarni alohida organlari (mushak, jigar, buyrak) uchun xarakterli hisoblanadilar. Ammo, alohida genlarni ekspressiyasi muammosi faqatgina ularni to‘qima spetsifikligi bilan hal bo‘lmaydi, chunki, organizmni embrional rivojlanishini dastlabki bosqichida bir genlarni ekspressiya mahsulotlari kerak bo‘lsa, keyingi bosqichida boshqa genlar mahsulotlari kerak bo‘ladi. Demak, eukariot genlarni ekspressiyasi, prokariotlarga qaraganda boshqarishni kengroq mexanizmi bilan tavsiflanadi, jumladan, ba’zi bir genlar doimiy tezlikda ekspressiya bo‘lishi mumkin bo‘lsa (konstitutiv sintez), boshqalari faqat induktor ishtirokidagina ishga tushishlari mumkin (indutsibel sintez) va nihoyat genlarni uchinchi tip ekspressiyasi har xil gormonlar yoki boshqa omillar bilan boshqarilib turilishlari mumkin.

**Ferment produsentlarini seleksiyasi va ularni o‘stirish**. Har qanday sanoat mahsulotini olish bilan aloqador bo‘lgan biologik jarayon, hech bo‘lmaganda ikki holatni hisobga olgan holda yaratilmog‘i lozim. Birinchidan, muayyan mahsulotga xaridor bo‘lishi shart. Ikkinchidan, jarayonni ishlab-chiqarishga tadbiq etish iqtisodiy foyda keltiradigan bo‘lishi kerak. Xaridor bor, kerakli ferment olish uchun tegishli manba bor bo‘lgan holatda, yechimini topish kerak bo‘lgan bosh masala fermentni ishlab-chiqarish texnologiyasini samaradorligini oshirish va shu tarzda ishlab chiqariladigan mahsulot iqtisodiy asoslangan bo‘lishi lozim.

Sanoat sharoitida fermentlar har xil biologik manbalardan (hayvon to‘qimalari, o‘simlik hujayralari, mikroorganizmlar) olinishi mumkin. Ammo, eng yaxshi manba mikroorganizmlar ekanligi tan olingan. Bu fikr quyidagi dalillar bilan isbotlanadi:

Birinchidan, mikrob kulturalari seleksiyasiga (birlamchi seleksiya, mutatsiya, gen muhandisligi) bo‘lgan zamonaviy usullar va o‘sish sharoitini optimizatsiya qilish har qanday mikrob fermentini biosintezini oshirishga imkon yaratadi.

Ikkinchidan, sanoat sharoitida ishlatiladigan shtamm-produsent, ferment sintezini boshqarishni shunday tizimiga ega bo‘lish kerakki, produsent o‘zini fiziologik ehtiyojidan ko‘proq miqdorda sintez qilish imkoniyatiga ega bo‘lsin.

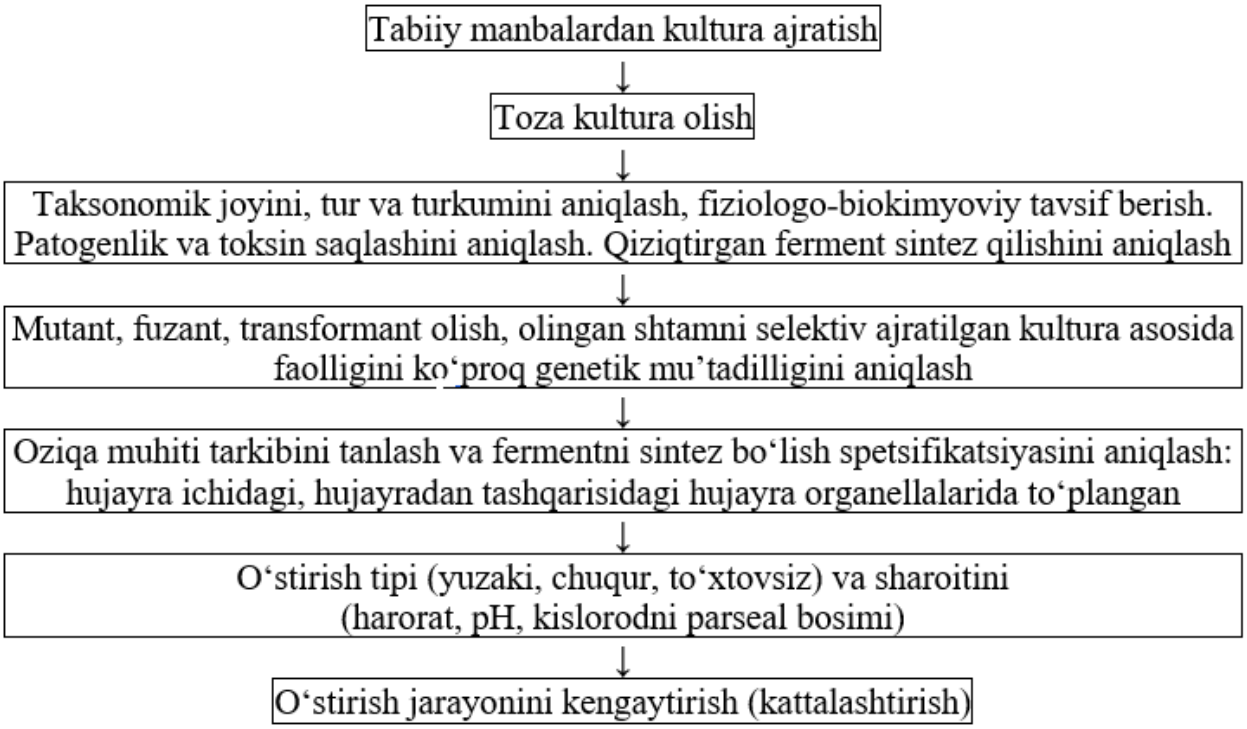
Uchinchidan, mikroorganizmlarni o‘stirish jarayoniga fasl faktorini ta’siri umuman bo‘lmasligi shart.

To‘rtinchidan, har xil taksonomik guruhga mansub bo‘lgan mikroorganizm-produsentlar uchun fermentlarni keng spektori biosintezi xarakterlidir. Boshqacha qilib aytganda produsentlar kerakli fermentlarni sintez qila oladilar.

Mikroorganizmlarni juda ham ko‘p sonli ekanligi va gen muhandisligini imkoniyatlari bilan qo‘shilib, har qanday texnologiyalar va boshqa maqsadlar uchun ferment tanlashni ideal imkoniyatlarini yaratadi. Boshqalarga o‘xshamagan katalitik xossalarga ega bo‘lgan ferment yaratish mumkin (oqsil muhandisligi). Bu

fermentlarni sanoat jarayonlarida ishlatishda, ayniqsa tibbiyotda ishlatishda katta ahamiyatga ega bo‘ladi. Mikroorganizm fermentlari biosintezini kuchayishi yoki yangi, unikal xususiyatlarga ega bo‘lgan fermentlar sintezini paydo qilish, tegishli genlarni klonlash natijasida tashkil qilish mumkin. Shu maqsadda, genetik yaxshi o‘rganilgan organizmlar: *Escherichia coli, Bacillus subtilus, Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus oryzae, Phanerochaete chrysosporium* va boshqalardan keng foydalaniladi. Gen va hujayra muhandisligi usullaridan foydalanish mikroorganizmlarda ferment produsentlari sifatida katta imkoniyatlar ochib beradi.

Mikroorganizmning sanoat kulturasi, raqobatbardosh bo‘lishi uchun quyidagi xossalarga ega bo‘lishi kerak: arzon oziqa muhitida, katta hajmda katta miqdorda (hujayrada yoki kultural suyuqlikda) ferment to‘plashi; sanoat miqyosida o‘stirilganda toksinlik va patogenlik xususiyatiga ega bo‘lmaslik; hosil bo‘ladigan ferment ishlatilish sharoitiga qarab yuqori stabillikka yoki labillikka ega bo‘lishi; produsent (ko‘pincha mutant yoki transformant bo‘lishi mumkin) asosiy fermentni konstitutiv mexanizm asosida sintez qilishi; o‘stirish vaqtini iloji boricha kamaytirishi va metabolitlarni ferment faolligiga salbiy ta’sirini iloji boricha kam bo‘lishi kerak.




**14-rasm.** Tabiiy manbalardan sanoat shtammlari olish uchun bajarilishi lozim bo‘lgan ishlar ketma-ketligi

Yuqoridagilar sanoat fermentlari uchun qo‘yiladigan talablarni hammasi emas, chunki har bir shtamm o‘ziga xos bo‘lgan tavsifga ega va ularni sanoat sharoitida e’tiborga olmaslik imkonsiz. Mutaxassislarni fikricha, sifatan farq qiladigan mikroorganizmlar 30-40% ni tashkil qilar ekan, bu esa metabolik yo‘llari biokimyogarlarga noma’lum bo‘lgan fermentlar hozircha ko‘p. Shunday kulturalarni tabiatdan ajratib olish va ularni fiziologo-biokimyoviy xususiyatlarini chuqur o‘rganish, shubhasiz kerakli fermentlar sonini ko‘payishiga olib keladi. Shu nuqtai-

nazardan o‘sish optimumlari odatdagidan farq qiladigan mikroorganizmlar xususan: termofillar, atsidofillar, alkafillar, psixrofillar, galofillar va barofillar katta qiziqish uyg‘otadilar. Shu guruhga kimyoviy tarkibi bo‘yicha juda kambag‘al muhitda o‘sadigan avtotroflar, masalan ligninni oksidlaydigan fermentlar sintez qiluvchi bazidial zamburug‘lar ham kiradi. Termofillar, ekvatorga yaqinroq mamlakatlarda, issiq manbalarda, o‘z-o‘zidan isib ketadigan kompostlarda, cho‘llarni tuproqlarida ko‘proq uchraydilar. Ammo, oddiy tuproqlardan, boshoqli o‘simliklarni urug‘laridan yoki mevalardan ajratilgan fakultativ termofil va hatto termofil mikroorganizmlar ham ma’lum. Psixrofillar ko‘proq shimolda, sovuq mamlakatlarda uchraydi. Past harorat ustivorlik qilib turgan qish faslida bunday mikroorganizmlarni ajratish osonlashadi. Tabiiyki, nordon manbalar (tuproq va ko‘llar) atsidofil kulturalar ajratish uchun qulay hisoblanadilar. Alkalifil kulturalar ko‘proq ohakka boy bo‘lgan tuproqlarda uchraydilar. Ammo, atsedofil va alkalifil mikroorganizmlarni oddiy tuproqlardan ajratilganligi haqida ham ma’lumotlar bor. Sho‘rlangan ko‘llar va tuproqlarda ko‘proq galofil kulturalar yashaydilar. Mana, shunday, odatdan tashqari bo‘lgan joylardan (tuproq, boshoqlar, meva va sabzavotlar) nusxa olib, ulardan kerakli mikroorganizmlarni ajratib olish maqsadga muvofiq bo‘ladi. Shubhasiz, mahalliy tabiiy muhit juda ham xilma-xil mikroorganizmlar manbayi bo‘lib xizmat qiladi, ammo mikroorganizmlarni seleksiyasida kultura kelib chiqqan joyni geografik uzoqligini ham hisobga olishga to‘g‘ri keladi. Masalan, O‘zbekiston biotexnologiyasi uchun mikroorganizmlarni Afrikada yoki Shimoliy muz okeanida qidirish iqtisodiy samara bera oladimi yoki yo‘qmi? Shuning uchun ham maxsus ekspeditsiyalardan tashqari, har xil regionlardan ajratilgan mikroorganizmlar to‘plamidan foydalanish ham tavsiya etiladi. Har qaysi ferment uchun kulturalarni tabiiy manbalardan ajratishdan boshlab barcha seleksion ishlar amalga oshirilmog‘i lozim. Masalan, amilazalar boshoqli o‘simliklarda yashaydigan mikroorganizmlarda faolroq bo‘ladi; sellyulaza va ksilanazalarni o‘simlik chiqindilaridan, o‘rmon tuproqlaridan ajratilgan mikroorganizmlar faolroq sintez qiladi; pektinazalar meva va sabzavotlarni parchalaydigan mikroorganizmlarda, oksidlanish-qaytarilish fermentlari (fenoloksidaza, peroksidaza, lakkaza, monooksigenazalar) tirik o‘simliklar va sabzavotlarda yashovchi mikroorganizmlarda (masalan, bazidial zamburug‘lar) faolroq bo‘ladi. Ba’zida, butun mantiqqa xilof ravishda, kutilmagan joyda u yoki bu fermentni faol produsenti chiqib qolishi ham mumkin. Ferment produsentlarini olish o‘ta murakkab va uzoq davom etadigan jarayon. Amaliyotda har bir produsent 14-rasmda keltirilgan bosqichlardan o‘tishi shart (14-rasm).

**Fermentatsiya uchun oziqa muhitlari tarkibi**. Oziqa muhitni bahosi, ishlab chiqarish sharoitida fermentatsiya jarayoniga ketadigan xarajatlarni 50% dan ko‘prog‘ini tashkil qiladi. Izlanuvchilarni eng asosiy vazifalaridan biri qimmatbaho komponentlarni arzonlariga almashtirishdan iborat. Oziqa muhitini eng muhim komponentlaridan biri uglerod bo‘lib, u butun muhit og‘irligini 50% ni tashkil qiladi. Oziqa muhitini organik qismi ugleroddan tashqari energiya manbayi hamdir. Agar fermentatsiyani spetsifikatsiyasi imkon bersa, uglerod manbayi sifatida lignotsellyulozali mahsulotlar ishlatiladi. Ayniqsa, sellyulazalar, ksilanazalar, lignin parchalovchi fermentlar yoki oqsilga boy bo‘lgan mikrob biomassasini ko‘p miqdorda, katta masshtabda olish uchun mana shunday chiqindilardan foydalaniladi.

Bunda lignotsellyuloza mahsulotlariga dastlabki ishlov (termik, mexanik, kimyoviy yoki fizikaviy) beriladi. Bu jarayon kristallizatsiya, deligniflekatsiyani kamaytirish va hazm bo‘lish samarasini oshirish uchun ishlatiladi. Uglevodlar eng muhim uglerod manbayi hisoblanadi. Ammo tozalangan shakar moddalari juda qimmat turishini hisobga olib, ko‘proq monosaxarid, disaxarid, oligosaxarid va polisaxarid saqlovchi qishloq xo‘jaligi chiqindilaridan boshqa organik birikmalar bilan aralashtirib foydalaniladi. Bunday hollarda substratlarni maydalashdan tashqari, dastlabki ishlov berishni boshqa shakllaridan ham foydalaniladi. Uglerod manbayining boshqa bir turi arpa, bug‘doy va sholi unlari hisoblanadi. Masalan, arpani yuqori harorat ta’sirida o‘sishi to‘xtatilgan o‘stirilgan maysasi-solod juda ko‘plab qimmatbaho oziqa komponentlari saqlaydi (qisman gidrolizlangan kraxmal, past molekulali shakarlar, aminokislotalar, oqsillar) va ko‘p hollarda biomassa miqdorini hamda ferment faolligini oshib ketishiga olib keladi. Ammo, qimmatbaho bo‘lganligi uchun bu manba nisbatan kam ishlatiladi. Mikrobiologiya sanoatida uglerod manbayi sifatida ko‘proq melassa ishlatiladi. Shakar ishlab chiqarishni chiqindisi bo‘lgan bu substrat ko‘p miqdorda glyukoza, fruktoza va saxaroza saqlaydi. Uglerod manbalaridan yana biri – laktoza bo‘lib, u suvda yomon eriydi va juda qiyin gidrolizga uchraydi. Laktoza β-tipga kiruvchi disaxarid bo‘lib, sut zardobida ko‘proq saqlanadi. Laktozani parchalovchi mikroorganizmlar uchun juda ham yaxshi uglerod manbayi hisoblanadi. Laktoza parchalanib, yengil hazm bo‘luvchi glyukoza va galaktoza hosil qiladi. Laktoza β-galaktozidazani induktori hisoblanadi.

Oziqa muhitini tarkibiga kiruvchi eng muhim komponentlardan biri azot hisoblanadi. Mikrobiologik sintez jarayonida azotni organik va noorganik birikmalari ishlatiladi. Ko‘pincha azotni ammoniy tuzlari sifatida ishlatiladi, ammo azotni organik birikmalari ham mikroorganizmlarni o‘sish va rivojlanishini tezlatishi mumkin. Sanoat sharoitida azot manbayi sifatida qon, baliq, araxis va soyadan tayyorlangan un ko‘proq ishlatiladi. Yuqorida ko‘rsatilgan manbalar purin va pirimidin asoslariga, vitaminlarga va o‘stirish omillariga boy bo‘ladilar. Makkajo‘xori ekstrakti organik azotni eng muhim formalaridan hisoblanadi. U makkajo‘xori kraxmali ishlab chiqarishda qo‘shimcha mahsulot hisoblanib, 25%gacha oqsil va aminokislotalar saqlaydi. Oziqa muhitiga mineral tuzlardan fosfat va sulfat tuzlari qo‘shilib, ularni miqdori, fosfat tuzlar uchun 1l ga 1,0 gr, sulfat tuzlari esa 0,5 g ni tashkil etadi. Ko‘pincha oziqa muhitiga metall ionlari, masalan $Mg^{2+}$, $Zn^{2+}$ qo‘shish ham tavsiya etiladi. Mikroelementlar oziqa muhiti tarkibiga kiruvchi boshqa oziqa komponentlarida ham uchraydilar. Xullas, fermentlarni biosintezini kuchaytiruvchi oziqa muhiti tayyorlash, anchagina qiyin va har bir shtammni xususiyatidan kelib chiqqan holda davriy tanlanadigan jarayon hisoblanadi. Bu maqsadda uglerod va azotni har xil manbalaridan foydalaniladi va tajribalar asosida ularni miqdori, bir-birlariga bo‘lgan nisbati tanlanadi. Bu masalani aniqroq va tezroq yechish maqsadida tajribalarni matematik modellash usullaridan foydalaniladi.

Prokariotlar, o‘rtacha 1,5-2,0 soatda o‘zini biomassasini 2 marotaba oshiradi, eukariotlar esa bu jarayonga 1,5-2,0 marotaba ko‘proq vaqt sarflaydilar. Mana shu ko‘rsatkichlardan kelib chiqqan holda inokulyantni miqdori (ekuv materialini miqdori) aniqlanadi. Solinadigan inokulyantni miqdorini aniqlovchi 2-omil, to‘liq sterilizatsiya bo‘lganligiga ishonch yo‘qligi hisoblanadi. Sanoat sharoitida

ishlatiladigan fermentlarni har xil konstruksiyasi bo‘lishiga qaramasdan bu muammo hamon muammoligicha qolib kelmoqda. Oziqa muhitini ifloslanmasligi uchun ko‘proq miqdorda ekuv materiali solishni tavsiya etiladi. Bu, asosiy shtamm, har xil shakldagi ifloslantiradigan omillar (begona mikroorganizmlar) bilan raqobat qila olishini ta’minlaydi. Sanoatda ishlatiladigan mikroorganizmlar ko‘pincha mutantlar, fuzantlar yoki transformantlar hisoblanadilar. Shuning uchun bularni ko‘p sonli generatsiyasi o‘sish jarayonida genetik mustahkam bo‘lmagan shtammlar hisobidan (bunday shtammlar ko‘proq eukariot organizmlarda uchraydi) mahsuldorligini kamayishiga olib kelishi mumkin. Inokulyant tayyorlashni universal chizmasi yo‘q bo‘lsada, ko‘proq quyidagicha tayyorlashni tavsiya etadi: probirkalardan, Petri likopchalaridan yoki liofil quritilgan shtammlar 150 ml dan 1lgacha hajmga ega bo‘lgan kolbalardagi oziqa muhitiga ekiladi. Oziqa muhitini tarkibi yuqorida keltirib o‘tilganidek, har bir shtamm uchun alohida tanlab olinadi. Shtamm o‘z o‘sishini eksponsial fazasiga chiqqanda, 30-500 l hajmdagi unchalik katta bo‘lmagan fermentyorlarga o‘tkazib ekiladi; keyin, o‘sishini statsionar fazasiga chiqqanda, (prokariotlar uchun 8-20 soat, eukariotlar uchun 20-50 soat) boshqa, kattaroq fermentyorlarga (1-5 $m^3$) ekiladi, undan keyin oxirgi, sanoat fermentyoriga (25-100 $m^3$) o‘tkaziladi va o‘stirish davom ettiriladi. Odatda, sanoat sharoitida inokulyat miqdori 5-10%, juda kam holatlarda sanoat fermentyorini 15%ni tashkil etadi. Inokulyantni oxirgi fermentyorga o‘tkazish juda katta e’tiborni talab qiladi. Har qaysi bosqichda shtammni qattiq nazorat qilish lozim. Mikrobiologik sintez davrida bakteriofaglar bilan ifloslanishi xavfi ham bor. Fagolizisni kuzatish oson bo‘lib, u shtammni o‘sishini birdaniga susayib kelishi va hosildorlikni tushib ketishi orqali kuzatiladi.

**Ferment produsentlarini o‘stirish usullari.** Mikrobiologik yo‘l bilan fermentlarni ishlab chiqarishni, iqtisodiy samaradorligini aniqlovchi omillardan biri - mikroorganizmlarni o‘stirish usulidir. O‘stirishni bir necha usullari mavjud: sirtqi (yuzaki), suyuq oziqa muhitida (davriy), osib (juda ham kam ishlatiladi) va oziqa muhitida uzluksiz o‘stirish usullari. Bu usullarni har biri o‘ziga xos bo‘lganligi uchun ham ulardan hozirgacha foydalanib kelinadi.

Mikroorganizmlarni qattiq fazada sirtida, yuzaki o‘stirish juda uzoq tarixga ega. Yaponiyada va Uzoq Sharq mamlakatlarida ivitilgan bug‘doy yoki guruchga tuzlar solib, uy haroratida va steril sharoitda maxsus idishlarda zamburug‘ o‘stiriladi. Shu usulda amilaza, proteaza, pektinaza, sellyulaza va boshqa fermentlar olinadi. O‘tgan asrning 20-yillarida antibiotiklar ishlab chiqarish boshlangan davrda mikroorganizmlarni suyuq oziqa muhitida, chuqurlikda o‘stirish usuli yaratilgan. Bu usuldan foydalanib, fermentlar biosintezini amalga oshirish, dastlabki tajribalarda o‘zini istiqbolli ekanligini ko‘rsatdi va endilikda bu usul boshqalaridan ko‘ra samaraliroq ekanligi hech kimda shubha uyg‘otmaydi. Sanoat fermentatsiyasini asosiy maqsadi energiyadan (o‘stirish harorati, oziqa muhitini sterilizatsiya qilganda va uni aralashtirganda sarflanadigan energiya) unumli va samaraliroq foydalanishdan iborat. Shuning uchun ham oziqa muhitining komponentlarini energetik va oziqaviy bahosi eng muhim omillardan hisoblanadi. Shuningdek, o‘stirish sharoitini tanlash ham katta ahamiyatga ega (harorat, pH, $O_2$ ni parsial bosimi, jarayonni davomiyligi). Sanoat sharoitida mahsulotni tan narxini belgilashda, fermentatsiyadan tashqari,

oziqa muhiti komponentlarini bahosi, energiya sarflari, xizmatchilarni mehnat xarajatlari, apparatlarni ishlatishdagi xarajatlar va boshqa muayyan jarayon bilan aloqador bo‘lgan xarajatlar e’tiborga olinadi. Laboratoriyada sanoat sharoitiga o‘tishda paydo bo‘ladigan yana bir muammo haqida eslab o‘tish o‘rinlidir. Sanoat sharoitiga o‘tkazishni asosiy mohiyati, asosiy konstruktiv elementlarni hajmini aniqlash, fermentyorlarni ishlash rejimini tanlash, mikroorganizmlarni yaxshi o‘sib, rivojlanishi uchun zarur bo‘lgan aralashtirish sharoitlarini, issiqlik va massa almashinuvi hamda boshqa ko‘rsatkichlarni to‘g‘ri tanlash asosida fermentyorlarni faoliyatini oldindan belgilangan holatga chiqarishdan iborat. Hozirgi vaqtda jarayonni kattalashtirishni ko‘p sonli mezonlari va ko‘rsatkichlari ma’lum. Ammo, ko‘pchilik hollarda, ular barcha ko‘rsatkichlarni mujassamlashtirmasdan, bor-yo‘g‘i ikki-uch ko‘rsatkichlar bilan chegaralanadi. Shuning uchun ham asosiy kriteriya sifatida aeratsiya darajasi ko‘rsatkichlari qabul qilingan. Odatda 2 faktor qarab chiqiladi: suyuqlik bilan birga kislorod kirish tezligi va uni gazli fazadan massa uzatishi, hamda mikroorganizmlarni kislorod qabul qilishi tezligi va uni ishlatilgan suyuqlik bilan chiqib ketishi.

Kislorodni gazli fazadan suyuqlikka o‘tishi adsorbsiyaning hajmiy tezligi orqali belgilanadi. Suyuq fazada kislorodni konsentratsiyasini o‘zgarishi quyidagi tenglama bilan belgilanadi:

$$dC/dt=KL_a(C_p-C)$$

bu yerda: $L_a$-kislorod bo‘yicha massa uzatishni hajmiy koeffitsiyenti; $C_p$ -muhitda kislorodni tenglik konsentratsiyasi; C-muhitda kislorodni o‘sha (qisqa) davrdagi (nuqtadagi) konsentratsiyasi. $KL_a$ kattaligi gaz-suyuqliq chegarasida massa uzatishni hajmiy koeffitsiyenti.

Hujayra sirtidagi kislorodni o‘lchash imkoniyati bo‘lmaganligi sababli, chegaradagi massa uzatish, $QO_2$ muhiti hajm birligida mikrob hujayralarini kislorod yutishini ko‘rsatkichlari yoki $qO_2$ biomassa birligi bilan tavsiflanadi. Agar kislorodni kirishi, uni ishlatilishi bilan barobar bo‘lsa, va muhitda kislorodni konsentratsiyasi doimo bir xil tursa:

$$dC/dt=KLa(C_p-C)-QO_2=0$$

Bu yerda: $QO_2=qO_2x$; $qO_2$-biomassa birligida kislorod yutishni solishtirma tezligi; X-biomassaning konsentratsiyasi.

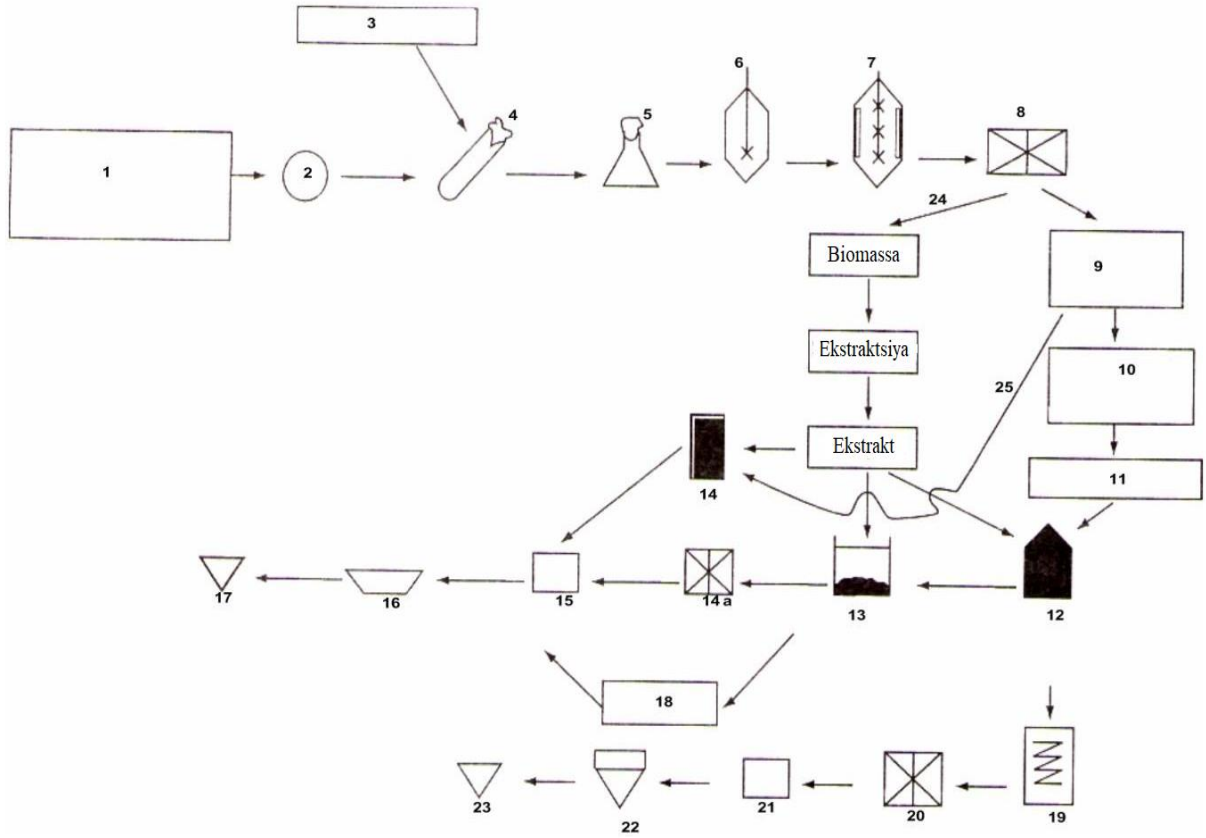
**Hujayradan tashqaridagi fermentlar**. Ekzogen yoki hujayradan tashqarida uchraydigan fermentlarni ajratib olish osonroq va iqtisodiy arzonroq bo‘lganligi uchun ham, ularga bo‘lgan e’tibor kuchliroq. Sanoatda ishlatiladigan produsentlarni ferment sekretsiya qilish mexanizmlarini o‘rganish va bu jarayonni kuchaytirish yo‘llariga bag‘ishlangan maqolalar juda ko‘plab chop etilgan. Ma’lumki, hujayradan tashqariga chiqadigan fermentlar, hujayra ichida qolib faoliyat ko‘rsatadigan fermentlarga qaraganda, murakkabroq induksiya (biosintezni kuchayishi) mexanizmiga ega. Hujayradan tashqarida faoliyat ko‘rsatadigan fermentlarni (proteaza, amilaza, sellyulaza, ksilanaza, lipaza, nukleaza) substratlari yuqori molekulyar og‘irlikka ega bo‘lib, hujayra ichiga kira olmaydilar. Shuning uchun ham hujayra bunday substratlarni oziqa muhitida topib olishi va ularga tegishli fermentlar

sintez qilish bilan munosabat bildirishi kerak. Ferment sekretsiyasining yana bir o‘ziga xos bo‘lgan xususiyati, ularni hujayra membranalari orqali o‘tishidir. Fermentlarni sekretsiyasini har xil taksonomik guruhlar hamda oqsillarni har biri uchun har xil bo‘lgan (bir-birlaridan farq qiladigan), doimiy konstitutiv (unchalik ko‘p bo‘lmagan) tezligi bor degan taxminlar ham ilmiy adabiyotlardan ma’lum. Suyuq oziqa muhitida o‘stirilgan mikroorganizmlar biomassasida fermentlar hujayra ichida (endogen) yoki hujayra tashqarisiga chiqadigan mahsulotlar sirasiga kirishi mumkin. Produsentlar, o‘zlarini sekretor tizimlari orqali kultural suyuqlikka katta molekulyar massaga ega bo‘lgan oqsillarni, jumladan, fermentlarni ajratib turadilar. Bu xususiyat ko‘plab eukariot va prokariot organizmlarda genetik jihatdan belgilangan (determinatsiya qilingan). Hujayradan tashqaridagi oqsillarni texnik preparatlar sifatida ajratish, ularni tozalash, immobilizatsiya qilish, kapsulalarga joylashtirish va boshqa jarayonlar hujayra ichida joylashgan fermentlarga qaraganda ancha arzon. Ma’lum fermentlarni sintez qilish va keyin ularni hujayra membranalari orqali tashqariga chiqarish xususiyati har xil taksonomik guruhga mansub bo‘lgan mikroorganizmlar (bakteriyalar, achitqilar, zamburug‘lar) orasida ko‘plab uchraydi. Ko‘proq hujayra tashqarisida faoliyat ko‘rsadigan fermentlar polimer substratlarga ta’sir etib, ularni qisman yoki to‘la parchalab, qo‘shimcha uglerod manbayi to‘plab beradigan fermentlar hisoblanadilar. Bunday fermentlar faoliyat ko‘rsatishlari uchun kofaktorlarga muhtojlik sezmaydilar. Yuqorida aytib o‘tilganidek, fermentlarni hujayra membranalaridan o‘tish xususiyati shunchalik o‘ziga xos, murakkab muammo kerakli xususiyaki, kerakli produsentlarni seleksiya qilishda nafaqat u yoki bu fermentni biosintezini, balki sekretsiya qilish xususiyatini oshirish masalasi birinchi qilib qo‘yiladi.

Hujayra ichidagi fermentlarni ko‘pchiligi ham ularni ekstraksiya qilib ajratib olish biroz murakkabroq bo‘lishiga qaramasdan, ajratib olinadi va ishlatiladi. Shunday fermentlardan tibbiyotda va oziq-ovqat sanoatida glyukozani aniqlash uchun keng ishlatiladigan glyukozooksidaza hamda har xil shishlarni davolashda ishlatiladigan asparaginaza, antibiotiklarni transformatsiyasida ishtirok etuvchi-penitsillinatsilaza fermenti va boshqalardir.

**Ferment preparatlarini ajratish**. Hujayra ichidagi va hujayra tashqarisiga chiqadigan fermentlarni ajratib olish va ularni tozalashni dastlabki bosqichida juda ham katta farq bor. Biomassani kultural suyuqlikdagi metabolitlardan, jumladan hujayra tashqarisiga chiqqan fermentlardan ajratish jarayoni unchalik murakkab bo‘lmasdan, sentrifuga, separator, hattoki, oddiy filtrlash (zamburug‘lar uchun) orqali amalga oshiriladi. Oqibatda kimyoviy tarkibi bo‘yicha xilma-xil metabolitlar saqlovchi kultural suyuqlikni filtrati biomassadan ajratib olinadi. Odatda, filtrat ajratiladigan fermentni 80%ga yaqinroq bo‘lgan faolligini saqlaydi va keyingi texnologik manipulyatsiyalarga tayyor eritma hisoblanadi. Hujayra ichidagi fermentlarni ajratib olish uchun biomassa, unda sorbsiya bo‘lib qolgan komponentlardan tozalash uchun distillangan suv yoki juda ham suyultirilgan bufer bilan bir necha marotaba yuvib tashlanadi. Hujayra strukturasini buzib, ichidagi fermentlarni ajratib olish uchun har xil usullardan foydalaniladi: mexanik (sharikchalar yordamida buzish; kvars qumlari bilan artish), fizik (ultratovush,

gidravlik qimirlatish, muzlatib-eritish) va boshqalar. Buzilgan biomassadan fermentni pH ko‘rsatkichi fermentga to‘g‘ri keladigan suyultirilgan bufer yordamida amalga oshiriladi. Hujayrani buzilgan qismlari sentrifuga yordamida ajratiladi. Nuklein kislotalar fermentlar yordamida parchalanadi yoki yuqori molekulali kationlar yordamida cho‘ktiriladi. Bu operatsiya ayniqsa nuklein kislotasi ko‘proq bo‘lgan bakteriyalar va achitqilardan (ularda nuklein kislotalar miqdori biomassadan 8-12% ni tashkil qiladi) ferment ajratishda albatta qo‘llaniladi. Shunday qilib, kultural suyuqlikni filtrati (hujayradan tashqaridagi fermentlar ajratish uchun) va hujayra ichidagi fermentlar ekstrakti tayyor bo‘ladi. Bu ikki eritma bir-biridan nima bilan farq qiladi? Hujayra tashqarisidagi filtrat odatda 15-20 ta har xil oqsillar saqlaydi, hujayra ekstraktida esa oqsil spektri ancha ko‘proq bo‘ladi.




**15-rasm.** Ferment preparatlarini mikroorganizm kulturalaridan olish jarayonining umumiy chizmasi (Bunda: 1-Tabiiy manbalardan ajratish: tuproq, hosil (meva), hayvon organizmlari, 2-Toza kultura ajratish, 3- Muzey kulturasi, 4- Agarli muhitda sahlash, 5-Tebratgichlarda kolbalarda o‘stirish, 6- Inokulyant tayyorlash uchun fermentyor, 7-Asosiy fermentatsiya, 8-Filtrlash tizimi, 9-Filtrlangan kultural suyuqlik, 10-Organik erituvchilar bilan ekstraksiya qilish, 11- Fraksiyalarga ajratish, 12- Konsentrlash (vakuum-quyultirish, membranalar), 13-Organik erituvchilar yoki noorganik tuzlar yordamida cho‘ktirish, 14-Ion almashinuv tozalash tizimi, 14a-Filtratsiya, separatsiya, 15-Standartatsiya, 16-Vakuumda yoki sublimatsiya yo‘li bilan quritish, 17-Qadoqlash, 18-Dializ, 19-Cho‘ktirish, 20-Filtratsiya, 21-Standartatsiya, 22-Purkab quritish, 23-Qadoqlash, 24-Hujayra ichidagi fermentlar, 25-Hujayra tashqarisidagi fermentlar)

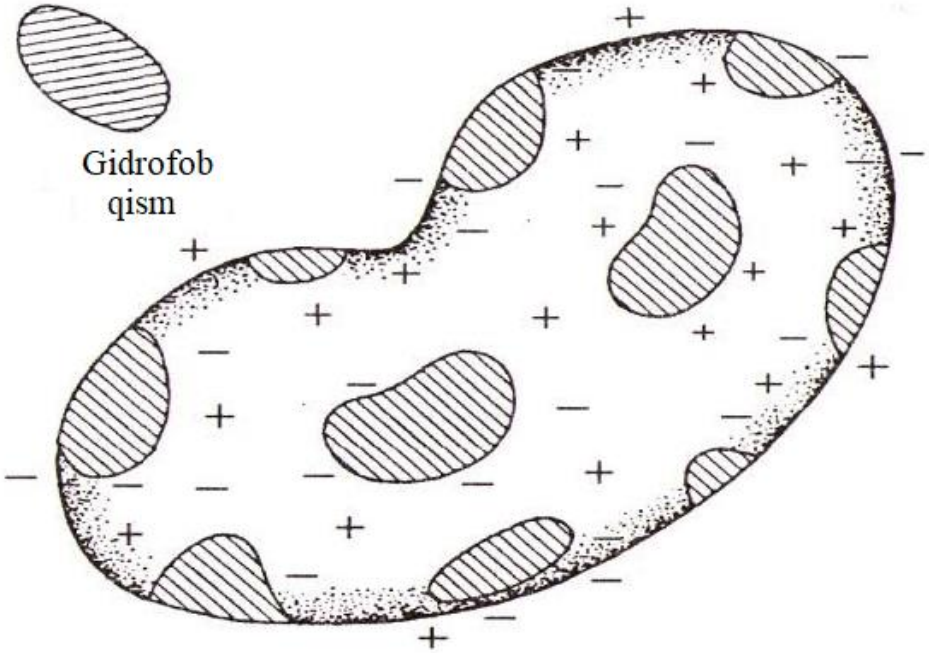
Ko‘pincha, tiniq holatdagi ferment eritmasi vakuumda parlatish orqali yoki ultrafiltratsiya yo‘li bilan quyultirib olinadi. Bu usullar ferment eritmasini 5-15 marotaba quyultirib olish imkonini yaratadi. Quyultirilgan ferment eritmalari asbest yoki sellyuloza filtrlaridan o‘tkazilib, tozalab olinadi. Kommersiya uchun tayyorlangan ferment konsentratlariga stabilizatorlar (osh tuzi, benzoatlar, sorbinatlar, ba’zida metall ionlari) solinadi. Agar zarur bo‘lsa suyultiriladi. Quruq holatdagi ferment preparatlari olish uchun organik erituvchilar (etil spirti, izopropil spirti, atseton) yordamida (1 hajm ferment konsentratiga 2-4 hajm organik erituvchi hisobidan) yoki noorganik tuzlar (ammoniy sulfat yoki sulfat natriy) yordamida cho‘ktiriladi, cho‘kma sentrifuga yordamida ajratilib, vakuumda quritiladi. Quritilgan preparatlar havonchada maydalanib, unga qo‘shimcha moddalar (kraxmal, dekstrinlar, ksiloza, osh tuzi yoki boshqa inert qo‘shimchalar) qo‘shib standartlanadi. Ko‘pincha ferment preparatlari (suyuqlikda quruq modda miqdori 15% dan ko‘proq bo‘lsa) purkab quritiladi.

Yuqori tozalikka ega bo‘lgan ferment preparatlari olish uchun xilma-xil xromatografik usullardan: ion almashinuv, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi va gel filtratsiya usullaridan foydalaniladi. Har bir fermentni fizik-kimyoviy va enzimologik xususiyatlaridan kelib chiqqan holda, tozalash usullari tanlab olinadi va unda tanlangan usulni samaradorligi, arzonligi, tez vaqtda amalga oshirish mumkinligiga e’tibor beriladi.

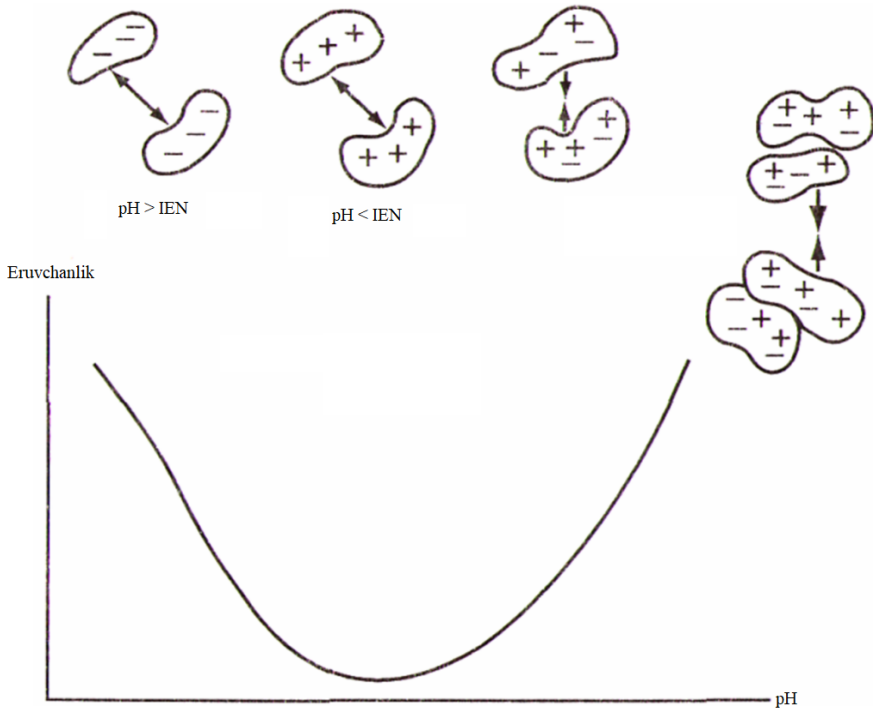
O‘simliklardan, hayvonlardan va ayrim mikroorganizmlardan ajratilib, oziqa tarkibiga kiruvchi fermentlar zararsiz deb topilgan. Boshqa fermentlar uchun esa (asosan mikroorganizmlar fermentlari) zaharliligi aniqlanishi shart. Bunga sabab, ferment preparatlari tarkibida allergik reaksiya beruvchi oqsil moddalar, mixotoksinlar va boshqa zaharli oqsillar uchrashi mumkin. Mikroorganizmlarni suyuq oziqa muhitida o‘stirib, ferment olishni standart chizmasi 15-rasmda ko‘rsatilgan.

**Tabiiy birikmalarni ajratishning asosiy usullari**. **Oqsillarni cho‘ktirish**. Cho‘ktirish - oqsil ajratish va tozalashni qadimgi usullaridan bo‘lib, hozirgacha keng ishlatiladi. Bu usulni qator variantlari ma’lum bo‘lib, ularni asosini tizimni har xil parametrlarini o‘zgarishi tashkil qiladi. Masalan, harorat, ion kuchi, pH, dielektrik tavsif va boshqalar shular jumlasidandir. Cho‘ktirish ferment preparatlarini quyultirishni eng samarali usullaridan hisoblanadi. Bu usuldan foydalanish, ferment eritmasini hajmini keskin kamaytiradi.

Laboratoriya sharoitida cho‘ktirishni juda ko‘p xilma-xil usullari ma’lum. Katta hajmli jarayonlarda esa asosan 5 xil cho‘ktirish usullaridan foydalaniladi. Bular: tuzlash, organik erituvchilar yordamida cho‘ktirish, izoelektrik nuqtada cho‘ktirish, ionsiz polimerlar yordamida cho‘ktirish va polielektrolitlar bilan cho‘ktirishdir. Oqsil molekulasi yuzasini gidrofilli va gidrofobli qismlarga bo‘linishi, oqsilni har xil erituvchilarda eruvchanligini aniqlab beruvchi belgi hisoblanadi. Garchan gidrofobli guruhlar oqsil molekulasininng ichida to‘planishga intilsalarda, ulardan bir qismi molekula sirtida qoladi va erituvchilar bilan kontaktda bo‘ladi (16-rasm).




**16-rasm**. Oqsil molekulasi yuzasida zaryadlarni va gidrofob qismini joylashishi




**17-rasm**. Globulin xususiyatiga ega bo‘lgan oqsilni pH ko‘rsatkichlari izoelektrik nuqtaga yaqinlashgandagi eruvchanligi

Boshqa zaryadlangan polyarli guruhlar bilan birga, molekula yuzasidagi gidrofob guruhlar oqsillarni eritmadagi hususiyatlarini aniqlashda katta rol o‘ynaydi. Oqsilni eruvchanligi erigan modda bilan suvli erituvchini qaramaqarshi (polyar)

o‘zaro ta’siri va uning muhit tarkibidagi tuzlar bilan ionli o‘zaro ta’siridir. Agar oqsilni yuzasi yuqori gidrofoblikka ega bo‘lsa, uning juda kam qismi erituvchi bilan o‘zaro ta’sirda bo‘ladi va shunga tegishli ravishda kam miqdorda zaryadlangan guruh tuz bilan munosabatda bo‘ladi. Agar zaryad nolgacha pasaysa, elektrostatik itarish kamayadi va izoelektrik nuqtaga yaqinlashgan sari molekulyar birbirlariga yaqinlashib boradi (17-rasm). Bunday jarayon izoelektrik cho‘kish deb ataladi.

*Tuzlanish***.** Tuzlash yoki tuzlanish cho‘ktirishni eng keng tarqalgan usullaridan biri hisoblanadi. Bu usulni mohiyati oqsil eritmasiga yuqori konsentratsiyada neytral tuz solish bilan bog‘liq. Oqsil molekulasi elektrostatik kuchlar va gidrofobli o‘zaro ta’sir orasidagi tenglik hisobida suvda erigan holatda tura oladi deb taxmin qilinadi. Oqsillarni cho‘ktirish uchun har xil tuzlar ishlatiladi: nitratlar, fosfatlar, sulfatlar va xloridlar. Yuqoridagi tuzlarni tuzlash samarasi pasayishi bo‘yicha keltirildi. Bu ro‘yxatda fosfatlar sulfatlarga nisbatan samaraliroq deb ko‘rsatilgan bo‘lsada bir narsaga e’tibor berish lozim. Odatda, pH ko‘rsatkich neytral bo‘lganda fosfatlar $HPO_4^{2-}$ va $H_2PO_4^-$ ionlari aralashmasi holatida bo‘ladi, bunga esa $PO_4^{3-}$ ga qaraganda samarasi pastroq. Kationlar oqsillarni cho‘kishiga ta’siri quyidagicha bo‘lishi aniqlangan:

$$NH_4^+ > K^+ > Na^+$$

Tuz tanlayotganda pHga e’tibor berish lozim. Masalan, natriy nitratdan pH 8,0 dan baland bo‘lganda foydalanish mumkin. Ammoniy tuzlaridan pH ko‘rsatkichi baland bo‘lganda foydalanish mumkin emas, bunday sharoitda ularni buferlik ta’siri halaqit qiladi. Xuddi shu sababli sitrat tuzlaridan pH 7,0 dan past bo‘lganda foydalanish ham mumkin emas. Laboratoriya amaliyotida ko‘proq ammoniy sulfatdan foydalaniladi, chunki u hatto past haroratda ham yaxshi eruvchanlik xususiyatiga ega. Sulfat ammoniyni bahosi ham boshqa tuzlarga nisbatan baland emas, shunday bo‘lishiga qaramasdan katta hajmdagi ishlab-chiqarishda undan foydalanish cheklab qo‘yilgan. Bunga sabab ammoniy sulfat tuzining eritmasi metallarda korroziya chaqiradi, betonni buzadi, bu esa chiqindilarni utilizatsiya qilishdek qo‘shimcha muammoga olib keladi. Bundan tashqari bu tuzni cho‘ktirilgan oqsildan butunlay ajratish juda ham qiyin. Ammoniy sulfatdan laboratoriya sharoitida qutilish uchun dializ yoki gelfiltratsiya usullaridan foydalaniladi. Ammoniy sulfatni natriy sulfat bilan almashtirish ham mumkin, ammo bu tuzni eruvchanligini ta’minlash uchun oqsil eritmasini haroratini 35-40$^oC$ gacha ko‘tarishga to‘g‘ri keladi. Shuni ham aytib o‘tish zarurki, tuzni eruvchanligini haroratga bog‘liqligidan foydalanib, uni oqsil eritmasini haroratini pasaytirish orqali regeneratsiya qilib olish mumkin. Ammo, bunda tuzni kutilmaganda kristallizatsiyaga tushib, issiq almashtirgichlarni berkitib qo‘yishidan ehtiyot bo‘lish zarur. Sanoat sharoitida boshqa tuzlardan foydalanish iqtisodiy ko‘rsatkichlar bilan belgilanadi. Oqsillarni cho‘ktirish jarayonni davriy rejimda samaraliroq bo‘ladi. Eritmani to‘yinish darajasi empirik yo‘l bilan tanlanadi. Oqsil cho‘ktirishda ammoniy sulfatni konsentratsiyasi to‘liq to‘yinishga nisbatan 20-60% ni tashkil etadi. Ammoniy sulfat oqsil eritmasiga maydalangan kukun yoki to‘yingan eritma holatida qo‘shilishi mumkin. Eritma hajmini ko‘paytirish mumkin bo‘lmagan holatlarda kukundan foydalaniladi. To‘yingan eritmadan tozalashni oxirgi bosqichlarida foydalanish maqsadga muvofiq natijalarga olib keladi. Tuzni to‘yingan eritmani qo‘shilishi yaxshi aralashtirish orqali

amalga oshiriladi. Tuzni birdaniga emas, balki bo‘lib-bo‘lib ishlatish, birinchi qismi butunlay erib bo‘lganidan keyingina keyingisini qo‘shish tavsiya qilinadi. Oxirgi bo‘lagini solingandan so‘ng yana 15-20 min aralashtirib turish, fraksiyalarni toza ajralishiga olib keladi. Ammoniy sulfat bilan cho‘ktirishdan oldin oqsil eritmasini og‘ir metallarni, ayniqsa temir tuzlaridan tozalash tavsiya etiladi. Buning uchun eritmaga metallni o‘ziga bog‘lab oluvchi agentlar, masalan EDTA (etilen diamintetraatsetat) qo‘shish mumkin. Eritma tarkibidagi ammoniy sulfatni miqdori to‘la to‘yinganlikni 1,0 ga teng qilib olgan holda, uning bir qismi, masalan, 0,2; 0,3; 0,5; 0,7 deb belgilanadi. Belgilangan to‘yinish darajasidagi ammoniy sulfatni miqdori quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$x = \frac{0,515\,V(C_2 - C_1)}{1 - 0,272 \cdot C_2}$$

Bu yerda, V-$C_1$ to‘yinishiga teng bo‘lgan ammoniy sulfat saqlovchi eritmani hajmi; $C_2$-maqsadli bo‘lgan to‘yinish darajasi; X-to‘yinish ($C_2$) uchun zarur bo‘lgan ammoniy sulfat miqdori.

Agar oqsilni cho‘ktirish ammoniy sulfatni to‘yingan eritmasi yordamida bajarilsa, uning 100 ml ferment eritmasiga qo‘shiladigan hajmi (V) quyidagi tenglama asosida topiladi:

$$V = \frac{100 \cdot (C_2 - C_1)}{1 - C_2}$$

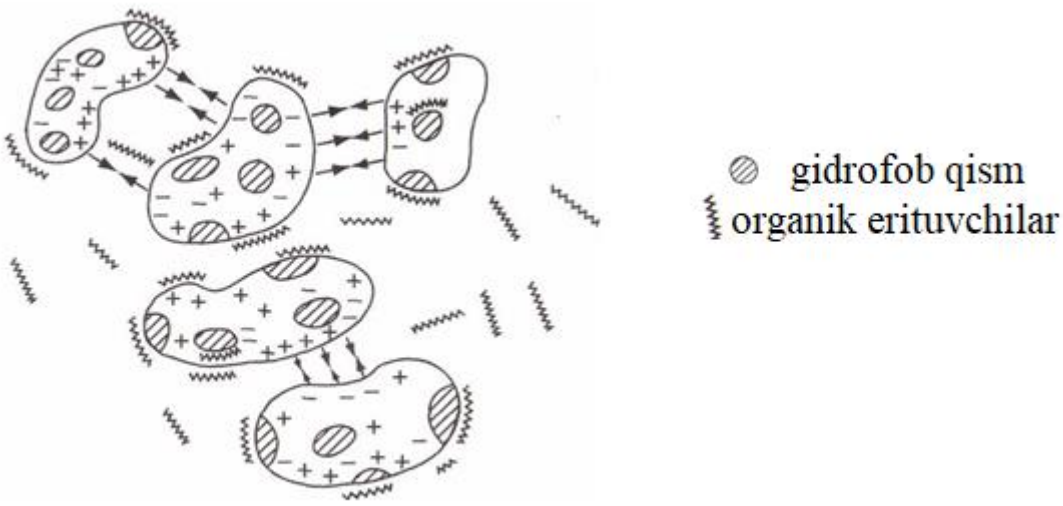
Bu yerda, $C_1$-dastlabki, $C_2$-kerakli bo‘lgan to‘yinish darajasi.

$C_1$ va $C_2$- o‘ndan bir qism deb izohlanadi. Ammoniy sulfat bilan to‘yintirilgandan keyin olingan alohida fraksiyalarni fermentativ faolligi faqat cho‘kma tushib, fraksiya ajratib olinib, juda ham kam miqdordagi buferda eritilib olingandan keyingina aniqlanadi. Aniq natijalar olish uchun cho‘kmadan eritilib olingan fermentni sefadeksdan o‘tkazilib, ammoniy sulfatdan butunlay tozalab olish tavsiya etiladi. Tajriba oxirida, amaliyot uchun tavsiya taklif qilinadi, chunki 25% gacha to‘yintirilganda (yoki 0,25) kichik bo‘lakchalar hamda juda ham yuqori molekulyar og‘irlikka ega bo‘lgan oqsillar va ularni agregatlari cho‘kmaga tushadilar.

*Oqsillarni organik erituvchilar bilan cho‘ktirish***.** Oqsillarni cho‘ktirishni bu usuli ko‘plab katta hajmdagi jarayonlar asosida yotadi. Samarali ta’sir ko‘rsatish uchun organik erituvchi suv bilan yaxshi aralashishi, ya’ni gidrofil tabiatli bo‘lishi kerak. Organik erituvchini asosiy samarasi - oqsilni o‘rab turgan suvni solvatirlash xususiyatini pasaytirishga asoslangan. Buni erituvchini dielektrik doimiyligini pasaytirish bilan tushuntirish mumkin. Oqsil molekulasi yuzasidagi gidrofob qismlarda tartibli joylashib olgan suv molekulalari, organik erituvchini molekulalari bilan almashishlari mumkin, bu esa mana shu qismlarini nisbatan yuqoriroq “eruvchanlikka” olib keladi. Kuchli gidrob tabiatli oqsillar 100% li organik erituvchida ham erish xususiyatiga ega. Oqsilni izoelektrik nuqtasiga yaqinroq sharoitda, ularni cho‘kishi organik erituvchini kamroq konsentratsiyasida sodir

bo‘lishi kuzatilgan. 18-rasmda oqsil molekulalarini suv bilan organik erituvchi aralashmasidagi holati sxemasi keltirilgan.

Bunda, agregatsiya oqsillar yuzalaridagi qarama-qarshi zaryadlangan qismlar orasidagi o‘zaro ta’sir natijasida sodir bo‘ladi. Organik erituvchilar bilan cho‘kishga ta’sir ko‘rsatadigan omillardan eng muhimi oqsil molekulasini katta yoki kichikligidir. Oqsilni molekulyar og‘irligi qanchalik katta bo‘lsa, uni cho‘ktirish uchun shunchalik kam organik erituvchi sarflanadi.




**18-rasm**. Suv bilan organik erituvchi aralashmasida oqsilni agregatsiyasi

Texnologik jarayonni amalga oshirish uchun organik erituvchini tanlash eng muhim vazifalardan biri hisoblanadi. Erituvchi suv bilan yaxshi aralashishi, oqsilga ta’sir etmasligi va yaxshi cho‘ktirish xususiyatiga ega bo‘lishi kerak. Amaliyotda bir necha erituvchidan keng foydalaniladi. Bular metanol, etanol, izopropanol va atseton. Yuqori zanjirli spirtlar, past zanjirlilarga qaraganda oqsillarni ko‘proq denaturatsiya qilish xususiyatiga egalar. Spirtlar orasida etanol oqsillarni eruvchanligiga kam ta’sir qiluvchi, shu tufayli denaturatsiyani eng kam miqdorga tushirish xususiyatiga ega bo‘lganligi uchun ham amaliyotda keng qo‘llaniladi. Undan keyin atseton va izopropanol turadi.

Fraksiyalarga ajratilishi lozim bo‘lgan oqsil preparati 0 $^{o}$C gacha sovutiladi. Oqsil konsentratsiyasi 1ml ga 5 dan 30 mg gacha bo‘lishi yaxshi natija beradi. Kerakli miqdorda organik erituvchi qo‘shilgandan keyin, aralashtirish jarayonini yana 10 min davom ettirish, cho‘kmani sentrifuga yordamida ajratib olib, tezda tegishli buferda eritib olish tavsiya etiladi.

*Izoelektrik cho‘ktirish***.** Bu usul oqsilni izoelektrik nuqtasida eruvchanligini pasayishiga asoslangan. Ma’lumki, izoelektrik nuqta oqsil molekulasini zaryadlarini yig‘indisi nolga teng bo‘lgan sharoitdagi pH ko‘rsatkichiga to‘g‘ri keladi. Bu nuqtada oqsilni gidratatsiya darajasi eng kichik, bu esa oqsil-oqsil orasidagi o‘zaro ta’sirni kuchaytiradi va oqibatda oqsilni cho‘kishga olib keladi. Bu usuldan foydalanishdagi asosiy qiyinchilik, oqsilni faqatgina qisqa diapazondagi pH ko‘rsatkichida mu’tadilligi bilan bog‘liq. pH ko‘rsatkichi ekstremal bo‘lganda oqsil tez

denaturatsiyaga uchraydi. Bu usulni samaradorligi unchalik katta bo‘lmaganligi uchun amaliyotda kam qo‘llaniladi.

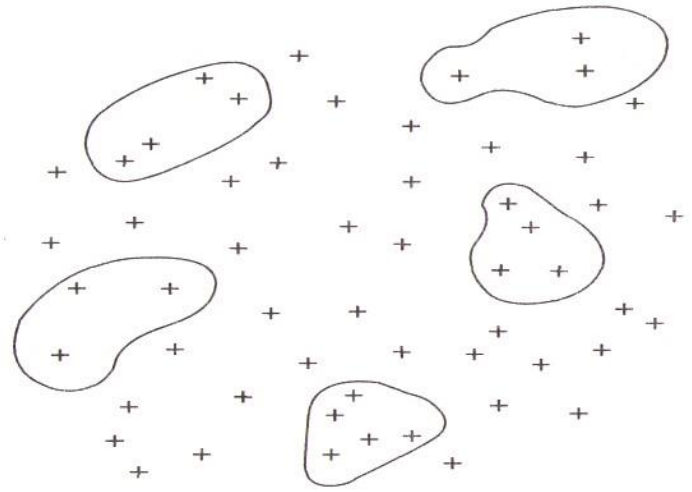
*Ionsiz polimerlar bilan cho‘ktirish***.** Oqsilni cho‘ktirish uchun ishlatiladigan eng ko‘p tarqalgan yuqori molekulali polimerlardan biri polietilenglikol hisoblanadi. Bu usulni boshqalardan ustivorligi, cho‘ktirish jarayonini xona haroratida o‘tkazish mumkinligi, chunki polimerlar oqsillar bilan juda ham sust o‘zaro aloqaga kirishadilar. Ko‘pchilik oqsillarni cho‘ktirish uchun nisbatan unchalik katta bo‘lmagan polimer konsentratsiyasi (5-15% og‘irlik/hajm). Bundan ko‘proq konsentratsiya yopishqoq bo‘lib, jarayonni olib borishda qiyinchiliklar tug‘diradi, masalan ultrafiltratsiyada ishlatiladigan membranalarni teshikchalari bitib qolishi mumkin. Tuzlar yordamida cho‘ktirish, ion-almashinuv, affin xromatografiyalari, gel-filtratsiya uchun polimerlarni past konsentratsiyasi halaqit qilmaydilar. Odatda oqsillarni cho‘ktirish uchun polietilenglikolni ikki xili 6 va 20 kDa teng molekulyar og‘irlikka ega bo‘lganlari ishlatiladi.

*Polielektrolitlar bilan cho‘ktirish***.** Polielektrolitlar (poliakrilkislota, nordon polisaxaridlar, polifosfatlar) oqsil tozalashda ishlatiladi. Bu usulni asosiy ustivorligi ularni juda ham kam miqdorda ishlatilishidir. Odatda oqsillarni cho‘ktirish uchun 0, 050, 1% polielektrolitlar kifoya bo‘lib, bunda yaxshi ko‘rinishga ega bo‘lgan, tez cho‘kmaga tushadigan oqsil to‘planadi. Usulni asosiy salbiy tomoni polielektrolitlarni narxini balandligi. Ammo, ularni regeneratsiya darajasi 90% gacha yetishini ham e’tiborga olish zarur.

**Oqsillarni fraksiyalarga ajratish usullari**. Oqsillarni tozalash yoki alohida fraksiyalarga ajratish uchun har xil usullardan foydalaniladi. Jumladan, ion almashinuv xromatografiyasi yoki har xil zaryadlarga ega bo‘lgan komponentlarni bir-birlaridan ajratish usulidir. Ionalmashinuvchi sorbentlar manfiy yoki musbat zaryadga ega bo‘lishi mumkin. Agar ion almashinuv musbat zaryadlangan bo‘lsa, unga manfiy zaryadlangan oqsillar adsorbsiya bo‘ladi. Desorbsiya jarayonida nusxani manfiy zaryadlangan komponentlari tuzli gradiyentlarni manfiy zaryadlari bilan almashadilar. Bu esa tajriba davomida sekin ko‘tarilib borayotgan ion kuchidir. Gradiyentli elyutsiya natijasida nusxaning har bir komponenti, ma’lum ion kuchida desorbsiyaga uchraydi va ion almashinuvi saqlagan kolonkadan to‘xtovsiz yuvilib turadi.

Oqsillarni ajratishda sorbsiya usulidan keng foydalaniladi. Ko‘proq o‘ziga xos bo‘lgan sorbentlar ishlatiladi. Bu sorbentlar mohiyati bo‘yicha ion almashinuvchi sorbentlarga o‘xshaydi. Kichik molekulali birikmalar uchun ishlab chiqilgan xromotografiyaning nazariy tomonlari oqsillarni o‘zaro ta’siri va ularni adsorbentlar bilan qo‘shilgandagi o‘zini tutishlarini tushuntirish uchun har doim ham to‘g‘ri kelavermaydi. Yuqori molekulali polimerlarni bir-birlaridan ajralishini o‘ziga xos bo‘lgan tomonlaridan, sorbent asosini samarasi va oqsil adsorbentni har xil qismsi bilan bog‘langanda har xil kuch bilan bog‘lanishini e’tiborga olish zarur. Oqsil adsorbentlariga qo‘yilgan talab, kichik molekulali birikmalarni adsorbentlariga qo‘yilgan talabdan biroz farq qiladi. Oqsil uchun tayyorlangan adsorbent g‘ovak strukturaga ega bo‘lishi kerak. Chunki, oqsil adsorbentni ichiga kirib, uni bog‘lash markaziga yetib borishi kerak. Mustahkamroq strukturaga ega bo‘lgan adsorbent unchalik ko‘p bo‘lmagan oqsil bilan bog‘lanish markaziga ega bo‘ladi, chunki oqsil

faqat adsorbent yuzasida joylashgan bog‘lanish markazlari bilan bog‘lanadi xolos. Bunday holatda adsorbentni hajmi juda kam bo‘ladi. Oqsillarni xromotografiyasida muvaffaqiyat bilan ishlatilgan dastlabki sorbentlar sellyuloza asosida tayyorlangan. Eng avval (funksional guruh bog‘lanmasdan oldin) sellyuloza kukuniga g‘ovak struktura hosil qilish maqsadida, maxsus metodikalar asosida ishlov beriladi. Tashuvchi molekulasida oqsil uchun har xil konfiguratsiyasiga ega bo‘lgan ko‘plab markazlar bo‘ladi. Ma’lumki, oqsilni o‘zi ham oligomer strukturaga ega bo‘lish va shuning uchun ham tashuvchini har xil joyidan bog‘lanishi mumkin. 19-rasmda oqsil molekulasini sorbent bilan bog‘lanishi mumkin bo‘lgan ko‘rinishi izohlangan.

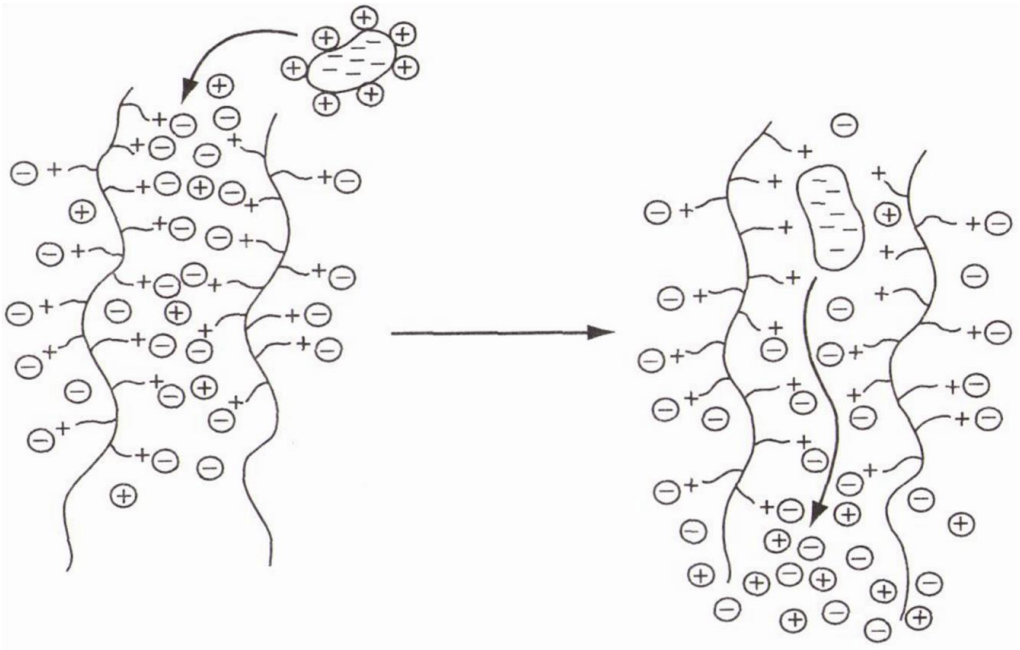


**19-rasm**. Ion almashinuvchidagi adsorbsion markazlarni polidispersligini ko‘rinishi

Oqsil molekulasi adsorbentni uch, to‘rt, va besh musbat zaryadga (+) ega bo‘lgan joylari bilan bog‘lanishi mumkinligi ko‘rsatilgan. Zaryadlangan guruhlar tartibsiz joylashgan yoki adsorbentni bir xil bo‘lmaganligi sababli geterodispers holatda bo‘lingan. Oqsil ikki, uch, to‘rt va undan ham ko‘proq markazlar orqali bog‘lanishi mumkin, bu esa o‘zaro ta’sir kuchini polidispers bo‘lishiga olib keladi. Yuqoridagi chizmada “+” belgisi ion almashinuvni izohlaydi.

Oqsillarni xromotografik ajratish uchun spetsifik ion almashinuvchi sorbentlardan foydalaniladi. Bunday sorbentlar neytral, suvda erimaydigan matritsalar bo‘lib musbat yoki manfiy zaryadlarga ega bo‘ladi. Shunga qarab, anion almashinuvchilar va katioin almashinuvchilarga bo‘linadi. Oqsillar ion almashinuvchilar bilan oqsil molekulasini zaryadlangan guruhi va ion almashinuvchini qarama-qarshi zaryadi bilan ko‘plab ionli bog‘lar hosil qilish yo‘li orqali bog‘lanadilar. O‘zaro ta’sir darajasi har xil faktorlarga, jumladan oqsil molekulasining zaryadlar yig‘indisiga ham bog‘liq bo‘ladi. Oqsilni molekulasini katta yoki kichikligi xromatografik pikni kengligiga ta’sir ko‘rsatadi. Bir necha subbirliklardan iborat bo‘lgan, molekulyar og‘irligi katta bo‘lgan oqsil molekulalari adsorbentni bir necha markazlari bilan bog‘lanishlari mumkin bo‘lganligi sababli, o‘zaro ta’sir kuchi ham har xil bo‘lishi mumkin. Kolonkaga quyulgan oqsillar aralashmasi ion almashinuvchilar bilan qisqa qatlam ko‘rinishida, kolonkani tepa qismiga “o‘tirib” oladi. Tegishli elyutsiya qiluvchi eritmani kolonkadan o‘tkazish oqibatida oqsil fraksiyalari bir-birlaridan ajraladilar. Ajralish, bo‘linish koeffitsiyenti

kattaligiga tegishli ravishda, ya’ni ion almashinuvchi bilan oqsil orasidagi o‘zaro ta’sir darajasiga qarab amalga oshadi. Oqsil qarshi ionni siqib chiqarib matritsaga bog‘lanib oladi. Odatda, oqsildagi zaryadlar yig‘indisi, siqib chiqarilgan qarshi ionlarnikiga teng bo‘ladi. Shuning uchun ham bu jarayon “ion almashinuv” deb nomlangan. Eritmada oqsil molekulalari ham qarama-qarshi ion zaryadlari bilan neytrallashadi. Oqibatda, adsorbentni shu joyi elektroneytral holatga aylanadi. Bu 20-rasmda yaxshi izohlangan bo‘lib, unda manfiy zaryadlangan oqsil tris-HCl buferi bilan tenglashtirilgani izohlangan. Shunday qilib, oqsil bilan H-tris$^{+}$ ionlari bog‘lanadi. DEAE-sellyuloza shu bufer bilan tenglashtirilgan va o‘zida qarshi ion $Cl^{-}$ saqlaydi. Oqsil keyin xlorid ionini almashtiradi va adsorbentda bog‘lanish markazini egallaydi va oqibatda tris-Cl hosil bo‘ladi.



**20-rasm**. Manfiy zaryadlangan oqsilni ion almashinuvchiga sorbsiya bo‘lishida kechadigan “ion almashuv” chizmasi

Oqsil molekulasi bilan assotsiatsiya qilingan yetti musbat zaryadlangan ionlar (masalan, H-tris$^{+}$) ion almashuvchidan yetti manfiy ionlar ($Cl^{-}$) tomonidan siqib chiqarilmoqda. Oqsillarni ajratishga mo‘ljallangan ko‘plab ion almashtiruvchi sorbentlarni ishlab-chiqarishni sanoat usuli yo‘lga qo‘yilgan. Yuqorida eslatib o‘tilganidek, ular orasida kengroq tarqalganlari sellyuloza, dekstran yoki agaroza asosida tayyorlangan sorbentlar hisoblanadi. bundan tashqari ilmiy laboratoriyalarda, muayyan fermentni tozalashga mo‘ljallangan maxsus sorbentlar ham sintez qilinadi. Sefadeks yoki biogel asosida tayyorlangan ion almashuvchilarni hajmi pH ko‘rsatkichi va muhitda tuzni konsentratsiyasi o‘zgarishiga qarab o‘zgaradi. Sellyulozali ion almashtiruvchilar esa bunga nisbatan mu’tadilroq. 16-jadvalda oqsillarni tozalashda ko‘proq ishlatiladigan ion almashuvchilarni tavsifi keltirilgan.

Jadvalda ko‘rsatilganlaridan tashqari, kationitlarsulfometilsellyuloza (SM-S) va sulfopropilsefadeks (SPS), anionitlar-2-oksipropilaminosefadeks (AE-sefadeks) va boshqalar ham amaliyotda ishlatilib kelinadi. Ion almashuvchilarni kuchli va kuchsizga bo‘linadi. Kuchli anionitlarga guanidinoetil va QAE-sefadeks,

kuchsizlarga esa DEAE-sefadeklar kiradi. Kuchli kationitlarga SP sefadeks, kuchsizlarga KM-sellyuloza va KM-sefadeks kiradi. Ion almashuvchi adsorbentlarni va oqsillarni bir-birlariga ionligi (mosligi) va ularni hajmi muhitdagi tuz miqdori va pH ko‘rsatkichi bilan belgilanadi. Shuning bilan birga sorbentni hajmi nafaqat ion almashuvchidagi zaryadlangan guruhlarni miqdori bilan, balki ularni matritsa yuzasida joylashishiga ham bog‘liq bo‘ladi. Ion almashuvchini hajmi, odatda tayyorlangan firma tomonidan uning etiketkasiga yozib qo‘yiladi.

16-jadval

**Oqsillarni xromotografiyasida keng ishlatiladigan ion almashuvchi adsorbentlar**

| Adsorbent nomi | Funksional guruh |
|---|---|
| Dekstran asosidagi anionitlar | |
| DEAE-sefadeks | Dietilaminetil $S_2H_4N^+H(C_2H_5)_2CH_2N_+(CN_3)_3$ |
| QAE- sefadeks | Dietil (2-gidroksipropil) aminoetil) |
| Agarozalar asosidagi anionitlar | |
| DEAE-sefaroza | Dietilaminoetil |
| Q-sefaroza | Dietilaminoetil |
| Sellyulozalar asosidagi anionitlar | |
| DEAE-sefatsel | Dietilaminoetil |
| DEAE-sellyuloza | Dietilaminoetil |
| ECTEOLA-sellyuloza | Epixlorgidrin trietanolamin |
| QAE-sellyuloza | Dietil (2-gidroksipropil) aminoetil |
| TEAE-sellyuloza | Trietilaminoetil $S_2H_4N^+H(C_2H_5)_3$ |
| Dekstranlar asosidagi kationitlar | |
| SM- sefadeks | Karboksiletil $SH_2SOO^-$ |
| SP- sefadeks | Sulfopropil |
| Agarozalar asosidagi kationitlar | |
| SM- sefaroza | Karboksiletil |
| SP- sefaroza | Sulfopropil |
| Sellyulozalar asosidagi anionitlar | |
| SM- sellyuloza fosfotsellyuloza | Karboksiletil $RO_3$-N |
| SE- sellyuloza | Sulfopropil |

Oqsillar ikki polyarli ionlar saqlaganlari uchun, ular ma’lum pH ko‘rsatkichida kation almashuvchilar bilan ham anion almashuvchilar bilan ham bog‘lanishlari mumkin. Ammo, ko‘pchilik oqsillarni mu’tadillik zonasi pH 5,0-8,0 oralig‘ida

bo‘ladi. Shuning uchun ham nordon oqsillarni (izoelektrik nuqtasi pI<5) anionitlarda, ishqoriy oqsillarni (pI>8) kationitlarda tozalash yaxshi natijalar beradi.

Aytilganlardan izoelektrik nuqta ion almashuvchi tashlashda katta ahamiyatga ega ekanligi ko‘rinib turibdi. Oqsillarni izoelektrik nuqtasi, ularni strukturasidagi ionizatsiya bo‘luvchi aminokislotalarni soni bilan bog‘liq. Arginin, lizin va gistidin musbat zaryad tashuvchi aminokislotalarga kiradilar. Shuningdek, barcha N-oxirda joylashgan aminokislotalar ham pH 8,0 dan past bo‘lganda musbat zaryadli bo‘lishadi. Agar xromatografiyani unchalik yuqori bo‘lmagan pH da o‘tkazilsa, masalan pH 8,5 dan yuqoriroq bo‘lsa, arginin va lizinni hamma qoldiqlari musbat zaryadlangan deyish mumkin. Manfiy zaryadni asosan asparagin va glutamin kislotalari tashiydilar va pH 6 dan yuqori bo‘lganda, S-oxirdagi karboksil guruhlar ham ionlashadilar. pH ko‘rsatkichi yuqori bo‘lganda (>8) sistein ham ionizatsiyalanadi. pH ko‘rsatkichi me’yorida bo‘lganda, fermentlarni mu’tadilligi saqlanadi (pH 5,5-9,0). Umumiy zaryad yig‘indisidagi farq asosan gistidin qoldig‘i hisobidan sodir bo‘ladi, chunki gistidinni pH 6-7 oralig‘ida yotadi. Demak, kam gistidin saqlovchi oqsil ancha keng ko‘rsatkichdagi pH o‘zini bir xil tutadi. Bunday holatda pH ko‘rsatkichi hal qiluvchi rol o‘ynamaydi. Ferment qisqa pH ko‘rsatkichida mu’tadil bo‘lsa, agar uni izoelektrik nuqtasi mu’tadilligi chegarasidan tashqaridan bo‘lsa, quyida keltirilgan 17-jadvalda ko‘rsatilganidek, faqat bir tipdagi ion almashuvchidan foydalanish mumkin bo‘ladi.

17-jadval

**Izoelektrik nuqtasi aniq bo‘lgan oqsilni tozalash uchun ionalmashgich tanlash (oqsil pH 5,5-8,5 oralig‘ida mu’tadil deb taxmin qilingan)**

| Izoelektrik nuqta | Ion almashinuv | Buferning pH |
|---|---|---|
| 8,5 | Kation | ≤ 7,0 |
| 7,0 | Kation | ≤ 6,0 |
| 6,0 | Anion | ≥ 8,0 |
| 5,5 | Anion | ≥ 6,5 |

Ion almashuvchi adsorbentlar ishlatib xromotografiya qilish usuli, preparativ enzimologiyada keng qo‘llaniladi, chunki u nisbatan yumshoq sharoitlar pH, ion kuchida ishlashga imkon beradi va yuqori samarador usullardan biridir.

*Affin xromatografiya*. Affin xromatografiyaga adsorbsion xromatografiyaning alohida bir xili sifatida qarash mumkin. Oddiy adsorbsiyadan farqli o‘laroq, affin xromatografiyada adsorbsiyada matritsaga ulangan molekula bilan, murakkab aralashmadan ajratib olinishi mo‘ljallangan malekulani komplementar (o‘xshash, bir-biriga mos keladigan) qismi orasidagi biospetsifik o‘zaro ta’siri asosida sodir bo‘ladi. Keyingi bosqichkomplementar bog‘langan molekulalarni harakatchan faza yordamida elyutsiya qilish (yuvib turish)dan iborat. Biospetsifik bog‘lanish yuqori darajada tanlash asosida sodir bo‘ladi. Masalan, fermentlar va ularni substratlari, fermentlar va ularni ingibitorlari, antigenlar va ularga spetsifik bo‘lgan antitelalar va h.k. Yuqorida keltirilgan komponentlarni har qaysisini ligand sifatida matritsaga bog‘lash mumkin. Matritsaga bog‘langan komponent yordamida mana shular

biospetsifik juftlikni ikkinchi yarmi aralashmadan ajratib olinishi mumkin. Ba’zida bu bir emas, balki bir necha bir-biriga tuzilishi yoki faoliyati bilan yaqin bo‘lgan o‘sha ligandni topadigan moddalar ham bo‘lishi mumkin. Masalan, izofermentlar yoki bir xil kofermentlardan foydalanadigan bir necha fermentlar. Affin xromatografiyaning eng ustivor tomoni, uni tanlashi bo‘lib, bu usul yordamida juda ham kam miqdorida bo‘lgan moddalarni ham ajratib olish mumkin. Bir bosqichda biologik faol moddani bir necha ming marotaba tozalab olish imkoniyati yaratiladi. Matritsa bilan ligand orqali moddani bog‘lanish usuli mustahkam bo‘lishiga qaramasdan, boshqa xil xromatografiyaga nisbatan juda ham yumshoq. Bu esa oqsillarni fraksiyalarga ajratishda juda ham muhim xisoblanadi.

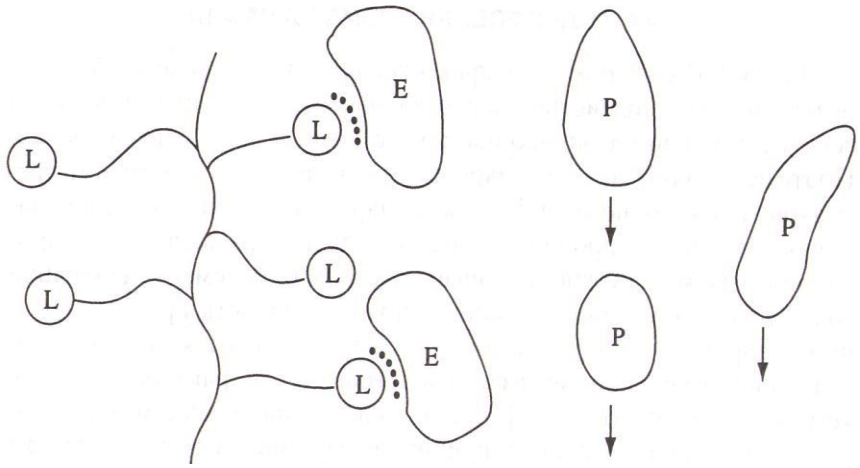
Ma’lumki, oqsillarni va nuklein kislotalarni tozalashda ularni parchalovchi gidrolitik fermentlar-proteazalar va nukleazalar xalaqit qiladilar. Affin xromatografiya ishlatilganda, bu fermentlar tozalanish jarayonini boshida o‘zlarini substratlaridan ajratib olinadi. Bu usulni ustivor tomonlaridan yana biri har xil xromatografik jarayonlarga xos bo‘lgan sterik chegaralanish bilan bog‘liq. Affin xromatografiyada ligand sifatida biopolimerlar ishlatilishi va uning biospetsifik o‘zaro ta’siri qismsi matritsada bog‘langan joydan ancha uzoqroq bo‘lganligi, har xil sterik qarama-qarshiliklar sodir bo‘lishiga yo‘l qo‘ymaydi. Ammo ligand sifatida kichik molekulalik substrat, masalan, kofaktor ishlatilsa, ularni matritsaga joylashganligi, matritsa yuzasida immobillashgan suv molekulasini qoplamini hisobga olganda, ligand bilan o‘zaro ta’sirga kiruvchi oqsilni to‘g‘ri mo‘ljal olishiga sterik ta’sir ko‘rsatishi mumkin. Oqibatda moddani affin yaqinlik darajasi pasayadi, ba’zida esa nolga yaqinlashib qoladi. Bunday holatlarda biologik faol ligand matritsadan uzoqlashtirilishi lozim. Bu jarayon matritsa bilan ligand orasida nozik “oyoqchalar”, masalan, bir necha metilen qoldiqdan iborat bo‘lgan to‘g‘ri zanjir yoki boshqa mos keladigan strukturalar kiritish orqali amalga oshiriladi. Bunday strukturani “speyser”lar deyiladi. Biospetsifik o‘zaro ta’sir, oddiy fizik-kimyoviy jarayonlar hisobidan amalga oshadi: har xil zaryadlangan guruhlarni elektrostatik tortilishi, vodorod Vander-vals kuchlar, gidrofob o‘zaro ta’sir. Biospetsifiklik, bog‘lanuvchi qismlarni konformatsion mosligi bilan belgilanadi, bu esa bir vaqtni o‘zida bir necha nuqtalarda sodir bo‘ladigan o‘zaro ta’sirni yig‘ilishiga olib keladi. Biospetsifik o‘zaro ta’sirni pasayishini odatdagi usullar orqali amalga oshirish mumkin: pH ko‘rsatkichini o‘zgartirish, ion kuchini ko‘paytirish, haroratni oshirish, elyuent tarkibiga organik erituvchilar detergentlar va turli agentlar aralashtirish.

Affin sorbentlarni yaratish, oson ko‘ringani bilan, matritsa tanlashda, ligandni matritsaga bog‘lashda, speyserlar tanlashda bir qator muammolar bor. Bunday muammolarni anchasini affin sorbentlar ishlab chiqaradigan fermentlar tomonidan hal qilingan. Affin xromatografiya tizimi yaxshi ishlashi uchun quyidagilarga e’tibor berish lozim:

- ligand matritsaga shunday bog‘lanishi kerakki, keyin uni oqsil bilan bog‘lanishiga hech qanday to‘sqinlik bo‘lmasligi kerak;
- matritsa va ligand orasidagi kuchaytiruvchi ko‘prikcha, spayser oqsilni ligandga bog‘lanishini yengillashtirish kerak;
- nospetsifik o‘zaro ta’sir unchalik kuchli bo‘lmasligi lozim. Kerakli oqsildan tashqari oqsillar adsorbent bilan bog‘lanmasliklari lozim.

- xromatografiya o‘tkazish jarayonida ligand bilan matritsa orasidagi bog‘ (shu jumladan, adsorbentni qayta ishlatish oldidan tozalash jarayonida ham) mustahkam bo‘lishi kerak (21-rasm).

Xromatografiya jarayonida ishlatiladigan matritsa quyidagi sifatlarga ega bo‘lishi kerak: suvda erimaydigan, gidrofil, mustahkam, granulalari kerakli shaklga va o‘lchamga ega bo‘lishi, kimyoviy mu’tadil, nospetsifik adsorbentlik xususiyati bo‘lmasligi kerak. Yuqorida keltirilganlardan tashqari matritsa o‘zini ligandlar va speyserlar bilan kovalent bog‘laydigan kimyoviy guruhga ega bo‘lishi kerak. Mana shularni hisobga olgan holda polisaxarid tabiatli matritsalar - agarozalar va sefadekslarni gidroksil guruhlari, shuningdek, poliakrilamid gelining amid guruhlari eng qulay guruhlar hisoblanadi. Agar oqsillarni ligandlar sifatida ishlatilganda, yuqorida keltirilganlardan tashqari, matritsa katta g‘ovakli bo‘lishini ham qo‘shib qo‘ymoq kerak. Shunday gellar sirasiga agarozalar (sefazozalar), “Ultrogel Ac A” tipidagi aralashgan (24% poliakrilamid geli agaroza bilan mustahkamlashtirilgan) gellar kiradilar. Matritsa sifatida sellyuloza agarozaga nisbatan anchagina pastroq turadi, bunga asosiy sabab, sellyulozani nospetsifik sorbsiya qilish darajasining balandligidir.

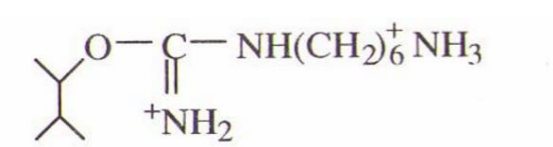



**21-rasm**. Affin adsorbsion xromatografiyaning asosiy prinsipi (Bunda: Ligand L tashuvchi zanjiriga kovalent bog‘langan. Adsorbent faqat L ga spetsifik bo‘lgan ferment (E) molekulasini o‘ziga bog‘lab oladi. ”P”- oqsillar adsorbent bilan bog‘lanmasda, kolonkadan to‘g‘ri o‘tib ketaveradi)

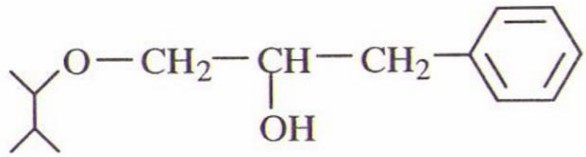
Odatda, izlanuvchilar va texnologlar firmalarda tayyorlangan, har tomonlama yaxshi o‘rganilgan sorbentlar bilan ishlaydilar. Yuqori spetsifiklikka ega bo‘lgan hamda bir guruh spetsifiklikka ega bo‘lgan affin sorbentlar bor. Ikkinchi guruhga mansub bo‘lgan sorbentlar ba’zi holatlarda induvidual spetsifiklikka ega bo‘lgan sorbentlardan kam emas, balki ba’zi holatlardan ulardan ko‘ra ustivorroq ham bo‘ladi. Masalan, agar ajratib olmoqchi bo‘lgan modda, sorbentga spetsifik bo‘lgan guruh moddalarni birgina vakili bo‘lgan aralashmadan ajratilishi lozim bo‘lganda, guruh spetsifiklikka ega bo‘lgan sorbent individual sorbentdan hech ham kam bo‘lmaydi. Guruh spetsifiklikka ega bo‘lgan affin sorbent ligandga mos bo‘lgan bir guruh moddalarni bir-biridan ajratish lozim bo‘lgan hollarda, ustivorlikka ega bo‘ladi. Ligand bilan moddalarni orasidagi moyillik bir xil bo‘lmagan hollarda, ular

har biri uchun spetsifik bo‘lgan, raqobatli elyuentlar tanlash orqali moddalarni navbatma-navbat yuvish orqali bir-biridan ajratiladi. Bunday hollarda individual spetsifiklikka ega bo‘lgan sorbentlarda yaxshi natija bera olmaydilar.

*Gidrofob xromatografiya*. Gidrofob xromatografiya, sorbentni alifatik zanjiri bilan oqsil molekulasi yuzasidagi gidrofob qismlar orasidagi o‘zaro ta’sir natijasida bog‘lanishiga asoslangan. Shuning uchun ham, gidrofob bog‘lanish, nospetsifik affin bog‘lanishga o‘xshab ketadi. Gidrofob bog‘lanish tuzni konsentratsiyasini oshishi bilan kuchayib boradi. Tuzlashda yuqori faollik ko‘rsatadigan tuzlar, masalan, ammoniy sulfat, gidrofob bog‘lanishni kuchaytirish xususiyatiga ega bo‘ladi. Bu esa, har ikkala jarayon asosida ham bir xil mexanizm yotganligi bilan tushuntiriladi. Tuzlanish jarayonida oqsilni agregatsiyaga uchrashini asosiy sababi, oqsil molekulalari orasidagi gidrofob o‘zaro ta’sirni kuchayishi hisoblanadi. Demak, tuzni konsentratsiyasi oshganda, ko‘p sonli oqsillar, inert matritsaga bog‘langan gidrofob guruhlarga adsorbsiya bo‘lishlari mumkin. Gidrofob sorbentlarni ko‘p ishlatiladiganlariga misol qilib, aminogeksil –sefaroza va fenisefarozalarni ko‘rsatish mumkin.



Aminogeksil-sefaroza



Fenilsefaroza

Fenilsafaroza ko‘proq affin ligandlarni bog‘lashga mo‘ljallangan bo‘lsada, o‘zi gidrofob sorbent hisoblanadi, chunki uning molekulasida vodorod bog‘lari hosil qiladigan va elektrostatik o‘zaro ta’sirga kira oladigan guruhlar mavjud. Gidrofob sorbentlar agarozani bromsian bilan faollashtirish orqali tayyorlanganligi uchun ham alifatik zanjirni uchida musbat zaryadlangan guruh saqlaydi. Sefaroza (agaroza)dan tashqari matriks sifatida ko‘proq toyoperl (toyopeare HW-65)dan foydalanilmoqda. Bu sorbent oxirgi qoldiq sifatida butil yoki fenil guruhlari saqlaydi va o‘zaro bo‘lakchalarini katta- kichikligi bilan farq qiladi. Xromatografiyaning boshqa usullari ishlamagan holatlarda gidrofob xromatografiyadan foydalanilganda yaxshi natijaga erishish mumkin. Ammo har doim ham fraksiyalarni aniq ajratilishiga erishib bo‘lmaydi. Chunki sharoit o‘zgarganda, α kattaligi (moddalarning ajralish koeffitsentini o‘zgarishi) juda ham sekin o‘zgaradi, bu esa alohida komponentlarni piklarini bir-birlari bilan chalkashib ketishiga olib keladi. Gidrofob sorbentlarni ijobiy tomoni ularni oqsillarga nisbatan juda yuqori hajmga egaligidir. Bu ko‘rsatkich 10-100 mg/m$^3$ ga teng bo‘ladi. Sorbsiya yuqori konsentratsiyali tuzda bajariladigani uchun, oqsil nusxalarini kolonkalarga qo‘yishdan oldin buferni almashtirishga ehtiyoj bo‘lmaydi. Kerakli komponentni adsorbentga bog‘lash uchun zarur bo‘lgan miqdorda tuz qo‘shishni o‘zi kifoya. Tuzlar ko‘pincha stabilizatsiya qilish xususiyatiga ega bo‘lganligi uchun ham, oqsil kolonkadan juda yaxshi miqdorda yuvilib chiqadi. Odatda, juda kam konsentratsiyali tuzlarda adsorbsiya bo‘ladigan oqsillar ham suvda yomon eriydilar. Shunday oqsillarga globulinlar, membranaga bog‘langan oqsillar va

boshqa ammoniy sulfatni past konsentratsiyasida (20-40) cho‘kadigan oqsillar kiradi. Gidrofob bog‘ni quyidagi yo‘llar orqali yumshatish mumkin:

a) haroratni tushirish orqali;
b) organik erituvchilar qo‘shib;
c) muhitga poliolitlar, masalan etilenglikol qo‘shib;
d) noion detergentlar ishlatib;
e) pH ko‘rsatkichini pasaytirib.

Shuning uchun ham tuzni gradient konsentratsiyasini tushiruvchi erituvchidan keyin, gidrofob kolonkani etilenglikolni ko‘tariluvchi gradient konsentratsiyasi bilan yuvish tavsiya etiladi. Gidrofob sorbentlar oqsillarni tozalashni dastlabki bosqichlarida ishlatilganda yaxshiroq natija beradi.

*Gel-filtratsiya*. Gel-filtratsiya atamasi bir necha sinonimlarga ega. Ularni orasida kengroq tarqalgani-gel-xromatografiya. Ammo bu atama o‘z mohiyati, ma’nosi bilan noto‘g‘ri. Chunki, bu jarayonda ishlatiladigan modda gel bo‘lishi shart emas. Gel bir-biri bilan ko‘ndalangiga tikilgan uchlamchi molekulyar elak bo‘lib, granula holatiga keltirilgan modda hisoblanadi. Granulalarni ichidagi bo‘shliqlarni o‘lchami har-xil bo‘lib, ularga katta molekulyar og‘irlikka ega bo‘lgan moddalar kirolmaydilar, kichik molekulalar esa bo‘shliq ichiga kirib olishladi. Bo‘shliqlar juda qisqa bo‘lib, granulani sirtiga chiqadigan kanallari bo‘lmaganligi sababli, yirik molekulalar ularga kira olmaydilar. Bu jarayonda harakatsiz faza bo‘lib, granula ichidagi suyuqlik xizmat qiladi. Agar har xil o‘lchamga ega bo‘lgan molekulalarni buferda eritib kolonkaga tashlansa, yirik molekulalar harakatchan faza bilan kolonka bo‘ylab harakat qiladi.

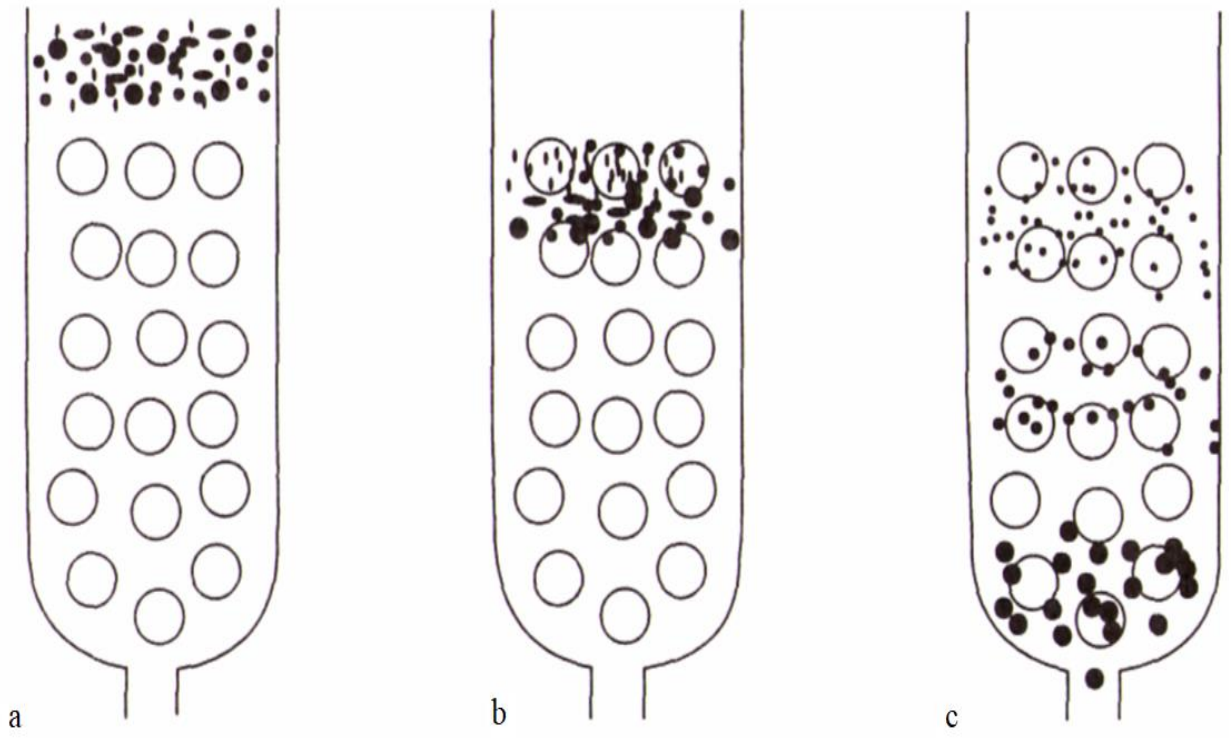
Harakatchan fazaning umumiy hajmi $V_t$, granulalarni ichidagi hajm $V_i$ bilan kolonka ichidagi granulalarni orasidagi hajmni $V_0$ yig‘indisidan iborat. Erituvchini granulalarni ichida va tashqarisidagi harakat diffuziya qonunlari asosida amalga oshadi. Erigan moddani erituvchini ichki va tashqi qismi orasida bo‘lishi, bo‘linish koeffitsienti $K_D$ bilan aniqlanadi:

$$K_D = \frac{V_e - V_0}{V_i} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$

Bu yerda: $V_e$-moddani yuvilish hajmi; $V_0$-bo‘sh hajm (tashuvchi granulalari oralig‘idagi suyuqlikni hajmi); $V_t$-harakatchan fazani umumiy hajmi.

Sorbent bo‘shliqlari ichiga kira olmagan molekulalar, bo‘shliq ichidagi suyuqlik bilan teng bo‘ladi ($K_D$=0), va $V_{e=}V_0$ hajmda yuvilib chiqadi. Bo‘shliq ichiga kiradigan, katta bo‘lmagan molekulalar $K_D$=1, kolonkadan $V_e$ hajmda birga pik bo‘lib yuvilib chiqadi. Bu hajm $V_t \cdot K_D$ umumiy hajmga teng bo‘lib, O≤KD≤1 oralig‘ida o‘zgarishi mumkin. Yirik molekulalar kolonkadan kichiklardan tezroq yuvilib chiqadilar. Ideal holatda yuvilishni minimal hajmi $V_0$ ga teng, maksimal hajm esa, $V_0+V_i$ ga teng bo‘ladi. Tajribalarda kolonkani bo‘sh qismini topish uchun undan tashuvchini bo‘shliqlari ichiga kira olmaydigan, katta molekulyar og‘irlikka ega bo‘lgan moddalardan foydalaniladi. Shu maqsadda ko‘proq havorang dekstrandan foydalaniladi. Yuqorida keltirilgan nazariy fikrlar 22-rasmda keltirilgan va unda gel

saqlagan kolonkadan har xil molekulyar og‘irlikka ega bo‘lgan moddalarni o‘tish mexanizmi aks ettirilgan.




**22-rasm**. Gel-filtratsiya prinsipi (aylanalar-g‘ovak matritsani granulalari; har xil kattalikdagi qora nuqtalar–moddalarni aralashmasi, bunda: a- kolonkaga moddalarni qo‘yilgan davri; b-moddalarni bir-biridan ajralishini boshlanishi; c-yirik molekulalarni kolonkadan chiqishini boshlanishi)

Gel-filtratsiya uchun har xil matritsalar ishlatiladi. Shunday matritsalardan eng keng tarqalgani dekstran asosida tayyorlangan bo‘lib, sefadeks deb ataladi. Tijoratda sefadeksni bir necha turidan foydalaniladi, ulardan eng kichik bo‘shliqqa ega bo‘lganlari esa G-10, eng katta bo‘shliqqa ega bo‘lganlari G-200 deb nomlangan. Granulalar qancha yirik bo‘lsa, ularni ivitish uchun shunchalik ko‘p suv talab qilinadi. Sefadeks markirovkasidagi raqam, uni qanchalik g‘ovak ekanligini, ya’ni 10 g quruq gel qancha miqdorda suvni bog‘lab olishini ko‘rsatadi. Sefadeks granulalarini o‘lchamiga qarab, asosan ikki guruhga bo‘linadi: diametri 40-120 mkm gacha bo‘lgan odatdagi granulalar va kichik diametrli granulalar 20-50 mkm. Kichik diametrli granulalarni “Superfine” deb ataladi. Sefadekslarni ko‘proq ishlatiladigan tiplari – G-25 va G-50 uch o‘lchamga bo‘lingan: “Fine”(20-80 mkm), “medium” (50-150 mkm) va “coarse” (100-300 mkm). Ammo, granulalarni ruxsat etilgan o‘lchami orasidagi farq 50% gacha bo‘lishi mumkin. Sefadekslarni tavsifi 18-jadvalda ko‘rsatilgan. Bu jadvalda, kolonkaga joylashtirilgan sefadeks granulalarini solishtirma hajmi keltirilgan bo‘lib, bu ko‘rsatkichlardan kolonkalarni sefadekslar bilan to‘ldirishda foydalansa bo‘ladi. Biotexnologiya va oqsil kimyosi amaliyotida keng ishlatiladigan tashuvchilardan biri sefakrillardir. Sefakrillar-N, N1-metilbisakrilamid bilan tikilgan dekstranlardir. Sefadeksga nisbatan bu qattiqroq

bo‘lib, shuning uchun sefakrillarda xromatografiyani kattaroq tezlikda amalga oshirish mumkin. Sefakrilni qattiqligi kolonkalarni to‘ldirishni osonlashtiradi va ularni bufer eritmalari bilan barobarlanishini 2040 mg/sm$^2$ tezlikda o‘tkazish imkoniyatini yaratadi. Sefakrilni kimyoviy chidamliligi, kolonkalarni qayta ishlatishga tayyorlashni NaOH 0,2 M-li eritmasida uzoq vaqt olib borish imkoni beradi. Tijoratda 6 xil sefakrillar ma’lum (S-100 dan S-1000 gacha) bo‘lib ular bir-birlaridan g‘ovaklari bilan farq qiladi. Sefakrillar bo‘ktirilgan holatda, quyuq suvli suspenziya ko‘rinishida sotiladi. Sefadekslarni asosiy tavsifi 19-jadvalda aks ettirilgan.

Agaroza asosida sefaroza deb nomlangan matritsa ham ishlab chiqilgan. Bunday gellarni tarkibidagi agarozani miqdori, ularni etiketkalarida raqamlar bilan ko‘rsatilgan bo‘ladi (20-jadval).

18-jadval

**Sefadekslarni tavsifi**

| Sefadeks tipi | Globulyar oqsillar uchun fraksiyalarga ajralish doirasi, kDa | Granulalarni solishtirma hajmi 1g quruq sefadeksga (ml/g) |
|---|---|---|
| G-10 | < 0,7 | 2-3 |
| G-15 | <1,5 | 2,3-3,5 |
| G-25 Coarse | 1-5 | 4-6 |
| G-25 Medium | 1-5 | 4-6 |
| G-25 Fine | 1-5 | 4-6 |
| G-25 Superfine | 1-5 | 4-6 |
| G-50 Coarse | 1,5-30 | 9-11 |
| G-50 Medium | 1,5-30 | 9-11 |
| G-50 Fine | 1,5-30 | 9-11 |
| G-50 Superfine | 1,5-30 | 9-11 |
| G-75 | 3-80 | 12-15 |
| G-75 Superfine | 3-70 | 12-15 |
| G-100 | 4-150 | 15-20 |
| G-100 Superfine | 4-100 | 15-20 |
| G-150 | 5-300 | 20-30 |
| G-150 Superfine | 5-150 | 18-22 |
| G-200 | 5-600 | 30-40 |
| G-200 Superfine | 5-250 | 20-25 |

Sefarozalar suspenziyalar holatida sotuvga chiqarilib, ularni qurib qolishiga yo‘l qo‘ymaslik kerak. Sefaroza gellari qattiq bo‘lsada, sefakrilga nisbatan

yumshoqroq. Sefarozaning granulalari juda mo‘rt bo‘lib, qo‘polroq aralashtirilganda ham maydalanib ketadi. Sefarozadan yuqori haroratda (40°C dan ortiq) foydalanish tavsiya etilmaydi. Ularni kimyoviy chidamliklari ham past: detergentlar va 6 M guanidinxloridni eritmalari, ularni sekin-asta yemirib boradi.

19-jadval

**Sefakrillar tavsifi**

| Sefakrillarni tiplari | Oqsillarni fraksiyalarga ajratish chegarasi, kDa | |
|---|---|---|
| | Globulyar oqsillar uchun | Dekstranlar uchun |
| S-100 | 1-100 | |
| S-200 | 5-250 | 1-80 |
| S-300 | 10-1500 | 1-400 |
| S-400 | 20-8000 | 10-2000 |
| S-500 | - | 40-20000 |
| S-1000 | - | 500-100000 |

20-jadval

**Sefarozalarni tavsifi**

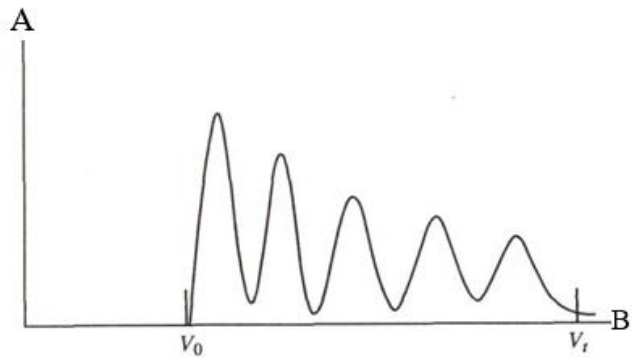
| Sefarozalar markasi | Agaroza miqdori, % | Globulyar oqsillar uchun fraksiyalarga ajratish chegarasi, kDa |
|---|---|---|
| 6B | 6 | 10-4000 |
| 6B cross-linked | 6 | 10-4000 |
| 4B | 4 | 60-20000 |
| 4B cross-linked | 4 | 60-20000 |
| 2B | 4 | 70-40000 |
| 2B cross-linked | 2 | 70-40000 |

Sefarozalar suspenziyalar holatida sotuvga chiqarilib, ularni qurib qolishiga yo‘l qo‘ymaslik kerak. Sefaroza gellari qattiq bo‘lsada, sefakrilga nisbatan yumshoqroq. Sefarozaning granulalari juda mo‘rt bo‘lib, qo‘polroq aralashtirilganda ham maydalanib ketadi. Sefarozadan yuqori haroratda (40°C dan ortiq) foydalanish tavsiya etilmaydi. Ularni kimyoviy chidamliklari ham past: detergentlar va 6 M guanidinxloridni eritmalari, ularni sekin-asta yemirib boradi.

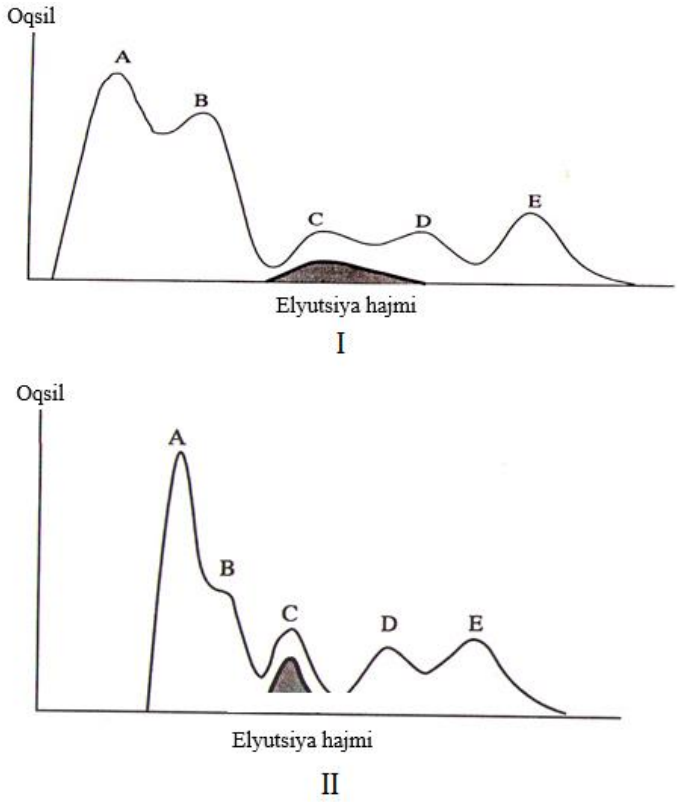
Sefarozalar ishlaydigan pH ko‘rsatkichlarini chegaralari ham qisqa (pH 4,9). Tuzli buferlarda, hatto ozgina nordonlashtirilganda ham ularni g‘ovaklari qisqarib, yuzaki sorbsiyasi kuchayadi. Yuqorida keltirilgan sefarozalardan tashqari kimyoviy bog‘langan sefaroza ham tayyorlangan. Agaroza geli asosida tayyorlangan matritsa, dibrompropanol bilan tikilgan holatda amaliyotda ishlatishga tavsiya qilingan. Tijorat preparatlarda kimyoviy bog‘larni borligi CL (“cross-linked”) harflari bilan belgilab

qo‘yiladi. Bunday sefarozalarni fraksiyalash chegaralari va ularni oqsillarni tabiatiga bo‘lgan munosabati tegishli markali sefarozalardan deyarli farq qilmaydi. Kimyoviy bog‘lanish sefarozaga qattiqlik beradi. Bunday sefarozalarni yuvish tezligi suvli eritmalarda 1,5 marotaba, 6 M guanidinxlorid eritmasida gel-filtratsiya qilganda esa, deyarli 4 marotaba oshadi. Modifikatsiya qilingan matritsani kimyoviy chidamliligi, ayniqsa, ishqoriy buferlarda ko‘rinarli darajada oshadi. Bunday sefarozani avtoklavlarda isitish ham mumkin. Sefadekslardan va oddiy sefarozalardan farqli o‘laroq, modifikatsiya qilingan sefarozani g‘ovakliligi suvli erituvchilardan organik erituvchilarga o‘tkazilganda o‘zgarmaydi. Shuni ham eslatib o‘tish lozimki, ular organik erituvchilarni ta’siriga chidamli, shu sababli ularni asosida affin sorbentlar yaratish, molekulaga har xil kimyoviy bog‘lar ulash mumkin. Tijoratda yuqoridagilardan tashqari ultragellar ham bor. Ular 2 xil A va AsA seriyalarda savdoga chiqariladi. A2, A4, A6 tipidagi ultragellar sefaroza 2B, 4B, 6B dan juda ham kam farq qiladi. Ultragellarni ishchi pH ko‘rsatkichi agarozaga nisbatan biroz kengroq. Ultragellar suvda bo‘ktirilgan granulalar suspenziyasi ko‘rinishida savdoga chiqarilgan. Shuni ham eslab qolish kerakki, yuqorida keltirilgan materiallarni hammasi ham to‘lig‘icha inert emas. Ayrim buferlarda ko‘pgina oqsillarni sorbsiyaga uchragani ham kuzatilgan. Ma’lumki, sorbsiya elyutsiya (yuvilish) tezligini pasaytiradi, shuning uchun ham oqsil o‘zini molekulyar og‘irligini kichikroqday qilib ko‘rsatadi. Agar sorbsiya ion almashuv xarakterida bo‘lsa, buferni ion kuchini ko‘tarishga to‘g‘ri keladi. Ammo, gidrofob bog‘lanish bo‘lgan hollarda bufer eritmalarini ion kuchini o‘zgarishi, ba’zi bir xatoliklarga olib keladi. Molekulalarida ko‘ndalang bog‘lar hosil qiluvchi alifatik zanjirlar saqlagan sefakrillarni sorbsiya qilish xususiyatlari, ayniqsa tuzlarni konsentratsiyasi yuqori, hamda pH ko‘rsatkichi past bo‘lgan muhitda kuchli namoyon bo‘ladi.

Bugungi kunda har xil xususiyatga ega bo‘lgan sorbentlarni soni juda ham ko‘p. Shu sababli ham izlanuvchi oldida katta tanlov turadi. Tajribalarni dastlabki bosqichlarida ko‘ndalang tikilgan dekstranlar yoki agaroza gellaridan foydalanishni tavsiya qilinadi. Agar oqsilni molekulyar og‘irligi 15 kDa dan kam bo‘lmasayu va 100 kDa dan katta bo‘lsa, ikki xil sefakrildan (S-200 va S-300), yoki ikki-uchta ultrageldan AsA22 - AsA34 va As44 dan foydalanish yaxshi natija beradi. Yirik oqsillar uchun agaroza gelidan, ayniqsa sefaroza 4B yoki S-4B, shuningdek A4 yoki A6 ultragellaridan foydalanish tavsiya qilinadi.Tarkibi aniq bo‘lmagan aralashmani analiz qilish uchun dastlab, fraksiyalash imkoniyatlari keng bo‘lgan sorbentlardan foydalanish kerak. Undan keyin, qiziqtirgan oqsil saqlovchi fraksiyani to‘plab, uni fraksiyalash diapazoni qisqa bo‘lgan gellarda ajratish kutilgan natijalar berishi mumkin. Yuqorida keltirilganlar asosida bir necha amaliy takliflar berish mumkin. Ion almashuv xromatografiyasidan farqli o‘laroq, ishlatiladigan bufer oqsilni fraksiyalarga ajralishiga ta’sir etmasligi kerak. Bunda, materiallarni xili hal qiluvchi rol o‘ynaydi. 23-rasmda oqsillarni gel-filtratsiya qiluvchi kolonkalarda fraksiyalarga ajralishini eng mukammal chizmasi aks ettirilgan.




**23-rasm**. Beshta oqsildan iborat bo‘lan aralashmani gel-filtratsiya kolonkasida ajralishi (bu oqsillarni har biri keyingisidan molekulyar og‘irligi bo‘yicha ikki marotabaga farq qiladi. Kolonkaga har bir oqsildan bir xil miqdorda qo‘yilgan. Kichikroq molekulalarni ko‘proq diffuziyaga uchraganligi sababli piklarni balandligi pasayib boradi. A-oqsil konsentratsiyasi, B- elyutsiya hajmi)




**24-rasm**. Bir oqsilni har xil g‘ovaklik matritsalarda gelfiltratsiya usulida ajralishi (I. Yirik g‘ovakli material-ferment keyinroq yuvilib chiqadi va A va B oqsillaridan yaxshi ajraladi, ammo, D oqsilidan yaxshi aralasha olmaydi. II. Mayda g‘ovakli material-ferment kolonkani bo‘sh hajmida yaqinroq yuvilib chiqadi va B oqsili bilan aralashib ketadi; D oqsilidan yaxshi ajraladi)

Yirik molekulalar saqlovchi birinchi fraksiyalar kolonkadan tezroq o‘tadilar, shuning uchun ham turbulentlik effektiga kamroq darajada uchraydi. Demak,

fraksiyalar qanchalik oldin chiqsa, ularni pikini yuvib ketishi shunchalik kam bo‘ladi. Bundan tashqari kichik o‘lchamga ega bo‘lgan molekulalar, kattaroq diffuziya koeffitsiyentiga ega bo‘ladilar, bu esa ularni yuvilib ketishiga sabab bo‘ladi. Agar kerakli oqsilni molekulasi unchalik katta bo‘lmasa, uni piki ko‘proq darajada tarqalib ko‘rinadi, bu esa kerakli oqsilni molekulyar og‘irligi yaqinroq bo‘lgan oqsillar bilan aralashtirib yuboradi. Agar oqsil oldinroq yuvilib chiqsa, uning piki o‘tkirroq bo‘ladi, ammo aralashmada yuqori molekulalar oqsillar soni ko‘proq bo‘lsa, kerakli oqsil boshqa o‘ziga o‘xshagan oqsillar bilan ifloslanib ketishi ham mumkin (24-rasm).

Shunday qilib, fraksiyalar oralig‘ini asosiy ifloslantiruvchi oqsil molekulasini va kerakli oqsilni o‘lchamini e’tiborga olgan holda tanlashga to‘g‘ri keladi. Eng muhim taklif va maslahatlar quyidagilardan iborat: birinchidan, kolonkani o‘lchami, fraksiya hajmidan 30-100 marotaba kattaroq bo‘lishi kerak; ikkinchidan ideal sharoitda oqsilni dastlabki konsentratsiyasi 10-20 mg/ml ni, eng ko‘pi 30 mg/ml tashkil etishi kerak. Shunday qilib, 100 mg oqsilni tozalash uchun uni kamida 3,5 ml buferda, yaxshisi 5-6 ml da eritib, 200-250 $sm^3$ hajmga ega bo‘lgan kolonka ishlatish kerak. Kolonkani uzunligi, uni diametridan 20-40 marotaba kattaroq bo‘lishi tavsiya etiladi. Mana shulardan kelib chiqqan holda yuqorida ko‘rsatilgan oqsilni tozalash uchun diametri 2,5 va uzunligi 50 sm bo‘lgan yoki diametri 1,8 va uzunligi 100 sm bo‘lgan kolonkadan foydalanish kerak. Kolonkalarni optimal o‘lchami quyidagi formula asosida aniqlanadi:

$$\text{diametr} = \sqrt[3]{m/10}\ \text{sm}$$

Bu yerda m - oqsil miqdori, mg da; uzunligi esa 30·diametr.

Oqsillarni ajratishda kolonkadan chiqadigan buferni chiqish tezligi ham katta ahamiyatga ega. Odatda, har bir sorbent uchun bu ko‘rsatkich, shu sorbentni ishlab chiqargan firma tomonidan taklif qilingan ko‘rsatmalar asosida olib boriladi. Masalan, sefadekslar uchun elyutsiya tezligi 30 $ml \cdot soat^{-1} \cdot sm^{-2}$ bo‘lishi kerak, ammo ultragellar uchun bu ko‘rsatkich ancha kamroq. Kolonkani o‘lchamiga qarab, ajralish vaqtini aniqlab chiqish mumkin.

**Ferment preparatlarining ishlatilishi**. Mikroorganizmlardan tashqari manbalardan olinadigan fermentlar har xil sabablarga ko‘ra kamroq ishlatiladi. Bunga sabab ularni: chidamliligining pastligi; qimmatligi; ishlab chiqarilishini faslga bog‘liqligi. Ammo mikrobli muqobillari bo‘lmagan fermentlar tijorat uchun hayvon organlaridan va o‘simlik hujayralaridan ajratiladi. Bunday fermentlarga misol qilib, hayvonlardan olinadigan renin, anjir shirasidan olinadigan fitsin, papayi o‘simligidan olinadigan papain va boshqalarni ko‘rsatish mumkin. Oxirgi vaqtlarda hayvon va o‘simliklardan olinadigan fermentlarni sanoat sharoitida ishlab chiqarish uchun to‘qima yoki alohida organlarni o‘stirish usulidan kengroq foydalanilmoqda. Bu usul o‘simliklardan olinadigan fermentlarni narxini pasaytirishi va ularni solishtirma ulushini oshiradi degan bashoratlar ham bor. Sanoatda ishlab chiqariladigan fermentlar ko‘pincha texnik preparatlar sifatida ishlatilsa ham, ularni bir qismi har xil darajada tozalangan holda ishlatiladi. Fermentlarni tozalash jarayonida bir necha masalalar hal qilinadi: zaharli va keraksiz bo‘lgan metabolitlar, mikroorganizmlarni qoldiqlari chiqarib tashlanadi hamda ferment faolligi bo‘yicha standartlashtiriladi.

Shunday qilib, preparatni sifati oshiriladi va uni muayyan sharoitda ishlatishga moslashtiriladi hamda unga yoqimli hid, ta’m va rang beriladi. Mikroorganizmlarni kultural suyuqliklarini tarkibini xilma-xilligi, ularni tarkibida ko‘proq kolloid moddalar uchraganligi sababli yopishqoq bo‘lishi fermentlarni ishlatishda bir oz bo‘lsada qiyinchilik tug‘diradi. 2000-yilda dunyo bozorida texnik ferment preparatlari 1mlrd dollarga yaqin hajmda sotilgan bo‘lsa, bugungi kunda bu miqdor bir necha baravarga ortdi. Fermentlardan foydalanadigan eng yirik sanoat tarmoqlari quyidagilar: kraxmalni gidroliz qilish sohasi – bu soha umumiy texnik fermentlarni deyarli yarmini ishlatadi; texnik fermentlarni ishlatish bo‘yicha ikkinchi o‘rinda detergentlar tayyorlash sohasi (30% ga yaqin) va nihoyat pishloq tayyorlashda texnik preparatlarni deyarli 10% ga yaqinroq qismi ishlatiladi.

*Kraxmal gidrolizi***.** Kraxmalni sanoatda qayta ishlashni asosini, uni bijg‘itishdan paydo bo‘ladigan shakar moddalar (glyukoza, maltoza, izomaltoza), quyulgan shakar-shinnilar (glyukoza, fruktoza) va kichik molekulali oligosaxaridlar-dekstrinlar tashkil qiladilar. Bu moddalar qator oziq-ovqat mahsulotlari va ichimliklar tayyorlashda ishlatiladilar. Kraxmalni gidrolizini hozirgacha ma’lum bo‘lgan usullardan biri - fermentativ usul qator ustunliklarga ega. Kraxmalni gidrolitik parchalanishida quyidagi fermentlar ishtirok etadilar: α amilaza**,** kraxmal molekulasi ichidagi bog‘larni tartibsiz parchalab, kraxmal eritmasini yopishqoqligini tezda pasaytiradi. Bu maqsad uchun sanoatda ham bakterial, ham zamburug‘dan olinadigan fermentlar ishlatiladi.

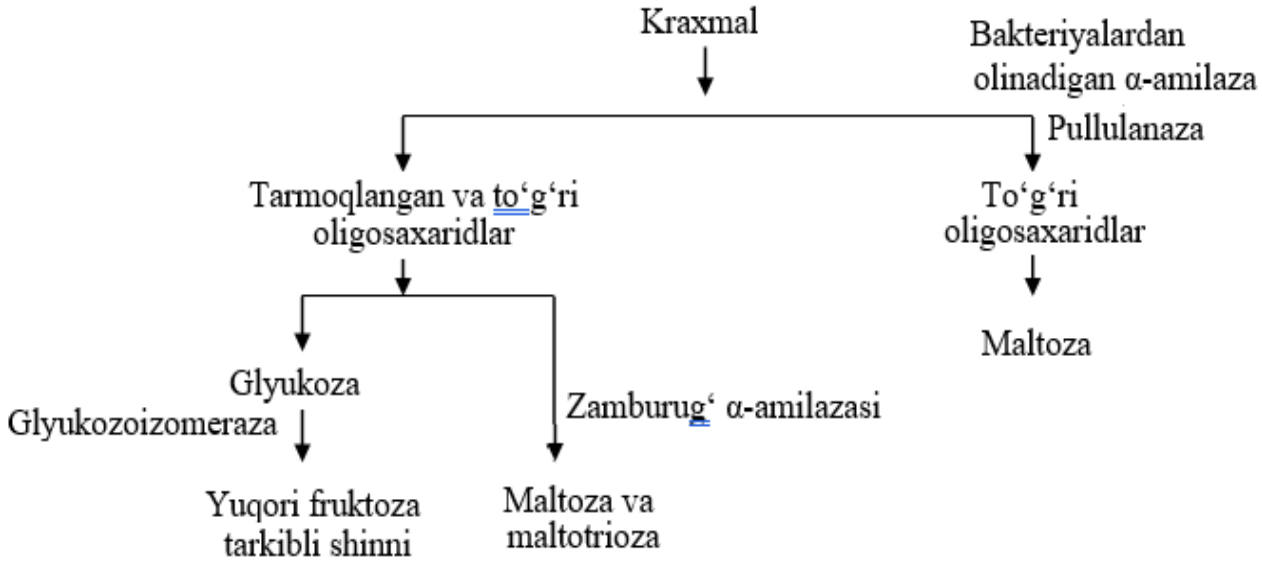
*Glyukoamilaza (amiloglyukozidaza )*- kraxmalni va uni gidrolizga uchragan (dekstranlar) mahsulotlarini reduksiyaga uchramagan tomonidan (oxiridan) β-D-glyukozani uzib oladi. Bu ferment asosan zamburug‘lardan ajratib olinadi va kraxmalni shakarlantirish jarayonlarida ishlatiladi. Hujayradan tashqariga chiqadigan glyukoamilazani - *Aspergellus, Rhizopus* va *Endomycopsis* avlodlariga mansub bo‘lgan zamburug‘lar sintez qiladilar. Kraxmalni shiralatish jarayonining kimyoviy yo‘li ko‘p energiya talab qilganligi sababli, bu jarayonni fermentlar yordamida olib borish texnologiyasi amaliyotga tadbiq etilgan.

*β-amilaza* - o‘simliklarda ko‘proq uchraydi. Amiloza va amilopektinni maltozagacha parchalaydi. Bu ferment 1,6-α-bog‘larga ta’sir qilmaydi. β-amilazani ba’zi-bir bakteriyalar, xususan, *Bacillus, Pseudomonas, Streptomyces* lar sintez qilishi ham aniqlangan. Pivo va spirt ishlab chiqarish jarayonlarida β-amilazaga muhtojlik katta. Bu ferment tarkibida ko‘proq maltoza saqlovchi sharbatlar tayyorlashda ham ishlatiladi.

*Pullulanaza* - 1,6-α-bog‘larni parchalash oqibatida amilopektin va glyukogen molekulalarida shoxlanishni yo‘qotadigan ferment. Ayniqsa kraxmalni to‘la degradatsiya qilish jarayonida ko‘proq ishlatiladi. Pullulanaza - grammusbat va grammanfiy bakteriyalarida kengroq tarqalgan. Sanoat sharoitida *K.pneumoniae* dan olinadi.

*Glyukozoizomeraza (ksilozoizomeraza)* - bu ferment glyukoza eritmasidan yuqori konsentratsiyali fruktoza sharbati tayyorlash uchun ishlatiladi. Bunday sharbatlarni tayyorlash ayniqsa AQShda yaxshiroq yo‘lga qo‘yilgan bo‘lsada, hozirgi vaqtda, Yevropada, Yaponiyada va Avstraliyada ham boshlab yuborilgan. Bu

fermentni produsenti sifatida *Bacillus coagulans, Lactobasillus brevis, Streptomyces albus, Streptomyces atratus* lar patentlangan.




**25-rasm**. Sanoat sharoitida kraxmalga fermentativ ishlov berish

**Fermentlarni detergentlar bilan ishlatish**. Bu maqsadda asosan, oqsil parchalovchi fermentlar - proteazalar ishlatiladi. Mikroblardan olinadigan barcha proteazalarni uch sinfga ajratish mumkin: serin proteazalar, metalloproteazalar va nordon proteazalar. Serin va metalloproteazalar ko‘proq bakteriyalar, nordon proteazalar esa mikroskopik zamburug‘lar tomonidan sintez qilinadi.

*Serin proteazalar*ni o‘ziga xos bo‘lgan xususiyati-ularni faol markazlarida serin qoldig‘i turishi bilan bog‘liq. Bu fermentlar, ta’sir mexanizmlari bo‘yicha endopeptidazalar bo‘lib, ular yuqori proteolitik faollikka egalar. Serin proteazalarni me’yoriy pH ko‘rsatkichi ishqoriy 9,0-11,0 bo‘lib, ularni molekulyar massasi 25-30 kDa ga teng. Ba’zi-bir bakteriyalardan (*Bacillus subtilus, B. licheniformis, B. alacalophilus*) olinadigan serin proteazalar termostabil (issiq haroratga chidamli) bo‘lib, ular hatto pH ko‘rsatkichi 12,0 ga teng bo‘lganda ham yaxshi ishlayveradi. Ishqoriy proteazalarni mana shu xususiyatlari, ularni detergentlar bilan ishlay olishini oldindan belgilab berdi. Bunday proteazalar yiliga 1000 tonnalab ishlab chiqarilsada, ularga bo‘lgan talabni to‘la qondira olmaydi. Bu proteazalar kiyim-kechaklarni ovqat dog‘laridan, qon dog‘laridan va boshqa oqsil tabiatli ifloslantiruvchi moddalardan tozalashda yuqori samara bilan ishlatiladi. Bundan tashqari bu fermentlar tozalash jarayonini umumiy holatini yaxshilaydi. Bu ferment asosida sirt-tarang moddalar (detergentlar), kompleks hosil qiluvchi moddalar va ishqor aralashtirib, yuqori sifatga ega bo‘lgan kir yuvish vositalari ishlab chiqariladi. Yevropa mamlakatlarida yuqoridagi tarkibga qo‘shimcha qilib perborat qo‘shiladi. Bu modda yuqori haroratda (50$^{o}$C dan oshganda) o‘zidan vodorod peroksidi ($H_2O_2$) chiqaradi va shuning uchun ham Yevropa mamlakatlarida ishlab chiqariladigan kir yuvish vositalari oqartirish

xususiyatiga ham ega. Ma’lumki, ko‘pincha kiyimlarni ifloslantiruvchi moddalar, noorganik moddalarni oqsil bilan aralashmasidan iborat bo‘ladi. Yuvish jarayonida sirt-tarang moddalar ifloslantiruvchi moddalarni ko‘pini eritib yuboradi, ammo oqsil tabiatli moddalar kiyimga yopishib qoladi va erimaydi. Serin proteazalar mana shu dog‘larni parchalab, kiyimdan nafaqat oqsil tabiatli moddalarning, balki ular bilan bog‘lanib qolgan organik va noorganik komponentlarning ham yuvilib ketishiga olib keladi.

*Metalloproteazalar* - bakteriyalar orasida keng tarqalgan bo‘lib, ular quyidagi turga mansub bo‘lgan bakteriyalar: *Bacillus subtilus. B.polymixa, B. stearothermophilus* va boshqalar tomonidan faol sintez va sekretsiya qilinadi. Bular orasida *B.stearothermophilus* - termostabil ferment sekretsiya qiladi va bu ferment termolizin nomi bilan tijoratga chiqarilgan. Metalloproteazalar ko‘pincha pivo pishirish va spirt tayyorlashda keng qo‘llaniladilar. Pivo tayyorlashda proteazadan foydalanish, pivo tarkibidagi quyqa oqsil moddalarni parchalash bilan bog‘liq. Metalloproteazalardan tashqari bu jarayonda o‘simlik fermentlaribromelin va papain ham ishlatiladi. Oziq-ovqat spirti ishlab chiqarishda arpa solodi (maysadan chiqadigan sharbat) boshqa boshoqlar, masalan bug‘doy bilan almashtiriladi. Mana shunday holatlarda, muhit tarkibida bijg‘uvchi shakar moddalari hosil qilish maqsadida α-amilaza va proteaza qo‘shiladi. Mana shu maqsad uchun ko‘proq *B.amyloliquefaciens* dan ajratib olingan metalloproteaza ishlatiladi.

*Nordon proteazalar* - bakteriyalarda, ko‘proq mitselial zamburug‘larda ham uchraydilar. Ayniqsa *Mucor, Aspergillus, Endothia* avlodiga mansub bo‘lgan mitsellial zamburug‘lardan olinadigan nordon proteazalar ko‘proq ishlatiladilar. *Aspergillus oryzae* zamburug‘idan organik erituvchilar bilan cho‘ktirish yo‘li bilan takadiastaza deb ataladigan ferment ishlab chiqarish yo‘lga qo‘yilgan. Takadiastazani tarkibida nordon proteazadan tashqari, neytral proteaza, α-amilaza, sellyulaza va pektinaza ham saqlanadi. Bu preparat Sharq mamlakatlarida sevib iste’mol qilinadigan soya sousi tarkibidagi soya oqsilini parchalash uchun ishlatiladi. Sutni achitadigan fermentlarda proteolitik faollikdan ko‘ra, koagulyatsiya qilish faolligi ko‘proq bo‘lishi kerak. Koagulyatsiya (sut achishi) jarayonini mohiyati-sut tarkibidagi kazein bilan $Ca^{2+}$ ionlari orasida kompleks hosil qilishi bilan bog‘liq.

Schug - buzoqchalarning (yoki qo‘zichoqlarning) oshqozonidan ekstraksiya qilib olinadigan preparat, tarkibida renin fermentini saqlaydi va bu yuqoridagi jarayon uchun to‘g‘ri keladigan proteolitik ferment hisoblanadi. Qimmatbaho hamda defitsit bo‘lgan, schug fermentini arzon va qulay topiladigan mikrob fermenti bilan almashtirish, pishloq tayyorlashni istiqbollarini belgilab beruvchi omillardan biri hisoblanadi. Zamburug‘lardan olinadigan proteazalar kleykovinani ma’lum darajagacha parchalash uchun ishlatiladilar. Bu esa, non pishirish jarayonini standartlash imkoniyatini yaratadi. Boshqa fermentlarni (glyukozooksidaza, fruktofuranozidaza, galaktozidaza, pektinaza, papain, tripsin, ximotripsin, shuningdek ba’zi bir bakterial va zamburug‘lardan olinadigan fermentlar) ishlatish tobora kengayib bormoqda. Hisob-kitoblarga qaraganda fermentlardan iqtisodiyot tarmoqlarining har xil tarmoqlarida foydalanish har 10 yilda 2 barobarga oshmoqda. Zamonamizning eng dolzarb muammolaridan biri sellyuloza saqlovchi moddalarni fermentlar yordamida gidroliz qilish orqali shakar va shakar tabiatli moddalar ajratib olishdan iborat. Bu maqsadda juda katta ilmiy va amaliy ishlar olib borilmoqda.

Ayniqsa, texnologiya talablariga javob bera oladigan produsentlar yaratish bo‘yicha butun dunyoda katta ishlar qilingan. Xususan, mikroskopik zamburug‘larni 200 dan ortiq shtammlari, bakteriyalarni 20 dan ortiq shtammlari shu maqsadda seleksiya yo‘li bilan tanlab olingan. Yuqori faollikka ega bo‘lgan sellyuloza fermentini 50 dan ortiqroq preparatlarini ishlab chiqarish texnologiyalari, ligno-sellyuloza materiallariga ishlov berish sharoitlari yaratilgan. Oqibatda fermentativ usulda glyukoza ishlab chiqarishni iqtisodiy jihatdan foydali ekanligi tasdiqlangan. Neft va gaz zahiralarini tobora kamayib borayotganligi, dunyo bozorida ularni narxi oshib borayotganligi, biotexnologik usullar yordamida, ya’ni fermentlar ishlatib biologik yoqilg‘i tayyorlashni yanada dolzarb sohaga aylantirib qo‘ydi. Shu sababli har yili qayta tiklanadigan o‘simlik qoldiqlari va chiqindilardan bioyoqilg‘i tayyorlashni iqtisodiy samarali texnologiyasini yaratish ustida butun dunyoda ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Bunday texnologiya sellyulaza fermenti ishtirokida glyukoza olish va glyukoza sharbatini spirtli bijg‘itish orqali bioetanol olishga qaratilgan. Zamonaviy biotexnologiyaning dolzarb muammolaridan biri issiqqa chidamli, ishqoriy muhitda yaxshi ishlaydigan sellyulaza preparatlarini yaratishdir. Yuqorida keltirilgan sabablar energiya tayyorlashni noan’anaviy yo‘llarini tobora kengaytirmoqda. Mana shunday yo‘llardan biri yog‘ parchalovchi fermentlardan foydalanishdir. Biotexnologiyani bosh masalalaridan biri tozalangan fermentlar ishlab chiqarish bilan bog‘liq. Oxirgi 10-15 yilda fermentlarni katta hajmda tozalash bo‘yicha e’tiborga sazovar ishlar bajarilmoqda, xususan har xil spetsifiklikka ega bo‘lgan affin, gidrofob va ion almashinuv sorbentlari tayyorlangan, ular asosida fermentlarni sanoat miqyosida tozalash usullari yaratilgan. Bu esa, fermentlardan tibbiyot amaliyotida foydalanish imkoniyatini yaratmoqda. Hozirgi vaqtda bir necha o‘nlab fermentlarni yuqori darajada tozalangan formalari tibbiyotda ishlatib kelinmoqda.

## 7§. FERMENTLAR IMMOBILIZATSIYASI VA ULARNING XILLARI

XX asrning oxirlarida immobilizatsiya qilingan fermentlarning ishlatilishi ferment sanoatini tubdan o‘zgartirib yuboradi, ayniqsa ferment preparatlarini ishlab chiqarish bahosini kamaytirib, ularni ajratib olish va tozalash bilan bog‘liq bo‘lgan muammolar hal bo‘ladi deb bashorat qilingan edi. Immobilizatsiya qilingan fermentlar har xil sohalarda, xususan tibbiyotda, farmatsevtikada, kimyoviy va oziq-ovqat sanoatlarida analitik maqsadlar uchun, ferment elektrodlari sifatida shakar, aminokislotalar va boshqa moddalarni miqdorini aniqlashda ishlatilib kelinmoqda. Bundan tashqari, immobillashgan fermentlardan foydalanish imkoniyatlari, radioimmun va fermentativ immunosorbent analiz kabi yangi yo‘nalishlarni ochilishiga olib keldi. Ammo, immobilizatsiya qilingan fermentlardan amaliyotda foydalanish, bashorat qilinganidek keng va ravshan bo‘la olgani yo‘q. Fermentlarni immobillizatsiya qilish quyidagi afzalliklarga ega:

Birinchidan, immobillangan fermentlar reaksiya muhitidan oson ajratib olinadi va qayta ishlatilsa bo‘ladi;

Ikkinchidan, immobillangan holatdagi fermentlar o‘zlarini muqobillariga qaraganda ekstremal sharoitlarida (yuqori harorat, pH ko‘rsatkichi) chidamliroq va uzoqroq vaqt davomida faolliklarini saqlab qoladilar;

Uchinchidan, immobillashgan fermentlar to‘xtovsiz texnologiyalar yaratish imkoniyatini yaratadi;

To‘rtinchidan, immobilizatsiya usullari orqali multiferment kompozitsiya tayyorlash mumkin, bu esa o‘z navbatida har xil jarayonlarni ketma-ket amalga oshirish imkoniyatini yaratadi.

Immobilizatsiya qilingan fermentlar kamchiliklardan ham holi emas. Ba’zan immobilizatsiya, fermentativ tizimni solishtirma faolligini kamayib ketishiga olib keladi. Bu esa har xil sabablarga ko‘ra sodir bo‘ladi. Masalan, fermentlarni tashuvchi bilan kovalent bog‘lanishi, faol markazga yaqin turgan aminokislotalarni qamrab olishi mumkin. Fermentlar tashuvchiga bog‘lab qo‘yilganligi sababli, immobillangan fermentlar harakatsiz yoki suvda erimaydigan substratlarga ta’sir ko‘rsata olmaydi (sellyuloza, ksilol, lignin va boshqalar). Immobillangan fermentni yana bir kamchiligi, immobillash usulini qimmatligidir. Shunday qilib, immobillangan fermentlardan foydalanishda qator masalalarni, xususan iqtisodiy va amaliy masalalarni hal qilishga to‘g‘ri keladi.

21-jadval

**Immobillangan fermentlar va mikrob hujayralarini sanoatni har xil sohalarida ishlatilishi**

| Ferment yoki hujayra | Tashuvchi/ immobilizatsiya usuli | Ishlatilishi |
|---|---|---|
| Aminoatsilaza | DEAE-sefadeks / adsorbsiya | DL-aminokislotalar aralashmasidan L-aminokislotalar ajratish |
| B-galaktozidaza | Shisha parchalarda / adsorbsiya | Laktozasiz sut olish |
| Glyukozoizomeraza (ksilozaizomeraza) | Daulet A 7, amberlit IRA 904 / adsorbsiya | Glyukoza va fruktoza aralashmasi tayyorlash |
| Lipaza | DEAE-selyuloza, mikrokristal sellyuloza / adsorbsiya | Yog‘ kislotalari, mono-, diglitseridlar va glitserin olish |
| Aspartataminoatsilaza *E.coli* hujayralari | Poliakrilamid geli / strukturaga kiritish | L-aspartat olish |
| Gistidinaminoatsilaza, *Achromobacter liquidum* hujayralari | Poliakrilamid geli / strukturaga kiritish | Sitrullin olish |
| Penitsillinamidaza, *E.coli* hujayralari | Poliakrilamid geli / strukturaga kiritish | 6-aminopenitsillan kislotasini olish |
| Fumaratgidrataza *Brevibacterium ammoniagenes* | Poliakrilamid geli / strukturaga kiritish | Olma va fumar kislotalari olish |

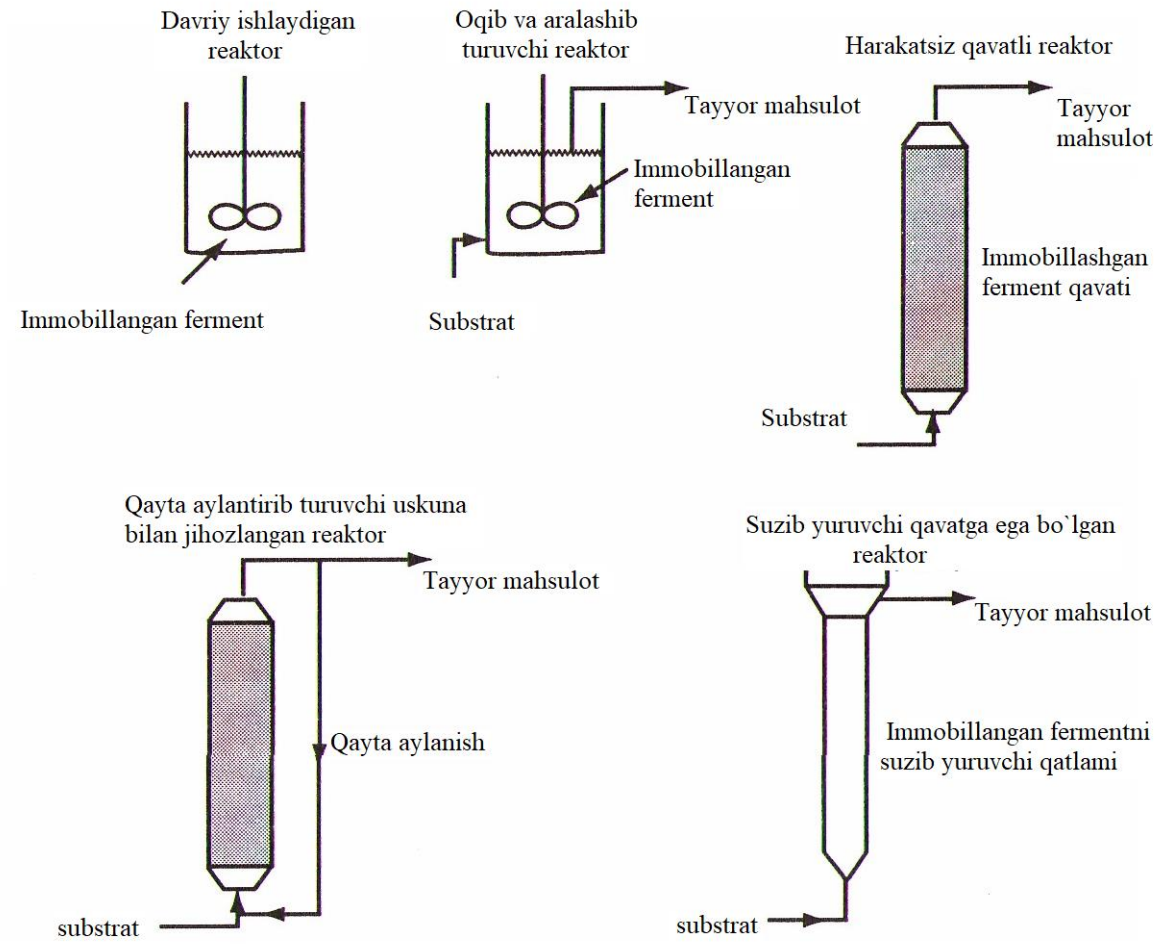
Immobillangan fermentlarni olish texnologiyasi quyidagi strategiya asosida yechiladi:

- ion almashuv smolalarga, tashuvchini va fermentlar tarkibidagi aminokislotalarni qarama-qarshi zaryadi hisobidan adsorbsiya qilish. Bu immobilizatsiya qilishni eng oddiy usuli bo‘lib, tashuvchi bilan ferment eritmasini, ma’lum pH da aralashtirish orqali bajariladi. Bu usulni kamchiligi muhitni ion kuchini o‘zgartirganda, fermentni tashuvchidan yengil desorbsiya bo‘lishi bilan bog‘liq. Mana shu usulda tayyorlangan DEAE-sellyulozaga immobilizatsiya qilingan glyukozaoksidaza fermenti 1980-yillardan buyon glyukozani miqdoriy aniqlashda ishlatilib kelinmoqda. Aminoatsilaza (tashuvchi DEAE-sefadeks) kimyoviy sintez yo‘li bilan olingan atsil DLaminokislotalarni aralashmasini L-aminokislota va atsil D-aminokislotalarga ajratishda ishlatiladi. Ilmiy adabiyotlarda 50 dan ortiq fermentlarni adsorbsiya usuli bilan har xil ion almashuvchi smolalarga immobilizatsiya qilinganligi chop etilgan bo‘lsada, shulardan atigi bir nechtasi amaliyotda ishlatilgan xolos.

- fermentlarni hujayra ichiga fiksatsiya qilish usuli glyukozoizomeraza fermentini sanoatda ishlatilishini asosini tashkil qiladi. Streptomitsetlarni (produsentlar) 60-80$^{o}$C gacha 3-5 daqiqa davomida qizdirilganda, ularning hujayralarida kichik molekulalar bemalol o‘tadigan mu’tadil teshikchalar paydo bo‘ladi. Mana shu hujayralar bilan reaktorlar to‘ldiriladi va undan glyukoza eritmasi o‘tkaziladi. Oqibatda glyukoza-fruktoza sharbati hosil bo‘ladi. Shu usulda *Artrobacter* hujayrasida fiksatsiya qilingan glyukozoizomeraza fermenti ham amaliyotda ishlatilib kelinmoqda. Shakar sanoatida shuningdek qiyin hazm bo‘luvchi raffinozani saxaroza va galaktozagacha parchalab beruvchi ferment L-galaktozidazani ham immobillangan shaklidan keng foydalanib kelinmoqda.

- kovalent bog‘lanish orqali immobillash usuli eng keng tarqalgan usullardan hisoblanadi. Tashuvchi sifatida organik hamda noorganik, ko‘proq silikatli (g‘ovakli shisha) moddalardan foydalaniladi. Fermentni tashuvchi bilan “tikuvchi” modda sifatida xilma-xil kimyoviy birikmalardan, xususan glutaraldegid, gossipol, karbodiamid singari bifunksional moddalardan foydalaniladi. Bu usul bilan olingan immobillangan fermentlar mustahkamligi bilan boshqa preparatlardan farqlanib turadi. Bu usulni asosiy kamchiligi bog‘langan fermentlarni solishtirma faolligini pastligi hisoblanadi. Misol tariqasida quyidagilarni keltirish mumkin: g‘ovak shishalarda kovalent bog‘lar orqali immobilizatsiya qilingan glyukoamilaza fermentini reaktorlarda to‘xtovsiz ishlatilganda, ularni yarim inaktivatsiya davri 1,5 yilga to‘g‘ri kelgan (AQSh ni Ayova shtatidagi biotexnologiya laboratoriyasi axboroti).

- fermentni sintetik polimerlar strukturasiga kiritish usuli, immobilizatsiyani eng oddiy va samarali usullaridan biri hisoblanadi. Bu maqsad uchun ko‘proq poliakrilamid va jelatina gellaridan foydalaniladi. Bu usulni asosiy kamchiligi yuqori molekulali substratlarga ta’sir etganda sodir bo‘ladigan diffuzion muammolar hisoblanadi. Mana shu usul bilan juda katta miqyosda ishlatiladigan glyukozoizomeraza, aminoatsilaza, β-galaktozidaza fermentlarini immobillangan shakllari olingan.

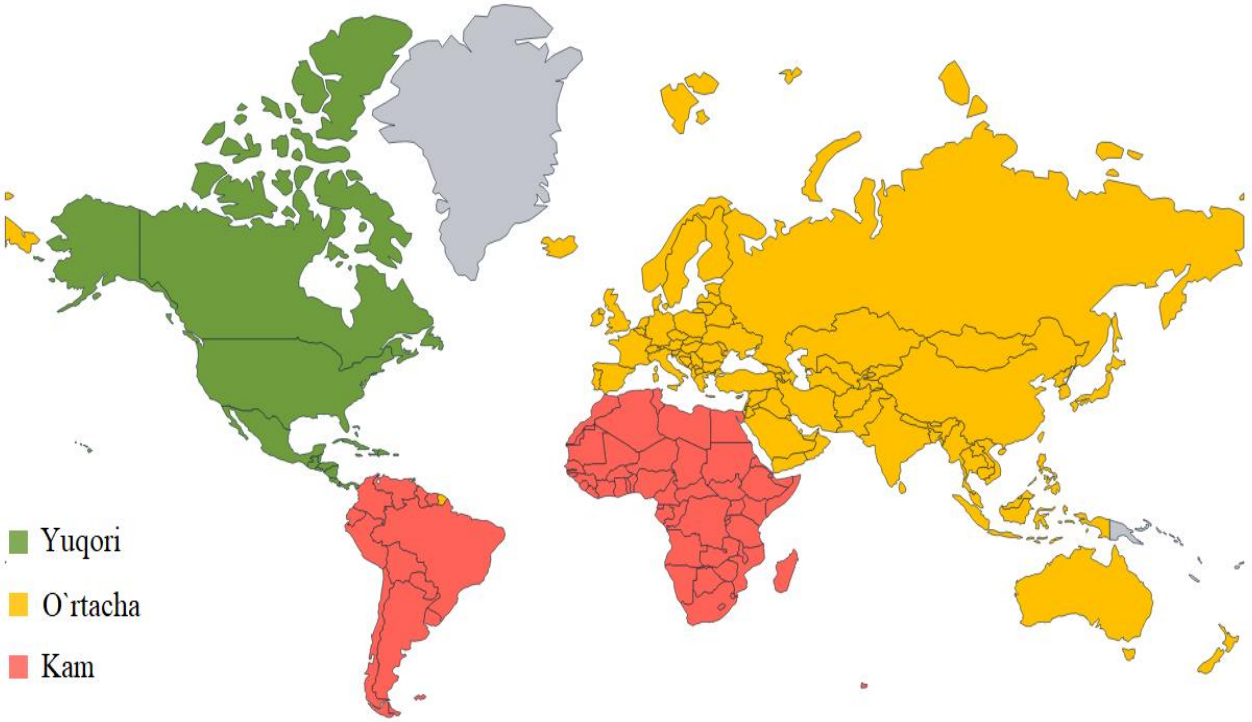



**26-rasm**. Immobillangan ferment bilan ishlovchi reaktor turi

Biotexnologiyada fermentlarni texnologik jarayonlar sharoitiga moslashtirish bo‘yicha har xil ilmiy va amaliy izlanishlar doimiy ravishda olib borilmoqda. 56-jadvalda sanoatda kengroq foydalaniladigan fermentlarni immobillangan shakllari keltirilgan. Immobillangan fermentlarni ta’sir samaradorligini oshirish maqsadida, ferment reaktorlarini quyidagi tiplari ishlab chiqilgan: oqib va aralashtirib turadigan reaktor, davriy ishlaydigan reaktor, xarakatsiz qavatli reaktor, suzib yuruvchi qavatga ega bo‘lgan reaktor, qayta aylantirib turuvchi uskuna bilan jihizlangan reaktor (26-rasm).

**Fermentlar ishlatiladigan sohalar**. Fermentlarni ishlatilishiga zamonamizni yutug‘i sifatida qarash noto‘g‘ri bo‘ladi. Chunki, ular bir necha asrlar avval teri oshlashda, pishloq tayyorlashda, solod ishlab-chiqarishda (sumalak tayyorlashni eslang), pivo pishirishda, xamirturush sifatida va boshqa sohalarda ishlatib kelingan. Bu jarayonlarda hayvon va o‘simlik to‘qimalari yoki butun mikroorganizmlar tarkibidagi fermentlar ishlatilgan. Fermentlardan tozalangan preparatlar sifatida foydalanish biroz kechroq, balki XIX asrning oxirida boshlangan. AQShda yashovchi, yapon olimi Iokishi Takamine ferment olish bo‘yicha 1-patentni 1884-yilda ro‘yxatdan o‘tkazgan. O‘sha jarayonda *Aspergillus oryzae* zamburug‘i namlangan guruchda yoki bug‘doy kepagida o‘stirilib, sekretsiya bo‘lgan amilaza fermentini suv yoki tuzli eritma yordamida ekstraksiya qilib olingan. Mana shu “Takadiastaza” hozirgacha ovqat hazm bo‘lishiga yordam beruvchi vosita safatida ishlatilib kelinadi. Fermentlar oziq-ovqat, yengil sanoatda, tibbiyotda,

farmakalogiya, qishloq xo‘jaligi, organik sintez, ilmiy izlanishlarda, gen muhandisligida keng ishlatiladi. 27-rasmda ferment preparatlari ishlab-chiqarishda hududlarning ishtiroki to‘g‘risida ma’lumot bayon etilgan.




**27-rasm**. Ferment preparatlari ishlab chiqarishda dunyo mintaqalarining ulushi (Mordor Intelligence, 2018)

Fermentlarni sanoatning har xil sohalarida ishlatish bo‘yicha olib boriladigan ishlar tahlil qilinganda, bu jarayon yildan-yilga oshib borayotganligini ko‘rsatadi. Bashorat qilinishicha, ekstremal sharoitda yashaydigan mikroorganizmlardan olinadigan va har xil sharoitda chidamli bo‘lgan fermentlardan foydalanish, bu sohani jadal rivojlanishiga olibkeladi.

Hozirgi vaqtda ham past ($O^oC$) ham yuqori ($+115^oC$) haroratda hamda juda ham keng bo‘lgan pH ko‘rsatkichida (pH 2,0-14,0) ishlaydigan fermentlar borligi aniqlangan. Fermentativ reaksiyalarni odatdagidan uzoqroq bo‘lgan haroratda yoki pH da o‘tkazilishi, yuqori tozalikka ega bo‘lgan mahsulot olish, keraksiz moddalarni hosil bo‘lishini kamaytirish, fermentlarni ajratishni oddiy chizmasini ishlab chiqish kabi jarayonlarni yaratishga imkon beradi. Umumiy tavsif sifatida, bunday fermentlarni toksinlik xususiyati juda ham kattaligi, biodegradatsiyaga yengil uchrashini ta’kidlash mumkin. Bu esa bunday fermentlarni tibbiyotda va oziq-ovqat sanoatida kengroq ishlatishga imkon yaratadi. Fermentlarni biokatalizatorlar sifatida eng asosiy ustivorligi ularni o‘ta murakkab kimyoviy reaksiyalarni oddiy sharoitda, juda ham kam energiya sarf qilib bajarishlaridir.

Zamonaviy biotexnologik jarayonlarda fermentlar uch shaklda ishlatiladilar:

- membranalarda yoki hujayra strukturalarida lokalizatsiya bo‘lgan fermentlar, faqatgina hujayra ichidagi substratlarni o‘zgarishini kataliz qiladilar. Bunday

shakldagi fermentlarni ta’siri, bijg‘ish, nafas olish kabi boshqa, o‘tishi maxsus sharoit talab qilmaydigan jarayonlar uchun xosdir;

- ekzogen (hujayra tashqarisiga chiquvchi) yoki hujayradan ekstraksiya qilish yo‘li bilan olangan fermentlarni ta’sir etishi uchun maxsus sharoit (harorat, rN, bufer sistemasi, metall ionlari va boshqa kofaktorlar) talab qilinadi;

- fermentlarni yoki butun hujayralarni immobillangan shaklda ishlatish. Sanoatda ishlatish uchun tayyorlangan bu usul quyidagi bosqichlarni o‘z ichiga oladi: butun hujayra bu usul quyidagi bosqichlarni o‘z ichiga oladi: butun hujayralar yoki ulardan ajratib ajritib oligan, qisman tozalangan fermentlarni, erimaydigan yoki tashuvchilarga bog‘lash, ularni ion almashuvchi polimer tashuvchilarga adsorbsiya qilish yoki sintetik polimerlarni strukturasiga kiritish. Bu metodni asosiy maqsadi-fermentlarni chidamliligini oshirish va ulardan qayta foydalanishni tashkil qilishdan iborat.

Sanoatda fermentlarning produsenti sifatida ko‘proq mitselial zamburug‘lar ishlatiladi. Amaliyotda faqat birgina grammanfiy bakteriya *Klebsiella pneumonial* ishlatilgan, bu esa bunday bakteriyalar orasida haqiqiy hujayradan tashqariga chiqadigan fermentlar juda ham kam hamda periplazmatik fermentlarni sanoat sharoitida olish qimmat va qiyin ekanligidan xabar beradi. Sanoat sharoitida xilma-xil fermentlar ishlab-chiqarish uchun *Aspergillus* dan tashqari *Trichoderma, Penicillium, Rhizopus, Mucor* avlodlariga mansub bo‘lgan zamburug‘lar ham jadal o‘rganilmoqda, ularni ferment sintez qilish sistemasi chuqur o‘rganilib, ko‘plab patentlar olingan. Shuningdek boshqa avlodlarga mansub bo‘lgan produsentlar (*Allescheria, Geotrichum* ham borligi aniqlangan.

22-jadvalda fermentlar ishlatiladigan texnologik jarayonlar keltirilgan.

Yuqorida keltirilgan misollarga biroz izoh berishga to‘g‘ri keladi. Masalan, biologik detergentlarni ishlab chiqarishda, shu jarayonda qatnashadigan ishchilarga fermentlarni allergik ta’sirini oldini olish uchun, ularni kapsulalarga joylashtirishga to‘g‘ri kelgan. Qari mollarning oshqozonidan renin manbayi sifatida foydalanish mumkin emas, ammo undan boshqa proteolitik ferment-pepsin olish mumkin. Oxirgi yillarda pishloqqa bo‘lgan talab oshib ketmoqda, shuning uchun reninga yetishmovchilik sezilib qolgan, bu esa pishloqni tijorat bahosini ko‘tarilib ketishiga olib kelmoqda. Yuqorida keltirilgan misollar bilan fermentlarni ishlatish soxasi chegaralanib qolmaydi, albatta. An’anaga ko‘ra fermentlarni texnik preparatlari kraxmal, pektin, sellyuloza, gemitsellyuloza, (ksilan) va disaxaridlar (saxaroza, laktoza) molekulalaridagi glikozid bog‘larni parchalash bilan aloqador bo‘lgan sohalarda kengroq ishlatilib kelinmoqda. Shuningdek, oqsil molekulalaridagi peptid bog‘larni parchalovchi proteazalarga talab ham oshib bormoqda.

Fermentlardan amaliyotda foydalanish sohasi ikkiga bo‘linadi:

sanoatni har-xil sohalari, bu jarayonlarda asosan texnik preparatlar ishlatiladi;

klinik tibbiyot va ilmiy tekshirish sohasi-bu jarayonlarda ishlatiladigan ferment yoki ularni immobillangan shakllari oqsilni tozaligi talablariga javob berish kerak.

22-jadval

**Sanoatda ishlatiladigan fermentlar**

| № | Ferment | Ta’sir prinsiplari | ishlatish sohasi |
|---|---|---|---|
| 1. | Mikroblardan olinadigan proteinazalar, lipazalar, amilazalar. | Kir yuvish vositalari sifatida suyuq fazada, kraxmal, yog‘ va oqsildan tozalashda. | Biologik detergentlar |
| 2. | Zamburug‘lardan olinadigan α-amilaza, proteinaza | Un tarkibidagi kraxmalni parchalab, shakar olish uchun; oqsil miqdori kam bo‘lgan quruq non tayyorlashda | Non pishirishda |
| 3. | Arpa fermentlari | Bijg‘iydigan shakar moddalari, aminokislotalar va peptidlar olish maqsadida kraxmal va oqsillarni gidrolizida | Pivo tayyorlashda |
| 4. | Proteinaza, glyukanaza, aminoglyukozidaza | Polisaxaridlar va oqsillarni qisman gidroliz qilish, past kaloriyali pivo tayyorlashni filrlash jarayonini takomillashtirish, quyqalarini ajratish jarayonlarida | Pivo tayyorlashda |
| 5. | Renin (quritilgan ferment), mikroblardan olinadigan lipaza va laktaza fermentlari | Pishloq tayyorlashda sut oqsilini spetsifik gidroliz qilish, pishloqni tezroq pishirish (“Rokfor”), laktozani glyukoza va galaktozaga parchalashda | Sut mahsulotlarini qayta ishlash |
| 6. | α-amilaza glyukoamilaza | Kraxmalni glyukozagacha va boshqa yengil bijg‘iydigan shakarlargacha parchalashda | Kraxmalni qayta ishlash |
| 7. | Glyukozoizomerazani immobillangan shakli | glyukozani fruktozaga aylantirish, yuqori konsentratsiyali fruktoza sharbati tayyorlashda | Sharbat tayyorlashda |
| 8. | Zamburug‘ va bakteriyalardan olinadigan amilazalar | Gazlamalardan kraxmal qoldig‘ini haydashda (oldin ishlatilgan kimyoviy moddalar o‘rniga) | Ipakchilik va to‘qimachilik sanoatida |
| 9. | It va kabutarlarni axlatlaridan olinadigan proteaza fermentlari | Teri oshlash va oqsilni parchalashda | Teri tayyorlashda |
| 10. | Tripsin va shunga o‘xshash fermentlar | Teri tayyorlashda ishlatiladigan proteolitik fermentlarni o‘rniga | Teri tayyorlashda |

Fermentlarni texnik preparatlari oqsillar aralashmasidan iborat bo‘lib, ulardan asosiysi preparatni nomiga chiqarilgan bo‘ladi. Asosiy oqsilni (fermentni) miqdori umumiy oqsilni 10-15% dan kam bo‘lmasligi kerak.bunday preparatni 1 kg 30-500 dollar turadi. Ko‘pincha texnik preparatga neytral qo‘shimchalar, masalan ksiloza qo‘shiladi. Standartlash maqsadida qo‘shiladigan qo‘shimchalar asosiy fermentni katalitik xossalariga ta’sir ko‘rsatmasligi kerak. Yuqori tozalikka ega bo‘lgan ferment preparatlarida, asosiy fermentni miqdori, umumiy oqsilga nisbatan 60-70% ni tashkil etadi. Bunday preparatlarni tayyorlash anchagina qiyin bo‘lganligi sababli, tozalangan fermentlarni bahosi ham ancha baland bo‘ladi. (1 kg 100000 dollardan ko‘proq). Sanoatda fermentlar o‘n va undan ham ko‘proq ksilogramlab ishlatilsa, tibbiyotda bu miqdor bir necha milligrammlar bilan o‘lchanadi. Inson organizmidagi dearli barcha funksional o‘zgarishlar fermentlarni faolligini o‘zgarishi oqibatida sodir bo‘ladi deyilsa, mubolag‘a bo‘lmaydi. Fermentativ faollikni aniqlash uchun qon zardobi, siydik, qon hujayralari (eritrotsitlar, leykotsitlar) ishlatiladi. Diagnostika maqsadida,α-amilaza, kreatinkinaza, fruktozodifosfataldolaza, nordon va ishqoriy fosfataza, laktotdegidrogenaza kabi fermentlarni faolligini aniqlanadi. Fermentlar shuningdek, oshqozon-ichak faoliyatini yaxshilash uchun ham ishlatiladi. Bu maqsadda ko‘proq proteaza, amilaza, sellyulaza, lipaza va boshqa fermentlardan foydalaniladi. Yaqin orada ferment ishlab chiqarish tubdan o‘zgarib ketmasada, shu maqsadda gen-muhandisligi, hujayra-muhandisligi, seleksiya va tanlov asoslarida olingan, yuqori faollikka ega bo‘lgan va texnologik jihatdan qulay bo‘lgan shtammlar asosida har xil faollikka ega bo‘lgan fermentpreparatlari ishlab chiqarish davom etadi.

# IV bob. GEN MUHANDISLIGI

## 8§. GEN MUHANDISLIGINING MOHIYATI VA ASOSIY TUSHUNCHALARI

Zamonaviy biotexnologiyani insonning ehtiyoj va hohishlariga mos keladigan organizmlarni yangi shaklini yaratishsiz tavavvur etish qiyin. Tirik organizmni belgilari, xossa va xususiyatlarini keyingi avlodlarda ham saqlanib qoladigan qilib o‘zgartirish uchun nima qilish kerak? Bunga faqat organizmni genotipini, ya’ni uni irsiy materialini o‘zgartirish orqali erishish mumkin.

Irsiy materialni (DNK ni) maqsadga muvofiq ravishda o‘zgartirish va konstruksiya qilish – bu genetik injeneriya fanining vazifasi hisoblanadi. Gen injeneriyasi usullari yordamida yaratiladigan DNK molekulasi rekombinant molekula deb ataladi.

Molekulyar biologiyaning genetik materiallarini, modda almashinuvi mahsulotlarining biosintezini amalga oshiraoladigan, yangi kombinatsiyalarini yaratish bilan bog‘liq bo‘lgan bo‘limi genetik injeneriya deb nom olgan.

Gen injeneriyasiga kim va qachon asos solgan? Amerikalik olim P.Berg 1972 yilda laboratoriya sharoitida birinchi bo‘lib rekombinant DNK yaratgan. Shu kundan boshlab gen injeneriyasiga asos solingan. Yaratilgan rekombinant DNK uch organizmni: “SV 40” virusi, “lyambda” bakteriofagi va “ichak tayoqchasi” bakteriyasini DNK fragmentlaridan tuzilgan. Bundan oldinroq ikkita unikal tip fermentlar ochilmaganida P. Berg bajargan tajribalarni o‘tkazib bo‘lmas edi.

Bu fermentlar:

1) restriktazalar – DNK molekulasini aniq bir uchastkadan kesadigan fermentlar;
2) ligazalar - DNKni har xil molekulasi fragmentlarini bir – biriga ulaydigan fermentlar.

Restriktazalar juda ham muvaffaqiyatli nom – “biologik qaychi” degan nom olgan. Bu “qaychilar” yordamida gen injenerlari DNK molekulalarini fragmentlarga kesib, har xil manipulyasiyalar o‘tkazadi. Gen injeneriyasi bo‘yicha muvaffaqiyatli tajribalar o‘tkazish uchun zarur bo‘lgan ikkinchi sharoit bu “vektorlardan” foydalanishdir.

Vektorlar – viruslar yoki bakteriyalardan olinadigan qisqa xromosomalardan tashqaridagi DNK fragmenti – plazmidalardir. Restriktaza va ligaza fermentlari yordamida olimlar vektorlarga DNKning kerak bo‘lgan fragmentini (gen ) kiritaoladilar. Vektorni vazifasi – yangi DNKni hujayraga kiritish va uni xo‘jayin – organizm DNKsiga joylashtirish.

Gen muhandisligi usullarini mukammallashtirish, hatto qarindosh bo‘lmagan organizmlarni, shu jumladan evolyutsiyaning har xil bosqichidan o‘rin olgan organizmlarni ham, genetik axborotlarini birlashtirish imkonini beradi. Bundan tashqari “probirkada” (in vitro) ham rekombinant DNK yaratish jarayonini amalga oshirish mumkin. Albatta bunday sharoitda tirik organizmlarda faoliyat ko‘rsatuvchi, to‘sib qo‘yuvchi mexanizmlarni chetlab o‘tish imkoni paydo bo‘ladi. Bugungi kunda gen muhandisligi usullari dorivor moddalar ishlab – chiqarishda, hamda boshqa qator jarayonlarda muvaffaqiyatli ishlatib kelinmoqda. Ular asosida insulin, interferon,

interleykin, o‘stirish gormonlari kabi organizm uchun zarur bo‘lgan moddalarni sanoat sharoitida ishlab chiqarish yo‘lga qo‘yilgan. Gen muhandisligi asosida transgen o‘simliklar olish texnologiyasi ham yaratilgan (65-rasm).

Shuningdek, nafaqat sermahsul, balki yuqori darajada kasalliklarga va parazitlarga chidamli bo‘lgan hayvon zotlari ham yaratilgan. Masalan, Belgiya va AQSHda kartoshka va pomidorni kolorado qo‘ng‘iziga chidamli bo‘lgan yangi navlari yaratilgan bo‘lib, ular tabiiy navlarga nisbatan insektitsidlar miqdorini 40-60% ga kamaytirishga imkon bergan.

Gen muhandisligi bo‘yicha tajribalarni muvaffaqiyatli o‘tkazish uchun eksperimentator qanday aniq vazifalarni hal qilishi zarur? Gen-injenerlik ishlarni bajarish uchun 3 vazifani bajarish talab qilinadi:

1) hujayraga ko‘chirib o‘tkazishga yaraydigan rekombinant DNK yaratish;

2) rekombinant DNK ni hujayraga kiritish usullarini ishlab-chiqish;

3) xo‘jayin – organizm hujayrasiga kiritilgan genlarni normal faoliyat ko‘rsatishi uchun sharoit yaratish.



**28-rasm**. Gen muhandisligi usullari yordamida yaratilgan makkajo‘xorini yangi navlar urug‘larini ko‘rinishi

Hozirgi vaqtda qaysi produsent (mikroorganizm) dan foydalangan holda foydali mahsulotlar sintez qilish mumkinligini aniq ko‘rsatib berish mumkin. Agarda bunday produsent bo‘lmasa, qay tariqa va qanday sharoitda yuqori darajada, istalgan turdagi mahsulotni olish xususiyatini namoyon qiluvchi produsentni yaratish mumkinligini oldindan aytib berish imkoniyatlari mavjuddir.

Biotexnologik ishlab chiqarishda bugungi kunda mikroorganizmlarni minglab shtammlaridan foydalanilmoqda.

Biotexnologiyasida gen muhandisligi sohasini o‘rganishdan maqsad:

- tirik organizmlar irsiy belgilari haqidagi axborot joylashgan DNK molekulasining tuzilishi, roli hamda uning molekulyar biologiyasi;
- 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‘qimalarni sun’iy sharoitda o‘stirish texnologiyasi;
- genetik muhandislikning oziq-ovqat sanoatida, hayvonlar va o‘simliklar seleksiyasida qo‘llanilishi;
- gen muhandisligiga asoslangan biotexnologiyaning oziq - ovqat sanoatidagi ilmiy-texnik taraqqiyotni tezlashtirishdagi roli;
- gibridomalar olish texnologiyasi va uning yuqorida keltirib o‘tilgan mahsulotlarni ishlab chiqarishda qo‘llashni hamda genetik muhandislikning istiqbollari haqida aniq bilimlarni o‘zlashtirishdan iborat.

Gen muhandisligi an’anaviy tanlash (seleksiya) usullarini inkor qilmasdan, aksincha uning imkoniyatlarini yanada kengaytiradi. Gen muhandisligi usullari quyidagi vazifalarni hal qila oladi:

- produsentlarning alohida olingan genlarini o‘zgartirish, ularni kerakli funksiyalarini kuchaytirish, ya’ni yangi genetik axborot kiritmasdan, o‘zida mavjud strukturalarni modifikatsiya qilish orqali shtammning samaradorligini oshirish yoki yaxshilash;
- aniq vazifaga javobgar bo‘lgan, alohida genni ajratib olish va uni o‘zgartirish (mutatsiya qilish), hujayra ichida uning nusxalarini ko‘paytirish va shu orqali ma’lum mahsulot sintezini kuchaytirish;
- promotorlarni genning faolligini aniqlovchi mutatsiyaga uchragan turini olish, enxanserlar (promotorlar faolligini kuchaytiruvchilar) kiritish;
- ishlatiladigan substratlar spektrini kengaytirish. Masalan, sut zardobi, sellyuloza saqlovchi chiqindilarda tez rivojlanib, oqsil sintez qiluvchi mikroblarning shtammlarini yaratish;
- ksenobiontlar (inson yaratgan biologik faol moddalar), neft qoldiqlari, har xil toksinlar va atrof muhitni ifloslantiruvchi kimyoviy moddalarni va boshqa keraksiz birikmalarni utilizatsiya qilish imkoniyatiga ega bo‘lgan mikroorganizmlar shtammlarini yaratish;
- qo‘shila olmaydigan mikroorganizmlarga qo‘shilishni ta’minlab beruvchi plazmidalar kiritish va shu tufayli shtammlarning xossalarini yaxshilash maqsadida rekombinatsiya usullaridan foydalanish;
- boshqa guruh organizmlar genini kiritish va shu orqali kiritilgan gen mahsulotini olish. Masalan, o‘simliklardan shirinligi saxarozadan 3000 marotoba ortiq bo‘lgan polipeptid genini *E.coli* ga yoki *S.cerevisiae* kulturalariga o‘tkazish va shu orqali shirin ta’m beruvchi mahsulotlar tayyorlash;
- yangi gen konstruksiya qilib, xususiyatlari oldindan belgilangan yangi oqsil olish, keyinchalik oqsil molekulasini “arxitekturasi” (birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to‘rtlamchi strukturalari) va ularning biokimyoviy xossalari aniq bo‘lgandan keyin, sun’iy genlar sintez qilish va ularni klonlash orqali yangi oqsillar yaratish.

Hozirgi davrda *E.coli, Bacillus subtilis, Saccharomyces cerevisiae* kabi mikroorganizmlarning genetikasi juda ham yaxshi o‘rganilganligi sababli, ular gen muhandisligida keng ishlatilmoqda. Mikroorganizmlar hujayralaridan eng muhim birikmalar, masalan, gormonlar (insulin, somatostatin va somatotropin), immunitetni kuchaytiruvchi moddalar (tirozin, interferon, interleykin, viruslar qobiqlarining oqsillari, - ulardan o‘ta xavfli kasalliklar – qutirish, oqsim, gepatit B, shuningdek, hozirgi vaqtda parrandalarga qirg‘in solayotgan parranda grippini qo‘zg‘atuvchisi va boshqa yuqumli kasalliklarga qarshi emlash (vaksinatsiya) vositalari olishda foydalanilmoqda.

Gen muhandisligi usullari yordamida aminokislotalar (treonin, prolin), fermentlar, antibiotiklar va boshqa biologik faol moddalarning super - produsentlari olingan. Bu usul gen faolligini boshqarish, uning funksiyasini, tuzilishini o‘rganish, prokariot va eukariot organizmlarda genetik materiallarni tashkil qilish masalalarida chegaralanmagan imkoniyatlarni ochib beradi.

Tirik organizmlar irsiy axborotini sun’iy yo‘l bilan ma’lum maqsadga muvofiq o‘zgartirish jarayoni genetik muhandislik fanining asosiy ustqurmasi hisoblanadi. Genetik muhandislik hujayra, xromosoma va gen darajasida amalga oshiriladi:

1. Hujayra darajasidagi genetik muhandislik - ikki hujayrani o‘zaro qo‘shish yo‘li bilan amalga oshiriladi.
2. Xromosoma darajasidagi genetik muhandislik - hujayra yadrosiga qo‘shimcha xromosomalar kiritish orqali amalga oshiriladi.
3. Gen darajasidagi genetik muhandislik yoki gen muhandisligi - eng murakkab bo‘lib, quyidagi bosqichlar asosida amalga oshiriladi:

a. aniq maqsaddan kelib chiqqan holda, shu maqsadga javob beraoladigan gen, uning funksiyasini o‘rganish orqali qidirib topiladi, ajratib olinadi, klonlanadi va tuzilishi o‘rganiladi.

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

c. vektor konstruksiya transformatsiya usuli bilan hujayraga kiritiladi 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. Biotexnologiyaning bu sohasiga dastlabki qadamlar 1973-yil birinchi gen klonlangan vaqtdan boshlab qo‘yilgan edi.

Gen muhandisligi biotexnologiyasining yutuqlari sanoat ko‘lamida va qishloq xo‘jaligida keng qo‘llanilmoqda. Xususan, antibiotiklar, aminokislotalar, vitaminlar va gormonlar ishlab chiqarilmoqda, nasldor qoramol klonlari yaratilmoqda, tuproq va suvda zaharli pestitsid qoldiqlarini parchalaydigan mikroorganizmlarni transgen shtammlari olingan, atmosfera azotini o‘zlashtiruvchi mikroorganizmlar genlari asosida tuproqni azotli o‘g‘itlar bilan boyitish muammosi yechilmoqda, zararli

hasharotlarga va patogen mikroorganizmlarga chidamli, ekologiyani asrovchi transgen o‘simlik navlari yetishtirilmoqda, irsiy kasalliklarni tezkor tashxis qilish uchun, tashxis materiallari tayyorlanmoqda, shuningdek, gen terapiya usullari takomillashtirilmoqda.

23-jadval

**Zamonaviy biotexnologiyaning dastlabki asosiy yutuqlari**

| Yil | Bajarilgan ishlar |
|---|---|
| 1973-yil | Birinchi gen klonlangan |
| 1974-yil | Birinchi bakteriya genlarini klonlash ekspressiyasi amalga oshirilgan |
| 1975-yil | Birinchi gibridoma yaratilgan |
| 1976-yil | Rekombinant DNK texnologiyasidan ishlab chiqarishda foydalanish boshlangan |
| 1980-yil | Gen muhandisli usullari yordamida olingan mikroorganizm shtammlarini patentlash haqidagi qaror qabul qilingan |
| 1981-yil | Monoklonal antitella to‘plamlaridan foydalanish mumkinligi to‘g‘risidagi qaror qabul qilingan. Birinchi marta genlarni avtomatik sintezatori sotuvga chiqarildi |
| 1982-yil | Tibbiyotda rekombinant DNK - insulini va hayvonlar uchun birinchi rekombinant DNK dan foydalanishga ruxsat berildi |
| 1983-yil | Birinchi marotoba gen ekspressiyasidan bir o‘simlikdan boshqa turida foydalanish mumkinligi isbotlandi |

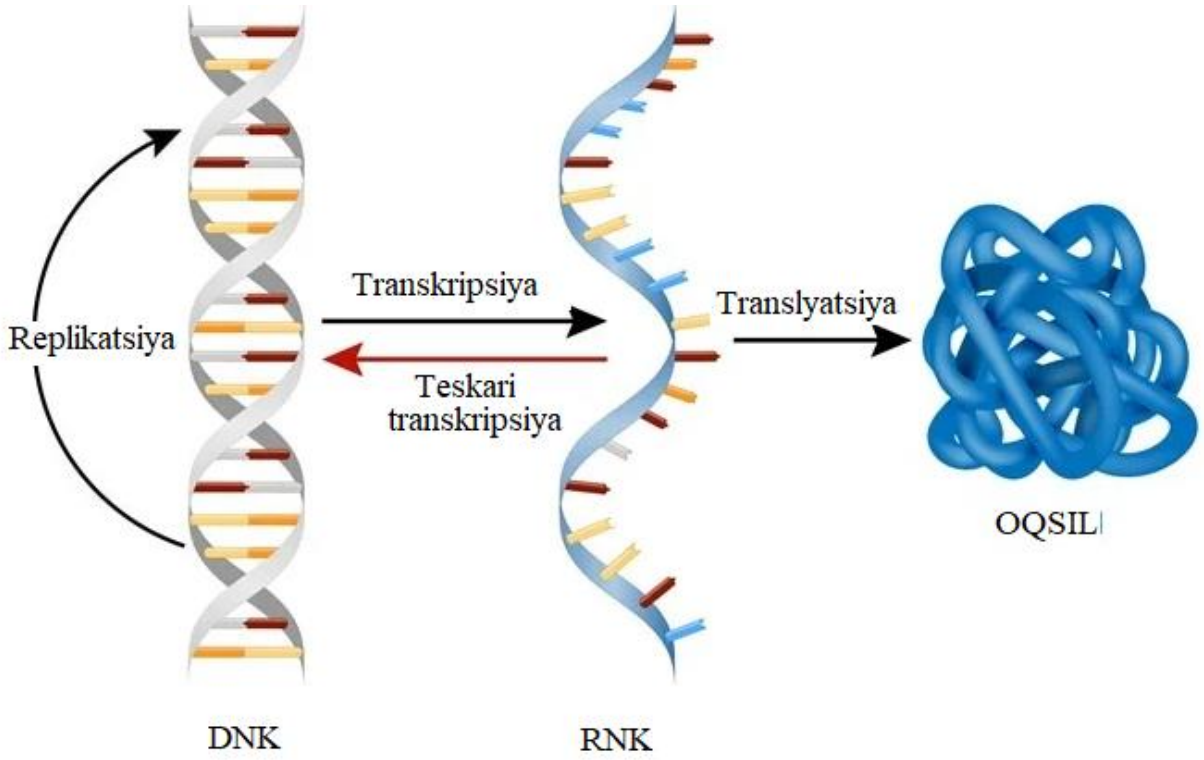
Bugungi kunda tezkorlik bilan oshib borayotgan inson ehtiyojlarini qondirishda genetik muhandislikka asoslangan biotexnologiya klassik texnologiyalardan o‘ta samarali ekanligini to‘la isbotlandi. Ammo bu texnologiya asosida olinadigan mahsulotni iste’mol masalasi tortishuvlarga sabab bo‘lib turganini e’tiborga olish shart.

**DNK, RNK va oqsil molekulalarining biosintezi**. *DNK replikatsiyasi*. Tirik organizmda oldindan mavjud qolip asosida yangi DNK molekulasining yaratilishi nuklein kislotalarining sintezlanish yo‘lidir. Mavjud DNK molekulasidan nusxa olish replikatsiya deb ataladi. Replikatsiya jarayoni DNK-polimeraza I, II, III, DNK-ligaza va revertaza fermentlari yordamida amalga oshadi. rep-oqsil yordamida DNK qo‘sh zanjiri ajraladi va DNKga bog‘lanadigan oqsil molekulalari yordamida DNK ning ajralgan zanjirlari turg‘un 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 praymaza, DNK-polimeraza I va DNK-ligaza fermentlari yordamida amalga oshadi.

Praymaza (revertaza) fermenti yordamida DNK ning ikkinchi zanjiri sintezi uchun praymer sintez qilinadi va DNK-polimeraza III fermenti yordamida praymer nukleotidlar ketma-ketligidan DNK sintezi 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 DNKning nusxasiga, matritsasiga qarab tuziladi. Bu jarayonda matritsa vazifasini DNK qo‘sh zanjirining bir ipi bajaradi.

RNK sintezi jarayoni transkripsiya deb ataladi. Har uchala tipdagi RNK sintezi turli tipdagi RNK-polimraza (RNK-polimeraza I,II,III) fermentlari yordamida amalga oshiriladi. pRNK 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 informatsiya asosida kodlash mexanizmiga muvofiq amalga oshiradi (29-rasm).




**29-rasm.** Biologiyaning asosiy qonuniyati

DNK zanjiridan olingan iRNK nukleotidlar tartibi shaklidagi axborot ribosoma yordamida oqsil molekulasidagi aminokislotalar tartibiga ko‘chiriladi. Oqsil sintezi jarayoni translyatsiya deb ataladi. Nuklein kislotalarda har bir aminokislotalarni taniydigan va tanlab biriktirib olib tashishda vositachilik qiladigan birin-ketin uchta nukleotidlar kombinatsiyasi mavjudki, bu o‘z navbatida aminokislota kodi, 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 $64^3$, kodlanadigan aminokislotalar sonidan ancha ko‘p. Nima uchun degan savol tug‘iladi? 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, UGS aminokislotalarni kodlay olmaydiganlar va ularni paydo bo‘lishi polipeptid zanjirining tugaganidan darak beradi. Shuning uchun ham ular **terminatorlar** - **tugatuvchilar** deb ataladi. Poliribosomalarda oqsil sintezi iRNKning 5' oxiridan boshlanib 3' oxirida tugaydi. Oqsil sintezi tugagach iRNK ribosomadan ajralib chiqadi va ribosoma ikkita subparchalarga ajratiladi.

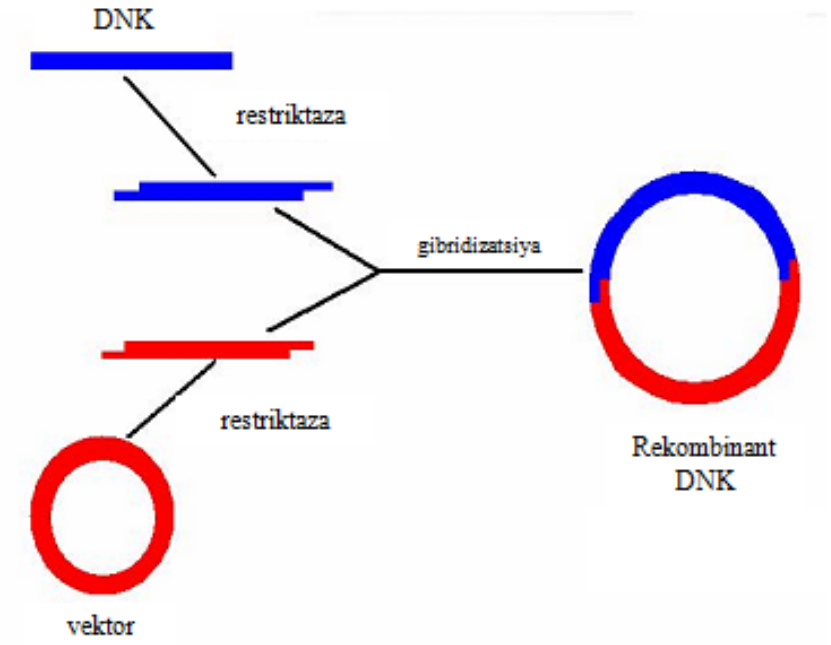
*Mutatsiya jarayoni va DNK reparatsiyasi*. DNK molekulasi strukturasini tashqi nomuqobil omillar ta’sirida o‘zgarishi mutatsiya deyiladi. Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasida irsiy axborot o‘zgaradi va organizmning mu’tadil holatda yashashiga keskin ta’sir ko‘rsatadi. Tirik organizmning mutant shakllari vujudga keladi. Boshqa organizmlardan farqli o‘laroq, o‘simlik va mikroorganizmlarning xo‘jalik ahamiyati yuqori bo‘lgan mutant shakllaridan xalq xo‘jaligida keng ko‘lamda foydalaniladi (24-jadval).

24-jadval

**Auksotrof mutantlar yordamida L-aminokislotalarining birlamchi metabolitlarini olinishi**

| **Aminokislota** | **Produsent** | **Tansiq modda** | **Substrat** | **Kultural suyuqlikda aminokislotalar miqdori, g/l** |
|---|---|---|---|---|
| L-lizin | *Breviabacterium flavum* | Treonin, metionin yoki gomoserin | Glyukoza, saxaroza | 60-100 |
| L-trionin | *Escherichia coli* | Lizin, metionin, izoleysin | Glyukoza | 20 |
| L-ornitin | *Coryneobacterium glutamicum* | Arginin | Glyukoza | 26 |
| L-fenilalanin | *Arthrobacter parafineus* | Tirozin | n-alkanlar | 15 |
| L-tirozin | *Coryneobacterium sp.* | Fenilalanin | n-alkanlar | 19 |
| L-valin | *Coryneobacterium glutamicum* | Izoleysin | Glyukoza | 11 |

Inson organizmidagi mutatsion o‘zgarishlar og‘ir kasalliklarni kelib chiqishiga sabab bo‘ladi (oq qon kasalligi). Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasini asl holatiga qaytish jarayoni - DNK reparatsiyasi deyiladi. Reparatsiya jarayoni DNKaza, DNK-polimeraza II va DNK-ligaza fermentlari ishtirokida amalga oshiriladi. Bu fermentlar tizimi yordamida DNK strukturasi dastlabki mu’tadil holatiga qaytadi.




**30-rasm**. Rekombinant (gibrid) DNK ni yaratilishi

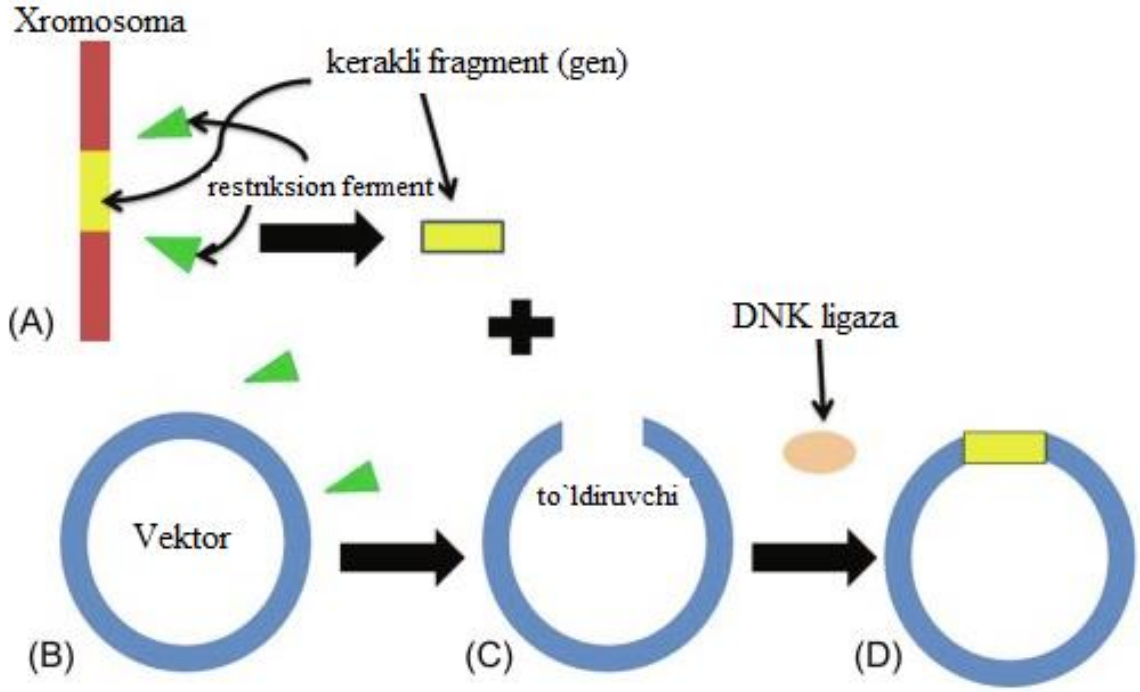
Viruslar bilan prokariot hujayralar orasidagi materialning ko‘chirilishini, tabiiy sharoitda bakteriyalarda o‘tadigan rekombinatsiya mexanizmlarini o‘rganish, plazmidalar va mu’tadil faglarning hujayradagi hayotini tushunish, genlar ustida turli manipulyatsiyalar o‘tkazish imkoniyatini beradi. Olimlar qo‘lida DNKning kerakli bir qismini bakteriya hujayrasiga ko‘chirib o‘tkazadigan sistema-plazmidalar ham bor. Bunday transmissiv ko‘chirib o‘tkazuvchi xalqali molekulalar- plazmidalar va mu’tadil viruslar vektor deb ataladi (25-jadval).

25-jadval

**Biotexnologiyada keng qo‘llaniladigan ba’zi bir vektorlar tavsifi**

| Vektorlar | Nusxalar miqdori | O‘lchami, ming nukleotidlar |
|---|---|---|
| klonlash uchun plazmida vektorlari: | | |
| pBR 322 | 40-50 | 4,4 |
| pACU 184 | ∽ 20 | 4,0 |
| klonlashda maxsus kattalikdagi vektorlar: | | |
| λ Chron 4A | 100-200 | 41,8 |
| kosmida pHC 79 | ∽ 20 | 6,4 |
| genlar ekspressiyasi uchun plazmida vektorlari: | | |
| p trp ED5-1 | 40-50 | 6,7 |

Ular tabiatning o‘zi biologlarga taqdim qilgan sovg‘a bo‘ladi. Shunday ekan, endi bakteriyalarni kulturada (ular o‘sadigan muhitda) insonlar uchun kerakli oqsillarni, fermentlarni sintezlashga majbur qilib bo‘lmasmikan degan savol tug‘iladi? Bu g‘oyalarning amalda yuzaga chiqishi gen muhandisligi yoki genetik muhandislik deb ataladigan va katta istiqbolga ega bo‘lgan yangi sohani dunyoga keltirdi. Gen muhandisligi qisqacha aytganda, genlar ustida turli manipulyatsiyalar o‘tkazish, ularni to‘la o‘rganish asosida funksional qismlarga bo‘lish, kerakli joyidan kesish, kerak bo‘lmagan qismini olib tashlash, kerak bo‘lgan qismlarini boshqa genlardan yoki sintez yo‘li bilan olib ulash va shu usulda tayyorlangan duragay yoki rekombinant genni yangi organizmga kiritib (Masalan, odamning insulin genini mikrob hujayraga yoki sichqonning o‘sish gormoni genini kalamushga), zarur turlarni yoki preparatlarni sintez qilish va boshqa g‘oyalar va texnologiyalarning yig‘indisidir (31-rasm).

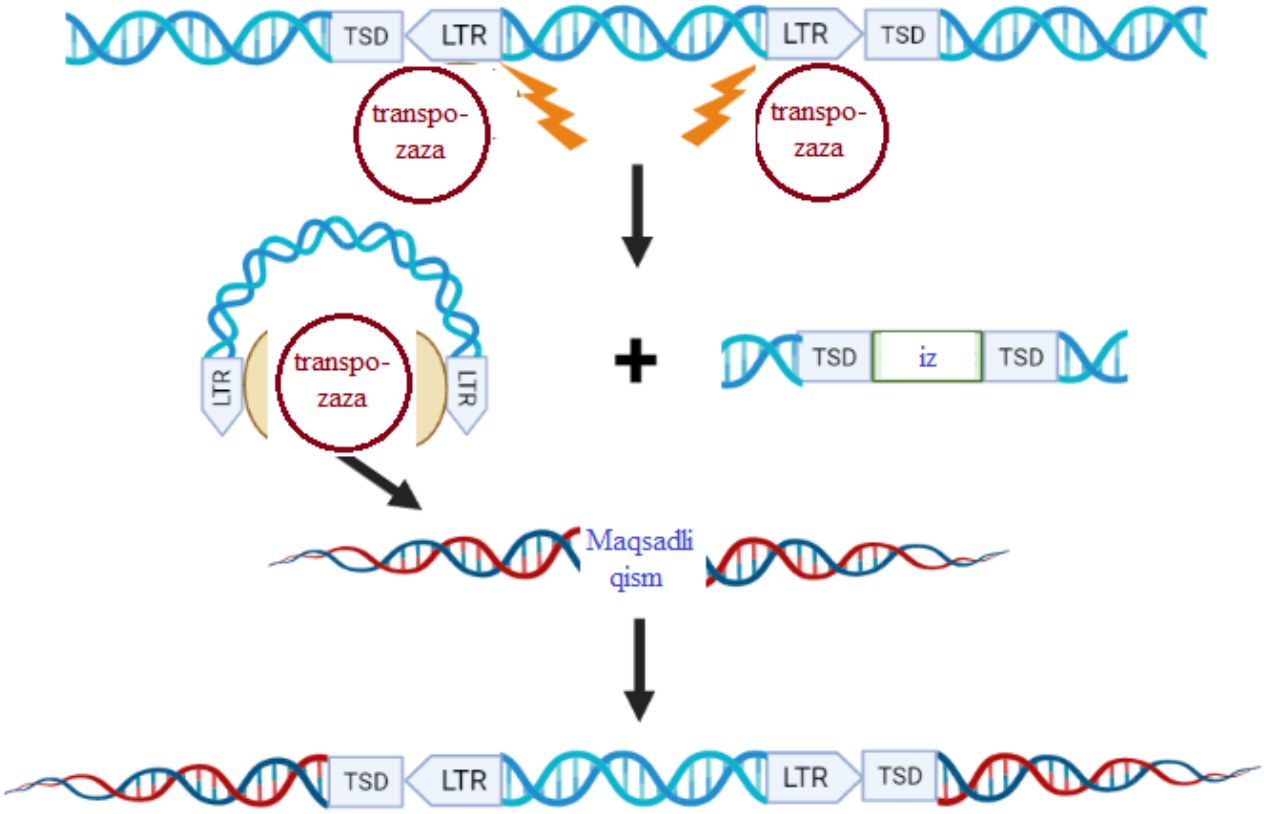



**31-rasm.** Genetik muhandislik bilan bog‘liq bosqichlarning umumlashtirilgan ko‘rinishi (bunda: (A) Xromosomadan qiziqish genini o‘z ichiga olgan kerakli bo‘lakni kesish uchun maxsus cheklash fermenti dan foydalanish; (B) To‘ldiruvchi uchlarini yaratish uchun bir xil cheklash fermentini kesish orqali tegishli vektorni olish; (C) Kerakli gen fragmenti va cheklash fermenti hazm qilingan vektorni ligaza fermenti bilan aralashtirish; (D) Kerakli genni vektor bilan ligaza yordamida birlashtirish, keyinchalik ko‘paytirish

Ayrim DNK molekulalari-genlarning bir turini ko‘p nusxasini hosil qilish maqsadida ilgaridan hujayralarning toza liniyalarini olishda ko‘pdan beri ishlatilatib kelingan, klonlanish texnikasini molekulalarga moslashtirilgan varianti qo‘llanilmoqda. Hujayra liniyalarining bir xilligini, klonlash usuli bilan ham kuchaytirish mumkin. Klon - birdan-bir old hujayradan kelib chiqqan hujayralar populyatsiyasiga aytiladi. Klonlash asosan mutant hujayralar olish uchun ishlatiladi.

Molekulyar klonlash DNK ning aniq bir namunasini toza holda ko‘paytirishdan iborat.

**Transpozonlar**. Transpozonlarning kashf etilishi genetik muhandislikning rivojlanishida muhim ahamiyatga ega bo‘ldi. Ko‘chib yuruvchi genetik elementlar-transpozonlarni o‘simlik organizmida AQSh olimasi Barbara Mak Klinton, mikroorganizmlarda AQSh olimi Axmad Buxoriy va hasharotlarda Rossiya olimi Georgiy Georgiev kashf etgan. Ko‘chib yuruvchi genetik elementlar ayni vaqtda transpozitsion elementlar yoki transpozonlar deb ham ataladi. Transpozonlar xilmaxil strukturaga ega bo‘lsalar-da, barcha transpozon molekulalarining ikki chetida maxsus nukleotidlar izchilligi, markaziy qismda esa DNK molekulasining belgilangan joyida “yopishqoq” uchlar hosil qilib notekis kesuvchi transpozaza fermentini sintez qiluvchi gen mavjuddir.

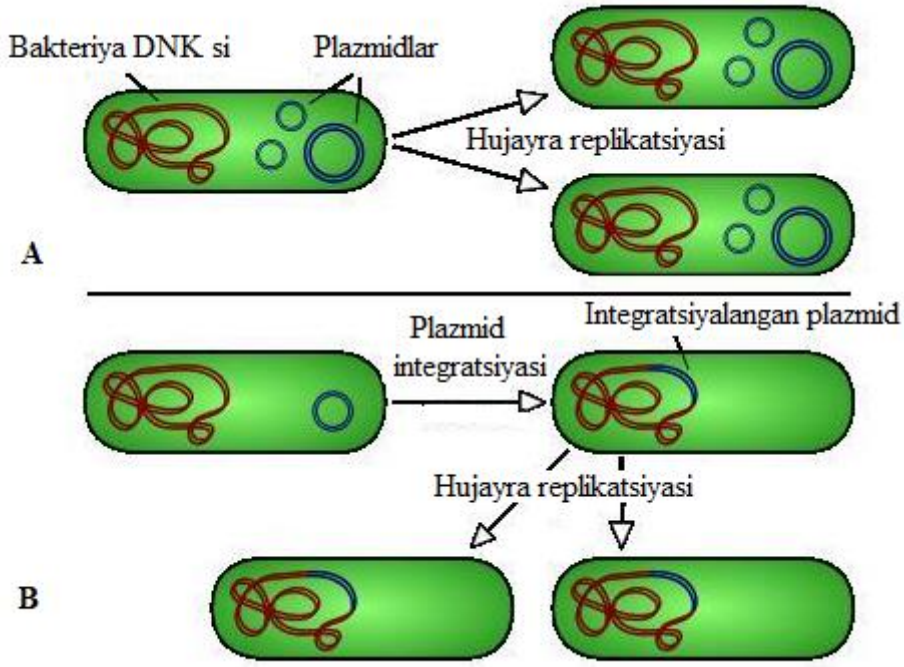



**32-rasm**. DNK transpozon transpozitsiyasining umumiy ko‘rinishi (Transpozonni mobilizatsiya qilish uchun birinchi navbatda transpozaza fermenti transpozonning uzoq terminal takrorlarini (LTR) bog‘laydi, ikki zanjirli uzilishni keltirib chiqaradi va transpozonni donor DNKsidan ajratadi. DNK izi orqada qoladi. Transpozon-transposaza kompleksi o‘zining maqsadli joyini topganda, u integratsiyalashadi, bu esa maqsadli saytning takrorlanishini (TSD) hosil qiladi. BioRender.com, 2021 bo‘yicha).

Transpozaza fermenti hujayradagi DNK molekulasini “yopishqoq” uchlar hosil qilib kesadi va ayni paytda transpozon uchlariga qovushtiradi. Hosil bo‘lgan xromosoma DNK si va transpozon DNK sidan iborat qovushma hujayra DNK bo‘laklarini bog‘lovchi ferment ligaza ta’sirida o‘zaro bog‘lanadi.

Transpozonlarning hujayra DNK siga integratsiyasi quyidagicha amalga oshadi: Transpozonlar xromosomada o‘z o‘rnini o‘zgartirganda irsiyat ham o‘zgaradi. Odatda yashash muhiti keskin o‘zgarganda transpozonlarning ko‘chib yurishi ortadi. Shu sababdan ko‘chib yuruvchi genetik elementlar ishtirokida gen muhandisligiga asoslangan ko‘pgina biotexnologik jarayonlar yaratilgan.

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




**33-rasm**. Plazmidlarning avtonom (A) va transmissibl (B) replikatsiyasi chizmasi

Plazmida DNK si ko‘pi bilan 3-10 tagacha genlarni o‘zida saqlaydi. Bu genlar, asosan antibiotik yoki zaharli toksinlarni parchalovchi fermentlarni sinteziga javobgardir. Shu tufayli plazmidalar bakteriya, achitqi va zamburug‘larning antibiotik va zaharli toksinlarga chidamliligini ta’minlaydi. Plazmidaning antibiotik parchalovchi genlari bir plazmidadan ikkinchisiga transpozonlar bilan birikkan holatda ham ko‘chib o‘ta oladi. Bu molekulyar jarayon kasal chaqiruvchi mikroblarning antibiotiklarga chidamliligini nihoyatda oshiradi. Plazmidalar o‘z xususiyatiga ko‘ra ikkiga bo‘linadi:

Birinchisi - transpozon yoki bakteriofag irsiy molekulasi kabi hujayra asosiy xromosomasining maxsus DNK izchilligini kesib, rekombinatsiya bo‘la oladigan plazmidalar. Bunday rekombinatsiyalanuvchi plazmidalar transmissibl, ya’ni nasldan-naslga o‘tuvchi plazmidalar deb ataladi. Transmissibl plazmida asosiy xromosomaga birikkandan keyin o‘z mustaqilligini yo‘qotadi. Asosiy xromosomadan mustaqil ravishda o‘z-o‘zini replikatsiya qila olmaydi. Ayni paytda bunday plazmidalarda joylashgan genlar asosiy xromosomada o‘z faoliyatini

bajaradi. Hujayra bo‘linganda rekombinatsiyalanuvchi plazmida genlari asosiy xromosoma genlariga birikkan holda nasldan-naslga o‘tadi.

Ikkinchi - toifa plazmidalar avtonom holda replikatsiyalanuvchi plazmidalar deb ataladi. Bunday plazmidalar asosiy xromosomaga birika olmaydi, asosiy xromosomalardan mustaqil ravishda o‘z-o‘zini replikatsiya yo‘li bilan o‘nlab va hatto yuzlab marta ko‘paytira oladi. Avtonom plazmidalar bakteriya yoki zamburug‘ bo‘linganda qiz hujayralar orasida tasodifiy ravishda taqsimlanadi. Shu bilan birga avtonom plazmida bir hujayradan ikkinchisiga hujayra qobig‘i va membranasining teshiklaridan o‘ta oladi.

**Restriktazalar**. Tabiatda biror mikroorganizm hujayrasiga tashqaridan yot genetik material kirsa, u darhol hujayra nukleaza fermentlari tomonidan parchalanadi. DNK molekulasini mayda bo‘laklarga bo‘luvchi fermentlar kesuvchi endonukleazalar yoki restriktazalar deb ataladi. Har bir restriktaza kamida to‘rt yoki ko‘proq maxsus nukleotid juftlarni tanib olib bog‘lanadi va DNK molekulasini 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.

26-jadval

**Gen muhandisligida qo‘llaniladigan ba’zi bir restriktazalar tavsifi**

| **Restriktazalar** | **Restriktaza olingan mikroorganizmlar** | **Restriktazalarning “aniqlaydigan” va kesadigan oxirgi uchlari** |
|---|---|---|
| Eco RI | *Escherichia coli* | -G-A-A-T-T-C-<br>-C-T-T-A-A-G- |
| Hind III | *Haemophilus influenzae* | -A-A-G-C-T-T-<br>-T-T-C-G-A-A- |
| Sal I | *Streptomyces albus* | -G-T-C-G-A-C-<br>-C-A-G-C-T-G- |
| Bam I | *Bacillus amyloliquefaciens* | -G-G-A-T-C-C-<br>-C-C-T-A-G-G- |
| Hpa II | *Haemophilus parainfluenzae* | -C-C-G-G-<br>-G-G-C-C- |
| Alu I | *Arthrobacter luteus* | -A-G-C-T-<br>-T-C-G-T- |
| Haem III | *Haemophilus aegyptius* | -G-G-C-C-<br>-C-C-G-G- |
| Sma | *Serratia marcescens SD* | -C-C-C-G-G-G-<br>-G-G-G-C-C-C- |

Shu bilan birga qo‘sh zanjir DNK molekulasini “yopishqoq” uchlar hosil qilib kesuvchi restriktazalar ham mavjud (Aat II, Acc III, Apa I, Bam HI, EcoRI, Hind

III va boshqalar). Bu restriktazalar funksiyasi jihatdan transpozazaga o‘xshashligi ko‘rinib turibdi. Shuning uchun ham bu restriktazalar hosil qilgan «yopishqoq» uchlardan foydalanib, har xil DNK bo‘laklarini bir - biriga bog‘lash osonlashadi. Ana shu xususiyati tufayli bu xil restriktazalar gen muhandisligida keng qo‘llaniladi. Hozirgi kungacha 500 dan ortiq xilma xil restriktazalar toza holda ajratib olingan va o‘rganilgan. Odatda, mikroorganizm irsiy moddasining xromosomasi bir nechta million nukleotid juftlari izchilligidan iborat. O‘simlik yoki hayvon genomi bir necha yuz milliondan to 1 milliardgacha nukleotid juftlari izchilligidan tuzilgan. Bunday yirik molekulani yuqorida qayd qilingan xilma-xil restriksion endonukleazalardan foydalanib, ko‘plab bo‘laklarga bo‘lish mumkin. Endonukleaza ishtirokida parchalangan DNK bo‘laklari elektroforez uskunasida 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 ultrabinafsha nurlari yordamida oddiy ko‘z bilan ko‘riladi. DNK ning mayda bo‘laklari elektr maydonida gel g‘ovaklaridan yirik bo‘laklarga nisbatan tez harakat qilgani uchun ularning startdan bosib o‘tgan masofasini o‘lchab DNK bo‘lagining katta-kichikligi aniqlanadi. Elektroforez uskunasida bir-biridan faqat bir nukleotid kam yoki ko‘pligi bilan farqlanuvchi DNK bo‘lagini ajratish mumkin. Restriksion endonukleaza fermentlarining ochilishi va elektroforez uskunasida DNK bo‘laklarini o‘ta aniqlik bilan bir-biridan ajratishning takomillashuvi, yirik DNK molekulasidan istalgan DNK bo‘lagini ajratib olish imkonini beradi.

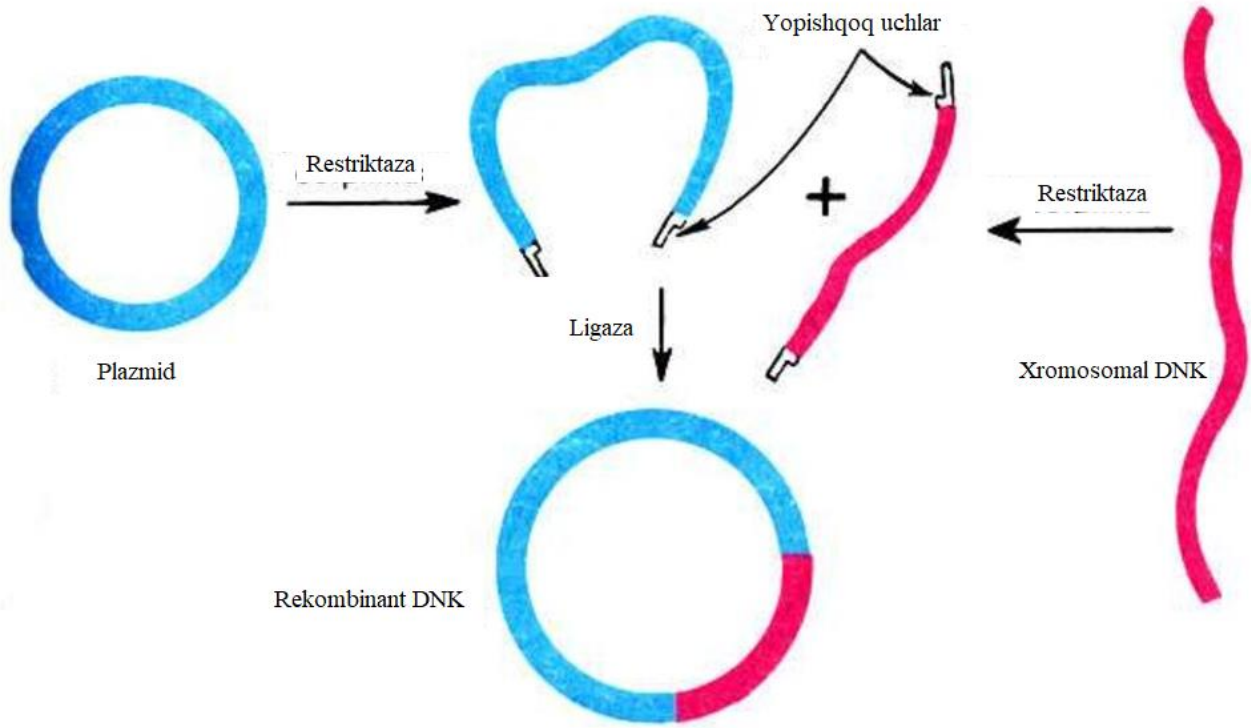
Xulosa qilib aytganimizda, gen muhandisligi biotexnologiyasining moddiy asoslariga, bakteriyalarni klonlash, transformatsiya va transduksiya jarayonlari, transpozonlar, plazmidalar va restriksion endonukleaza fermentlarini to‘la fundamental asoslarini o‘rganish kiradi. Yuqorida qayd qilingan biologik faol moddalar gen muhandisligi biotexnologiyasining amaliy jarayonlarida o‘ta qimmatli omil hisoblanadi.

**Rekombinant DNK olish usullari**. 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 ketma-ketligi bo‘lganligi sababli ferment plazmidaning xalqasimon DNK qo‘sh zanjirini faqat bir joydan kesib, plazmidani “yopishqoq” uchli ochiq holatga o‘tkazadi. Xromosoma DNK molekulasida EcoRI restriktaza fermenti taniy oladigan maxsus nukleotidlar ketma-ketligi qancha 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 ochiq holatdagi “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.




**34-rasm.** Boyer va Koen bo‘yicha rekombinant DNK olish chizmasi

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 bog‘lari asosida komplementar birikishi tufayli xalqasimon DNK strukturasi hosil bo‘ladi. Hosil bo‘lgan DNK dagi bir zanjirli bo‘sh joylar DNK-polimeraza I fermenti yordamida to‘ldiriladi.

Restriktaza-ligaza usuli - rekombinant DNK olishning eng sodda va oson usuli hisoblanadi. Bu usulda DNK molekulasi va vektor plazmida «yopishqoq» uchlar hosil qiluvchi restriktaza bilan qirqiladi va aralashtirilgan holda ma’lum sharoitda reassotsiatsiya qilinadi. Komplementarlik xususiyatiga ko‘ra DNK molekulalari o‘zaro vodorod bog‘lari yordamida birikib xalqasimon struktura hosil qiladi va DNK zanjirining birikmagan joylari DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi.

Linker molekulalaridan foydalanish usulida - DNK molekulasiga 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 qaytadan assotsiatsiya qilinadi. DNK va vektor plazmida molekulalarining birikmagan joylari

DNK-ligaza fermenti yordamida ulanadi. Shu yo‘sinda rekombinant DNK molekulasi hosil bo‘ladi.

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

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

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

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

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

Vektor molekulalarning tarkibida marker gen bo‘lishi, bu gen hujayrada vektor ishtirok etayotgani haqida ma’lum qiluvchi fenotip berishi, ya’ni vektor selektiv irsiy belgiga ega bo‘lishi kerak. Ko‘pincha selektiv belgi sifatida tabiatda keng tarqalgan antibiotikka chidamliiik genidan foydalaniladi. Bu genlarning oqsil mahsuloti-fermentlar antibiotiklarni modifikatsiyalaydi va ularning ta’sirini inaktivlashtiradi (kuchsizlantiradi). Masalan, nptll geni kanamitsin antibiotigini inaktivlashtiruvchi neomitsin fosfotransferaza genini kodlaydi. Bakteriya hujayrasi nptll geni ishtirokida

kanamitsinga nisbatan chidamliiik hosil qiladi va shu antibiotik oziqa muhitlarida o‘sib, klon va hujayralar koloniyasini hosil qiladi. Odatda tarkibida nptll geni bo‘lmagan hujayralar bunday oziqa muhitlarida o‘sa olmaydi va nobud bo‘ladi. Demak, vektor konstruksiya tarkibida nptll genini tutishi vektor ishtirok etayotgan hujayralarni aniqlash va ularni tanlab olish imkonini beradi.

Vektor molekulalari vazifasini fag DNK lari, plazmidlar va o‘simliklarni xloroplast hamda mitoxondrial DNK lari o‘tashi mumkin. Xo‘jalik ahamiyati qimmatli bo‘lgan genlarni ajratish uchun gen 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.

## 9§. GEN MUHANDISLIGI BOSQICHLARI

Gen muhandisligida olib boriladigan har bir tadqiqot bir necha bosqichda amalga oshiriladi:

1) kerakli gen tabiiy manbalardan ajratib olinadi yoki kimyoviy yo‘l bilan sintez qilinadi;

2) vektor (kerakli genni hujayraga tashib o‘tuvchi DNK molekulasi) tanlanadi;

3) vektor va tashib o‘tadigan gen yagona strukturaga birlashtiriladi (DNK ni rekombinant molekulasi) (66-rasm);

4) vektor va gen saqlovchi birlashgan struktura xo‘jayin – organizmning hujayrasiga kiritiladi.

Yangi genetik konstruksiyalar DNK molekulasiga yangi gen (donor – organizmining DNK sini fragmenti) kiritish yo‘li bilan amalga oshiriladi. Shunday “transplantatsiya” uchun genni qanday olish mumkin? Hozirgacha bu masalani yechishni 3 usuli ma’lum:

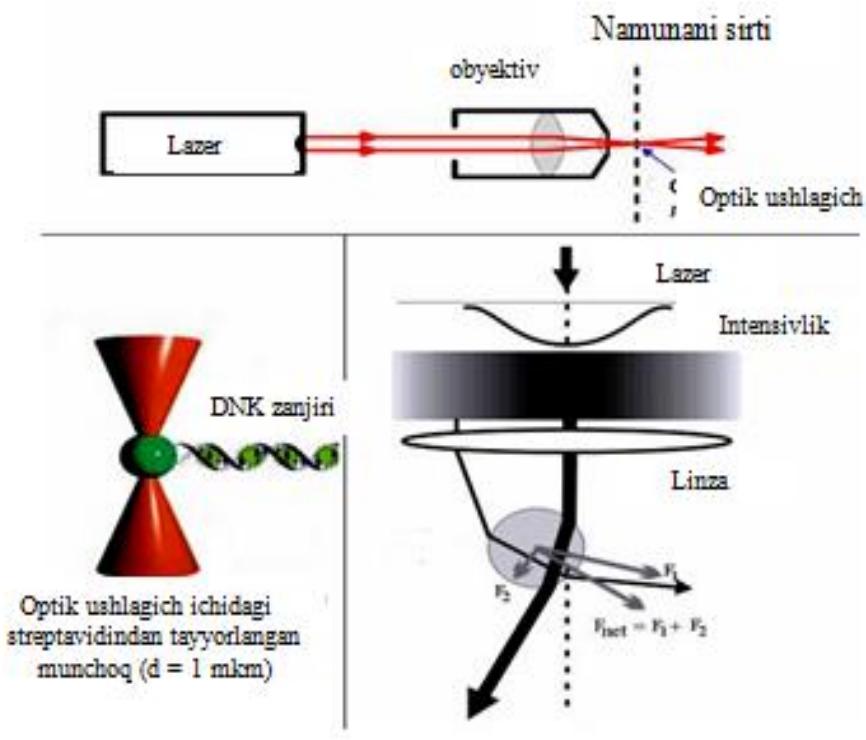
Birinchidan, gen ajratib olish tegishli mRNK olishdan ko‘ra qiyinroq bo‘lganligi uchun teskari transkripsiya reaksiyasidan foydalanish mumkin. Uni mohiyati shundan iboratki, revertaza fermenti RNK molekulalarini matritsa qilib ishlatib, DNK sintez qiladi. Revertaza yordamida deyarli har qanday genlarni sintez qilish mumkin. Buning uchun muayyan genga mos keladigan mRNK ajratilgan va tadqiqotni ixtiyoriga berilgan bo‘lishi kerak. Xuddi shu usulda, odam ko‘zining xrustalidagi oqsilni sintezini kodlovchi gen, shuningdek, tuxum oqsili va ipak fibrioni oqsilining sintezini kodlovchi genlar olingan.

Ikkinchidan, genni sun’iy, ya’ni kimyoviy sintez yo‘li bilan olish mumkin. Bunday sintezni birinchi bo‘lib, 1969 yilda G. Korana boshchiligida ilmiy jamoa amalga oshirgan. Dastlab, sintez qilingan gen faol chiqmaganligi sababli, bu jamoa tajribalarni davom ettirishgan va biroz vaqt o‘tgandan keyin, o‘z maqsadlariga erishganlar, ya’ni dunyoda birinchi bo‘lib funksional faol gen sintez qilganlar. Bu gen ichak tayoqchasining tRNKsini kodlagan. Hozirgi vaqtda ko‘plab genlar kimyoviy

sintez yo‘li bilan olinadi. Ular orasida insulin, somatotropin, somastatin va boshqa gormonlarni sintezini kodlovchi genlar bor.

Uchinchidan, tabiiy manbalardan gen ajratish. Bu juda murakkab vazifa, chunki organizmda faoliyat ko‘rsatib kelayotgan ko‘p minglab genlar orasidan keraklisini, muayyan belgini amalga oshishini nazorat qilib turganini ajratib olish kerak. Buning uchun ajratilishi kerak bo‘lgan genni DNK molekulasida joylashgan joyini aniq bilish kerak va o‘sha joydan tegishli spetsifiklikga ega bo‘lgan restriktaza fermenti yordamida kesish kerak. Kerakli genni qaysi joyda joylashganligini bilish uchun plazmida ishlatiladi. Plazmida har xil genlarga kirib olib, ularni mutatsiyasini chaqiradi. Mutant belgilari bo‘yicha kerakli gen kirgan joyi aniqlanadi va u plazmidadan ajratib olinadi.

Uzoq vaqt davomida DNK tarkibidagi kerakli genni aniqlash va uni kesib olish qiyin vazifa bo‘lgan. DNK spirallari chalkashgan, ularni uzunligi birnecha millimetrdan birnecha santimetrgacha bo‘lib, xalqaga o‘ralib oladi va o‘zini genini “bekitishga” harakat qiladi. Diametri 1-2 nanometrga teng bo‘lgan nozik, ya’ni tez sinuvchi molekulalar spiralni to‘g‘rilab olish va tarqatishga qaratilgan har qanday tadbirlar, urinishlar ta’sirida tez sinadi. Bunday holatda, kerakli genni qidirish yo‘lida bajarilgan ishlar muvaffaqiyatsiz chiqavergan. Shunday qilib, kerakli genni DNK dan ajratib olish muammosi 20 yildan ko‘proq vaqt davom etgan mashaqqatli tadqiqotlarda ham kerakli samara bermagan.



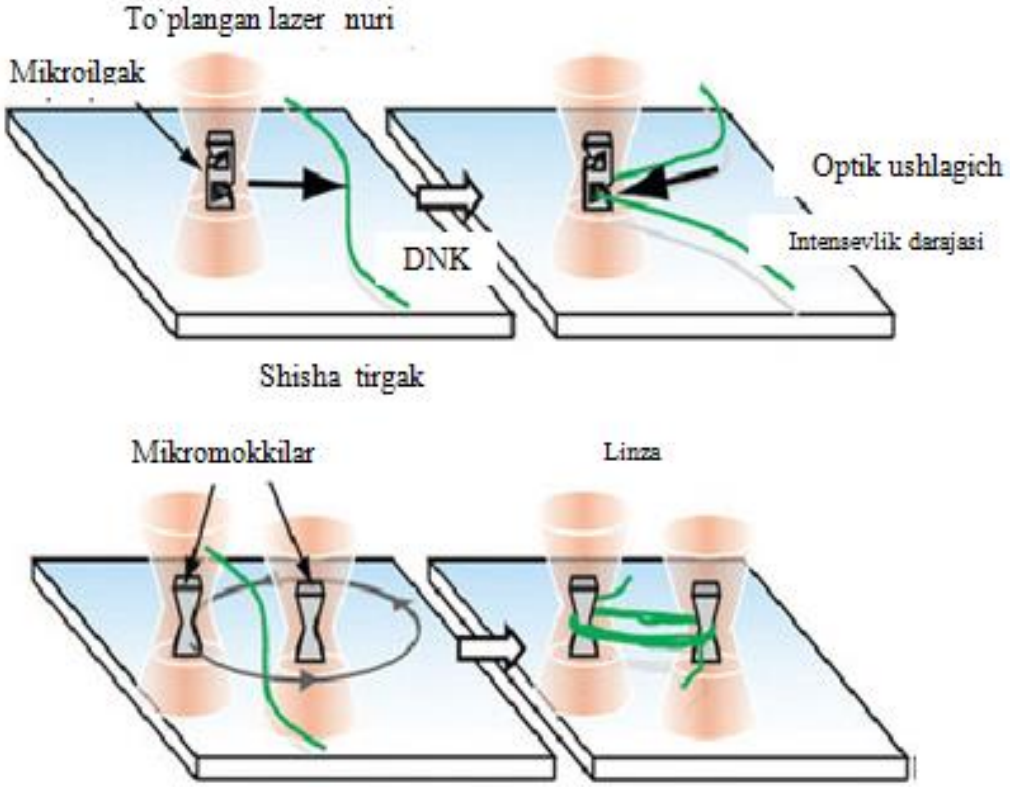

**35-rasm**. “Optik ombir” lar yordamida DNK molekulasining cho‘zish chizmasi

Faqatgina XX asr oxiri va XXI asr boshlariga kelib, Yaponiyaning Kioto universiteti olimlari DNK spiralini “optik ombir”lar yordamida cho‘zish usulini

yaratganlar. “Optik ombir” ba’zida “optik tutqich” yoki “lazerli pinset” deb ham ataladi. “Optik ombir” – o‘tkir fokuslangan lazer nurlaridan iborat bo‘lib, bu nurlar DNK molekulasini ushlab qolish xususiyatiga ega (35-rasm).

Ko‘pincha tekshiriladigan molekulaning oxiriga kimyoviy moddalar yordamida tiniq dielektrik “munchoqchalar” qotiriladi. Bu “munchoqchalar” qandaydir sinish koeffitsienti muhitga nisbatan yuqoriroq bo‘lgan polimerlardan tayyorlanadi. Natija beradigan kuch munchoqni lazer nurining intensivligi maksimal bo‘lgan zonaga, ya’ni uni markaziga qarab tortadi. Yaponiya olimlari “munchoqcha” o‘rniga “Z” harfiga o‘xshagan mikroilgak va mikromokkilar ishlatganlar (36-rasm).

Mikroilgak DNK spiralidagi olimlarni qiziqtirgan qismni o‘rganish imkonini beradi. Lazerlar yordamida olimlar bo‘linadigan achitqi zamburug‘ining xromosomali DNKsini spiralini ilib olib, ularga shikast yetkazmasdan cho‘zish va keyin ikki mikromokkichaga, xuddi ip o‘raydigan g‘altakka o‘xshab o‘rab olishga erishganlar. DNK molekulasi cho‘zilgan holatda bo‘lganida, kerakli genni uchlamchi fazoda turgan joyini aniqlash ancha oson bo‘ladi.




**36-rasm**. DNK spiralini mikroilgak yordamida ilib olish va keyin tortib, mikromokkilarga o‘rab olishni sxematik ko‘rinishi

**Genlarni hujayraga kiritish texnologiyasi**. Ajratib olingan yoki sintez qilingan DNK fragmenti (gen) o‘zidan o‘zi mustaqil ravishda, xo‘jayin – organizm hujayrasiga kira olmaydi. Tadqiqotchilarni aniqlashicha, genni ko‘chirib o‘tkazish va

uni faoliyat ko‘rsatishi uchun boshqa organizmni DNKsi asosida yaratilgan qo‘shimcha nanostruktura zarur bo‘lar ekan.

Savol tug‘iladi: Boshqa DNK dan qo‘shimcha nanokonstruksiya qanday qilib yaratiladi? Boshqa organizm DNK sidan yaratiladigan qo‘shimcha nanokonstruksiya “vektor” degan nom oldi. Vektor boshqa organizmga kiritishga mo‘ljallangan gen saqlaydi va xo‘jayin organizm hujayrasini DNKsiga kirib olish xususiyatiga ega. Uni keyinchalik topish qulay bo‘lishi uchun, ba’zida nishonlab qo‘yiladi. Vektorlar DNK plazmidalari va viruslar asosida yaratiladi.

Eng sodda plazmidali vektor quyidagi komponentlardan iborat:

1 – xo‘jayin – hujayra DNK siga kirishi kerak bo‘lgan gen;

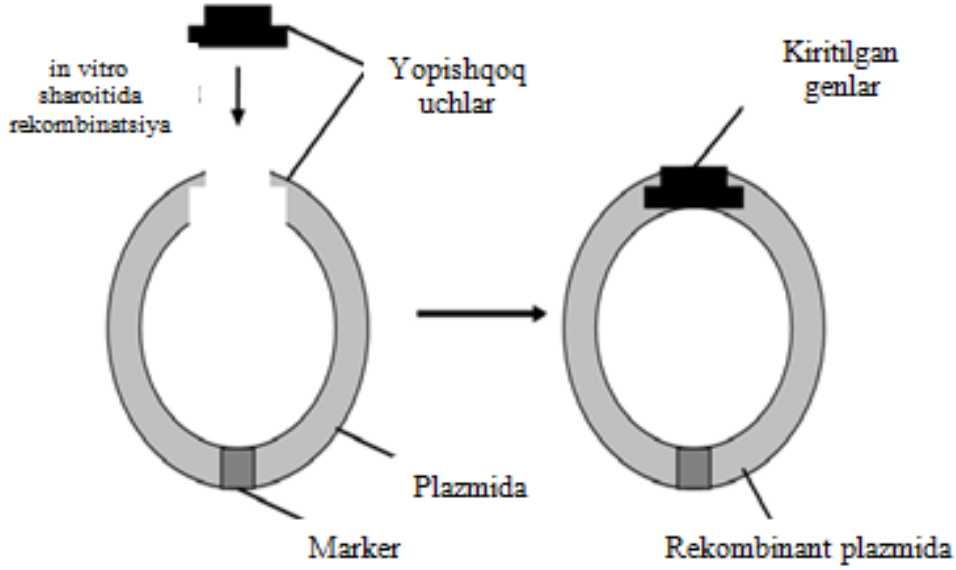
2 – plazmida va ko‘chirib o‘tqaziladigan genni replikatsiyasini ta’minlovchi qism;

3 – gen kiritilgan plazmidani saqlovchi hujayrani aniqlash imkonini beruvchi marker;

4 – plazmida DNK si.

Tirik organizm hujayrasida rekombinatsiya jarayoni faqat gomologik (bir xil) DNK molekulalari orasida sodir bo‘ladi. Organizmdan tashqarida tashqarida sodir bo‘ladigan rekombinatsiya, kelib-chiqishi har xil bo‘lgan DNK molekulalari orasida sodir bo‘lishi mumkin. Bu gen muhandisligi usullarining imkoniyatlarini anchagina kengaytiradi.

Organizmdan tashqarida rekombinatsiya amalga oshishi uchun nimalar kerak? Har bir DNK molekulalarini har ikkala uchida qisqa (4 tadan 20 tagacha nukleotidlar) bir zanjirli qismlar – “yopishqoq uchlar” bo‘lishi kerak. Ular bir zanjirli uchastkalar orasida hosil bo‘ladigan vodorod bog‘lar yordamida, DNKni har xil fragmentlarini bog‘lash imkonini beradi (69-rasmda chap tomon). Ikkita birzanjirli “yopishqoq uchlar” bilan ta’minlab, DNK molekulalarini qanday qilib “o‘tkirlash” mumkin? Bu vazifani bajarish uchun tadqiqotchilar “biologik qaychi”larni, ya’ni restriktaza fermentlarini ishlatdilar.



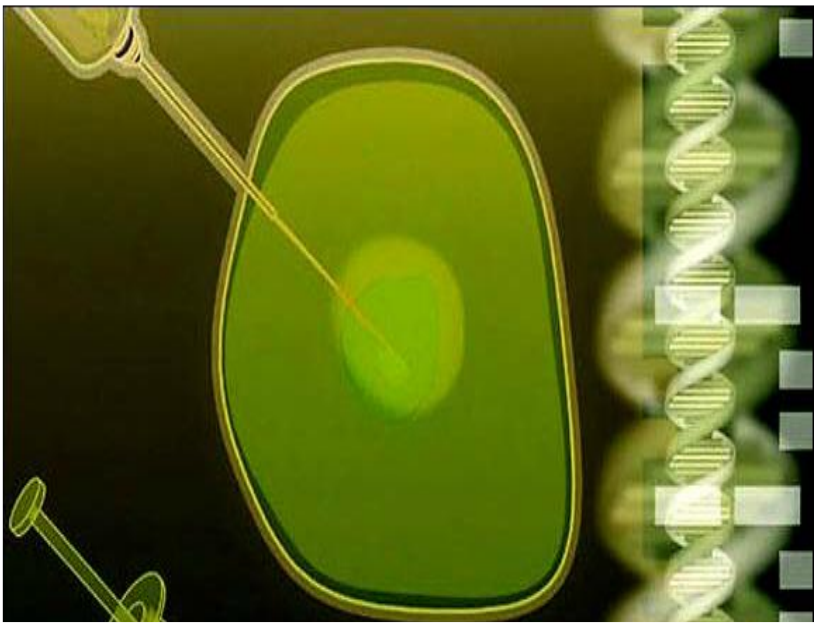

**37-rasm**. Plazmida DNK sini (marker saqlagan) va gen kiritiladigan

DNK ni “yopishqoq uchlar” orqali bog‘lanishi

Plazmida DNKsini va kiritiladigan genni DNKsini restriktaza bilan ishlov bergandan keyin, har ikkala DNK ham “yopishqoq” uch (bir zanjirli uchastkalar) hosil qiladi. Keyin, plazmida DNKsi va kiritiladigan (begona) gen aralashmasiga ligaza fermenti qo‘shiladi. Bu ferment begona genni plazmida DNKsiga kiritib qo‘yadi (37-rasmda o‘ng tomon). Vektor yaratilgandan keyin, uni boshqa organizm hujayrasiga (xo‘jayin - organizmga) “yetkazish ” kerak. Nafaqat hujayraga vektor kiritish, balki kiritilgan vektorni xo‘jayin – organizm hujayrasining DNK molekulasiga joylashtirish kerak.

**Xo‘jayin - organizm hujayrasiga DNK kiritish usullari**. Begona DNK (gen) ni bakteriyaga, hayvon va o‘simliklarni embrional hujayralariga, hayvonlarni hujayralarini yadrolariga, ajratib olingan hujayralarga, to‘qimalarga va o‘simlik sporalariga kiritish mumkin. Begona DNK qanday qilib xo‘jayin – organizm hujayralariga kiritiladi? Olimlar begona DNK (gen) kiritishni bir necha usullarini ixtiro qilganlar.

1. *Mikroinyeksiya*. Vektorni diametri 100 nm ga teng bo‘lgan nozik shisha trubkalarchalar (mikropipetkalar) va mikromanipulyatorlar yordamida to‘g‘ridan – to‘g‘ri hujayra yadrosiga kiritish mumkin (38-rasm). Bir inyeksiya bilan 100 dan 300 minggacha vektorlarni kiritish mumkin.



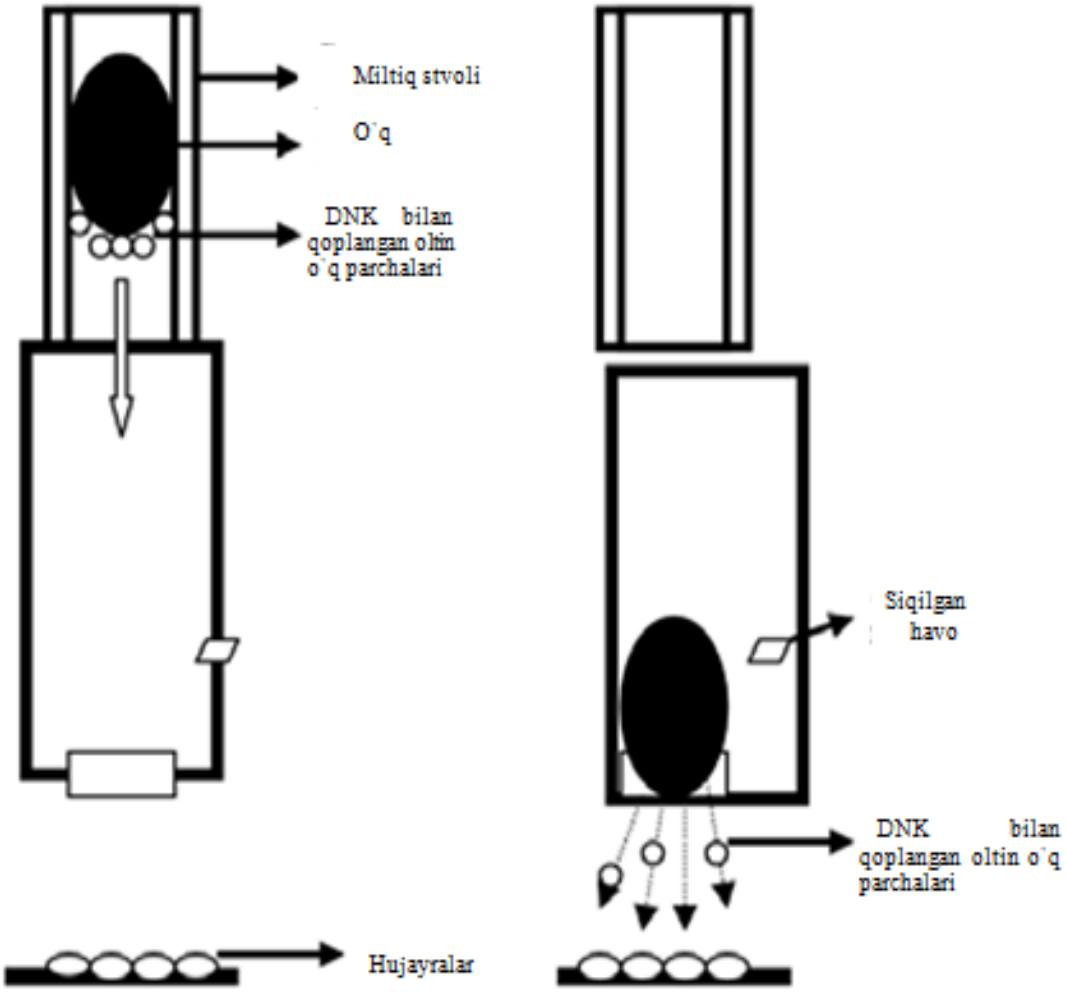
**38-rasm**. DNK (vektorni) hujayra yadrosiga mikroinyeksiya usuli yordamida kiritish

2. *Liposomalarga o‘rash*. Liposomalar – sferik (dumaloq) membranali pufakchalar bo‘lib, ularni devori lipidlardan tuzilgan. Liposomani ichi vektorlar bilan to‘ldiriladi. Liposomalar hujayra membranalarining lipid qo‘shqavatiga kiradi va unda eriydi, uni ichidagilar (vektorlar) esa, hujayrani sitoplazmasiga tushib oladi.

3. *Transfeksiya*. Vektorlarga kalsiy ionlari bilan ishlov beriladi. Hosil bo‘lgan ionlarni nanokomplekslari va vektorlar hujayra membranalaridan ajralib chiqadigan

fragmentlar bilan o‘raladi. Membranalarga joylashib (o‘ralib) olgan nanokomplekslar (vektorlar va kalsiy ionlari) mikropufakchalar ko‘rinishida hujayrani sitoplazmasiga o‘tib oladi. Bu usuldan vektorlarni eukariot hujayralarga kiritish maqsadida foydalaniladi.

4. *Elektroporatsiya*. Hujayraga yuqori kuchlanishga ega bo‘lgan (200-350 volt, davomiyligi 54 ms) impulslar bilan ta’sir etganda, hujayra membranalarini o‘tkazuvchanligi oshadi. Membranada qisqa muddatli paydo bo‘ladigan mikroteshikchalar orqali vektorlar atrof muhitdan (eritmadan) hujayra sitoplazmasiga kirib oladi.




**39-rasm**. R.K. Salayev yaratgan “gen pushkasining” chizmasi

5. *Mikrobo‘lakchalar bilan bombardirovka qilish*. Bu usul o‘simliklar gen injeneriyasida ishlatiladigan eng samarali usullardan biri. Kiritish uchun urug‘ni pishib – yetilmagan murtagidan foydalaniladi. Ularni oltin yoki volfram (diametri 600 nm atrofida) kukunlari bilan bombardirovka qilinadi. Dastlab kukunlarni usti vektorlar bilan o‘rab olinadi. Bu kukunchalar (bo‘lakchalar) bilan “gen pushka”lari o‘qlanadi. Pushkalar otilgandan keyin, kukunchalar o‘simlik hujayrasiga kirib oladi. Otish markazida joylashgan hujayralar nobud bo‘ladi, ammo markazdan 0,6-6,0 sm uzoqda joylashgan hujayralar vektorlar kiritish uchun juda qulay bo‘ladi. Eng sodda

va original “gen pushkasini” Rossiyalik olim R.K. Salayev ixtiro qilgan (39-rasm). Vektorlar yopishtirilgan oltin sharchalar teflondan yasalgan pushkaga joylashtirib otishga tayyorlanadi.

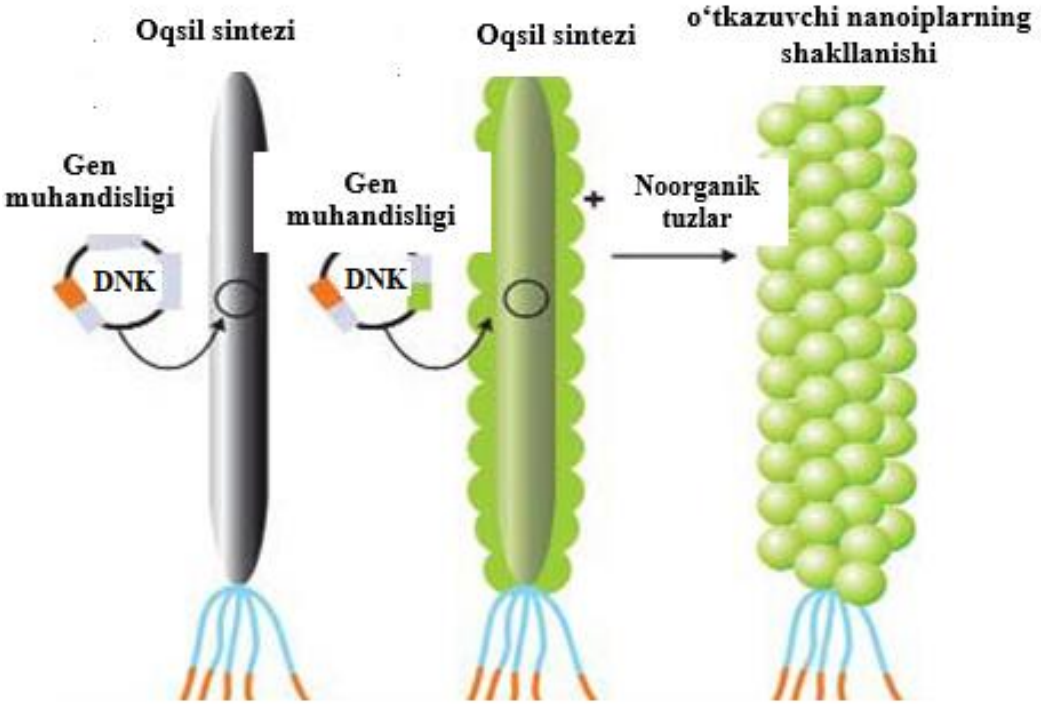
Otilgandan keyin o‘q stvoldan uchib chiqadi va nasadkani teshigida ushlanib qoladi. Inersiya kuchi ta’sirida vektorlar yopishtirilgan oltin sharchalar otilib chiqib, nasadkani (uchlik) oxiridan 10-15 sm uzoqlikda turgan o‘simlik hujayrasiga qarab uchadi. Hujayrani va uni yadrosini teshib o‘tib, ular vektorlarni o‘simlik hujayralari DNKsi molekulasiga yetkazib beradi.

**Gibrid materiallar yaratishda bakteriofaglarni gen injeneriyasi**. Bakteriofaglar (bakteriyalarda parazit holda yashovchi viruslar) nanokonstruktorlar va nanotexnologlarni diqqatini ikki sabab bilan o‘ziga tortganlar:

1 – ular keng tarqalgan tabiiy nanokonstruktorlar hisoblanadi;

2 – ular gen injeneriyasi usullaridan foydalanib, manipulyasiya qilishga juda qulay.

Bakteriofaglardan yangi unikal tabiatda uchramaydigan nanomateriallar yaratishda foydalanish mumkinmi? Bu savolga birinchilardan bo‘lib AQSH ning Massachuset texnologiya instituti olimlari javob berishga kirishganlar. Ular bunday konstruksiya yasash uchun asos qilib, bakteriofaglarni gen injenerligi usulini olganlar. Buning uchun har xil oqsillarni kodlovchi DNK molekulasi, bakteriofag DNKsi tarkibiga kiritilgan (bakteriyani kasallantiruvchi virus). Olimlar bakteriofaglarda gen injenerligini, yangi DNK bakteriofag DNKsini virusning sirtqi oqsillarini sintezi uchun javob beradigan uchaskasiga kiritishdan boshlaganlar (40-rasm).




**40-rasm**. Har xil oqsillar kodlovchi DNK fragmentlari, bakteriofag DNK sini shu oqsillarni sintez qiladigan va ularni o‘zini sirtiga joylashtiradigan uchastkaga kiritilgan

Gen injeneriyasi usuli yordamida olingan bakteriofag koloniyalari maxsus muhitga joylashtirilgan. Bu sharoitda olimlar, bakteriofagni sirtqi oqsillarga substratni yopishishini kuzatganlar. Substratni sirtini yuvib tashlagandan keyin, uni sirtida faqat substratga bog‘lovchi oqsillar saqlagan bakteriofaglar “yopishgan” holda qolganlar xolos. Yopishib qolgan bakteriofaglar ajratib olinib, ular yangi muhitga o‘tkazilgan va ularni koloniyalarini o‘sishini ta’minlashga harakat qilganlar.

Shunday qilib, har xil moddalar bilan (substratlar) bog‘lanadigan va yangi murakkab strukturalar hosil qiladigan bakteriofaglar yaratilgan. Hozirgi vaqtda olimlar oltinga, platinaga, kumushga, rux oksidiga, arsenidgalliyga va boshqa noyob metallarga adgeziv (yopishuvchan) bo‘lgan bakteriofaglar “biblioteka”sini yaratish ustida ishlamoqdalar. Mana shunday oqsillar va noorganik moddalarni gibridlari asosida nanomashinalar va nanoelektronli qurilmalar yaratish uchun qiziqarli bo‘lgan yangi nanomateriallar va nanokonstruksiyalar yaratish mumkin bo‘ladi.

Tajribalarni birida, olimlar bakteriofaglarni ipsimon “yig‘ilishishini” kuzatganlar. Ularni sirtlaridagi oqsillari rux sulfid bilan bog‘lanib, diametri 20 nm bo‘lgan, uzun elektr o‘tkazuvchi nanoiplar hosil qilishi kuzatilgan. Olingan strukturani 350 $^{o}$C gacha qizdirilganda bakteriofaglar chiqib, faqat nafis metalli iplar qolgan xolos.

Shunga o‘xshash yo‘l bilan organik va noorganik moddalardan boshqa original nanostrukturalar yaratish ham mumkin. Olimlarni dastlabki tadqiqotlarida ishlatilgan bakteriofaglar, bor-yo‘g‘i 6 xil oqsillardan tashkil topgan, ulardan ikkitasi noorganik moddalar bilan bog‘langan. Hozirgi vaqtda olimlar uchlamchi o‘tkazuvchi strukturalar olish maqsadida, yuqoridagi tajribalarni oqsil tarkibi yanada murakkabroq bo‘lgan bakteriofaglar bilan olib bormoqdalar.

**Gen terapiya va gen targeting**. Hozirgi vaqtgacha odamlarda 2000 dan ko‘proq irsiy kasalliklar borligi aniqlangan. Faqat ularni kichik bir qisminigina an’anaviy usullar yordamida davolasa bo‘ladi.

Gen injeneriyasini irsiy kasalliklarni davolashda qanday imkoniyatlari bor? Gen injeneriyasi usullaridan tibbiyotda foydalanishni asoslash bo‘yicha ishlar, dunyoning ko‘plab mamlakatlarida 30-35 yillar davomida olib borilayotganligiga qaramasdan, bu sohada erishilgan yutuqlar unchalik darajada qoniqarli emas. Eng avvalo, bu ushbu muammoning o‘ta qiyinligi bilan bog‘liq. Faqat bitta genda nuqson (defekt) paydo bo‘lishidan kelib chiqqan kasalliklarni davolashda tuzukroq natijalarga erishilgan. Bunday holatda, kasal hujayrani xromosomasiga, aniqrog‘i shikastlangan gen turgan joyga normal genni yo‘naltirgan holda kiritish mumkin. Normal gen hujayraga kerakli bo‘lgan oqsillar sintezini (fermentlar yoki boshqa moddalar) ta’minlab bera oladi, shu orqali hujayrani funksiyasi joyiga tushib organizm sog‘lomlashadi. Irsiy kasalliklarni davolashni mana shu asl (original) nanobiotexnologiyaga asoslangan usuli – gen terapiya deb nom olgan. Gen terapiyani mana shunday bir marotabalik tadbiri ba’zida irsiy kasallikni to‘lig‘icha davolashgacha olib keladi. Irsiy kasalliklarni ko‘pchiligi xromosoma DNKsiga o‘zgargan (“me’yoridan tashqari”) gen kirib qolganligi bilan bog‘liq. Bunday genni faoliyat ko‘rsatishi organizmga faqat zarar olib keladi.

Organizm uchun zarur bo‘lgan genning funksiyasini qanday to‘xtatish mumkin? Bunday holatlar uchun olimlar tomonidan davolashni original usuli ishlab chiqilgan va bu usul genli targeting yoki gen “nokaut” deb nom olgan. Bu usul, muayyan genni faoliyatini butunlay bosib qo‘yishga (o‘chirib qo‘yishga) asoslangan. Buning uchun normal genni, murtak hujayrada vaqtida “siniq” nusxa bilan almashtiruvchi nanobiotexnologiya kerak. Genni “siniq” nusxasiga nukleotidlardan iborat bo‘lgan maxsus yamoq kiritiladi. “Siniq” nusxa normal gendan faqat mana shu yamog‘i bilan farq qiladi xolos. Yamoq (qo‘shimcha) “siniq” nusxa saqlagan irsiy axborotni o‘qish vaqtini orqaga surib qo‘yadi.

Shu sababli, bu gen kodlaydigan oqsil sintez bo‘lmaydi (ya’ni gen faoliyat ko‘rsatmaydi), ya’ni kasallik paydo bo‘lmaydi. Hozirgi vaqtda gen terapiya va gen targeting yordamida yuzlab kasalliklarga davo topilgan.

# V bob. HUJAYRA MUHANDISLIGI

## 10§. HUJAYRA MUHANDISLIGINING MAZMUNI VA ASOSIY TUSHUNCHALARI

Hujayra biotexnologiyasi – hujayra, to‘qima va protoplastlarni ishlatishga asoslanadi. Hujayralarni manipulyatsiya (faoliyatiga qandaydir o‘zgarishlar kiritish) qilish uchun, ularni o‘simlikdan ajratib olish, o‘simlik organizmidan tashqarida yashashi va ko‘payishi uchun sharoit tug‘dirib berish lozim. Ajratib olingan hujayra va to‘qimalarni sun’iy oziqa muhitida, steril sharoitda (*in vitro*) o‘stirish usuli ajratilgan to‘qimalar kulturasi deb nom oldi va ularni biotexnologiyada ishlatish mumkinligi sababli katta ahamiyat kasb etdi. Biotexnologiya qadimdan 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 kabi 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. Hozirgi vaqtda dunyoni ko‘plab mamlakatlarida biotexnologiyani rivojlanishiga alohida e’tibor berilmoqda. Bunga asosiy sabab, biotexnologiyani boshqa texnologiyalarga nisbatan bir qator ustunlikka egaligidir. Masalan, biotexnologik jarayonlar juda kam energiya talab qiladilar, deyarli chiqindisiz, shuningdek, ekologik toza mahsulotlar ishlab chiqariladi. Shuning bilan bir qatorda, biotexnologiya standart jihozlardan va preparatlardan foydalanadi hamda iqlim sharoitiga qaramasdan, 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 ahamiyatini uch yo‘nalishda ko‘rish mumkin:

Birinchi yo‘nalish - ajratib olingan o‘simlik hujayrasini tibbiyot, veterinariya, kosmetika va boshqa sohalar uchun zarur bo‘lgan ikkilamchi metabolitlar: alkoloidlar, steroidlar, glyukozidlar, gormonlar, efir moylari va boshqa biologik faol moddalar sintez qilish imkoniyati bilan bog‘liq. Ma’lumki, ikkilamchi metabolitlar qattiq (agarli) yoki suyuq oziqa muhitida o‘stirilgan kallus to‘qimalardan olinadi. Hujayra texnologiyasi asosida diosgenin – dioskore hujayrasidan; aymolin – ilon ratsvolfi hujayrasidan; umumiy kuch beruvchi moddalar – jenshen hujayrasidan ajratib olinadi va tibbiyot hamda parfyumeriyada ishlatiladi. Shuni e’tiborga olish kerakki, o‘stiriladigan hujayralarni hosildorligi, butun o‘simlikni hosildorligidan 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 (sovuq yoki issiq iqlimli mintaqalarda), ularni hujayralarini butun yil maboyinida o‘stirish mumkin.

Ikkinchi yo‘nalish – ajratib olingan hujayralarni, o‘simliklar seleksiyasida ishlatish va shu orqali tez rivojlanuvchi, har xil tashqi muhit ta’siriga (issiqqa, sovuqqa, sho‘rlanishga, og‘ir metallarga, qurg‘oqchilikka, kasallikka) chidamli o‘simliklar yaratish. Shuning bilan birga bu yo‘nalish, ajratilgan protoplastlarni

qo‘shilishi orqali yangi o‘simliklar yaratish hamda nojinsiy (somatik) gibridlar olishni ham o‘z ichiga oladi. Ajratib olingan protoplastlarga gen muhandisligi usullari yordamida begona genlarni kiritilishi, keyinchalik yangi, meros qoladigan xossalarga ega bo‘lgan o‘simlik yaratishga ham olib keladi. Ajratib olingan changdon va urug‘ kurtakni sun’iy oziqa muhitida o‘stirish, gaploidlar olish imkonini bersa, murtaklarni o‘stirish – o‘saolmaydigan (endospermasi yomon rivojlangan) o‘simliklardan gibrid urug‘lar yetishtirish imkonini beradi.

Uchinchi yo‘nalish – ajratib olingan to‘qimalarni ko‘paytirish va ekuv materiallarini viruslar hamda boshqa patogenlardan sog‘lomlashtirish maqsadida ishlatish. Bu usul, o‘simliklarni klonal mikroko‘paytirish deyiladi va bitta meristemadan yiliga yuz minglab o‘simlik olish imkonini beradi.

Hujayra va to‘qimalar kulturalarini ishlatishdagi natijalar birinchi navbatda hujayralarni bo‘linishi, ularni tabaqalanishi va ulardan o‘simlik o‘sib chiqishini belgilovchi, fiziologik jarayonlarni optimizatsiyasiga bog‘liq. Eng murakkab tomon - bu alohida hujayradan o‘simlik regeneratsiya qilish. Birinchi navbatda bu boshoqli o‘simliklarga tegishli. Shuning uchun ham in vitro sharoitda morfogenez, regeneratsiya va ularni asosida yotgan jarayonlarni mexanizmlarini aniqlash eng muhim ahamiyatga egadir.

O‘simliklardan ajratib olingan to‘qimalarni o‘stirish bo‘yicha tadqiqotlar ancha oldin boshlangan. 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 bog‘liq. Ular saxaroza eritmasida har xil o‘simliklar to‘qimalarini o‘stirishga urinib ko‘rishgan, ammo o‘simliklarni o‘sishi kuzatilmagan. Faqatgina qoqi o‘tini va tol daraxtini poyalarini sigmentlari uchun birlamchi kallus olingan hamda kallussogenezga aylanishi mumkin bo‘lgan segmentni eng kichik o‘lchami aniqlangan. Eksperimental muvaffaqiyatlarga yetaolmasdan bu olimlar qator g‘oya va gipotezalar yaratganlar. Bu g‘oya va gipotezalar ancha kechroq o‘z tasdig‘ini topgan. Masalan, Xaberlandt har qanday tirik o‘simlik hujayrasini totipotentligi ya’ni hujayralarni ma’lum sharoitda o‘stirilganda o‘zini rivojlanish potensialini namoyon qilishi va butun o‘simlik hosil bo‘lishiga boshlashi haqida gipoteza e’lon qilgan edi.
- II bosqich (1902-1922 yillar) – hayvon to‘qimalarini o‘stirish uchun birinchi oziqa muhiti yaratilganligi bilan nishonlanadi. Bu oziqa muhitlari tabiiy bo‘lib, tarkibida qon plazmasi (qonni suyuq qismi) va kurtak suyuqligi saqlagan. Ajratib olingan o‘simlik to‘qimalarini o‘simlik ekstraktlari saqlagan sun’iy oziqa muhitida o‘stirib ko‘rish muvoffaqiyatsiz chiqqan, chunki eksperimentlarda yuksak o‘simliklarni o‘sish faolligini namoyon qilishga to‘g‘ri kelmaydigan hujayra va to‘qimalaridan foydalanilgan.
- III bosqich (1922 – 1932 yillar). Bu davrda bir-birlari bilan bog‘liq bo‘lmagan holda Amerikalik olim V.Robins va nemis olimi Kotte qattiq oziqa muhitida pomidor hamda makkajo‘xori ildizi uchidagi meristemalarni o‘stirish mumkin ekanligini namoyish qilganlar. Ammo, ma’lum vaqt o‘tgach, o‘simlik

to‘qimalari qo‘ng‘ir rangga kirib, halok bo‘lgan. O‘simliklarni to‘qimalarini o‘stirish usulining rivojlanishi – 1932 yildan boshlangan.

- IV bosqich (1932–1940 yillar), fransuz olimi R.Gotre nomi bilan bog‘liq. U *in vitro* sharoitida o‘simlik to‘qimalarini vaqti-vaqti bilan toza oziqa muhitiga ko‘chirib turish orqali uzoq vaqt o‘stirish mumkinligini namoyish qilgan. Bu yangilik, to‘qimalar texnologiyasini rivojlanishiga katta hissa qo‘shdi va o‘stirishga qo‘yiladigan o‘simliklar soni juda ham ko‘paydi.
- V bosqich (1940–1960 yillar). 1955-yilda yangi sinfga mansub fitogormon – sitokinin (xususan, kinetin) larni ixtiro qilinishi, hujayralarni bo‘linishini kuchaytirish imkonini yaratdi. O‘sishni kuchaytiruvchi moddalarni miqdori va ularni nisbatiga qarab, eksplant hujayrasining bo‘linishini kuchaytirish, kallus to‘qimalarni o‘sishini muhofaza qilish, morfogenezni kuchaytirish mumkin ekanligi namoyish etildi. Shu davrda kakos yong‘og‘ini, kashtan, makkajo‘xori va boshqa o‘simliklar endospermalarini hujayrani o‘sishi, morfogenez jarayonlari (kallus to‘qima va hujayra suspenziyasida) ga ijobiy ta’sir ko‘rsatishi aniqlangan.
- VI bosqich (1960–1975 yillar). Bu davrni eng muhim voqeasi Nottingen universiteti professori E.K.Kokking tomonidan fermentativ yo‘l bilan pomidorning ildizi va mevasidan protoplastlar olinishi hamda ularni nazorat qilinib turilgan sharoitda o‘stirilganligi bo‘lgan. Keyinroq shu laboratoriyada Pauer o‘zini shogirdlari bilan protoplastlarni sun’iy qo‘shilish sharoitlarini yaratishgan. Bu esa, somatik gibridlar yaratishda yangi yo‘l bo‘lib xizmat qilgan. O‘sha davrda yaratilgan yana bir usul – bu o‘simliklarni *in vitro* sharoitida meristema kulturalar ishlatib mikroko‘paytirishdir. Dastlab bu usul fransuz olimi J.Morel tomonidan arxideya o‘simligining sog‘lom ko‘chatini olish maqsadida yaratilgan.
- VII bosqich – (1975 yildan hozirgi vaqtgacha). *In vitro* texnikasini jadallik bilan rivojlanishi, o‘stiriladigan manbalarni biologiyasini o‘rganish davom etmoqda. Ajratilgan protoplastlarni elektro qovushtirish usullari ishlab chiqilmoqda, mutagenez va hujayra seleksiyasi usullari, gaploidli o‘simliklar yaratish usullari, hujayralarni ajratilgan protoplastlar va *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes* asosida tayyorlangan Ti va Pi plazmid vektorlarni ishlatib suyuqlikda o‘stirish usullari mukammallashtirilmoqda. Gen muhandisligi usullari yordamida ikki pallali o‘simliklarni genlarini ko‘chirib o‘tkazishni samarali usullari ishlab chiqildi. Shunday qilib, oxirgi yillarda ajratib olingan o‘simlik hujayralari va to‘qimalari bilan ishlash texnikasi takomilashtirildi. Ammo, bu ishlarda asosiy manba bo‘lib, bir pallali va ikki pallali o‘tlik o‘simliklar xizmat qilgan.

**Ajratib olingan hujayra va to‘qimalarni o‘stirish texnikasi**. Ajratib olingan to‘qimalar bilan ishlashni asosiy sharti – sterillikga qat’iy rioya qilishdir. Tarkibi boy bo‘lgan oziqa muhiti mikroorganizmlarni rivojlanishi uchun ham juda yaxshi substrat hisoblanadi, o‘simliklardan ajratib olingan fragmentlar (eksplantlar) oziqa muhiti 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, urug‘lar ham 5-20 minut davomida sterilizatsiya qiluvchi eritmada ushlab turish, keyin esa steril suv bilan yuvib tashlash orqali amalga oshiriladi. Sterilizatsiya davri eksplantning tavsifiga hamda eritmani sterilizatsiya qilish xususiyatiga bog‘liq. Odatda urug‘ 10-20 minut, vegetativ qismlar esa 5-10 minut davomida sterilizatsiya qilinadi.

27-jadval

**Dastlabki o‘simlik materiallarini sterilizatsiya qilishning optimal sharoitlari** (R.G.Butenka, 1990 yil)

| **Manba** | **Sterilizatsiya vaqti, min** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **0,1% li diatsid** | **0,1% li kumush xlorid ($AgCl_2$)** | **5-9% li gipoxloritlar (Na, Ca)** | **10-12% li vodorod peroksidi ($H_2O_2$)** |
| **Urug‘lar** | | | | |
| quruq | 15-2 | 10-15 | 15-20 | 12-15 |
| namlangan | 6-10 | 6-8 | 10-15 | 6-8 |
| **To‘qimalar** | | | | |
| sutli ildiz, ildizmeva | 20-3 | 15-25 | 15-20 | - |
| daraxtlangan poya | 20-4 | 20-25 | 20-25 | - |
| barglar | 1-3 | 1-3 | 3-6 | 3-5 |
| apekslar | 1-10 | 1-7 | 3-15 | 2-7 |

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. Urug‘lar spirtda 1-2 minut ushlab turiladi. To‘qimalarga spirt bilan ishlov berish, uni sterilizatsiya qilish xossasidan tashqari, asosiy sterilizatsiya qiluvchi eritmaning ta’sirini kuchaytirishi bilan ham bog‘liq. Sterilizatsiyadan keyin o‘simlik obyektlari sterillangan suv bilan tozalab yuvib tashlanishi kerak. Sirtqi sterilizatsiya eksplantni faqat tashqi infeksiyadan ozod qiladi. Agar eksplant to‘qimalari ichki infeksiyaga ega bo‘lsa, ularga antibiotiklar bilan ishlov berishga to‘g‘ri keladi. Ayniqsa, yirik tomirli tropik va subtropik o‘simliklar ichki infeksiyaga boy bo‘lishadi. Kulturalarni zamburug‘lar yoki bakteriyalar bilan ifloslanishi ekilgandan 1-14 kun o‘tganda ko‘zga tashlanadi. Yorug‘lik xonasidagi havoni ifloslanishdan saqlash uchun ifloslangan kulturani darhol yo‘qotish kerak. Oziqa muhitlarini avtoklavda 120$^{o}$C 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 0,22–0,45 mkm bo‘lgan bakterial filtrlardan o‘tkaziladi va avtoklavdan chiqqan oziqa muhitini 40 $^{o}$C gacha sovutib,

keyin ularni aralashtiriladi. Oldindan folgaga (alyumin qog‘oz) yoki o‘raydigan qog‘ozga o‘ralgan idishlarni quruq issiq bilan quritgich shkaflarida 160 $^{o}$C 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, kalsiy, magniy, oltingugurt) va mikroelementlar (bor, marganets, rux, mis, molibden) hamda vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularni sintetik muqobillarini saqlashi kerak. Ba’zi oziqa muhitlari aminokislotalar, kazein gidrolizati, EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uni natriyli tuzi (bu tuz temirni hujayraga kirishiga yordam beradi) va boshqa kerakli moddalar saqlaydi. Kallus to‘qima olish uchun, alohida hollarda oziqa muhitiga kakos yong‘og‘ini (kakos 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 qurblari yetmaydi. Karbon suv sifatida ko‘proq 2-3 % li saxaroza yoki glyukoza eritmasidan foydalaniladi. Fitogormonlar hujayralarni tabaqasizlanishi (dedifferensirovka) va hujayra bo‘linishini kuchaytirish (induksiya) 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 morfogenezini induksiya qilganda muhit tarkibidagi auksinlar miqdorini kamaytirish yoki butunlay olib tashlash mumkin. Gormon saqlamaydigan oziqa muhitida shish va «o‘rgangan» to‘qimalar o‘sadi. Har ikki guruh gormonlariga yoki ulardan birortasiga avtonomlik, bu hujayralarni o‘zlarini gormon sintez qilish xususiyati bilan bog‘liq.

Auksin manbayi sifatida oziqa muhitiga 2,4-dixlorfenoksi sirka kislota (2,4-D), indolil–3–sirka kislota (ISK), L–naftil sirka kislota (NSK) qo‘shiladi. Yaxshi o‘suvchi kallus olish uchun ko‘proq 2,4–D dan foydalaniladi, chunki ISK, 2,4–D ga nisbatan 30 marotaba kuchsizdir. Sun’iy oziqa muhitiga qo‘shish uchun, sitokinin manbayi sifatida, kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin ishlatiladi. 6–BAP va zeatin ajratilgan to‘qimalarni o‘sishiga organogenezni induksiyasiga kinetinga nisbatan faolroq ta’sir ko‘rsatadi. Ba’zi bir oziqa muhitlar tarkibiga adenin ham qo‘shiladi. Hozirgi paytda juda 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 hamda nitratli azotni nisbati bilan farq qiladi (28-jadval).

Qattiq oziqa muhit tayyorlash uchun agar–agrar ishlatiladi. Agar–agar dengiz suv o‘tlaridan olinadigan polisaxariddir. Vaqtdan unumli foydalanish maqsadida, makro- va mikroelementlar eritmalari hamda vitaminlar va fitogormonlar quyuqroq qilib tayyorlanadi va sovuq sharoitda saqlanadi hamda kerak bo‘lganda suyultirilib ishlatiladi.

**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 kallus to‘qimalari yorug‘likka ehtiyoji yo‘q, chunki ularni xloroplastlari bo‘lmasdan, geterotrof oziqlanadilar. Ba’zi – bir yashil rangdagi kallus to‘qimalar bundan

mustasno. Ba’zi bir holatlarda kallus to‘qimalar avtotrof oziqlanishiga qobiliyatli emas, bularni doimiy yorug‘lik sharoitida o‘stiriladi, bu esa muvaffaqiyatli morfogenez uchun majburiy sharoitdir ko‘proq kallus to‘qimalar qorong‘ilikda saqlanadi.

28-jadval

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

| Oziqa muhiti komponentlari | miqdori, mg/l | | | |
|---|---|---|---|---|
| | Murasiga - Skuga | Gamborga | Shenka-Xildebrandta | Gressxoff-Dou |
| $NH_4NO_3$ | 1650 | 2500 | 2500 | - |
| $NH_4H_2PO_4$ | - | - | 300 | - |
| $KNO_3$ | 1900 | - | - | 1000 |
| $CaCl_2 \times 2H_2O$ | 440 | 150 | 200 | 150 |
| $Mg\ SO_4 \times 7H_2O$ | 370 | 250 | 400 | 250 |
| $(NH_4)_2SO_4$ | - | 130 | - | - |
| $KH_2PO_4$ | 170 | - | - | - |
| $Na_2$ЭДТА | 37,3 | 37,3 | 20,0 | 37,3 |
| $FeSO_4 \times 7H_2O$ | 27,95 | 27,85 | 15,0 | 27,8 |
| $NaH_2PO_4 \times H_2O$ | - | 150 | - | 90,0 |
| $H_3BO_3$ | 6,2 | 3,0 | 5,0 | 3,0 |
| $MnSO_4 \times 4H_2O$ | 22,3 | 10,0 | 10,0 | 10,0 |
| $ZnSO_4 \times 7H_2O$ | 8,6 | 2,0 | 1,0 | 3,0 |
| KJ | 0,83 | 0,75 | 1,0 | 0,75 |
| $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$ | 0,25 | 0,25 | 0,1 | 0,25 |
| $CuSO_4 \times 5H_2O$ | 0,025 | 0,025 | 0,2 | 0,25 |
| Glitsin | 2,0 | - | - | 2,0 |
| Mezoinozit | 100 | 100 | 1000 | 10 |
| Nikotin kislotasi | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 1,0 |
| Piridoksin-gidroxlorid | 0.5 | 1,0 | 0,5 | 0,1 |
| Tiamin-gidroxlorid | 1,0 | 10,0 | 5,0 | - |
| 2,4-dixlorfenok-sirka kislotasi (2,4-D) | - | 0,1-1,0 | - | - |
| Kinetin | - | 0,1 | 0,1 | - |
| Glutamin | - | - | - | 2,0 |
| Saxaroza | 30000 | 30000 | 30000 | 20000 |

Morfogenezga aniqlangan to‘qimalar yorug‘likga o‘tkazilib, keyin 1000-4000 lk yorug‘likda o‘stiriladi. Ajratib olingan meristemalar va ularni mikroko‘paytirish ham yorug‘likda o‘tadi. Yorug‘ uychani yorug‘ligi 1000–10000 lk bo‘lishi kerak va yorug‘likni kuchi o‘simlikni xususiyatlariga bog‘liq. O‘stiriladigan obyektni foto

davrini ham hisobga olish kerak. O‘stiriladigan 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 mu’tadil harorat 25-26$^{o}$C. Agar tropik o‘simliklarni to‘qimalari bo‘lsa 29-30$^{o}$C da o‘stiriladi. Morfogenez induksiya qilinganda harorat 18-20 $^{o}$C gacha tushiriladi. Odatda iqlim kameralaridan foydalaniladi.

**Kallus to‘qimalar kulturasi**. Ajratilgan to‘qimalar kulturasi odatda kallusli yoki shish (juda kam holatda) to‘qima bo‘lishi mumkin. Kallusli kultura tabaqalashmagan (dedifferensirovannыy) 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‘q qo‘ng‘ir 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 konsistensiyaga (suyuq - quyuq) 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 meristemali o‘choqlar;
- Uchinchi – zich holatda, unda kambiy (o‘simlik po‘stlog‘i tagidagi bo‘linuvchan hujayralar) elementlari va o‘tkazuvchi tizim tabaqalashgan (differensiatsiya) 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 sitokininlarni bo‘lishidir. Auksinlar hujayralarni tabaqasizlanishini (dedifferensiatsiya) chaqirib, ularni bo‘linishga tayyorlaydi, sitokininlar tabaqasizlangan hujayralarni bo‘linishiga 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.

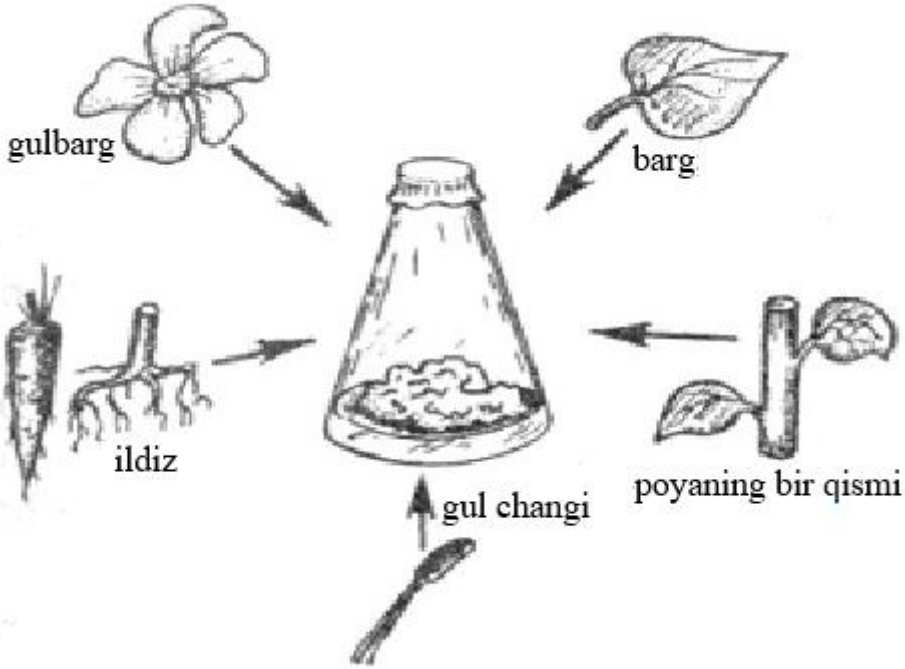
Oxirgi bosqichning tavsifli tomoni - hujayrani ikkilamchi qobig‘ini qalinlashuvi va hujayrani bo‘linishga bo‘lgan qobiliyatini yo‘qotishidir. Differensiatsiyaga uchragan hujayralar yana qaytadan bo‘linish qobiliyatiga ega bo‘lishi uchun, ularni dedifferensiatsiya bo‘lishi shart, ya’ni hujayra xuddi meristema 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 bog‘liq bo‘lib, tabaqalash jarayonida, hujayra bo‘linish qobiliyatini yo‘qotadi.

Har bir hujayraning o‘sishi uch bosqichda o‘tadi:

- *bo‘linish;*
- *cho‘zilish;*
- *tabaqalanishi (differensirovka).*

Oziqa muhiti tarkibida sitokininlarni bo‘lmasligi tamaki o‘simligini o‘zak qatlami parenximasida hujayra halqasini to‘sib qo‘yadi. Shuning uchun ham agar oziqa muhiti tarkibida faqatgina auksin bo‘lsa, hujayra bo‘linmaydi va to‘rt kunlik davrdan keyin cho‘zilib, o‘sishga o‘tadi. Auksinlarsiz, faqat sitokininlarni 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.




**41-rasm.** Turli xil eksplantlardan kallus to‘qimasi kulturalarini olish

Bunga zid bo‘lgan misollar ham bor. Masalan, bug‘doyni yetilmagan kurtaklarida sitokininsiz 2,4-D saqlagan oziqada kallus hosil bo‘lishi yoki kungaboqarni urug‘ pallasida sitokinin saqlagan, auksin saqlamagan oziqada kallus hosil bo‘lishi. Kuzatiladigan natijalar ko‘proq endogen gormonlarga, aniqrog‘i u yoki bu eksplantni hujayrasida saqlanadigan gormonlar bilan ya’ni hujayrani gormonal statusi bilan bog‘liq ekanligi isbotlangan. Ba’zi bir olimlarni fikrlaricha, hujayrani bo‘linishini auksin yoki sitokinin 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 hujayra 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

dedifferensiatsiyasi, fitogormonlar ta’sirida bo‘linishni kuchayishi (induksiyasi) bilan bog‘liq bo‘lsa, bo‘linadigan meristemali hujayralarni dedifferensiatsiyasi bo‘linishi to‘xtashi bilan hujayrani ixtisoslanishi va faqatgina undan keyin kallus hosil bo‘lishiga olib keluvchi bo‘linishni kuchayishi bilan bog‘liq.

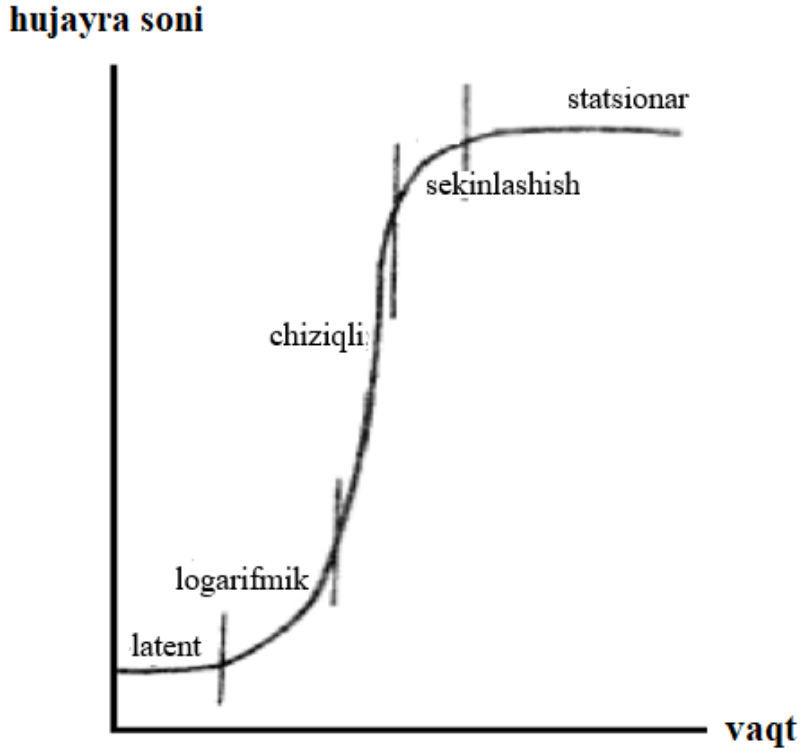
Bir fitogormonning ta’sir samarasi, nishon to‘qimani fiziologik tavsifiga qarab har xil bo‘lishi mumkin. Hujayrani *in vitro* sharoitida differensiatsiyalangan holatdan didefferensiallangan holatga va hujayrani faol bo‘linishga o‘tishi, genlarni faolligini o‘zgarishi bilan boshlanadi (epigenomli o‘zgaruvchanlik). 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 didefferensiallashgan genlarning repressiya va depressiya jarayonlari nisbatan oson o‘tadi. Dedifferensiallashgan hujayralarni kallus to‘qimalar hosil bo‘lishiga olib keluvchi tartibsiz ko‘payishga o‘tishi bilan biokimyoviy va sitologik o‘zgarishlar sodir bo‘ladi. Zahiradagi moddalarni ishlatilishi va ixtisoslashgan hujayra organellalarini parchalanishi bilan dedifferensiallanish boshlanadi. Dedifferensiatsiyani induksiyasidan 6-12 soat o‘tgandan keyin hujayra qobig‘i g‘ovaklashib shishadi, mustaqil ribosomalar soni ko‘payib, golji apparati 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 dedifferensiatsiya 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 differensiatsiya va undan keyin qarish va hujayrani o‘lish davri. Kallusli differensiatsiyani ikkilamchi deb atasa bo‘ladi, ammo uni morfogenez asosida yotuvchi hujayralarni ikkilamchi differensiatsiyasi 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. O‘z vaqtida bu jarayon o‘tkazib turilsa, kallus hujayralari o‘n yillab o‘z bo‘linish xususiyatini yo‘qotmasligi mumkin.

Kallus hujayralarni o‘sish chizig‘i S-simon shaklga ega bo‘lib, o‘sishi besh fazadan iborat:

- latent yoki lag-faza - davrida hujayra soni yoki og‘irligi o‘zgarmaydi. Hujayralar bu davrda bo‘linishga tayyorgarlik ko‘radilar.
- logarifmik yoki eksponensial o‘sish fazasi- eng ko‘p mitotik faollik bilan va kallus kulturani massasini oshishi hamda tezlik bilan o‘sish kuzatilishi bilan tavsiflanadi.
- to‘g‘ri chiziqli faza - bunda hujayralarni o‘sish tezligi doimiydir.
- o‘sishni sekinlashuv fazasi boshlanadi - bu bosqichda hujayrani mitotik faolligi keskin pasayadi.

➢ o‘sish chizig‘i statsionar fazada bir tekis holatga keladi. Bu davrda hujayralar parchalanadi, ammo parchalanish, hujayra sonini oshishi bilan barobarlashadi; umuman olganda bu bosqichda, 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.




**42-rasm**. Kallus to‘qimalarini davriy o‘stirganda o‘sish bosqichining egri chizig‘i

**Kallusli hujayralarni o‘ziga xosligi**. *In vitro* sharoitida kallusli hujayralar o‘simliklar organizmidagi oddiy hujayralarga xos bo‘lgan, ko‘plab fiziologik va bikimyoviy xususiyatlarni saqlab qoladi. Ular, ikkilamchi metabolitlar sintez qilish qobiliyatini yo‘qotmaydi. Sovuqqa chidamlilik xususiyati kallusli hujayralarda, o‘simliklardagidek qaytariladi. Bunday xususiyat, tropik yoki subtropik o‘simliklardan olingan kallus to‘qimalarda bo‘lmaydi. Kallusli to‘qimalarga fotodavriylik reaksiyasi ham xos, bu fitoxron faolligini saqlab qolinganligi bilan bog‘liqdir. O‘simliklarni normal va kallusli to‘qimalari uchun umumiylik yana qator belgilarda, xususan, yuqori haroratga chidamlilik, osmotik faol moddalarga, sho‘rlanishga chidamlilikda namoyon bo‘ladi. 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 farq qiladi. Organizm nazoratidan chiqqanligi sababli, kallusli hujayralarni o‘sishi tartibsiz, sinxronsiz ravishda o‘tadi va chegaralanmaydi. Bundan 75 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 vaqtni o‘zida yosh hujayralar (G-fazadagi), qari ($G_2$) 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 birdan katta. Masalan no‘xat kallus hujayrasida bu son 3,5 dan katta. Bu nafas olish bilan bijg‘ish orasidagi nisbat, bijg‘ishni kuchayish tomoniga surilganligini, ya’ni Paster effektini pasayishini ko‘rsatadi. Paster effekti - deganda, bijg‘ishning kislorod ishtirokida nafas olish bilan bosishni tushuniladi. Nafas olish substratlari o‘zgarmagan sharoitda, nafas olish koeffitsiyentini ko‘payishi, nafas olish bijg‘ishni to‘xtata olmayotganligini va hatto kislorodli sharoitda ham kallusli hujayralarda nafas olish bilan bir qatorda, uglevodlarni kislorodsiz parchalanishi bijg‘ish 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 hodisa Varburg tomonidan aniqlangan bo‘lsada hozirgacha aniq tushuntira 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) oshirib yuboradi. Kallusli hujayralarda nafas olish tavsifini o‘zgarishi bilan bir qatorda uglevodlarni kislorodsiz sharoitda parchalanishi kuchayadi,ya’ni bo‘linadigan hujayralar uchun zarur bo‘lgan, pentozafosfat yo‘li tomon siljish namoyon bo‘ladi.

**Kallus hujayralari genetikasi**. Uzoq vaqt kallusli hujayralar genetik bir xil deb hisoblab kelinar edi. O‘tgan asrning 60-yillarida kallusli hujayralar genetik geterogen (ko‘psonli) ekanligi aniqlandi. Ularni bir xil emasligi eng avvalo har xil sonli xromosomalar saqlashi bilan namoyon bo‘ladi. *In vitro* sharoitida meristematik to‘qimalar genetik mu’tadil bo‘ladi. Kallusli va suspenzion kulturalarda dastlabki o‘simlikka xos bo‘lgan qator diploid xromosomalar saqlovchi hujayralar 3, 4, 5 va undan ham ko‘proq xromosomalar to‘plami saqlovchi poliploidli hujayralar uchraydi. Shular qatori kallusli to‘qimalarda tez-tez aneuploidiyani, ya’ni xromosomalar to‘plamini bir necha xromosomaga kamayishi yoki ko‘payishini kuzatish mumkin. Kallusli to‘qimalarni qanchalik uzoq vaqt o‘stirilsa, shunga mos tarzda ular ploidligi bilan farqlanadilar. Tamaki o‘simligini kallusli to‘qimalarida to‘rt yil o‘stirilgandan keyin umuman, diploidli hujayralar qolmaydi. Barcha hujayralar poliploidli yoki aneuploidli bo‘lib qoladi. Bu esa ploidlikni o‘zgarishi hujayralarni o‘stirish sharoiti ta’sirida, eng avvalo oziqa muhiti tarkibidagi moddalar ta’sirida amalga oshishini ko‘rsatadi. Ammo bu holatni boshqacha tushuntirish ham mumkin. Poliploid

hujayralar qisqa lag fazaga ega bo‘lganligi sababli, ularni diploid hujayralarga nisbatan bo‘linishi tezroq o‘tadi. Buning oqibatida, ular keyingi ko‘chirib o‘tkazish jarayonlarda ustunlikka ega bo‘lib qoladilar. Har qanday holatda ikki sababni ham o‘rinli deb hisoblash mumkin.

Ploidlikni o‘zgarishidan tashqari o‘simlik hujayra va to‘qimalarini *in vitro* o‘stirilishi, hujayrada xromosomali abberatsiyalar hosil bo‘lishini chaqiradi. Bu esa o‘stirilayotgan to‘qimalarni biologik xususiyatlariga ta’sir ko‘rsatadi, oqibatda to‘qimalarni tashqi ko‘rinishi, modda almashinuvi, o‘sish tezligi o‘zgaradi. O‘stirilayotgan hujayralarda, mikroskop ostida ko‘rinadigan xromosomali mutatsiyalardan tashqari ko‘rinmaydigan o‘zgarishlar ham sodir bo‘lishi mumkin. Bunday o‘zgarishlar xromosomalarni bir qismida hamda genlarni tuzilishida ham bo‘lishi mumkin. Genli mutatsiyalar hujayralarni morfologiyasi va fiziologik-biokimyoviy xossalarini o‘zgarishida namoyon bo‘ladi. O‘stirilayotgan hujayralarni genetik mu’tadil emasligi sabablari nimalardan iborat? Bunday sabablar bir nechta. Eng avvalo – dastlabki materialni genetik bir xil bo‘lmaganligi (eksplantlarni geterogenligi). Ko‘pchilik o‘simliklarda tabaqalashgan to‘qimalar, har xil ploidli hujayralarga ega bo‘ladilar va faqatgina to‘qimani ontogenezi davrida faol ko‘payadi, yuqori meristemalar, kambiylar va boshqalar esa doimo diploid holatda qoladi. Boshqa bir sabab – bu to‘qima va hujayralarni uzoq muddat ekilishi, o‘z navbatida bunday sharoitda ulardagi genetik o‘zgarishlar, jumladan, ploidlikni bir xil bo‘lmagan o‘zgarishi sodir bo‘ladi. O‘simlik to‘qimalarini bir qismini ajratib olib, ularni oziqa muhitiga o‘tkazishda bir-biriga mos aloqalarni buzilishi ham hujayralarni genetik mu’tadillikdan chiqishiga olib keladi. Shunga o‘xshash natijalar oziqa muhiti tarkibidagi fitogormonlarni hujayraning genetik apparatiga ta’siri oqibatida namoyon bo‘lishi mumkin. Kallus hosil bo‘lishi uchun gormon sifatida albatta oziqa muhiti tarkibida auksinlar va sitokininlar kiritiladi. Bu moddalarni mutagenlik xususiyati esa ko‘pchilik olimlar tomonidan isbotlangan. Eng kuchli mutagenlik xususiyati esa ko‘pchilik oziqa muhitlari tarkibiga kiruvchi 2,4-D preparatida kuzatilgan. Sitokininlar xususan, kinetik hujayralarda poliploidiya sodir bo‘lishiga yordam beradilar. Kallus hujayralarni genetik xilma-xilligi, ularni tashqi muhit ta’siriga fitopatogenlarga chidamli hamda serhosil mutantlar olish uchun amalga oshiriladigan seleksion ishlarda foydalanish imkoniyatini yaratadi.

**Gormonlarga bog‘liq bo‘lmagan o‘simlik to‘qimalari.** Kallusli hujayralar faqat oziqa muhiti tarkibida gormonlar bo‘lgandagina bo‘linadi. Ammo uzoq muddatda o‘stirilganda, ba’zan ular gormonsiz muhitda ham o‘sish xususiyatiga ega bo‘ladi, ya’ni auksin va sitiokininlarga 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 olmaydi va faqat teratomlar hosil qiladi. 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 – o‘simlik yaratish mumkin emas. Hozircha “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 bog‘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.rubi* 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 proleferatsiyasi uchun oziqa muhiti tarkibida gormon saqlashi shart.

“Moslashgan” to‘qimalarda xuddi 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 farq qilmaydilar, 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‘lmaslik, 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‘lmaslik 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 muhtojsizlik 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 muhtojsizlik 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” hujayralar regeneratsiyaga bo‘lgan imkoniyatlarini yo‘qotadilar, bu esa yuqoridagi usulni gormonga muhtojsizlik tabiatini aniqlashni qiyinlashtiradi. Shish to‘qimalarda gormonlarni sintezi – o‘simlik o‘tkazilishi bilan bog‘liq. O‘tgan asrni 40-yillarida F.Uaytning o‘quvchisi, Braun koronchatogalli shish to‘qima kulturasi agrobakteriya yo‘qligida (ularni yuqori 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 sitokininlar saqlaydilar. O‘zi 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 hamda 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 agrobakteriyalarning Ti-plazmidasini ma’lum qismini o‘simlikni yadro DNK siga kiritish natijasida paydo bo‘lishini isbotladilar. Shunday qilib, Ti-plazmidani sigmenti (t-DNK) xromosomaga integratsiya qilinadi va o‘simlikni transformatsiyalangan (shish) hujayrasini 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 bog‘liq, chunki auksin va sitokininlarni sintezini nazorat qilib turuvchi genlarni ekspressiyasi oqibatida gormonga muhtojsizlik kelib chiqadi va u hujayralarni tabaqasizlanishiga va proliferatsiyasiga olib keladi. Ti- plazmida o‘simliklardagi yangi genlarni tabiiy vektori (tashuvchisi) bo‘lib xizmat qiladi. Agrobakteriyalar tomonidan induksiya qilingan shish hujayralar tomonidan auksin va sitokininlarni sintez bo‘lish yo‘li, normal va “moslashgan” hujayralarnikiga qaraganda boshqacharoq. U oddiyroq va qisqa. Mutagenlar yordamida t-DNK molekulasida gormonal faollikni o‘zgarishini nazorat qilib turuvchi qismni (qismni) aniqlash mumkin bo‘ldi. Shishni o‘sishi uchun bitta lokus emas, balki bir qator genlar javobgar ekanligi aniqlandi.

t-DNK auksin va sitokininlardan tashqari tabiatda uchramaydigan yangi sinf aminokislotalar galli (opinlar) sintezini boshqarishi ham aniqlandi. Bu moddalar shish paydo bo‘lishiga sabab bo‘laolmaydilar, 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 induksiyasi 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. Opinlar agrobakteriyalar uchun oziqa modda hisoblanadilar, ammo shish to‘qimalar opinlarni steril sharoitda, agrobakteriyalar bo‘lmagan sharoitda ham sintez qilaveradi. Opinlarni uch tipi ma’lum: nopalin, aktopin va agropin. Agrobakteriyalarni bir shtammi oktopin sintez qiluvchi shishlarni induksiya qilsa, boshqa shtammi nopalin sintez qiluvchisini induksiya qiladi. Shunday qilib, agrobakteriyalar yordamida induksiya bo‘luvchi “moslashgan” va shish to‘qimalarni birinchi umumiy xususiyati, gormon sintez qilish bilan bog‘liq bo‘lgan gormonga muhtojsizlikdir. 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 bog‘liq bo‘lsa kerak deb taxmin qilinadi, ammo u mutatsiya bilan aloqador bo‘lishi ham mumkin.

Ikkinchi umumiy xususiyat, birinchisidan kelib chiqib, agrobakteriyalar bilan induksiya qilingan “moslashgan” va shish hujayralarni fertil o‘simlikni regeneratsiya qilish qobiliyatini yo‘qotishidir. Galli shishlar ko‘pchilik holatlarda sog‘lom o‘simlik hosil qilaolmaydi. Ba’zida ular teratomlar (xunuk, organlarga o‘xshagan tuzilmalar) hosil qiladi va normal rivojlana olmaydi. “Moslashgan” to‘qimalar ham odatda normal o‘simlikga aylanaolmaydi, ularni hujayralari ikkilamchi differensiatsiyaga va morfogenezga bo‘lgan qobiliyatlarini yo‘qotadi. Ammo, ba’zida, oziqa muhiti 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.

**Hujayra suspenziyalari kulturasi**. Kallusni suyuq oziqa muhitiga o‘tkazib, avtomatik ravishda aralashtirish orqali hujayra suspenziyasi olish mumkin. Fermentlar yordamida, masalan, pektinaza fermenti yordamida to‘g‘ridan-to‘g‘ri eksplant to‘qimalardan (barg, poya, ildiz) 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. Hujayra 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. Suspenzion hujayralarni bo‘linishi auksinlar va sitokininlar, ya’ni kallus hujayralarni o‘sishi va induksiyasi uchun zarur bo‘lgan gormonlar yordamida himoya qilib turiladi. Shunday qilib, suspenziyali hujayralar kallus hujayralarni o‘zginasi bo‘lib, ularda bunday hujayralarga xos bo‘lgan barcha xususiyatlar namoyon bo‘ladi. Suspenziya 2,4-D saqlagan muhitda hosil bo‘ladigan po‘kak hujayradan yaxshiroq hosil bo‘ladi. Muhit tarkibidan kalsiy olib tashlansa, suspenziya hosil bo‘lishi yengillashadi. Oziqaga pektinaza fermenti aralashtirilsa (bu ferment oziqa tarkibidagi alohida hujayralarni birbiriga bog‘lab turuvchi pekrat kalsiyni parchalaydi) suspenziya yanada yengilroq hosil bo‘ladi.

Biotexnologiyada hujayra suspenziyasidan ikkilamchi metabolitlar olish maqsadida foydalaniladi. Ikkilamchi metabolitlarni ko‘pchiligi dorivor moddalar hisoblanadi va hujayra biomassasini sanoat miqyosida ko‘paytirish hamda hujayra seleksiyasida keng ishlatiladi. Bundan tashqari hujayra suspenziyasidan alohida protoplastlar olish uchun ham foydalaniladi. Suspenzion kulturalardan ikkilamchi metabolitlar produsenti sifatida foydalanilganda, davriy yoki oqava usulida ochiq yoki yopiq tizimda hujayralarni 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 muhiti almashtirilganda (domiy

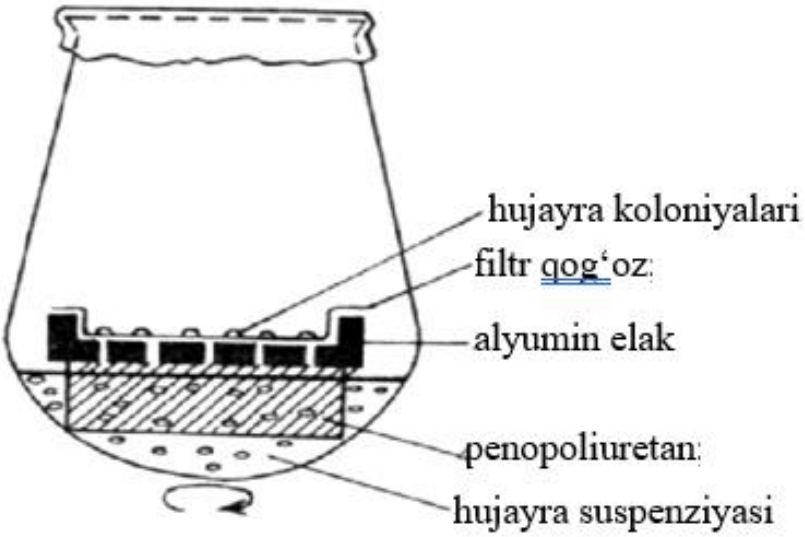
yoki davriy rejimda) suspenzion hujayrani bir qismi muhit bilan birga o‘tadi. Suspenzion hujayralar bilan ishlaganda ularni tavsifini bilish shart: tirikligi, hujayralarni suspenzion kulturada ko‘p yoki kamligi, agregatsiya darajasi, o‘sish tezligi.

Hujayralarni tirik yoki tirik emasligi ularni bo‘yash (metilen yoki Evans ko‘ki) orqali aniqlanadi. Tirik hujayralarni hujayra membranasi bo‘yoqni o‘tkazmasligi sababli bo‘yalmaydi. O‘lik hujayra qobig‘idan bo‘yoq tez o‘tadi va shuning uchun ham ko‘k rangga bo‘yaladi. Hujayra suspenziyasini asosiy ko‘rsatkichlaridan biri, hujayra populyatsiyasini qalinligidir. Hujayra soni Fuks–Rozental hisob kamerasida mikroskop ostida matseratsiyadan keyin (hujayralarni ajratilgandan keyin) aniqlanadi. Matseratsiya qiluvchi modda sifatida xrom kislotasining 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 chizig‘iga ega. Odatda, passajni davomiyligi 14-16 kundan iborat. Bunda, suspeziya tarkibidagi hujayralar soni 1 ml da $5x10^4$ dan $5x10^6$ hujayragacha oshadi. Hujayra sonini ko‘payishi, ularni quruq va ho‘l massasi-suspenzion kulturani asosiy o‘sish kriteriyasini tashkil etadi. Suspenziyani sifati, hujayralarni agregatsiya darajasiga bog‘liq. Agregatlar 10-12 hujayradan ko‘p bo‘lmasligi kerak. Shuning uchun ham yirikroq agregatlardan qutulish maqsadida suspenziyani doka, naylon yoki metal filtrdan o‘tkaziladi. Bu operatsiya bir vaqtni o‘zida eksplantlar qoldig‘idan yoki kallus to‘qimalarni bo‘lakchalaridan qutulish imkonini beradi.

Ikkilamchi sintez mahsulotlarini sanoat sharoitida olish uchun katta hajmdagi (20 $m^3$ 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. Hujayra suspenziyasida qimmatbaho ikkilamchi metabolitlardan tashqari yangi ajoyib birikmalar: komptotetsin, xirringtonin kabi antikanserogenlar, har xil peptidlar (proteaza fermenti ingibitori, fitoviruslar ingibitorlari) va boshqa birikmalar sintez bo‘lishi ham kuzatilgan. Shuni alohida ta’kidlash lozimki, hujayralarni bo‘linishi oqibatida hujayra biomassasini ko‘payishi va ikkilamchi metabolitlarni sintez bo‘lishi har xil vaqtga to‘g‘ri keladi. Ikkilamchi metabolitlar sintez bo‘lishini maksimumi, o‘sishni statsionar fazasiga to‘g‘ri keladi.

**Yagona hujayralar kulturasi**. Genetik va fiziologik izlanishlar hamda hujayra seleksiyasi 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 to‘qimalarda 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 izlanuvchilarning 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 qobig‘i paydo bo‘lganidan keyin ajratib olinadi. Bir hujayrali fraksiya olish uchun ba’zida suspenzion kulturani kolbada 15-30 minut tindirib qo‘yish kifoya bo‘ladi. Bunda yirik agregatlar cho‘kmaga tushadi, ustki suyuqlikda esa faqat bir hujayrali kultura yoki kichik agregatlar bo‘ladi. Agar bu yo‘l bilan bir hujayrali fraksiya olish imkoniyati bo‘lmasa, fermentlar yordamida matseratsiya qilish, saxaroza gradientida sentrifuga 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 tadbiq qilgan edi. Bu usulda “enaga” funksiyasini bir qism kallusli to‘qima bajaradi va u alohida hujayrani bo‘linishiga majbur qiladi hamda uni alohida hujayradan filtr qog‘ozi yordamida 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 qulay. Yagona hujayralarni bo‘linishini kuchaytirish uchun “oziqlanadigan qavat”dan foydalanish mumkin (43-rasm).




**43-rasm.** Makkajo‘xorining yagona hujayralari va ajratilgan protoplastlarini o‘stirishda “enaga” sifatida suspenzion hujayralar kulturasini ishlatilishi

Hujayrani bo‘linishini muhitni konditsiya (me’yoriga yetkazish) ham tezlatadi, buning uchun muhitga tez bo‘linadigan hujayra kulturasi uchun tanlangan oziqa

qo‘shiladi. Muhitni me’yoriga yetkazuvchi faktor hujayra suspenziyasining o‘sish davrining eksponensial 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.

Hozircha bu faktorni ta’sir mexanizmi va uni kimyoviy tabiati aniq emas. Ammo, bu faktor issiqqa chidamli, suvda eruvchan, past molekulali modda, hamda uni fitogormonlar bilan almashtirib bo‘lmasligini aytish mumkin. Shuningdek, bu modda taxminan 700 Dalton molekulyar og‘irligiga ega bo‘lgan, pH 4-11 da mu’tadil modda ekanligi ham aniqlangan. Shunday qilib, bu modda toza kimyoviy modda bo‘lmasdan, hujayradan ajraladigan faktorlar yig‘indisi bo‘lsa ham ajab emas.

**Kallusli to‘qimalarda morfogenez**. Hujayraning rivojlanishini tabaqasizlangandan keyin o‘tadigan bir necha yo‘li ma’lum.

Birinchi yo‘l – bu butun o‘simlikni qayta regeneratsiyasi, balkim, hujayra, to‘qima, organlar darajasida tabaqalanish.

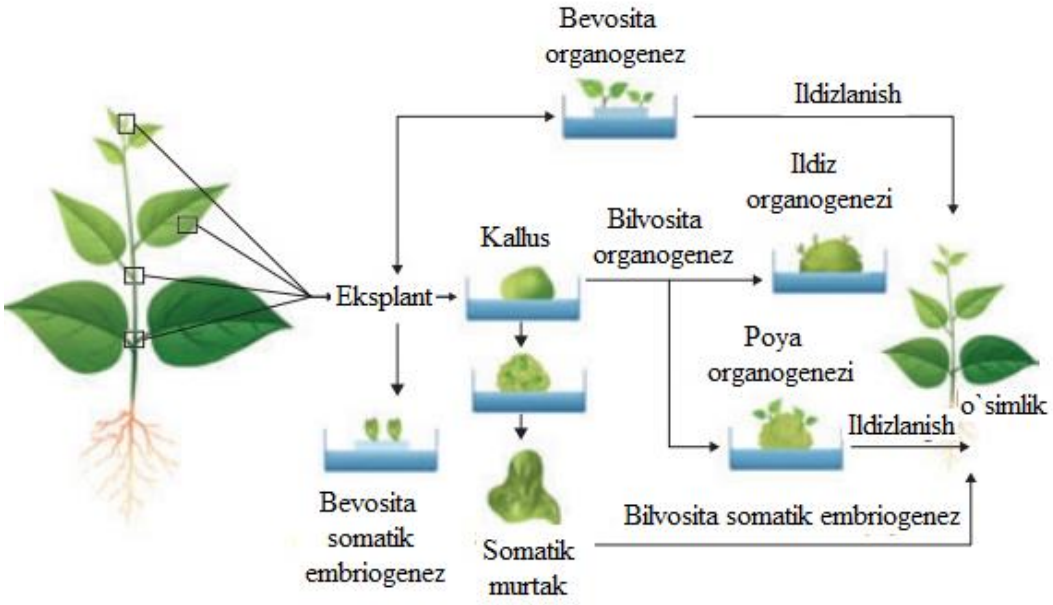
Ikkinchi yo‘l - hujayrani qayta tabaqalanish xususiyatini yo‘qolishi va o‘simlikni regeneratsiyasi, mustahkam tabaqasizlanish, gormonsiz muhitda o‘sish xususiyati, ya’ni shishga aylanish. Bunday xossalar eski (qari) ko‘chat kulturalarga xos.

Uchinchi yo‘l – kallusli hujayrani rivojlanishini qarib, nobud bo‘lishi bilan tugaydigan normal halqasi. Bu holatda hujayra ikkilamchi tabaqalanishga uchraydi va bo‘linishdan to‘xtaydi (o‘sishni statsionar fazasi). Ammo bunday tabaqalanish morfogenezga olib kelmaydi va unda qarigan kallus hujayralari xossalarini mustahkamlaydi.

Qishloq 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, morfogenez deb, hujayralarni tashkil bo‘lmagan massasidan to‘laqonli strukturalar hosil bo‘lishiga aytiladi. Morfogenezni ikki asosiy yo‘li ma’lum (44-rasm).

To‘qimalar kulturasini u organogenez sifatida (monopolyar tuzilishini, ya’ni alohida organlarni hosil bo‘lishi) ko‘rish mumkin: ildiz, poya, kamroq floral (gulli) yoki bargli hamda somatik embriogenez, ko‘rinishida (somatik hujayralardan 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 embriogenez natijasida organogenezdan farqli o‘laroq, ildiz meristemasi hamda tepa qavat meristemalariga ega bo‘lgan kurtak hosil bo‘ladi va undan keyinroq butun o‘simlik o‘sib chiqadi. Alohida olingan somatik hujayralarni 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 potensial imkoniyatlrga ega, demak, hujayra zigotaga xos bo‘lgan rivojlanish dasturiga ega. Shuning uchun 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

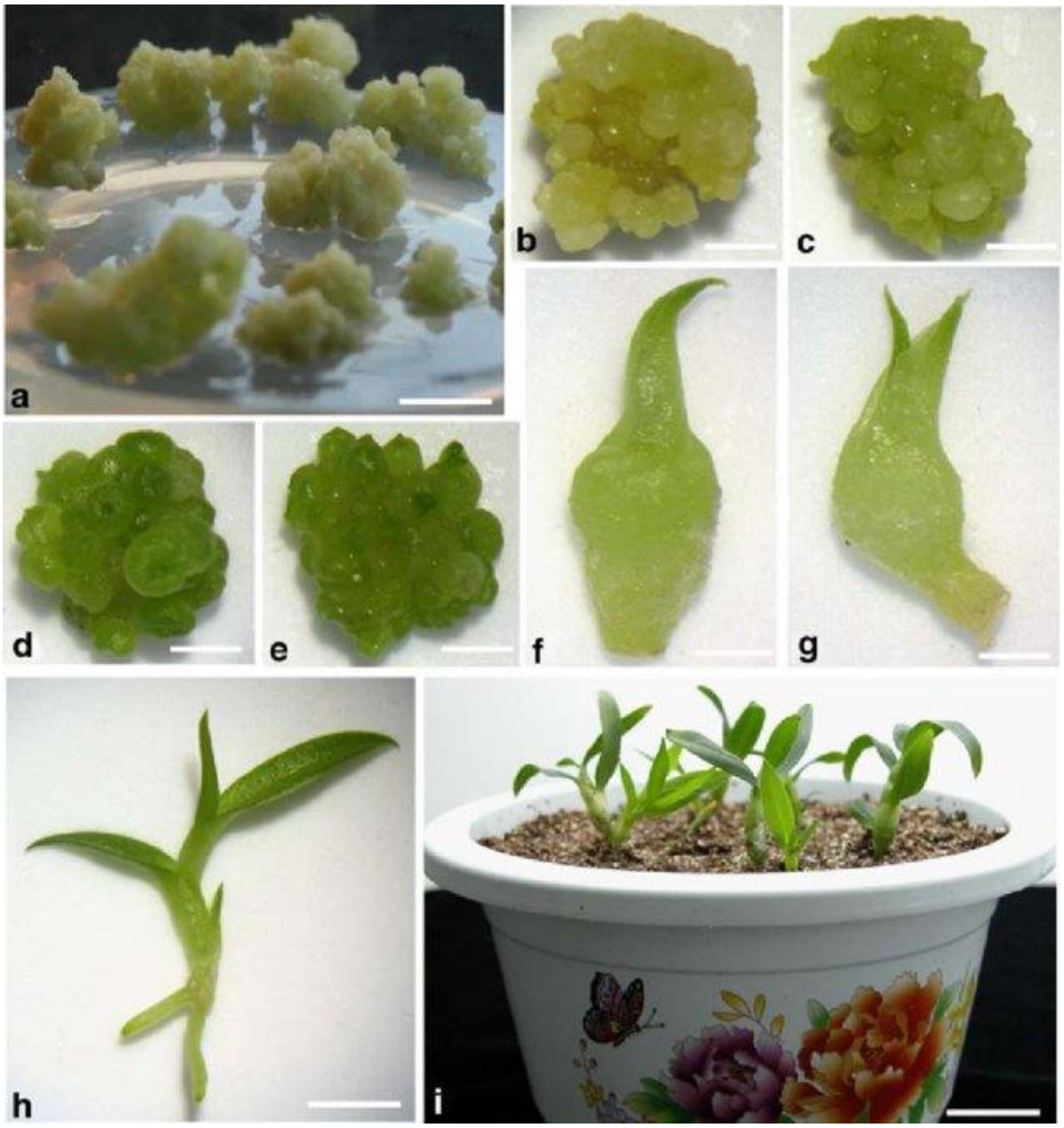
bo‘lavermaydi, chunki har xil tipdagi xujaylarni potensial imkoniyatlari bir xil namoyon bo‘lavermaydi. Ulardan ba’zi birlarida genlar kuchli repressiya holatida bo‘ladilar va shu sababli ham totipotentlikni namoyon bo‘lishi chegaralangan bo‘ladi.




**44-rasm**. Kallus to‘qima kulturasini morfogenez tiplari

O‘simlik hujayralarida totipotentlik g‘oyasi birinchilardan bo‘lib, 1902-yilda G.Xaberlant tomonidan ilgari surilgan bo‘lsada, tajribalar bilan isbotlangan emas edi. “O‘simlikni har qanday hujayrasi yangi organizm paydo bo‘lishiga asos bo‘la oladi, faqatgina o‘simlik organizmi hujayrani rivojlanish potensiyasini bosib qo‘ygan holatdagina bunday bo‘lmasligi mumkin” - degan edi Xaberlant. O‘simlikdan hujayrani alohida ajratib olish mana shu potensiyalarni namoyon bo‘lishiga yordam beradi. Morfogenezni hujayra asosini sitodifferensirovka tashkil qiladi. O‘simlikni regeneratsiyasi hujayrani ikkilamchi tabaqalanishidan boshlanadi. Bunda, tabaqasizlangan hujayra boshqatdan ixtisoslashgan hujayrani strukturasi va funksiyasini egallaydi. Kallusli hujayralarni ikkilamchi differensirovkasi har doim ham o‘simlikni regeneratsiyasi va morfogenez bilan tugallanavermaydi. Ba’zida u faqat to‘qima hosil bo‘lishiga olib keladi, xolos (gistodifferensiya). Shu yo‘l bilan kallusli hujayra floemliyoki ksilemli elementlarga aylanishi mumkin. Ikkilamchi tabaqalanishga boshqa bir misol bo‘lib, tabaqasizlangan faol proferatsiya qiladigan hujayrani – eski (qari) bo‘linmaydigan kallusli hujayraga aylanib qolishi xizmat qilish mumkin (rivojlanishni statsionar fazasi). Barcha ko‘rinishdagi ikkilamchi tabaqalanishdan eng katta qiziqish uyg‘otadigani, 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 hujayrani tabaqalanishi genlarni tabaqalashgan faolligi bilan aniqlanadi. Struktura genlarini faolligini o‘zgarishi ularni derepressiyasi (uyg‘onishi), repressiyasi yoki amplifikatsiyasi (ko‘payishi) bilan bog‘liq. Bu jarayonda fitogormonlar katta rol o‘ynaydilar. Kallusli to‘qimalarni morfogenezini boshqarish mumkin. O‘simliklarni alohida ajratib olingan hujayralarini 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, yorug‘lik (uni intensivligi va fotodavrning uzunligi) kiradi.




**45-rasm**. *D.candidum* kallus to‘qimasida morfogenez: (a) PLB eksplantlaridan kelib chiqqan ixcham, sariq kallus; (b) subkulturali och sariq kallus; (c) yorug‘likda och sariq rangli kallus yashil rangga aylanardi; (d) PLBlarni qayta tiklash; (e) PLBlar cho‘zilgan va ba’zilari protrusion hosil qilgan; (f) kotiledon bilan qayta tiklangan PLBlar; (g) Kotiledon va barglarning birinchi bargi bilan PLBs; (h) ildizli yaxshi rivojlangan o‘simlik; (i) qayta tiklangan o‘simliklar tuvakga ko‘chiriladi.

Morfogenezni eng kuchli induktori – oziqa muhiti tarkibiga kiruvchi sitokinin va auksinlarning o‘zgarishi hisoblanadi. Buni stimul yoki morfogenezning signali deb ham yuritiladi. Auksinga nisbatan sitokininlar miqdori ko‘proq bo‘lganda, poya

organogenezi boshlanadi, teskari bo‘lganda esa (auksin sitokininga nisbatan ko‘proq bo‘lganda) ildiz yaxshiroq rivojlanadi. F.Skug va Ye.Miller, 1957-yilda auksin va sitokinin 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 sitokininlar, 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 differensirovkani boshqarishga olib keladi. Shunday qilib, oziqa muhiti tarkibida:

$$\text{Auksin} > \text{sitokinin} = \text{ildiz} \rightarrow \text{kallusli to‘qima}$$
$$\text{Sitokin} > \text{auksin} = \text{poya} \rightarrow \text{novda} \rightarrow \text{ildiz} \rightarrow \text{o‘simlik}$$

Agar organogenezni auksin yoki sitokininlar yordamida kuchaytirish mumkin bo‘lsa, somatik embriogenez- ekzogen fitogormonlarga umuman bog‘liq 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 boshqa auksinlar) olib tashlangandagina boshlanadi. O‘sayotgan 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 kulturasi morfogenezida qo‘shimcha stimul bo‘lib, oziqa muhiti tarkibiga qo‘shilgan kumush nitrat, ammoniy nitrat, ba’zi-bir aminokislotalar (pronin, tirozin, ba’zida serin), poliaminlar (putressin va spermidin) xizmat qiladilar.

Ba’zi bir holatlarda morfogenez jarayonini manniy va sorbiy ham kuchaytiradi. $NO^-_3$ ionlari kallus to‘qimalarda hosil bo‘lgan tartibli strukturalarni rivojlanishiga ta’sir ko‘rsatadi, ularni induksiyasini esa $NH^+_4$ ioni kuchaytiradi. Gibberil kislotasi poyani o‘sishini kuchaytirsa, abssiz kislotasi somatik kurtaklarni differensiyasini kuchaytiradi. Shunisi qiziqarliki, yuqorida keltirilgan moddalardan ba’zilari, masalan kumush nitrati, eski ko‘chatlarni regeneratsiya xususiyatini uzaytiradi.

Morfogenezni kuchaytiruvchi u yoki bu ta’sir oqibatida kallusli hujayra deatamalangan 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 hujayra unga javob berishga tayyor bo‘lishi kerak. Morfogenezni stimulini qabul qilish qobiliyati hujayrani kompententligi deb ataladi. Olimlarni fikricha hujayrani kompetentligi tasadduf voqeylik, shuning uchun ham juda kam uchraydi. Shu munosabati bilan o‘zini kompetentsizligi tufayli morfogenez stimulini qabul qolaolmaydigan kallusli hujayralar hayoti to‘g‘risida savol tug‘ilishi muqarrar. Ko‘chatlarda bu hujayralar bo‘linishda davom etadi va ko‘proq gormonga muhtojsizlik yo‘liga o‘tib oladi. Ammo, kallus to‘qimalarni hammasi ham o‘zini

rivojlanishini gormonga muhtojsizlik bilan tugatmaydi. Morfogenezni yangi markerlarini izlab topish ishlari davom etmoqda. Meristematik o‘choq hujayralari va embrioidli strukturalar hosil bo‘lishiga bosh bo‘ladigan hujayralar kallusli hujayralardan RNK va DNK sintezini kuchliligi bilan farq qiladi. Bu esa oqsil almashinuvini o‘ziga xosligi bilan bog‘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 bog‘liq. Kallusli kulturalar to‘qimalarini morfogenezga o‘tishi, nafas olish metabolizmini o‘zgarishi bilan olib boriladi. Umuman nafas olish ($SO_2$ bo‘yicha) kuchayadi, ammo uni xarakteri pentozofosfat yo‘lini kuchayishi tomon o‘zgaradi. Nafas olish fermentlarini faolligi oshadi. Biokimyoviy o‘zgarishdan keyin, hujayrani strukturasida reorganizatsiya (qayta tuzilish) boshlanadi. Hujayrani 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. Meristematik uchoqni hujayralarini va globulyar proembrionni sintetik faolligini oshishi, ularni oziqa muhitidagi moddalar intiladigan attragir (oziqa muhitini fitogormonlar miqdori 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 bog‘lanmaydi. Murtaksimon tuzilmalar yoki meristematik o‘choq paydo bo‘lganda, hujayralar oralig‘ida qaytadan plazmodesmalar yordamida bog‘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 morfogenetik faolligi genetik tabiatga ega ekanligini o‘zi, nima uchun ba’zibir hollarda kallusli to‘qimalardan u yoki bu genotiplarni regeneratsiyasini olish mumkin emasligini tushuntirib beradi. in vitro sharoitida morfogenetik faol genotiplarni chatishtirish – regeneratsion imkoniyatlarni oshishiga olib kelishi mumkin.

## 11§. O‘SIMLIKLARNI MIKROKLONAL KO‘PAYTIRISH

Urug‘li o‘simliklar ikki xil yo‘l bilan: urug‘dan va vegetativ yo‘l bilan ko‘payadi. Bu ikkala yo‘lni ustivorligi ham kamchiligi ham bor. Urug‘dan ko‘payishning kamchiligiga eng avvalo, olingan ko‘chatlarni genetik xilma-xilligi va yuvenil (urug‘dan 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 yog‘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 ham vegetativ usulda kerakli samara bilan ko‘payavermaydi (eman, tilog‘och, yong‘oqdoshlar va boshqalar);

ikkinchidan, ko‘pchilik daraxt o‘simliklarni 10-15 yoshdan keyin, qalamcha yordamida ko‘paytirish mumkin emas;

uchinchidan, har doim ham standart ekish materiali olish mumkin emas (yuqumli kasalliklar to‘planishi va o‘tishi mumkin);

to‘rtinchidan, payvand qilish orqali katta yoshli (yog‘ochli) o‘simliklarni ko‘paytirish juda ham qiyin va murakkab;

beshinchidan, yil davomida bir xil genetik materialni olish uchun ishlab chiqilgan texnologiyalar samaradorligining o‘ta pastligidir.

Hujayra va to‘qimalar kulturalari sohasida erishilgan yutuqlar vegetativ ko‘payishni tubdan yangi bo‘lgan usuli klonal mikroko‘paytirish in vitro sharoitida, jinsiy bo‘lmagan yo‘l bilan, o‘simliklarni dastlabki nusxasi bilan genetik bir xil bo‘lgan navini yaratish usulining ishlab chiqilishiga 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 boshqa an’anaviy usullardan ustunlik tomonlari juda ham ko‘p: eng avvalo bu ustunliklar quyidagicha izohlanishi mumkin:

- genetik bir xil ekuv materialining olinishi;
- meristema to‘qimalari kulturalari ishlatilishi hisobiga o‘simliklarni virusli va boshqa yuqumli kasalliklardan holi bo‘lishi;
- ko‘payish koeffitsiyentining yuqoriligi (o‘tchil va gulli o‘simliklar uchun $10^4$-$10^5$; ninabargli o‘simliklar uchun –$10^4$);
- seleksiya davrining qisqarishi;
- o‘simlik rivojlanishshini yuvenil davrdan reproduktiv fazaga o‘tishini tezlashishi;
- an’anaviy yo‘llar bilan qiyin ko‘payadigan o‘simliklarni ko‘paytirish;
- ishni yil davomida tashkil etish imkoniyatlarining mavjudligi va ko‘chat materiallari o‘stirish uchun kerak bo‘lgan maydonni tejash;
- o‘stirish jarayonini avtomatlashtirish imkoniyatlari.

Klonal mikroko‘paytirishni dastlabki muvaffaqiyatlari o‘tgan asrning 50-yillari oxirida fransuz olimi Jorj Morel arxideya o‘simligining regenerantini yaratganda erishilgan edi. Bu muvaffaqiyatga o‘sha vaqtlarda yaratilgan, in vitro sharoitida o‘simliklarni apikal meristemalarini ko‘paytirish texnikasi o‘z hissasini qo‘shgan. Odatda olimlar birlamchi eksplant sifatida o‘tchil o‘simliklarni ustki meristemalaridan foydalanadilar va oziqa muhiti tarkibini o‘simlikni regeneratsiya hamda 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, simbidium (arxideyalar 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 qubbali, yumaloq-prokorimlar paydo bo‘lishini kuzatgan edi. Hosil 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 bog‘liq. K.A.Timiryazev nomidagi o‘simliklar fiziologiyasi institutida bu olima o‘z shogirdlari bilan, kartoshka, qand lavlagi, chinnigul va boshqa gullarni klonal ko‘paytirish sharoitlarini ishlab chiqqan. Mamlakatimizda bu usul ilmiy laboratoriyalarda sinab ko‘rilmoqda.

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 yog‘ochli turlarini, ninabargli va ayniqsa, yo‘qolib ketayotgan o‘simliklar hamda dorivor o‘simliklarni ko‘paytirish maqsadida bu usuldan foydalanish katta samara berishi isbotlangan. Yog‘ochli (daraxtlarni) o‘simliklarni to‘qima kulturasi bo‘yicha birinchi ilmiy ishlar 1920-yillarda chop etilgan bo‘lib, fransuz olimi Gotre nomi bilan bog‘liq. Bu maqolalarda tilog‘och daraxti kambial to‘qimalarini in vitro sharoitida kallusogenezga imkoniyatlari (qobiliyatlari) 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 sharotida 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 bog‘liq.

Ma’lumki, yog‘och 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 yog‘ochli o‘simliklar to‘qimasini regeneratsiya imkoniyatlarini pasayishiga va yoshi ulg‘aygan sari sekinasta, butunlay yo‘qolishiga olib keladi. Ammo, qanchalik qiyin bo‘lishiga qaramasdan olimlar izlanish manbayi sifatida tez-tez yog‘ochli o‘simliklarni to‘qima va organlaridan foydalanib kelmoqdalar. Hozirgi vaqtga kelib, in vitro sharoitida ko‘paytirilgan yog‘ochli o‘simliklar soni 40 oilaga mansub bo‘lgan 250 turdan oshib ketgan (kashtan, dub, qayin, zarang, tog‘ teragi, tolni tog‘ teragi bilan gibridi, sosna, archa).

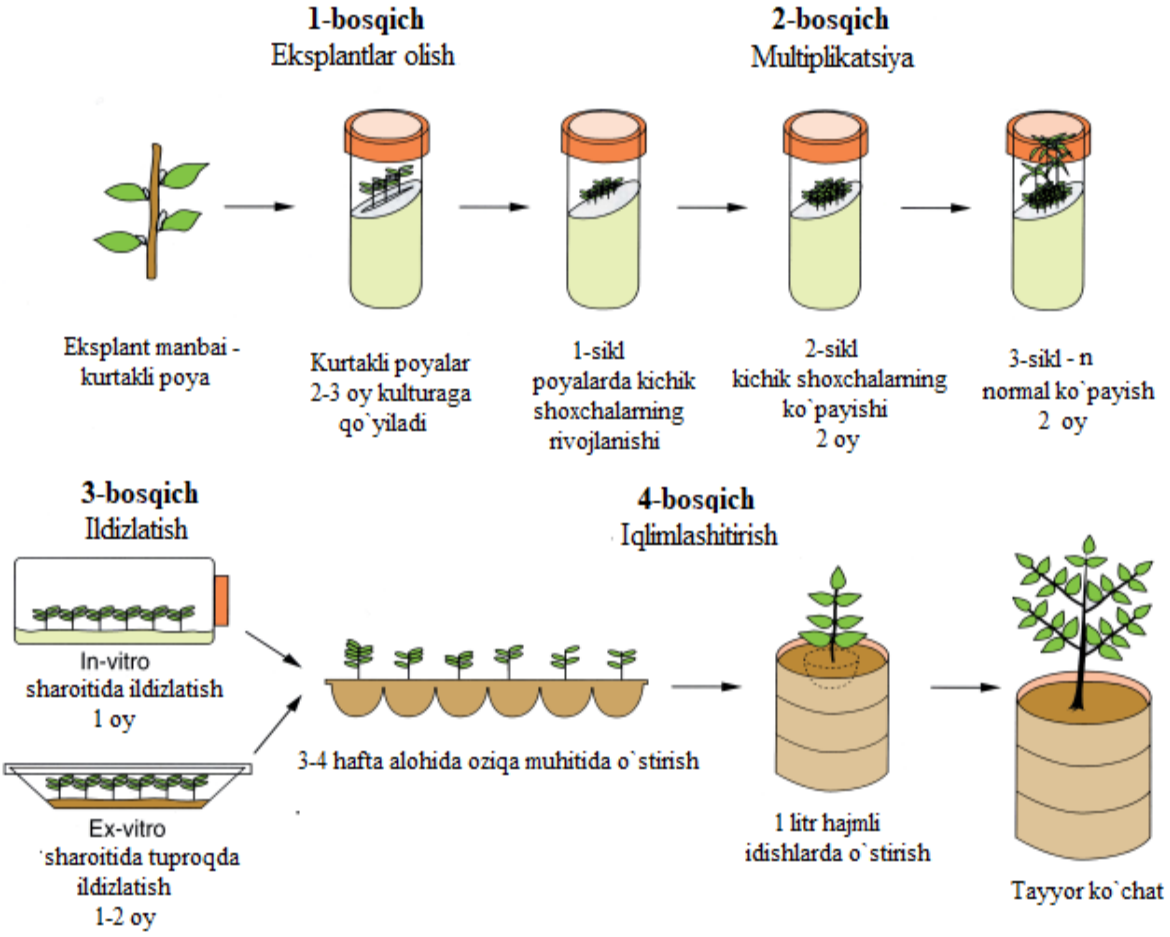
**O‘simliklarni klonal mikroko‘paytirishni usullari va bosqichlari.** Klonal mikroko‘paytirish jarayonini to‘rt bosqichga bo‘lish mumkin:

birinchi – donor o‘simlikni tanlash, eksplantlarni ajratish va yaxshi o‘sadigan steril kultura olish;

ikkinchi – mikroko‘paytirishni o‘zi, meriklonlarni eng ko‘p (maksimal) miqdorini olishga erishilgan davrni va sharoitni tanlash;

uchinchi – ko‘paytirilgan novdani ildiz olishi va ularni tuproq sharoitiga moslashtirish, kerak bo‘lganda regenerant – o‘simliklarni sovuq haroratda (+2°C, +10°C) saqlash;

to‘rtinchi – o‘simlikni issiqxona sharoitida o‘stirish va ularni maydonga chiqarib ekish yoki sotishga tayyorlash.




**46-rasm.** O‘simliklarni mikroklonal ko‘paytirish bosqichlari

Klonal mikroko‘paytirishni ko‘p usullari ma’lum. Ko‘plab mualliflar eksplantlarni o‘stirishga sharoitni morfogenez jarayoniga ta’sirini o‘rgana borib, o‘stirish sharoitini o‘zgarishiga har xil morfogenetik reaksiya bo‘lishini kuzatganlar, bu esa klonal mikroko‘paytirish metodlarini yangi klassifikatsiyasini yaratilishiga olib keldi.

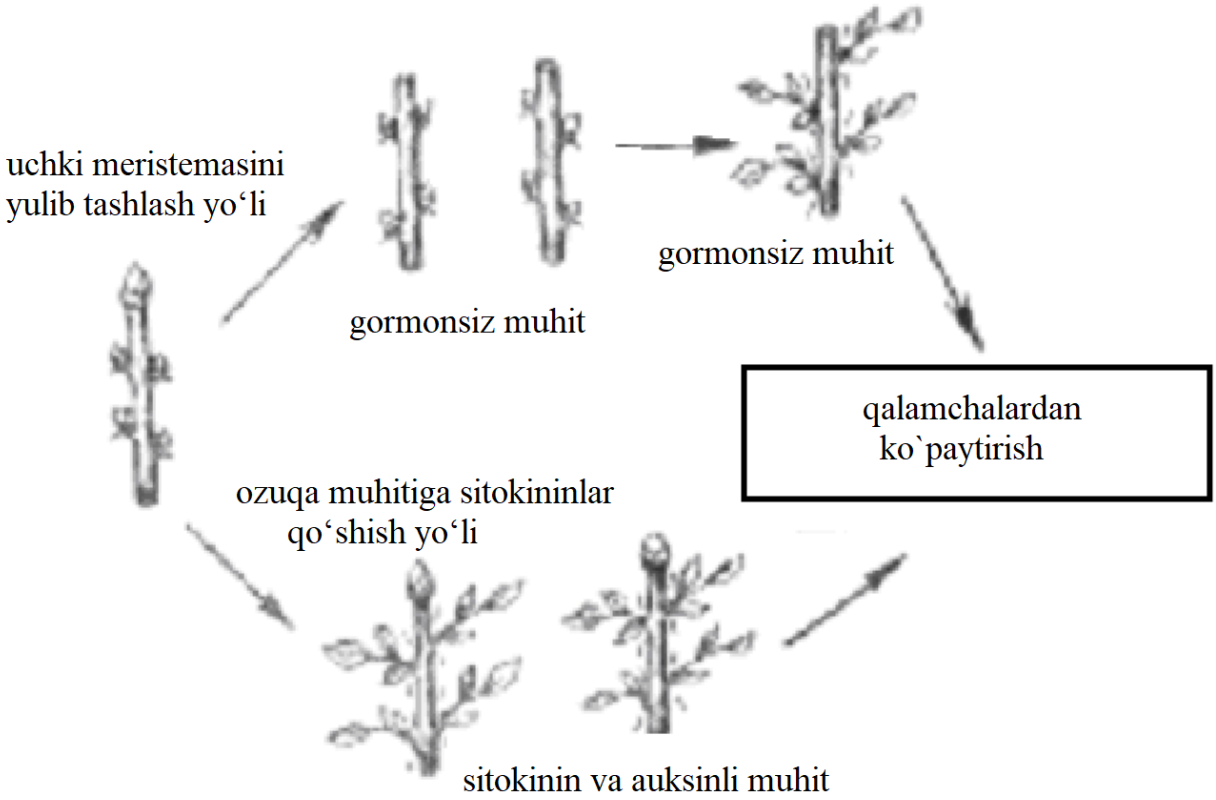
Ilmiy adabiyotlardan ma’lum bo‘lgan, o‘simliklarni mikroko‘paytirish uslublari asosida, bu jarayonni quyidagi yo‘llar bilan amalga oshirish mumkin:

- o‘simlikda bor bo‘lgan meristemalarni rivojlanishini jadallashtirish (poya apeksi, poyani kurtaklari);
- eksplantlar to‘qimalarida to‘g‘ridan - to‘g‘ri adventiv kurtaklar hosil bo‘lishini induksiya qilish;
- somatik embriogenezni induksiya qilish;
- birlamchi va ko‘chat oluvchi kallusli to‘qimalarda adventiv kurtaklarni tabaqalashtirish.

O‘simliklarni mikroklonal ko‘paytirishda ishlatiladigan asosiy usul – bu o‘simliklarda bor bo‘lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish bo‘lib, u apikal ustivorlikni olib tashlashga asoslangan. Bunga ikki yo‘l bilan erishish mumkin:

- poyaning uchki meristemasini olib tashlash va keyin novdani in vitro sharoitida gormon saqlamagan muhitda mikroqalamchalash;
- oziqa muhitiga sitokinin ta’siriga ega bo‘lgan moddalar qo‘shish (novdani o‘sishini kuchaytirish).

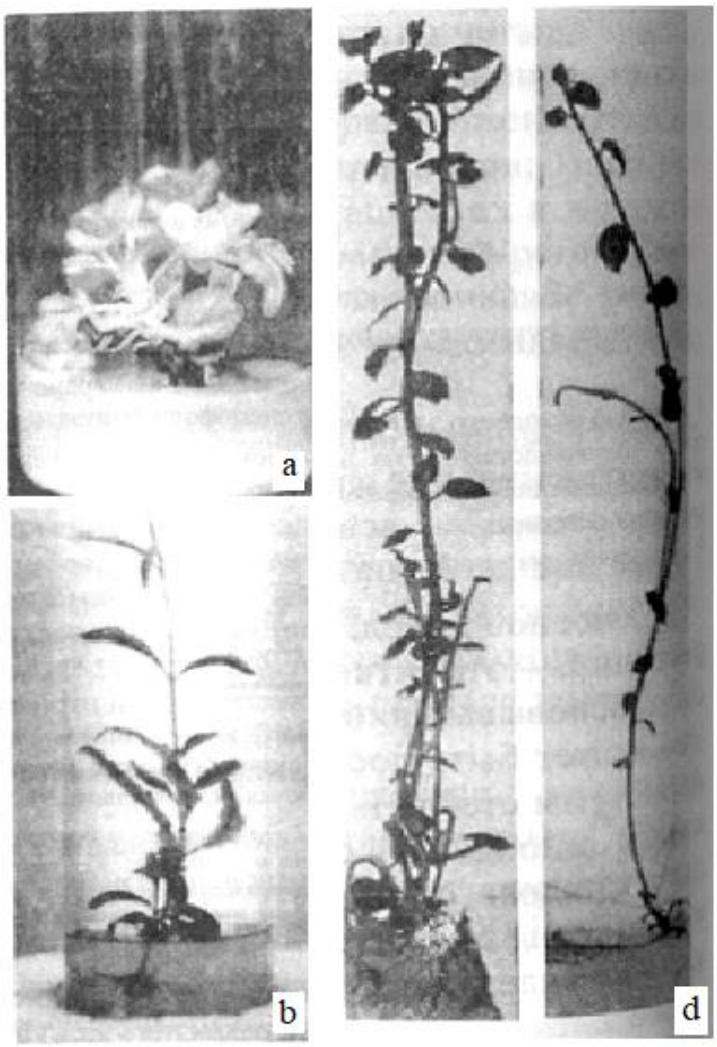
Odatda, sitokinin sifatida – 6–benzilaminopurin (BAP), 6– furfurilaminopurin (kinetin), hamda 2-izopenteniladenin (2ip) va zeatin ishlatiladi.




**47-rasm**. O‘simliklarni meristemalarini faollashtirish usuli bilan ko‘paytirish chizmasi

Shunday yo‘l bilan olingan novdalarni birlamchi ona eksplantidan ajratiladi va qaytadan yangi tayyorlangan oziqa muhitida o‘stiriladi. Hozirgi 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 sog‘lomlashtirilgan ko‘chatlarini tayyorlash yo‘lga qo‘yilgan.



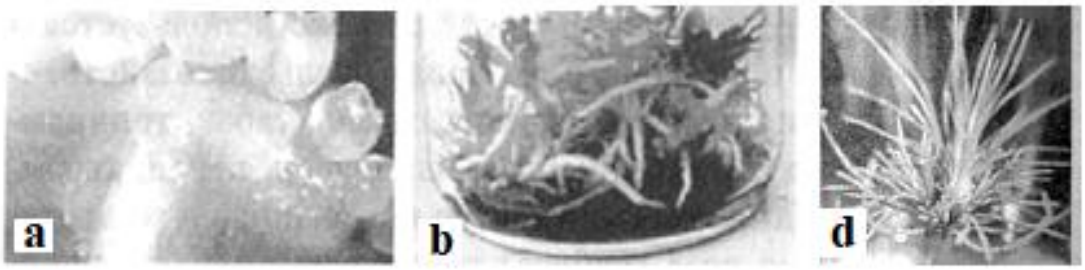

**48-rasm**. O‘simliklarni in vitro sharoitida meristemalarini o‘sishini faollashtirish usuli (a-staxis, b-anor, d-kartoshka)

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 texnologiya probirkada mikro tugunaklar - qimmatbaho virussiz urug‘lik yaratishni o‘z oldiga qo‘ygan.

Ikkinchi usul – Bu eksplant to‘qimalarida to‘g‘ridan-to‘g‘ri 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. Adventiv kurtak hosil qilishni o‘simlikni hohlagan organi va to‘qimasi (ajratib olingan kurtak, barg, poya, urug‘palla, ildizni bir qismi) asosida tashkil etish mumkin.

Ammo, material zaharlanmagan (yuqumli kasalliklardan holi) bo‘lishi shart. Bu jarayon, odatda alohida sitokinin yoki uni auksin bilan aralashmasi (10:1 yoki 100:1) saqlagan oziqa muhitida amalga oshadi. Auksin sifatida ko‘proq β-indolil–3-sirka kislota (ISK) yoki ∝-naftilsirka kislota (NSK) ishlatiladi. Bu mikroko‘paytirishni eng keng tarqalgan usuli bo‘lib, shu usul bilan ildiz mevali gullar (narsissa, liliya, giatsint, gladiolus, lolaqizg‘aldoq); *Brassica* avlodiga mansub o‘simliklar (rangli karam) shuningdek piyoz, sarimsoqpiyoz, pomidor va boshqa bir qator o‘simliklar ko‘paytirilgan.

Yosh va virus bilan kasallanmagan, sog‘lom o‘simlikni yuqori meristemasini 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 xafta o‘tgandan keyin meristema maysaga aylanadi va uni asosida adventiv kurtaklar hosil bo‘la boshlaydi, hamda tez rivojlanib, yangi kurtak soladilar. 6-8 hafta mobaynida kurtaklarni tartibsiz yig‘indisi (konglamerati) hosil bo‘ladi. Bu kurtaklar rivojlanishni har xil bosqichida bo‘lib, birbirlari bilan bog‘lovchi to‘qimalar orqali bog‘langan bo‘ladi. Kalta qalamchalardan barglar paydo bo‘ladi, ularni tagida esa yangi adventiv kurtaklar chiqa boshlaydi.



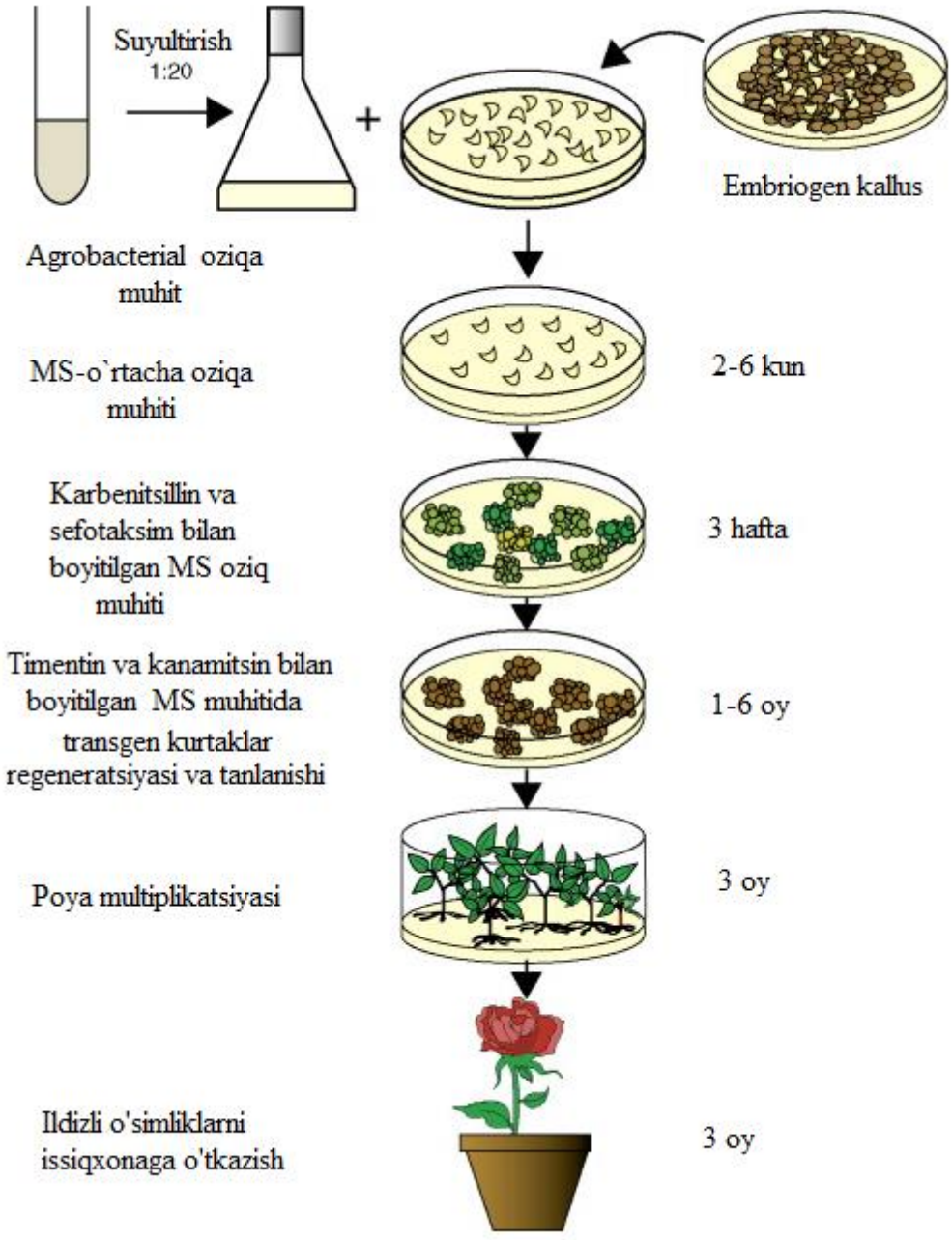

**49-rasm**. O‘simliklarni adventiv kurtaklarni induksiya qilish orqali ko‘paytirish (a-bug‘doy, b-arxediya, d-sosna)

Mana shu kurtaklarni ajratib olib, yangi oziqa muhitiga ekiladi. Sitokinin 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 meristemani tabaqalanishida qaysi bir hujayra qavati ishtirok etishi qiziqtiradi. Hozircha 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 meristematik hujayralarni yuqori qatlamidan paydo bo‘lishi ham ko‘rsatib o‘tilgan. Sosna daraxti misolida adventiv kurtakni

urug‘pallasini va subepidermal qavatlarida paydo bo‘lishi kuzatilgan va bu jarayon sosna uchun ishlatiladigan sitokininlarga bog‘liq emasligi ko‘rsatib o‘tilgan.

Klonal mikroko‘paytirishda qo‘llaniladigan uchinchi usul somatik hujayralardan, tashqi ko‘rinishi zigotali kurtakchaga o‘xshagan kurtaksimon strukturani tabaqalanishiga (differensiatsiya) 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 vaqtni o‘zida poya va ildizni apikal meristemalarini rivojlanishi kuzatiladigan ikki polyarli tuzumani eslatadilar.




**50-rasm**. O‘simliklarni somatik embriogenez orqali ko‘paytirish chizmasi

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, boshoqlilarni ba’zi birlarini (bug‘doy, arpa) beda, redis, tok va ba’zi daraxtlar kabi ko‘plab o‘simliklarni ko‘paytirish uchun ishlatilib kelinmoqda.

To‘qima kulturasida embrioidlarni paydo bo‘lishi ikki bosqichda amalga oshadi:

- Birinchi bosqichda hujayra eksplantlari oziqa muhiti tarkibiga solingan auksinlar, eng avvalo 2,4 – dixlorfenoksirka kislotasi (2,4 -D) hisobidan embrionalga aylanadi.
- Ikkinchi bosqichda hosil bo‘lgan hujayralarni embrioidlargacha rivojlanishiga majbur qilish kerak bu esa, oziqa muhit tarkibidagi auksinlarni miqdorini kamaytirish yoki ularni butunlay chiqarib tashlash orqali amalga oshiriladi.

Somatik embriogenezni to‘g‘ridan–to‘g‘ri birlamchi eksplantlar to‘qimalarida, hamda kallusli kulturalarda kuzatish 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 turg‘un (mustahkam) bo‘lmaydi. Ko‘pincha, kallusli hujayralarni suyuq oziqa muhitida o‘stirilganda, somatik embriogenez kelib chiqadi va eng qiyin operatsiyalardan hisoblanadi. Bunga sabab, har doim ham hujayralarga xos bo‘lgan totipotentlik amalga oshavermaydi.

# 2-BO‘LIM. AMALIY BIOTEXNOLOGIYA

## VI bob. QISHLOQ XO‘JALIK BIOTEXNOLOGIYASI

### 12§. TUPROQ MIKROBBIOTEXNOLOGIYASI

Tuproq hosildorligini tashkil etish va boshqarishda biologik omillarni rolini birinchilardan bo‘lib, tuproqshunoslik fanining asoschilari V.V.Dokuchayev, P.A.Kostichev va V.R.Vilyamsonlar baholab berganlar. Ular tuproq hayotida biologik birikmalarni roli juda ham katta ekanligini isbotlab berdilar. Bu g‘oya keyinroq S.N.Vinogradskiy, Ye.N.Mishustin, M.M.Kononova, D.G.Zvyaginsev, V.T.Yemsev, D.I.Nikitin va boshqa olimlarni izlanishlarida o‘z rivojini topdi. Ayniqsa Ye.N.Mishustin, D.G.Zvyaginsev, V.T.Yemsev va boshqalar tuproq hosildorligida mikroorganizmlarni roli beqiyos ekanligini isbotlab berdilar va shu tufayli mikrobbiokimyo asoslari tiklana boshlandi. Hozirgi vaqtda mikroorganizmlar o‘zlarining faoliyati va massasi bilan tuproq hosildorligini belgilashda asosiy rol o‘ynashi aniq bo‘lib qoldi. Shunday ekan, har xil qishloq xo‘jaligi tizimida tuproq hosildorligini oshirish va uni saqlab turish, bu jarayonni boshqarish ko‘p ma’noda, tuproqda mikrobiologik jarayonlarni boshqarish bilan uzviy bog‘liq.

Qishloq xo‘jalik ekinlaridan unumli hosil olish jarayonini va tuproqda mikrobbiokimyoviy jarayonlarni boshqarish qishloq xo‘jalik fanida yangi yo‘nalish - tuproq mikrobbiotexnologiyasini paydo bo‘lishiga olib keldi. Bu yo‘nalish tuproq sharoitida mikroorganizmlar tarkibini o‘rganish va boshqarish muammolariga asoslangan bo‘lib, mikroorganizmlar faoliyatini boshqarish hamda ular tomonidan olib borilayotgan metabolitik reaksiyalarni, qishloq xo‘jalik ekinlari hosildorligini oshirishga yo‘naltirishni taqozo etadi. Tuproq mikrobbiotexnologiyasi fanining asosiy muammosi tuproqda, ayniqsa o‘simliklar rizosferasida o‘tadigan mikrobiologik jarayonlarni boshqarishdir. Bu muammo, faqatgina ma’lum bir belgilangan sharoitda, ma’lum tarkibga ega bo‘lgan mikroblar assotsiatsiyasini tashkil qilish bilan belgilanadi.

Bu muammolarni yechishni aniq yo‘llari belgilab olingan. U ham bo‘lsa quyidagilar bilan belgilanadi:

- agronomik ahamiyatli mikrob senoziga yoki mikroorganizmlar guruhiga tashqaridan turib ta’sir qilishni boshqarish, ya’ni ularni ko‘payishi, o‘sishi, rivojlanishi va o‘simlik uchun zarur bo‘lgan fiziologik faol moddalar (antibiotiklar, fitogormonlar va o‘simlikni o‘sishini boshqaruvchi boshqa moddalar) ishlab chiqarishini tashkil qila bilish;
- tuproqda mikroblarni o‘sishi va rivojlanishini ta’minlovchi o‘simliklar ishtirokida almashlab ekishni tashkil qilish va shu tufayli mikrobbiokimyoviy jarayonlarni boshqarish;
- tuproqda mikrobbiokimyoviy jarayonlarni boshqarishda organik va mineral o‘g‘itlardan oqilona foydalanish;
- tuproq miroorganizmlarini azot yutish va fosforli birikmalarni eritish qobiliyatidan oqilona foydalanish;
- mikrobiologik jarayonlarni to‘laqonli o‘tishi uchun har xil turdagi tuproq melioratsiyasidan foydalanish.

Tabiatda sodir bo‘ladigan bir qator muhim voqealar - biogeotsenoz, tuproqdagi organik moddalarni minerallashtirish, ularni hayotiy zarur biologik (modda almashinuvi) jarayonlarda ishtirokini belgilash, mikrobsenozi (ma’lum sharoitdagi mikroorganizmlarni tarkibi va faolligi) bilan belgilanadi. Tuproq mikroflorasini aniqlashda, ularni tarkibi va o‘ziga xosligini belgilashda, antropogen ta’sirlar sharoitida o‘zgarishi va boshqa bir qator sharoitlarda mikrobni tuzilishi va faolligi (funksiyasi) asosiy belgilovchi omil bo‘lib xizmat qiladi. Mikroorganizmlarni soni va sifatini mikroskop ostida, dinamikada tahlil qilinganda ularni doimiy emasligi va vaqti-vaqti bilan o‘zgarib turishi isbotlangan. Mikrob massasini tez o‘zgaruvchanlik davri, mo‘tadillashib (stabilizatsiya) borishi bilan almashib turadi. Boshqacha qilib aytganda bir vaqtda mikrob massasi tez o‘zgaradi, ba’zan esa o‘zgarmasdan turadi. Tuproqning mikrobsenozi - bu biosferaning o‘ziga xos reaktiv komponentidir. Uning yuqori reaktivligi fiziologik xilma-xilligi, o‘sish tezligi, polifunksionalligi, oqibat natijada esa modda almashinuvi, mineralizatsiyalanishi jarayonidagi beqiyos ishtiroki bilan belgilanadi.

Mikrobsenoz - mikroblar klassifikatsiyasining katta bir bo‘lagi sifatida bir xil sharoitda yashab turgan mikroorganizmlar to‘dasidir. Mikroorganizmlar uchun o‘ta zarur sharoitlar: mikroiqlim, suv rejimi, tuproqning geologik tuzilishi va oziqa moddalari hisoblanadi. Shu va boshqa omillar hisobidan mikrob senozi ma’lum biotsenozdagi organik va mineral moddalar transformatsiyasida hamda biologik va nobiologik moddalarni biosferada o‘zaro ta’sirida ishtirok etadi. Qisqa qilib aytganda - mikroorganizmlar doimiy ravishda tashqi muhitga ta’sir qiladigan va uning ta’siri ostida bo‘ladigan tirik organizmlardir.

Tuproq mikrobsenozi xilma-xildir. Ye.N.Mishustin ularni zimogen, avtoxton, oligotrof, avtotrof guruhlarga bo‘lib o‘rganishni tavsiya qiladi. Bu guruhlar o‘rtasidagi aloqadorlik doimiy o‘zgarib turadi va ko‘p ma’noda tuproqqa bo‘lgan ta’sir bilan belgilanadi. D.N.Nikitin ekotizimda oligotrof mikroorganizmlarni roli katta ekanligini, ular tabiatda tarqalgan energiyani to‘plash qobiliyatiga ega ekanligini e’tirof etadi. Oxirgi yillarda tuproqdagi mikrob biomassasi haqida ko‘proq fikrlar yoritiladigan bo‘lib qoldi. Bunga bir necha sabablar bor, albatta. D.G.Zvyaginsev mikrob massasi va uni “aylanish” tezligi, tuproq xususiyatiga bog‘liq (pH, namlik, harorat, aeratsiyaga) deb hisoblaydi. T.V.Tarvis tuproqda mikrob massasi to‘planganda mikrob bilan o‘simlik orasida oziqa muhiti uchun raqobat ketadi degan fikrni ilgari suradi. Mikrob biomassasini tez to‘planishi, ularni energetik materiallar bilan ta’minlanganligiga bog‘liq bo‘lib, tuproq unumdorligidan xabar beradi. Azot o‘zlashtiruvchi mikroorganizmlarni tarkibi, ularni energetik resurslari, fiziologik faolligi, mikrob massasining miqdori, mineralizatsiya jarayoni va tuproq unumdorligi ko‘rsatkichi haqida ma’lumot beradi.

Mikrob massasini to‘planishi va parchalanishi, tuproqdagi azot miqdorini o‘zgarishiga va o‘simlikni oziqlanish sharoitiga to‘g‘ridan-to‘g‘ri ta’sir etib, tuproq unumdorligini oshishiga xizmat qiladi. Tuproqni fermentativ faolligi, ya’ni tuproqda yashovchi tirik organizmlarni fermentlarini o‘ziga sorbsiya qilish xususiyati ham diqqatga sazovordir. Tuproqda bog‘langan (immobilizatsiya qilingan) fermentlar

faolligi ular uchun diagnostik ko‘rsatkich bo‘lib xizmat qiladi. Tuproqda fermentlarni uchrashi va faollik ko‘rsatishi, tuproqni biologik faolligi va unumdorligidan xabar beradi.

Mikrobsenoz - o‘z-o‘zini boshqaruvchi biologik tizimdir. Bu tizimni mo‘tadil faollik ko‘rsatishi har xil guruhga mansub mikroorganizmlarni rivojlanishiga bog‘liq bo‘ladi. Shu o‘rinda, tuproq doimiy ravishda tashqi muhit ta’siriga tabiiy va antropogen ta’sirga uchrab turishi, bu esa uning tarkibiy qismi bo‘lmish mikroorganizmlarga ham ta’sir ko‘rsatishini esda tutmoq lozim. Yangi ekologik tizimda mikroorganizmlar faolligi o‘zgarib, uning imkoniyatlari tizimning dinamik rivoji uchun yetarli bo‘lmay qolishi mumkin. Bunday sharoitda, tuproqdagi mikrob-biokimyoviy jarayonlarni mo‘tadillashtirish uchun ularni yo‘nalishlarini o‘zgartirish lozim bo‘ladi. Bunday imkoniyatlar, mikroblar tizimining ichki imkoniyatlarini chuqur tahlil qilish, ularni funksional xilma-xilligini o‘rganish, geterotrof mikroorganizmlarni faolligini chuqur o‘rganish orqali minerallanish va gumus moddalari hosil qilish jarayonlarini tahlil etish kabi bir qator biokimyoviy jarayonlarni o‘rganish orqaligina amalga oshiriladi. Faqatgina, tuproqdagi mikroorganizmlar guruhlarini, ularni faolligini o‘zgartirish orqaligina tuproq unumdorligini va o‘simlik hosildorligini oshirish mumkin. Mikrob guruhlari faoliyatini boshqarish tuproq mikrobbiotexnologiyasining asosini, uning mazmun va mohiyatini tashkil qiladi.

**Tuproqdagi mikrobsenozlarni faoliyatini boshqarishda organik va mineral o‘g‘itlar hamda almashlab ekishning ahamiyati**. Tuproqdagi mikrobbiokimyoviy jarayonlarni faolligini va tuproq unumdorligini oshirishning asosiy yo‘llaridan biri organik va mineral o‘g‘itlardan foydalanish, nordon tuproqlarni ohaklantirish va almashlab ekishni to‘g‘ri yo‘lga qo‘yishdir. O‘g‘itlar ta’sirida tuproq mikroflorasini hayotiy rejimi o‘zgarib boradi. Dastlab o‘g‘itlangan tuproqda mikrobiologik jarayonlar tezlashib boradi. Asosiy fiziologik guruh mikroblar bilan birga nitrifikatsiya va sellyuloza parchalovchi mikroorganizmlar faolligi oshib boradi. Bu esa tuproqda aminokislotalar, fermentlar faolligini oshishiga olib keladi. Uzoq vaqt, surunkasiga mineral o‘g‘itlardan foydalangan tuproqlarda mikrobiologik jarayonlar susayib boraveradi. Ko‘p yillik kuzatuvlar natijasida go‘ng va mineral o‘g‘itlardan barobar foydalanganda tuproqdagi mikrobiologik jarayonlar uzoq vaqt oshib borgani kuzatilgan. Mineral o‘g‘itlarni yuqori me’yori tuproqdagi ba’zi-bir fiziologik guruh mikroorganizmlarni, xususan, aerob azot o‘zlashtiruvchi va anaerob sulfatreduksiya qiluvchi guruhlarni faoliyati susayib ketishiga olib keladi. Organik o‘g‘itlardan alohida va mineral o‘g‘itlar bilan birga uzoq muddatda ishlatish natijasida L.A.Karyagina shunday xulosaga keladi: “mineral o‘g‘itlarni tuproq mikroflorasiga ta’siri bir qator omillarga, xususan, o‘simlik vegetatsiya davrining ob-havosiga ham bog‘liq bo‘ladi”. Shunday bo‘lishiga qaramasdan, mineral o‘g‘itlarga nisbatan organik o‘g‘itlar tuproq mikroflorasi va uning faoliyatiga ko‘proq ta’sir qiladi. Ammonifikatsiya va nitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalar sonini oshishi, torf-go‘ng va NPK (azot, fosfor, kaliy) birgalikda ishlatilganda kuzatilgan. O‘zbekiston sharoitida ham, tuproq turlariga qarab, mahalliy o‘g‘it va NPK birgalikda ishlatilsa hamda nordon tuproqlar o‘z vaqtida ohaklantirilsa maqsadga muvofiq bo‘lar edi.

Bunday sharoitda tuproqda aktinomitsetlar soni oshib boradi. O‘g‘itlar ta’sirida sellyuloza parchalovchi mikroorganizmlar, shu jumladan, mikromitsetlar soni o‘zgarib borishi kuzatilgan. O‘simliklarni oziqlanish rejimini me’yoriga keltirish (organik va mineral o‘g‘itlar kompleksidan me’yorida foydalanish) tuproqdagi mikroorganizmlar faolligi, ularni azotni organik birikmalarini minerallashtirish faoliyati bilan muhofaza qilib turiladi. Mikrobiologik jarayonlarni boshqarish imkoniyati faqatgina organomineral o‘g‘itlar tizimidan to‘g‘ri foydalanish orqaligina amalga oshiriladi. Tuproqqa bunday ta’sir, mikroblar faolligini oshishiga, xususan, o‘simlik ildiz tizimida mikroblar faoliyatini oshishiga olib keladi. Bu holda, mikrob massasi oshadi, oligotrof mikroorganizmlar faolligi, umuman tuproq faolligi oshadi. Tuproq biodinamikasida kuzatiladigan o‘zgarishlar, biokimyoviy jarayonlarni kuchayishiga, organik moddalarni parchalanishiga, umuman esa tuproq unumdorligini oshishiga olib keladi.

Surunkasiga bir o‘simlikni ekish tuproq mikroflorasini o‘zgarishiga olib keladi. Bunday sharoitda mikromitsetlar, aktinomitsetlar, spora hosil qiluvchi bakteriyalar soni ko‘payib, faol mikroorganizmlar, xususan, azotfiksatorlar kamayib ketadi. Monokultura hokimligidagi tuproqlarda proteaza, amilaza, pektinaza, sellyulaza, oksidlanish-qaytarilish reaksiyasini olib boradigan fermentlar faolligi pasayib ketadi. Xususan, gumus hosil bo‘lish hamda tuproqdagi polifenollarni parchalanishida ishtirok etuvchi polifenoloksidaza fermenti faolligi butunlay yo‘qolib ketadi. O‘simliklarni almashlab ekish to‘g‘ri tashkil qilingan tuproqlarda o‘simliklar ildiz tizimi bilan uzviy aloqada bo‘lgan mikrobbiokimyoviy komponentlar paydo bo‘ladi, bu esa biokimyoviy jarayonlarni ishlab ketganidan xabardor qiladi. Tuproqni meliorativ holatini yaxshilash uni agrokimyoviy xususiyatini tuzatish, xususan, organik uglerod va gumin kislotasini umumiy miqdorini oshirishga olib keladi. Shunda azot va uglerod moddalarini transformatsiyasida qatnashadigan mikroorganizmlarni soni va sifati yaxshilanadi.

**Nitrifikatsiya jarayonini susaytiruvchi omillar**. Ma’lum bir sharoitda tuproqda faol rivojlanib kelayotgan nitrifikatsiya jarayonini pasaytirish, foydasiz minerallash jarayonini to‘xtatishda katta ahamiyat kasb etadi. Tuproqqa solingan nitrifikatsiyani pasaytiruvchilar, shu jarayonni olib boruvchi nitrifikatsiya qiluvchi mikroorganizmlarni faoliyatini bug‘ish orqali, azotni ammiak formada to‘planishiga olib keladi. Bunday sharoitda nitritlarni nitratlarga oksidlash jarayoni pasayadi, nitritlarni yuvilishi va ularni gazsimon moddalarga aylantiruvchi denitrifikatsiya jarayoni pasayadi, tuproqni nitrifikatsiyalash qobiliyati to‘xtaydi yoki juda ham pasayadi. Nitrifikatsiya jarayonini pasaytiruvchi bir necha preparatlar ma’lum bo‘lib, shulardan biri, nitropirin-2-xlor-6-trixlormetil piridin, bu preparat «N-Serve-24» nomi bilan ma’lum. Preparatni 240 g/l yog‘dagi eritmasini ammiakli o‘g‘itlar bilan (6 kg/ga) tuproqqa solinganda, nitrifikatsiya jarayonida qatnashuvchi bakteriyalarni soni juda ham kamayib ketgani tasdiqlangan. Shuningdek, preparatni ikkilamchi xususiyati ammonifikatorlarni o‘sishini pasaytirishi ham kuzatilgan (tuproqni 2-6 sm qatlamida). Shunday bir holatda bu preparat boshqa tur va turkumlarga mansub bakteriyalarga ta’sir etmagan.

**Gerbitsidlarni tuproq mikrobsenoziga ta’siri.** Tuproqqa solingan gerbitsidlar o‘zlarini asosiy vazifasi bo‘lgan begona o‘tlarni yo‘qotish bilan birga, tuproqda amalga oshishi lozim bo‘lgan biokimyoviy jarayonlarga ham salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Tuproqda yashovchi mikroorganizmlarni faoliyatini buzilishi (tuproqda organik va noorganik moddalarni, jumladan gerbitsid, pestitsid va boshqa moddalarni to‘planib qolishi) tuproq unumdorligini pasayishiga olib keladi. Bunday hollarda, zudlik bilan tuproqni har xil moddalardan tozalash, undagi mikrobiologik jarayonlarni tiklash lozim bo‘ladi. Tuproqda gerbitsidlar mikroorganizmlar massasi bilan o‘zaro aloqaga kiradi. Demak, gerbitsidlarni yo‘qotish shu tuproqdagi mikroorganizmlarni faolligiga to‘g‘ridan-to‘g‘ri bog‘liqdir. Ko‘pchilik hollarda gerbitsid sepilgan tuproqlarda mikroorganizmlar dastlab kamayib ketadi, 10-12 kun o‘tgach, mikroorganizmlarni shu sharoitga moslashuvi (adaptatsiya) boshlanadi. 1,5-2,0 oy orasida gerbitsid ta’siri pasayib, mikrobiologik jarayonlar tiklana boshlaydi.

Mikroorganizmlarni tiklanish davri bir tomondan shu sharoitda yashab turgan mikroorganizmlarni moslashuviga, ikkinchi tomondan esa gerbitsidlarni xususiyatiga bog‘liq. Ayniqsa gerbitsidlardan foydalanganda uni ishlatish mo‘tadilligiga rioya qilmaslik, tuproqni uzoq vaqt davomida butunlay ishdan chiqarishgacha olib keladi.

Gerbitsidlar (TXA-Na, dikoteks, prometrin, simazin) bilan tuproqni va uni atrofidagi suv havzalarini ifloslantirmaslik uchun quyidagi tadbirlardan foydalanishni tavsiya qilamiz:

- gerbitsidlardan foydalangan tuproqni namligini 60% atrofida (suv rejimini boshqarish yo‘li bilan) ushlab turish lozim, chunki shu sharoitda mikroorganizmlar tomonidan gerbitsidlarni parchalanishi tezlashadi;
- prometrin ishlatilganda, uni parchalanishi sust ketishini e’tiborga olmoq lozim.
- prometrin va simazinni yuqori miqdori ishlatilganda, gerbitsidlarni tuproqda qolgan va atrofdagi suvga o‘tgan miqdorini aniqlab borish lozim, chunki gerbitsidlar drenaj suvlariga o‘tib undagi ilga o‘tib qolishlari mumkin.
- simazin ishlab chiqarish yoki undan ko‘proq me’yorda nitrifikatsiya jarayonini 20-45 kunga pasaytirishi, TXA-Na esa nitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalarni faolligini oshirishi va nitratlarni to‘planishiga olib keladi.

Tuproq mikrobbiotexnologiyasi - tuproq sharoitida mikroorganizmlar massasini, ularni faoliyatini o‘rganish qishloq xo‘jaligini zamonaviy usullar bilan rivojlantirishda asos bo‘lib xizmat qilib kelmoqda. Tuproq mikrobbiotexnologiyasi yutuqlari asosida mikroorganizmlar faoliyatidan to‘g‘ri va oqilona foydalanish orqali tuproq unumdorligini oshirish, yuqori sifatli, ekologik toza va mo‘l mahsulot yetkazishimiz mumkin.

## 13§. SIMBIOTIK AZOTFIKSATSIYA VA UNING AHAMIYATI

O‘simlik rivojini cheklab qo‘yadigan omillardan biri azot yetishmasligidir. Oziqa sifatida azot yetishmay turgan bir paytda o‘simlik azot bilan o‘ralgan holatda bo‘ladi. Ma’lumki, biz nafas olib turgan havoning qariyb 80% ini molekulyar azot ($N_2$) tashkil etadi. Ammo bu azotni o‘simlik to‘g‘ridan-to‘g‘ri ishlata olmaydi. Chunki, molekulyar azotni organizmga so‘rilishi uchun nitrogenaza deb nomlanuvchi

ferment faoliyati kerak bo‘ladi. Bu ferment barcha eukariotlar singari o‘simliklarda ham uchramaydi. Azot yutish qobiliyati faqatgina ba’zi - bir prokariot organizmlarda uchraydi, xolos. Bunday organizmlar o‘simliklar bilan simbioz holatda yashab, faoliyat ko‘rsatadilar. Azot yutish tizimini sun’iy (tashqaridan turib) tashkil qilish uchun eng avvalo simbiotik azotfiksatsiya jarayonining genetikasini yaxshilab o‘rganib chiqish lozim bo‘ladi.

Azotfiksatsiya xususiyati ma’lum bir taksonga mansub mikroorganizmlargagina xos emas. Bunday xususiyatga deyarli barcha asosiy guruhlarga mansub bo‘lgan prokariotlar: grammanfiy va grammusbat eubakteriyalar, sianobakteriyalar, aktinomitsetlar va arxebakteriyalar egalar. Ko‘pchilik azotfiksatsiya qiluvchi mikroblar diazotroflar hisoblanadilar, chunki ular molekulyar azotni ($N_2$) yagona azot manbayi sifatida ishlata oladilar. Ammo ba’zi-bir bakteriyalar molekulyar azotdan faqatgina o‘simliklar ishtirokidagina foydalana oladilar xolos (*Rhizobium, Frankia*). Nihoyat, bir qator mikroblar (*Azorhizobium, Anabaena, Nostoc*) o‘zlarida ham diazotrofiya hamda o‘simliklar bilan simbiozda yashash xususiyatlarini namoyon etadilar.

**Nitrogenaza reaksiyasi.** Yuqorida aytib o‘tilganidek, molekulyar azotni qaytarilish reaksiyasi nitrogenaza fermenti ishtirokida amalga oshiriladi. Bu ferment uch xil tipdagi oqsildan (α, β, γ) va ikkita: molibden-temir (MoFe) saqlovchi va temir (Fe) saqlovchi kofaktorlardan tashkil topgan. Nitrogenaza ikki subbirlikdan iborat. Ulardan biri katta-dinitrogenazalar bo‘lib tarkibida molibden-temir kofaktorlari saqlaydi (ba’zan ularni II-komponent ham deb atashadi). Ikkinchisi esa kichik-dinitrogenazalar reduktazalaridan iborat bo‘lib, Fe-kofaktori (I-komponent) saqlaydi. Molekulyar azotni qaytarilishi uni ($N_2$) molibden-temir-kofaktori bilan o‘zaro ta’siri oqibatida (ya’ni, dinitrogenazada) amalga oshadi. Reduktazalarni asosiy vazifasi elektronlarni dinitrogenazaga uzatib turishdan iboratdir. Temir ionlari har ikki komponent tarkibida, gemin (dinitrogenazalar reduktazalari) yoki nogemin (dinitrogenazalarda) shaklda uchraydi.

Qanchalik murakkabligiga qaramasdan nitrogenaza juda ham past bo‘lgan substrat spetsifikligiga ega. Bu ferment qator uch bog‘li qo‘shbog‘ saqlagan birikmalarni qaytarish xususiyatiga ega. Jumladan, 51-rasmda aks ettirilganidek, bu fermentda atsetilenni etilengacha qaytarish xususiyati ham namoyon bo‘ladi.

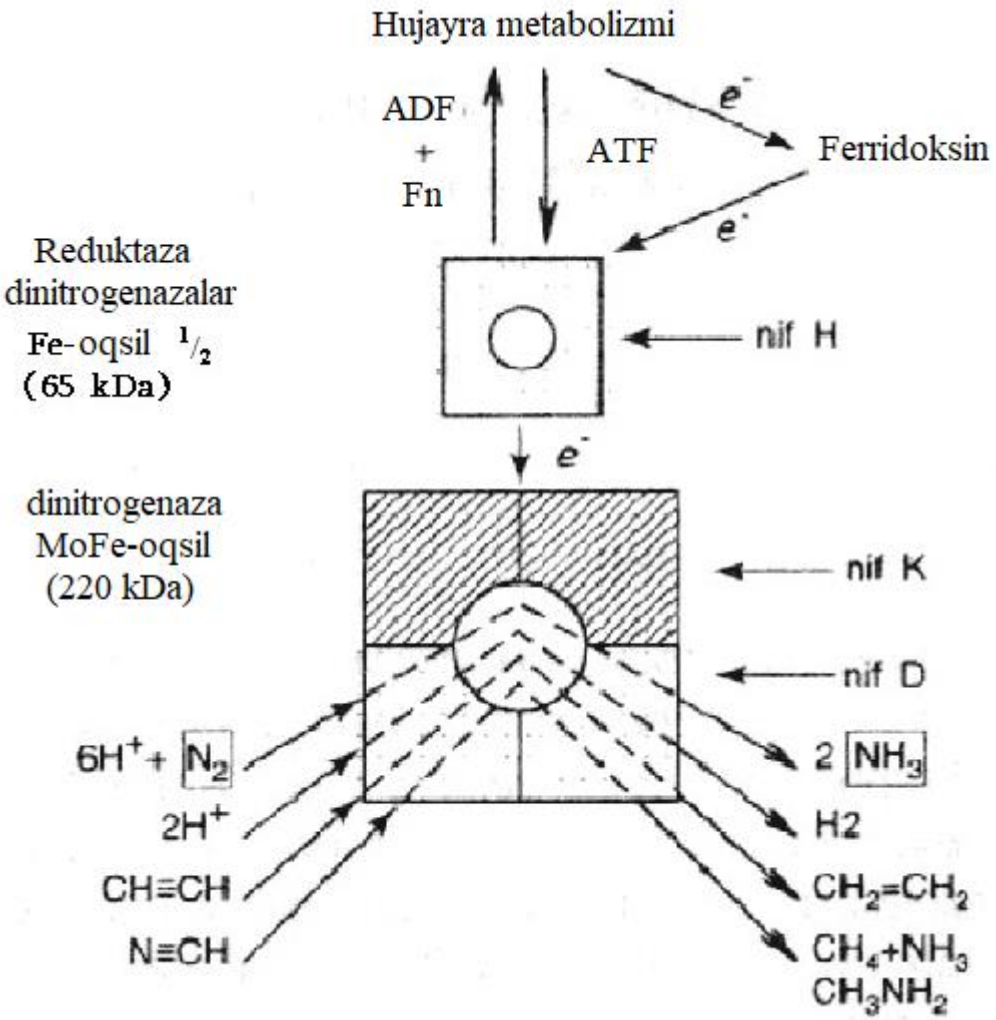
Ba’zi bir chegaralanishlarga qaramasdan (atsetilen ishtirokida nitrogenazani ba’zi-bir xususiyatlarini o‘zgarishi; o‘simlik bilan mikrob simbiozida atsetilenni o‘simlik hujayralarining fiziologik xususiyatlariga ta’siri) mana shu reaksiyaga asoslangan atsetilen usuli nitrogenaza fermentini aniqlash bilan bog‘liq bo‘lgan genetik va seleksion ishlarda keng qo‘llanilib kelinmoqda.

Quyida nitrogenaza fermenti kataliz qiladigan reaksiyaning umumiy ko‘rinishi keltirilgan:

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16ATF = 2NH_3 + H_3 + 16ADF + 16F_n$$

Ko‘rinib turibdiki, nitrogenaza reaksiyasi juda ko‘p energiyaga talabchan reaksiyadir. Nitrogenaza va unga xizmat qiladigan fermentlar sintezi ham (nitrogeneaza oqsillarini hosil bo‘lishini nazorat qiluvchi kofermentlar sintezi,

elektronlar uzatish va azotfiksatsiya mahsulotlari assimilyatsiyasi) juda katta energiya talab qiladi. Olimlarning hisob kitoblariga qaraganda, 1 g azotni fiksatsiya qilish uchun 100-200 g glyukoza sarflanishi kerak ekan. Shuning uchun ham mikroblar faqat azot tanqis bo‘lgan va energiya yetarli bo‘lgan sharoitdagina nitrogenaza fermentini sintez qilishlari mumkin.




**51-rasm.** Nitrogenazalar funksiyasi va tuzilishi

Mikroorganizmlar uchun eng qulay va foydali energiya manbayi bo‘lib, fotosintez va oksidlangan fosforlanish jarayonlari xizmat qiladi. Ammo nitrogenaza fermenti erkin kislorodga juda ham sezgir bo‘lgani sababli bu jarayon qiyinchilik bilan o‘tadi. Ma’lumki, nitrogenaza fermenti juda kam miqdorda $O_2$ bo‘lgan muhitda ham o‘z faolligini yo‘qotadi. Shuning uchun ham azot to‘plovchi mikroblarda nitrogenazani erkin kisloroddan himoya qiladigan va shu orqali kerakli energiyani qabul qila oladigan xilma-xil mexanizmlar mavjud. Masalan, simbioz bo‘lmagan erkin yashovchi diazotrof mikroblarda nitrogenazani sintez qiluvchi genlar anaerob yoki mikroaerofil sharoitlarda faollashadi (arxeylar va erkin yashovchi eubakteriyalar), azotfiksatsiya qiluvchi bakteriyalar (hujayralar) qalin qobiq hosil qiladi, bu esa kislorodni juda ham sekin va kam o‘tkazadi (sianobakteriyalar). O‘simliklar va mikroblarni simbiozi jarayonida nitrogenazani kisloroddan himoya

qilish vazifasini o‘simlik bajaradi. Nitrogenazaning sintezi va yetilishi murakkab nif - genlar tizimi orqali boshqariladi. Ularning ko‘pchiligi barcha azotfiksatorlar uchun umumiydir. Masalan, yaxshi o‘rganilgan enterobakteriyalar *Klebsiella pneumoniae* da bu tizim Z transkripsion birlikka birlashtirilgan, yagona klasterga yig‘ilgan 25 gendan iboratdir. nifH, nifD, nifK genalari nitrogenazani α, β, γ oqsillarining sintezi uchun javobgardirlar. nifM, nifS, nifU, nifY (nifB, nifE, nifN, nifV) Mo-Fe kofaktori sintezini nazorat qiladi. Bulardan tashqari *Klebsiella* 2 ta boshqaruvchi genni, ya’ni nifA, nif H, D, K, va boshqa genlarni trankripsiya qiluvchi oqsil sintezini, shuningdek nifL genining mahsuloti kislorod yoki bog‘langan azot ishtirokida nif-genlar transkripsiyasini pasaytiradi. Ammo ba’zi-bir azotfiksatorlarda nifL geni uchramaydi va uning vazifasini boshqa genlar bajaradi.

**O‘simliklarning azotfiksatorlar bilan simbiozi.** Mikroblar orasida azotfiksatsiya qilish xususiyatlarini belgilab berayotgan omillardan biri, ularni bunday xususiyatlardan istisno bo‘lgan va shu bois azotga ehtiyoj sezgan organizmlar bilan simbiozda hayot kechirishga moslanishlaridir. Simbiozga muhtojlik eng avvalo boshqa organizmlardan (hayvonlar esa bu jarayonlarni o‘zlari bajaradilar) yoki organik chiqindilardan (zamburug‘lar singari) azotli mahsulotlarni o‘zlariga singdirib ololmaydigan o‘simliklarda seziladi va ular yordamida amalga oshiriladi. O‘simliklar bilan o‘zaro aloqada, to‘g‘rirog‘i o‘zaro ta’sirda bo‘lish xususiyati arxebakteriyalardan boshqa barcha guruh azotfiksatorlar uchun xosdir. O‘simliklar bilan simbiozda yashab azotni o‘zlashtiruvchi mikroorganizmlarni uch guruhga bo‘lish mumkin: birinchi, hujayra ichidagi simbiontlar (*Rhizobium, Frankia, Nostoc, Gunnerra* bilan simbiozda), ikkinchi o‘simlik ichidagi lekin, hujayraga kirmaydigan mikroorganizmlar (*Anabaena* yoki *Nostoc, Azolla* bilan simbiozda); endofit bakteriyalar *Acetobacter* va *Azoarcus* va nihoyat uchinchi, ildizda yashovchi assotsiativ diazotroflar (*Azospirillum, Flavobacterium*).

Azotfiksatsiya jarayonida ishtirok etuvchilarni o‘zaro ta’siri quyidagi umumiy strategiyani belgilaydi:

mikrob o‘simlik uchun zarur bo‘lgan azotli moddalarni sintez qiladi va ularni o‘z xo‘jayini hujayrasiga yetkazib beradi. Oqibatda, o‘simlikni azotli moddalarga ehtiyoji kamayganligi hisobidan ularning imkoniyatlari oshadi, o‘simlik sog‘lom o‘sib, hosildorligi oshadi; ikkinchidan, o‘simlik mikrosimbiontga o‘z bag‘ridan “boshpana” (ekologik imkoniyat) ajratib beradi, oqibatda azotfiksatsiya qiluvchi mikroblarni boshqa guruh mikroorganizmlar (o‘zlari yashovchi) bilan raqobat qilishdan saqlaydi, hamda azotfiksatsiya qilish uchun sarflanadigan energetik xarajatlarni qoplaydi.

azotfiksatsiya qiluvchi mikroorganizmlar bilan fototrof organizmlar simbiozida ikki fundamental biokimyoviy jarayonlarni, ya’ni, azotfiksatsiya va fotosintez jarayonlarini simbiogenlik (bir-biriga foyda keltirib yashash) kuchayishi kuzatiladi. Ammo, simbiotik o‘zaro ta’sirni azot metabolitlarining fotosintez mahsulotlariga almashish deb qarash unchalik aniq bo‘lmas edi. Ko‘pgina o‘simliklarni azotfiksatsiya qiluvchi bakteriyalar bilan o‘zaro ta’siri jarayonida, hamkorlarni (o‘simlik va mikrob) bir-birlariga juda yaqin (strukturaviy-funksional) tuzilishi va faoliyat ko‘rsatishi kuzatiladi. Bu jarayon o‘simlik va bakteriya genlarini o‘zaro

boshqarish va muvofiqlashgan ekspressiyasiga asoslangandir. Bu esa hamkor hujayralar faoliyatlarini tabaqalanishiga hamda ular orasida kuchli boshqaruv munosabatlarini kuzatilishiga olib kelishi mumkin.

**Dukkakli o‘simliklar va rizobial bakteriyalar simbiozi**. Dukkakli o‘simliklar (*Fabaceae* oilasi) va tugunak bakteriyalar (rizobiylar) o‘rtasidagi simbiotik munosabatlar organizmlararo eng yaxshi o‘rganilgan tizimlardan biri hisoblanadi. Bu bir qancha sabablar bilan izohlanadi. Rizobial bakteriyalar (*Azorhizobium, Bradyrhizobium, Mezorhizobium, Rhizobium, Sinorhizobium*) fakultativ simbiontlar hisoblanib, ular ex planta (o‘simlikdan ajralgan) holatda ham o‘sa oladigan va barcha zamonaviy molekulyar-genetik usullar bilan tadqiq etish uchun qulay manba bo‘lib hisoblanadilar. Dukkakli o‘simliklarni tugunaklari o‘simliklarning bir qator asosiy vazifalari: signal jarayonlari va genlar ekspressiyasi, hujayrani tabaqalanishi va organogenez, azot va uglerod almashinuvini tahlil qilish va boshqa jarayonlarni o‘rganishda juda ham qulay model bo‘lib xizmat qila oladi. Nihoyat, eng muhimi dukkakli o‘simliklar va tugunak bakteriyalar simbiozini o‘rganish ularning katta amaliy ahamiyati bilan ham bog‘liqdir: ko‘pchilik dukkakli o‘simliklar asosiy qishloq xo‘jalik ekinlari qatoriga kiradi, ularning hosildorligini oshirish esa bugungi kunning eng dolzarb masalalaridan biri bo‘lib hisoblanadi. Rizobiylar bilan o‘simliklarning o‘zaro munosabati, ularni yuqori darajadagi spetsifikligi (o‘ziga xosligi) bilan tavsiflanadi.

Eng avvalo, simbioz munosabatlarini faqatgina dukkakdoshlar oilasiga xosligi (birgina istisno sifatida dukkaklilarga mansub bo‘lmagan *Parasponia* o‘simligini (*Ulmaceae* oilasi) rizobiylar bilan tugunak hosil qilishi), ikkinchidan, ko‘pgina rizobial bakteriyalar dukkakdoshlarning chegaralangan yagona avlodiga mansubligi (*R.galegae, R.leguminasarum*) yoki taksonomik jihatdan birmuncha yaqin avlodlar (*R.meliloti, R.leguminosarum*) doirasidagina sodir bo‘lishi bilan tavsiflanadi.

Dukkakli o‘simliklar bilan rizobial bakteriyalar o‘rtasidagi simbiozning rivojlanishi – murakkab, ko‘p bosqichli bo‘lib, u to‘rt guruh jarayonlardan iborat:

Birinchi, dastlabki (yuqishdan oldingi) munosabat;

Ikkinchi, tugunaklar morfogenezi;

Uchinchi, endosimbiontlar taraqqiyotining boshqarilishi;

To‘rtinchi, tugunaklarning azotfiksatsiya a’zosi sifatida faoliyat ko‘rsatishini o‘z ichiga oladi.

Yuqorida ko‘rsatib o‘tilgan jarayonlarning barchasi bakteriyalar tomonidan ham, xo‘jayin - o‘simlik tomonidan ham qat’iy nazorat ostida turadi.

***Dastlabki (yuqishdan oldingi signal) o‘zaro munosabatlar***. Har qanday simbiotik munosabatlarda hamkorlar o‘rtasida molekulyar signallar almashinuvi sodir bo‘ladi. Simbiozning boshlang‘ich bosqichlaridagi signal organizmlarning erkin holatidan simbiotik munosabatga o‘tishlarini ta’minlaydi, biroz keyingi boqichlarda esa metabolitik va morfogenetik jarayonlar simbiozning faoliyat ko‘rsatishini ta’minlaydi. Signallar ko‘pincha nishon-genlar transkripsiyasi va translyatsiyasi darajasida faoliyat ko‘rsatadi, bu esa simbiozni yuksak organizm genlari differensial ekspressiyasini o‘rganish uchun juda qulay modelga aylantiradi. Tugunak bakteriyalar va o‘simliklar o‘rtasidagi simbioz rizobiylarning o‘simliklarning

flavanoidlariga ta’siridan boshlanadi, bu esa bakteriyalarni virulentligini (nod, nodulation - ingliz tilidan- tugunak hosil bo‘lishi) genlarini faollashishiga olib keladi. Mazkur genlar nazorati ostida rizobiylar tugunaklar taraqqiyotining boshlang‘ich bosqichlarini jadallashtiruvchi lipo-xito-oligosaxaridlar Nod-faktorlarini sintezlaydi. Hozirgi vaqtga qadar rizobiylarda 50 dan ortiq virulentlik genlari aniqlangan. Ulardan ba’zilari barcha rizobiylar uchun “umumiy” (tuzilishi va faoliyati bo‘yicha bir xil) bo‘lsa, boshqa birlari har bir tur yoki har bir shtamm uchun o‘ziga xosdir. “Umumiy” nod genlar (nodA, nodB, nodC) dagi mutatsiyalar simbiozning dastlabki rivojlanish bosqichi - ildiz tukchalarining buralishi bosqichining buzilishiga (o‘zgarishlariga) olib keladi. Xo‘jayinga xos genlar (nodH, nodP, nodQ, nodZ) mutatsiyalari natijasida odatda simbiotik munosabatlarning so‘nggi, infeksion iplar va tugunak meristemalari hosil bo‘lishi bilan bog‘liq bo‘lgan bosqichlari buziladi.

29-jadval

**Tugunak bakteriyalar va dukkakli o‘simliklar munosabatlarining spetsifikligi**

| Bakteriyalar | O‘simliklar |
|---|---|
| *R.meliloti* | *Medicaga* (beda), *Melilotus* (qashqarbeda), *Trigonella* (yo‘ng‘ichqa) |
| *R.leguminasarum bv.trifolii* | *Trifolium* (sebarga) |
| *R.leguminasarum bv.viceae* | *Pisum* (rus no‘xat, oqburchoq), *Vicia* (vika), *Lathyrus* (no‘xatak), *Lens* (yasmiq) |
| *R.leguminasarum bv phaseoli (R.etli), R. tropici* | *Phaseolus* (loviya) |
| *R.galegae* | *Galega* (kozlyatnik) |
| *Sinorhizobium fredii* | *Glycine* (soya) |
| *Mezorhizobium loti* | *Lotus* (lyadvinets), *Lupinus* (lyupin, bo‘ri dukkagi) |
| *Bradyrhizobium japonicum* | *Glycine* (soya) |

Mazkur virulentlik genlari guruhlari orasidagi asosiy farqlar ularning har xil turga mansub rizobiylar o‘rtasidagi ko‘chishida ham yaqqol namoyon bo‘ladi. Xo‘jayinga xos genlarning ko‘chishi donor shtammning xo‘jayin - o‘simligida retsipiyent - shtammning tugunak hosil qilish xususiyatiga ega bo‘lishiga olib keladi. “Umumiy” nod genlarning ko‘chishida bunday holat kuzatilmaydi, agar retsipiyent o‘zining “umumiy” nod-genlari o‘zgargan (buzilgan) avirulent mutant bo‘lsa, unda dastlabki ona o‘simlik-xo‘jayinda tugunak hosil qilish xususiyati tiklanishi kuzatiladi.

Ikkala guruh genlari ham indutsibel hisoblanadilar: ularning faolligini dastlab rizobiylarning o‘simlik rizosferasiga tushgan vaqtidagina qayd etishga muvaffaq bo‘lingan. Bunda dukkakli o‘simliklar ildizlari yoki urug‘laridan ajralib chiqadigan flavonoidlar bakteriya oqsili NodD bilan bog‘lanadi, u esa qolgan nod-genlar (nodD-rizobiylarning alohida mustaqil ishlaydigan virulentlik geni) transkripsiyasini faollashtirish xususiyatiga ega bo‘ladi. nodD- geni transkripsiyani boshqaruvchi genlar oilasining vakili bo‘lib, bu oilaga juda yaxshi o‘rganilgan lysR va araC genlari

ham kiritiladi. NodD oqsilida ikkita domen: DNK bilan bog‘lanadigan kuchli konservativ N qism va taxminlarga ko‘ra, flavonoidlar bilan bog‘lanadigan C-qism mavjudligi aniqlangan. NodD oqsili rizobial hujayraning flavonoidlar o‘tadigan ichki membranasi bilan bog‘langan bo‘ladi. Ular bilan munosabatga kirishgan NodD oqsili o‘zining konformatsiyasini o‘zgartiradi, natijada unda virulentlikning indutsibel genlari promotor qismida joylashgan konservativ ketma-ketlik “nod-box” bilan bog‘lanish imkoniyati tug‘iladi. Oqibatda mazkur promotorlarning RNKpolimerazaga o‘xshash qismlari ko‘payadi va ularning transkripsiyasi kuchayadi.

Virulentlik genlari faoliyatining oxirgi mahsuloti Nod-omillar bo‘lib, ularni sintez qilish qobiliyati rizobiylarning noyob xususiyatidir. Bu omillar N-atsetilglyukozaminning 3-6 qoldig‘i va 16-20 ta uglerod atomidan iborat bo‘lgan to‘yinmagan yog‘ kislotasi radikalini saqlovchi modifikatsiyalangan lipo-xito-oligosaxaridlardan iborat. Mazkur omillar biosintezi quyidagi jarayonlarni o‘z ichiga oladi:

1) 1-4-β-glikozidli bog‘lar hosil bo‘lishi bilan kechadigan Natsetilglyukozamin (NodM-oqsili nazorati ostida fruktozadan sintezlanuvchi) ning polimerizatsiyasi. NodC oqsili katalizlaydigan mazkur reaksiya xitin oligomerlari hosil bo‘lishiga olib keladi;

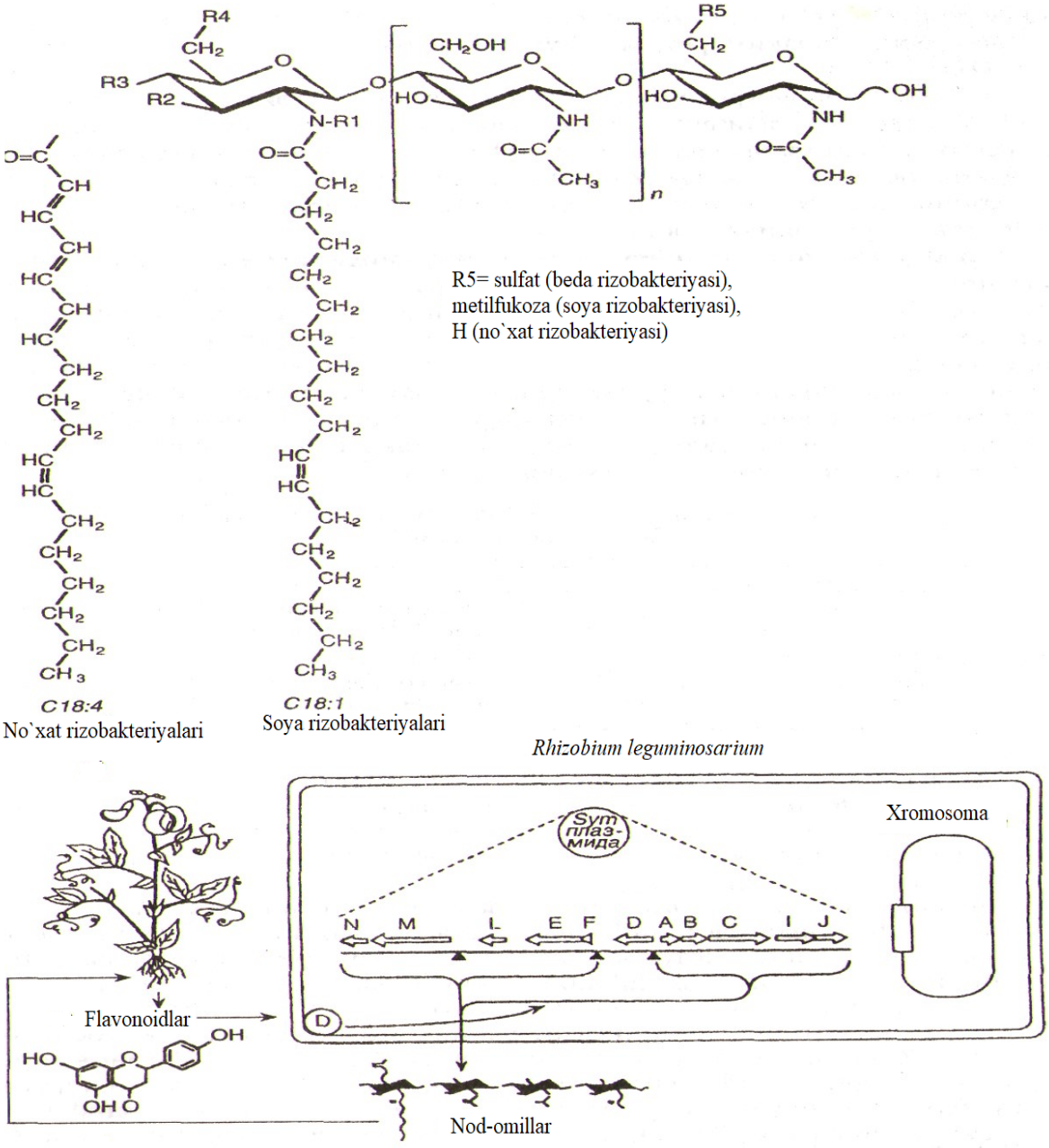
2) glyukozaminning «reduksiyalanmaydigan» qoldiq qismini R1 holatda (NodV bloki tomonidan katalizlanadi) deatsetillanishi va yog‘ kislotasi qoldig‘ini azot atomiga birikishi (NodA oqsili katalizlaydi);

3) hosil bo‘lgan lipo-xito-oligosaxarid modifikatsiyasi (Nod – omilning po‘stloq qismi); vodorod atomlari «reduksiyalanadigan» va «reduksiyalanmaydigan» uchlarda turli xil radikal (fukozil, sulfat, metil, atsetil va h.k.) larga joylashadi.

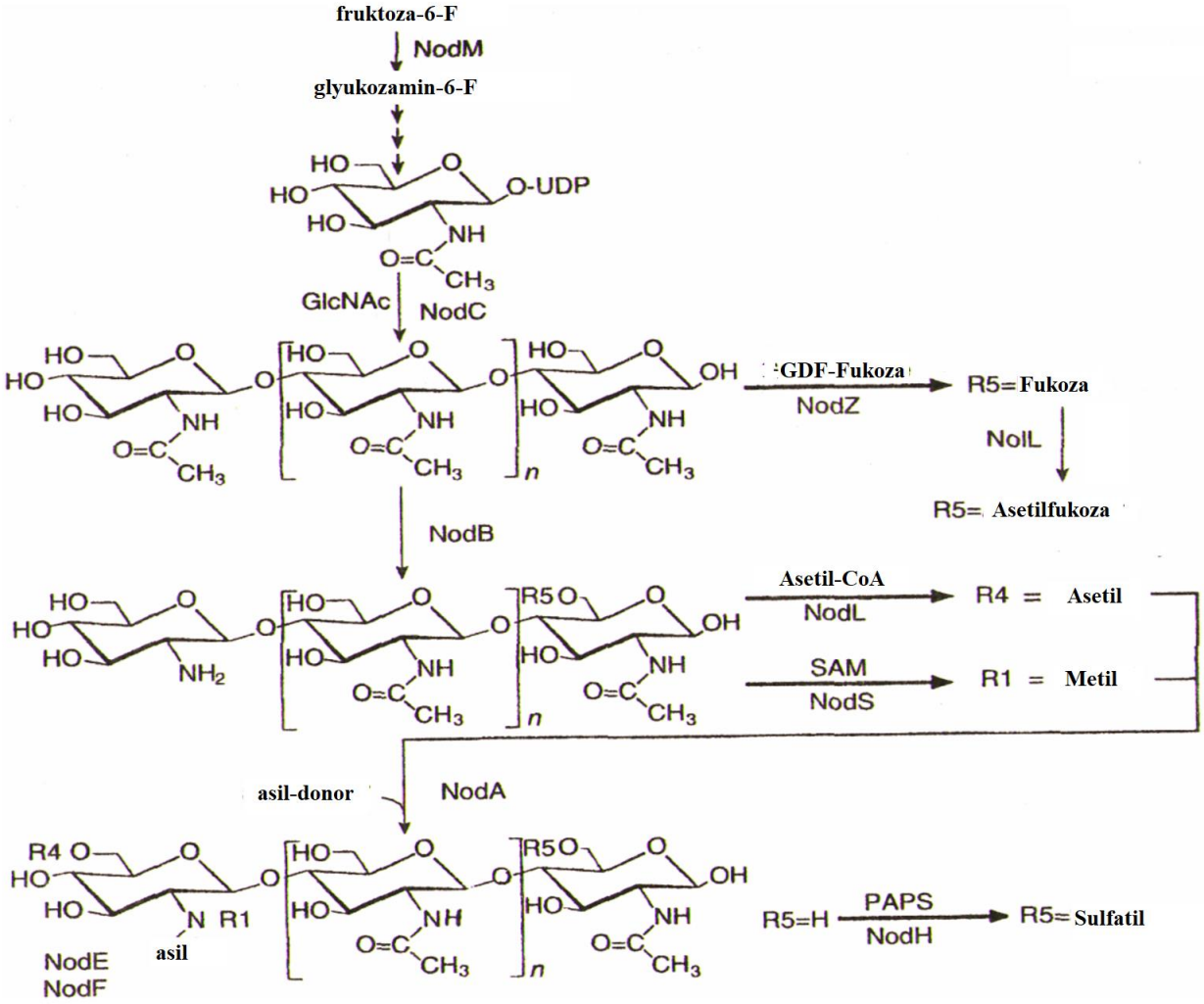
Shuni ta’kidlash lozimki, Nod – omil biosintezining mazkur bosqichlari Nod-genlarning turli guruhlari tomonidan nazorat qilinadi: po‘stloq qismining sintezi “umumiy” Nod-genlar nazorati ostida bo‘lsa, uning modifikatsiyasi esa - xo‘jayinga xos genlar nazoratida bo‘ladi. Nod-omillarning tozalangan juda ham kam atigi $10^{-8}$ – $10^{-12}$ M miqdori simbiozni shakllanishining dastlabki bosqichlari: ildiz tukchalarining buralishi; tugunak meristemalarini paydo bo‘la boshlashi; ba’zi dukkaklilar (beda) da esa hattoki tugunaklar gistogenezining boshlang‘ich bosqichlari kabi jarayonlarni jadallashtiradi. Nod-omillarni 5-10 minut davomida *Vicia sativa* o‘simligiga ta’sir ettirilganda, 1 soatdan keyin sodir bo‘ladigan ildiz tukchalarining deformatsiyasiga (shakl o‘zgarishi), 3 soat o‘tgach esa, ildizning shimuvchi qismlaridagi ildiz tukchalarining yarmidan ko‘prog‘ining shakl o‘zgarishlariga olib keladi. Nod-omillar chaqiradigan dastlabki biokimyoviy reaksiyalar (inokulyatsiyadan 10 minut o‘tgach sodir bo‘ladigan), ildiz tukchalari hujayra membranasining qutbsizlanishi (depolyarizatsiyasi) va epidermis hujayralarida ion oqimlarining modullanishi hisoblanadi.

Shuni qayd etish kerakki, Nod-omillar – bu barcha simbiotik o‘zaro ta’sirlarning a’loqalarining o‘ziga xosligini ma’lum darajada aniqlaydigan signallardir. Bunda xo‘jayinga xos genlar nazorati ostida amalga oshiriladigan Nod-omillarning modifikatsiyalari muhim rol o‘ynaydi. «Reduksiyalanadigan qism» da R6 holatining sulfatlanishi qashqarbeda o‘simligi rizobiylari (R. meliloti) uchun xos

bo‘lib, u «gomologik» xo‘jayinda kechadigan boshlang‘ich simbiotik reaksiyalar induksiyasi uchun zarur bo‘ladi, sulfat guruhlarning bo‘lmasligi esa xuddi shu reaksiyalarning induksiyasiga sabab bo‘ladi. Sulfatlanish jarayonini amalga oshiruvchi Nod N oqsilining faolligini mutatsiyalar oqibatida pasayishi *R.meliloti* bakteriyasini qashqar bedaga nisbatan virulentligini yo‘qolishiga va vika o‘simligi (*R.leguminasarum bv. viceae*) ga nisbatan simbiontlik xususiyatiga ega bo‘lgan NodN genidan ajralgan virulentlikni hosil bo‘lishiga olib kelishi kuzatilgan.




**53-rasm.** Tugunak bakteriyalar va dukkakli o‘simliklar orasidagi o‘zaro signalli tizim




**54-rasm.** Nod-omillar biosintezi

Nod-omillar modifikatsiyalarining xo‘jayinga xoslik belgisini nazorat qilishdagi ishtirokining eng yaxshi o‘rganilgan tomoni bu – NodX geni katalizlaydigan R6 holatining “reduksiyalanuvchi qism”ida atselirlanishidir. Bunday modifikatsiya no‘xat o‘simligining tugunak bakteriyalari (*R.leguminasarum bv viciae*) ga “Afg‘on” no‘xatlarini zararlash (infeksiyalash) xususiyatini beradi. Ma’lumki, “Afg‘on” no‘xatlari Sym2 allellari bo‘yicha gomozigot bo‘lganliklari sababli mazkur bakteriyalar bilan inokulyatsiyalanishiga moyilligi bo‘lmaydi. NodX genini saqlamagan shtammlarga bu genni ko‘chirib o‘tkazilganda, bu shtammlar atsetillangan Nod-omilni sintezlash qobiliyatiga ega bo‘ladilar va “Afg‘on” no‘xati o‘simligida tugunak hosil qila oladilar. O‘simliklarning Sym2 genlari nazorat qiluvchi chidamliligini yengish xususiyati rizobiylarga R6 holatini fukozillanishini belgilaydigan NodZ genini ko‘chirib o‘tkazilganda ham hosil bo‘lishi kutilmagan hodisa bo‘ldi. Bu gen soya tugunak bakteriyalaridan ajratib olingan bo‘lib, u “Afg‘on” no‘xatlarida hattoki eng dastlabki simbiotik reaksiyalarni ham chaqira olish xususiyatiga ega emas.

Nod omillarning sintezi va fenotipik samarasi yaxshi o‘rganilgan, bunga sabab, ularni bakteriyalar tomonidan oziqa muhitiga ajralib chiqishi va shu tufayli, ularning faoliyatini in vitro tizimida oson modellashtirish mumkinligidir. Bakterial signallar retsepsiyasi va uning o‘simlikka uzatilishi ketma-ketligini o‘rganish birmuncha qiyin hisoblanadi. Nod-omillarning retseptori sifatida o‘simliklarning lektinlari qaraladi.

Ularning simbiozdagi rolini o‘rganishga bo‘lgan qiziqish 1970-yillarning oxirlarida yanada ortdi, bu davrga kelib ildiz tukchalari yuzasiga rizobial hujayralarning adsorbsiyalanishi natijasida tugunaklarning rivojlanishi, rizobiy hujayralari tashqi sathidagi polisaxaridlarni dukkaklilar lektinlari bilan o‘zaro ta’siri bilan bog‘liq ekanligi aniqlandi. Simbiozning o‘ziga xosligini, o‘simlik hujayralari va bakteriyalarning tashqi strukturalarining o‘zaro komplementar ta’siri asosida izohlaydigan «lektinli» nazariya 1980-yillar boshida taqdim etildi. Turli xil dukkakli o‘simliklarni, ildiz lektinlarining ba’zi fraksiyalari sintezini nazorat qiluvchi genlarni ko‘chirib o‘tkazilishi simbiotik xususiyatlarning kengayishiga olib keldi. Dukakli o‘simliklarni in vitro sharoitlarida Nod-omillar bilan o‘ziga xos bog‘lanish hosil qiladigan ildiz lektinlari fraksiyalari aniqlandi va ularni simbioz munosabat hosil bo‘lishida o‘ta muhim ekanligi kuzatildi. Masalan, mazkur lektinlarga qarshi antitanalar bilan ishlov berilgan ildizlarda tugunak hosil bo‘lmasligi isbotlandi. Shuning uchun ham o‘simlik lektinlari Nod-omillar retsepsiyasi tizimining kamida bitta komponentlaridan biri bo‘lib xizmat qiladilar degan xulosaga kelingan. Nod-omillarning tuzilishi va tugunak hosil bo‘lishining o‘ziga xosligi o‘rtasidagi bog‘liqlikni izohlaydigan nazariyalardan biri o‘simlik xitinazalari ta’siriga chidamlilikni mazkur omillar modifikatsiyalari belgilaydi degan g‘oyani ilgari suradi.

Dukkaklilar ildizi bir qator xitinazalarni (shuningdek xitioligosaxaridlarni parchalaydigan boshqa xil litik fermentlarni ham) sintezlashi aniqlandi. Bunda:

a) ba’zi xitinazalarning sintezi Nod-omillar tomonidan faollashishi,

b) xitinazalarga chidamlilik Nod-omillar tuzilmasiga bog‘liqligi kabilar kelib chiqdi.

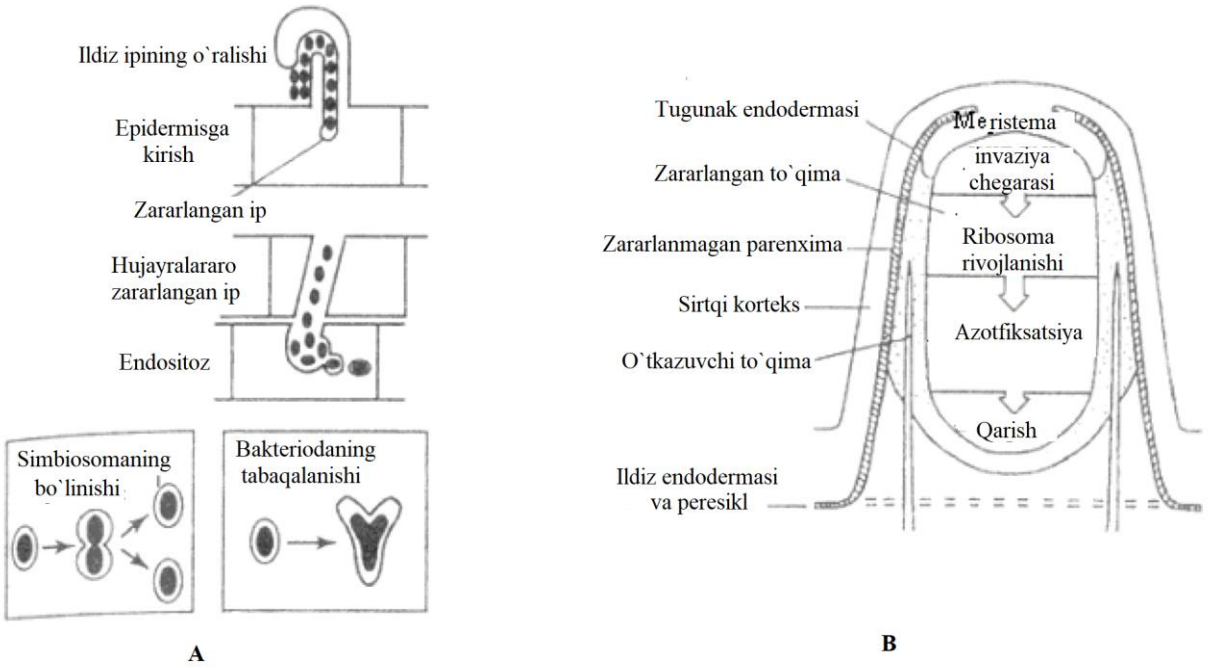
Yuqorida misol keltirilgan *R.leguminasarum bv viciae* ning “Afg‘on” no‘xati bilan o‘zaro ta’siri shuni ko‘rsatadiki, Nod-omilning o‘simlik xitinazalariga chidamliligi R6 holatning modifikatsiyasi natijasida qoldiq qismining qaysi biriga (atsil yoki fukozil guruh) mansubligidan qat’iy nazar ortishi aniqlandi. Aynan shu mu’tadillanish R6-modifikatsiya qilingan signallarni hosil qiladigan bakteriyalarning Sym-2 allellar kodlaydigan bardoshlilikni yengishini belgilaydi. Shuningdek, o‘simlik retseptorlari bilan Nod-omilning o‘zi emas, balki litik fermentlar ta’siri natijasida nishon-hujayralarda hosil bo‘ladigan uning protsessingi mahsulotlari o‘zaro munosabatga kirishishi ehtimoli juda yuqoridir.

Dukkakli o‘simliklarning tugunaklari bir-birlari bilan o‘zaro bog‘liq bo‘lgan qator kompleks vazifalarni bajarib, endosimbiontlar uchun ekologik makon, sheriklar o‘rtasida metabolitlar almashinuvi uchun tuzilmaviy asos bo‘lib, bakteriyalarning fiziologik faolligi va ularning sonini nazorat qilishga xizmat qiladi. Tugunaklar o‘simlikning taraqqiyot genetikasini o‘rganish uchun ajoyib model bo‘lib hisoblanadi. Tugunaklar taraqqiyoti, boshqa a’zolar singari genlarning differensial (ixtisoslashgan) ekspressiyasini chaqiruvchi signal jarayonlariga asoslanadi. Biroq

simbioz munosabatlarda bu jarayonlar o‘simlikka sherik orqali tushadigan ekzogen signallar bilan bog‘liq, bu signallar ta’sirini qator holatlarda laboratoriya sharoitlarida, shu bilan bir qatorda in vitro tizimidan foydalanish orqali ham nisbatan oson o‘rganish mumkin.

Bundan tashqari tugunaklarning hosil bo‘lishi o‘simliklar uchun normal o‘sish va ko‘payishda shartli bo‘lmagan, ya’ni fakultativ holat hisoblanadiki, bu rivojlanish jarayonining genetik o‘zgaruvchanligi to‘g‘risida keng, batafsil ma’lumot olish imkonini beradi. Tugunaklar morfogenezi uchun zarur asosiy genetik ma’lumot simbioz o‘simlik sherigi genomida joylashgan. Shunga qaramasdan, morfogenlarning bir qismi rizobiylar genomida saqlanadi. Bu esa tugunaklar taraqqiyotini o‘simlik genomi tuzilmasiga aralashtirmagan holda, o‘simlik a’zosi taraqqiyoti irsiy dasturini o‘rganish va modifikatsiya qilish imkoniyati mavjudligi tufayli yanada kengroq genetik tahlil qilish imkonini oshiradi.

***Tugunaklar morfogenezi.*** Bu qismda no‘xat, sebarga va beda kabi dukkaklilarga xos “nodeatamatsiyalangan poya” tipiga mansub ancha mufassal o‘rganilgan tugunaklar misolida simbiozning tuzilmaviy asosi taraqqiyotini ko‘rib chiqamiz (55-rasm).




**55-rasm**. No‘xatning azot o‘zlashtiruvchi tugunagining tuzilishi va rivojlanishi (bunda: A. Endosimbiotik kompartmentlar tizimining asosiy rivojlanish bosqichlari; B. Tugunakning gistologik tuzilishi)

Mazkur dukkaklilarning zararlanishi ildiz tukchalari orqali borib, ildiz tukchalari buralib “soyabon ushlagichi” shaklini oladi. Tukchalarning keskin buralishi bilan birga ildiz tukchasi hujayra qobig‘ining gidrolizi va plazmolemmaning chuqur invaginatsiyasi sodir bo‘ladi, bu jarayonda o‘simlik hujayrasining membrana strukturalari (Golji apparati, endoplazmatik to‘r) ishtirok etadi. Shunday qilib bakteriyalarning ildiz tukchalarni nofaol ravishda egallashi va tez orada

mikrosimbiontni to‘liq qamrab olishi kuzatiladi. Natijada bakteriya hujayralari atrofida o‘ziga xos tunnel – infeksiya ipi (II) hosil bo‘lib, uning devorlari o‘simlik hujayralari devori bilan o‘xshash, ichki bo‘shlig‘i esa matriks bilan to‘lgan bo‘lib, uning hosil bo‘lishida ikkala sherik ham ishtirok etadi (Inf bosqichi, ingliz tilidan Infection thread formation). II taraqqiyoti bilan bir vaqtda tugunak meristemasi hosil bo‘lishiga zamin tayyorlana boradi, u mitoz jarayonlari reaktivatsiyasi, Nod-omil orqali indutsirlanuvchi korteks hujayralarining dedifferensiatsiyasi va proliferatsiatsiyasi (Ced bosqichi, ingliz tilidan Cortical cell division) bilan bog‘liq bo‘ladi. Hosil bo‘lgan tugunak primordiylarida gistogenez jarayonlari boshlanadi (Ntd, ingliz tilidan Nodule tissue differentation), uning natijasida tugunaklarning qoplovchi, o‘tkazuvchi va azot to‘plovchi to‘qimalari shakllanadi. II inokulyatsiyadan 23 sutka o‘tgach, ildiz tukchalari asosigacha yetib boradi va korteksga o‘tib, o‘sib kelayotgan tugunak ichiga kirib oladi va shu yerda rivojlanib, shoxlanadi. Endosimbioz taraqqiyotidagi asosiy bosqich bakteriyalarning II dan o‘simlik hujayrasiga o‘tishi hisoblanadi, u endotsitoz yo‘li bilan amalga oshadi (Bar bosqichi, ingliz tilidan Bacterial release). II ning o‘simlik hujayrasiga botib kirish joyida vaqtinchalik tuzilmalar – infeksion tomchilar shakllanib, ulardan bakteriya saqlovchi membrana pufakchalari ajralib chiqadi. Shunday qilib bakteriyalar hech qachon o‘simlik sitoplazmasida erkin joylashmasdan, Golji apparati va endoplazmatik to‘r ishtirokida hosil bo‘lgan “peribakteroid” membranalar ichida joylashadi, lekin ular alohida bakterial oqsillarni ham saqlaydilar. PBM bilan qoplangan bakteriya hujayrasi (hujayralar to‘plami) simbiozning subhujayraviy birligi – simbiosoma hisoblanadi. II dan ajralib chiqqach, rizobiylar o‘zlarining o‘lchamlarini va tayoqchasimon shaklini ma’lum vaqtga qadar saqlab qoladilar, shundan so‘ng alohida shakl – bakteroid shaklida (Bad bosqichi, ingliz tilidan Bacteroid differentiation) ixtisoslashadilar. Bakteroidlar erkin yashovchi bakteriyalarga nisbatan ancha yirik (3-5 barobar) bo‘lib, ularning shakli sebargada sharsimon va noksimondan tortib, no‘xatda Y va X simongacha bo‘ladi. Shuni ham qayd etish lozimki, bakteriyalarning ixtisoslashuvi ularning avtonom o‘sishi uchun zarur bo‘lgan ko‘plab genlarning repressiyasi bilan bog‘liq. Ko‘plab mualliflarning fikricha, bu repressiya shunchalik chuqur davom etadiki, bakteroidlar shakllangan erkin yashaydigan tugunaklarga aylana olmay qoladilar, tugunaklar nobud bo‘lgach, ular ham nobud bo‘ladilar. Bakteroidlarda $N_2$ ni $NH^+$ ga qaytarilishini katalizlovchi nitrogenaza, shuningdek nitrogenaza reaksiyasi uchun xizmat qiladigan boshqa fermentlar sintezi faollashadi va shundan so‘ng atmosfera azoti o‘zlashtirilishi jarayonlari (Nif, ingliz tilidan Nitrogen fixation) boshlanadi. Shunday qilib, bakteroidlarni xo‘jayin o‘simlikni bog‘langan azot bilan ta’minlab beradigan o‘simliklarning vaqtinchalik organellalari sifatida qarash mumkin. Simbiosomalarning shakllanishi bilan parallel bir vaqtda o‘simlik hujayralari ixtisoslashuvi ham ro‘y beradi. U ichki PBM shakllanishi va biosintetik jarayonlarda ishtirok etadigan ichki membrana tuzilmalari soni ortishi bilan ifodalanadi. Infitsirlangan (zararlangan) hujayralar uchun xromatinning transkripsion faollashuvi bilan bog‘liq poliploidizatsiyasi va dekondensatsiyasi xosdir. Biokimyoviy jihatdan ularning ixtisoslashuvi de novo bir qator oqsillarning sintezi sifatida aks etadi.

Ko‘rsatib o‘tilgan jarayon “nodeatamaatsiyalangan” tipga mansub murakkab tuzilgan tugunakning shakllanishi bilan tugallanadi. Uning asosiy tuzilmalari: a) molekulyar azotni o‘zlashtirilishi kechadigan bakteriyalar bilan zararlangan to‘qima; b) o‘simlik fotosintatlari kelib tushadigan va azotfiksatsiya mahsulotlari chiqib ketadigan o‘tkazuvchi tolalar; d) tugunakning o‘sishi amalga oshadigan apikal meristema kabilar hisoblanadi.

Apikal meristema azotfiksatsiya qiluvchi to‘qimalarning doimiy yangilanib turishini ta’minlaydiki, uning natijasida simbiozning turli bosqichlariga muvofiq zonalarga tugunaklarning markaziy qismlarini ixtisoslashuvi kuzatiladi.

Tugunaklar morfogenezining asosiy natijasi simbiotik sheriklar (kompartmentlar) ning uyg‘unlashgan tizimining shakllanishi hisoblanadi, bu esa bakteriyalarning hujayralararo (infeksiya iplari) shakldan hujayra ichi (simbiosomalar) shakliga o‘tishini ta’minlaydi.

Hozirgi vaqtda dukkaklilarning “simbiotik” genlarini ikki guruhi chuqur o‘rganilmoqda. Birinchi guruh genlarini formal genetika usullarini qo‘llash – simbioz taraqqiyoti uchun defektli mutantlarni tahlil qilish orqali aniqlanadi. Ikkinchi guruh genlarni «teskari genetika» - simbiozda sintez bo‘ladigan gen mahsulotlari (oqsillar, mRNK) ni tahlil qilish usullari orqali o‘rganiladi. Tugunak hosil qila olmaydigan (Nod) yoki azotfiksatsiya faolligini indutsirlash xususiyatiga ega bo‘lmagan o‘simlik mutantlarini azotsiz muhitda o‘sa olmaslik xususiyatiga qarab tanlab olinadi. Ko‘plab dukkaklilar (no‘xat, soya, beda, yo‘ng‘ichka, loviya, nut, xashaki dukkaklilar, donnik, sebarga) da mutantlarni qo‘llash orqali simbiozning hosil bo‘lishi va faoliyatida bevosita ishtirok etadigan 100 dan ortiq genlar aniqlangan. Simbioz munosabat genetikasini o‘rganishning qulay obyekti hisoblagan – ekiladigan no‘xat (*Pisium sativum* L) da 40 dan ortiq genlar aniqlangan. O‘simliklarni tugunak hosil qilish xususiyatiga ega bo‘lmasligini nazorat qiluvchi mutant allellar, kamdan-kam hollarda, ba’zi istisnolarni inobatga olmaganda retsessiv bo‘ladilar. Azotfiksatsiya qilish xususiyatiga ega bo‘lmaslikni nazorat qiladigan allellar retsessiv ham (no‘xat, sebarga, bedada) dominant ham (soyada) bo‘lishi mumkin. Simbioz taraqqiyotiga zarar keltiradigan mutantlar o‘simliklarning morfologiyasi, rivojlanish tezligi va yetilishi (fertillik) ga ta’sir ko‘rsatadilar. Simbiozning genetik tahlillari ko‘rsatishicha, “yovvoyi tip” dagi tugunaklarni o‘rganish natijasida aniqlangan yirik bosqichlarni birmuncha mayda (“elementar”) bosqichlarga bo‘lish mumkin, ularning har qaysi kam miqdordagi (hatto birgina) genlar bilan nazorat qilinadi. Masalan, Itf bosqichi 3 ga bo‘linadi: Iti (infeksiya ipi shakllanishi initsiatsiyasi), Ith (ipni ildiz tukchasidagi o‘sishi), va Itr (Iining ildiz korteksida o‘sishi; Var esa ikki bosqichga: Itn (IIning tugunak hujayralari va to‘qimalaridagi taraqqiyoti va Idd («Infeksiya tomchisi»ning - ixtisoslashuvi). Dukkaklilarning simbiotik genlarini, ularning mahsulotlari identifikatsiyasi (ko‘pincha o‘sha mahsulotlarning o‘zini) aniqlash orqali ularni nodulinlar (agar ular tugunaklarda de novo da faollashsa) yoki Nst-genlar (ildizga nisbatan tugunaklarda faollik sezilarli orta borsa) deb ataladi.

Mazkur genlarni aniqlash uchun tugunak yoki steril ildizlarda sintezlanadigan, yoxud azotni o‘zlashtiradigan yoki o‘zlashtirmaydigan tugunaklarda oqsil (RNK) spektorlarini taqqoslab o‘rganiladi (30-jadval).

30-jadval

**Simbiozning asosiy bosqichlarini nazorat qiladigan dukkakli o‘simliklarning genlari**

| Taraqqiyot bosqichlari | Kodlar | Ma’lum bosqichni nazorat qiluvchi genlar (dukkaklilar turlari)* |
|---|---|---|
| **Preinfeksiya (infeksiya oldi)** | | |
| Rizobiylarning virulentlik genlarining induksiyasi | *Ngi* | topilmagan |
| Ildiz tukchalari deformatsiyasi | *Nas* | sum 8, sum 9, sum19, sum 30 Ps; rj=nodI (Gm); rnI (Ca) nn1, $nn_2$ (Ms); suv 3 (Ma) |
| **Tugunaklar morfogenezi** | | |
| Infeksiya tiplarining shakllanishi | *Itf, Iti, Ith* | Sum 7, sum 14, sum 35 (Ps), sum I, sum5 (Ma), r, t(Tp)Sum 2, sum 36 (Ps) |
| Kortikal hujayralar bo‘linishi induksiyasi | *Itr, ccd* | sum 5, sum 34 (Ps) sum 5(Ps) |
| Tugunak to‘qimalari ixtisoslashuvi | *Ntd* | sum 33 (Ps) |
| O‘simlik sitoplazmasiga bakteriyalarning endotsitozi | *Bar, Itn, Idd* | sum 33 (Ps), d, It, ic (Tp) sum 40 (Ps) |
| Bakteroidlar ixtisoslashuvi | *Bad* | sum 31, sum 32 (Ps), $in_1$, $in_2$, $in_4$, $in_5$(Ms) |
| **Endosimbion lar taraqqiyotining boshqariluvi** | | |
| Tugunak hosil bo‘lishi avtoregulyatsiyasi | *Aut* | Nod 3, sum 28, sum 29(Ps), sum 5(Vf), Nod(Pv), ntsI-nod 2(Cm) |
| **Tugunaklar faoliyati** | | |
| Azot o‘zlashtirilishi | *Nif* | O‘simlik mazkur bosqichda izdan chiqqan mutantlar $Bar^-$, $Bad^-$, yoki $Nop^-$ fenotiplariga ega bo‘ladi |
| Tugunaklar barqarorligi | *Nop* | Sum 13, sum 25, sum 26, sum 27 (Ps) |

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

Nodulinlar Nst genlarni mos ravishda “ertangi” (azotfiksatsiya boshlangunga qadar faollashadigan) va “kechki” (azotfiksatsiya boshlanishi bilan yoki azotfiksatsiya davrida faollashadigan) turlarga bo‘linadi. Ko‘pgina tugunakka xos oqsillar uchun subhujayraviy (joylashuv) (o‘simlik hujayrasi sitoplazmasi, bakteroid oldi membranasi, infeksiya ipi devori) yoki fermentativ faollik (ko‘plab “kechki” nodulinlar) azotli yoki uglerodli ferment almashinuvining izoformasi hisoblanadi. Ularning qatoriga tugunak parenximalarida faol sintezlanadigan ENOD2 nodulini va

II devorlarida to‘planadigan ENOD12 va ENOD5 ni kiritiladi. Endotsitoz davrida sintez bo‘ladigan nodulin N-26, PBM tarkibiga kiradi, u sheriklar o‘rtasidagi regulyator yoki trofik omillarning transporti uchun zarur bo‘lsa kerak degan fikrlar mavjud (31-jadval).

31-jadval

**Dukkaklilarning ertagi nodulinlari**

| Genlar | O‘simliklar | Nodulinlarning tavsifi | Tugunaklar ichida joylashuvi | Taxmin qilinadigan faoliyati |
|---|---|---|---|---|
| ENOD2 | No‘xat, soya, vika, beda, sebarga | Hujayra devorining ekstensinlariga o‘xshagan oqsil-gidroksirolin | Parenxima | Kislorodli to‘siqning shakllanishi |
| ENOD5 | No‘xat | Signal ketmaketliklarga ega va prolinga boy bo‘lgan tuzilma | Infeksiya iplari oxirini saqlovchi hujayraning zararlanish zonasi | Infeksiyada (zararlanish) ishtirok etish |
| ENOD12 | No‘xat, loviya, beda, mosh, nut, dukkaklilar | Prolinga boy bo‘lgan qismlarga ega | Infeksiya zonasi | Infeksiya iplari va hujayra devorini qurish |
| ENOD40 | Soya, no‘xat | Strukturasi jihatidan RNK - boshqaruvchini eslatadi | O‘tkazuvchi bog‘lamlarning peritsikli | Gormonal muvozanatni aniqlash |

Tugunaklar taraqqiyotida fitogormonlarning rolini o‘rganish juda katta qiziqish uyg‘otadi. Aniqlanishicha, ildizlarga auksinlar transportini ingibitorlari bilan ishlov berish tugunaksimon tuzilmalarning hosil bo‘lishiga olib kelar ekan. Tugunak o‘sishining gormonal statusida ishtirok etadigan ENOD40 nodulini ham aniqlangan. Uning vazifasi endosimbiont ta’sirida o‘zgaradigan auksin va sitokininlar muvozanatini nazorat qilish bilan bog‘liq bo‘lib, u tugunaklar gistogenezi hamda tugunakli primordiylar shakllanishida asosiy o‘rin tutadi.

***Endosimbiontlar rivojlanishini boshqarish***. Simbiozning strukturaviy (tuzilmaviy) asosi sheriklarning boshqaruvchilik o‘zaro aloqalari bilan bog‘liq bo‘lib, ularning natijasi simbiotik tuzilmalarning taraqqiyoti muvozanati, shunga mos ravishda rizobiylar soni va ko‘payish tezligining ortishi bilan izohlanadi. Bunday regulyatsiya juda muhim bo‘lib, bakteriyalarning potensial bo‘linish tezligi o‘simliklarga nisbatan ancha yuqoridir. Endosimbiont mikroorganizmlarning nazorat qilinmaydigan ko‘payishi xo‘jayin organ uchun ko‘p hollarda zararlidir, uning

simbiontlar ko‘payishini qat’iy nazorat qilish xususiyati mutualitik simbiozning parazitizmdan farq qilishda muhim asos bo‘lib hisoblanadi.

Simbiozning shakllanishida dukkakli o‘simliklarga patogen mikroorganizmlar kirishi natijasida sodir bo‘ladigan singari bir qator himoyaviy jarayonlarni kuchayishi kuzatiladi. Bu flavonoidlar, fenollar, xitinazalar, kallozalar, peroksidazalar va boshqa biologik faol moddalar sintezining tezlashishidir. Biroq tugunaklarda bu reaksiyalar patogenlar bilan zararlanish singari kuchli emas, shuning uchun ham bu reaksiyalarning natijasi mikroorganizmlarning faolligini butunlay to‘xtatishda emas, balki ularni metabolitik faolliklarini hamda ko‘payish jarayonlarining boshqariluvida kuzatiladi. Bu simbiotik tizimni rivojlanish jarayonida bakteriyalar bilan o‘simliklarning himoya tizimlari orasida nozik o‘zaro muvofiqlashgan ta’siri borligi bilan bog‘liqdir. O‘zaro munosabatlarning muvozanatlashuvi rizobiylardagi bir qator genlarning xo‘jayin o‘simlik himoya tizimi bilan munosabatlari orqali ifodalanadi. Mazkur genlardagi mutatsiyalar simbioz taraqqiyotini to‘sib qo‘yadi, natijada odatdagi tugunaklar o‘rniga “psevdo - yolg‘on tugunaklar” hosil bo‘ladi, ular bakteriya hujayralari va infeksiya iplarini saqlamasdan, shakllanmagan to‘qimalar bilan to‘lgan bo‘ladi (bunday mutantlarning fenotipi $Nod^{+}Inf^{-}$ belgilar bilan belgilanadi). Xo‘jayin organizm bilan “munosabatni aniqlash” ga javobgar bakteriya genlari orasida eng yaxshi o‘rganilganlari hujayra sathidagi turli komponentlar – ekzopolisaxaridlar va halqali glyukanlar sintezini kodlaydigan genlar hisoblanadi. Mazkur genlar bo‘yicha mutantlar dastlab koloniyalarni morfologiyasi o‘zgarishlari, hamda, fluoressiyalovchi bo‘yoq-kalkofluorni adsorbsiya qilish xususiyatiga ega bo‘lmasligi bo‘yicha tanlab olingan edi. Rizobiylarning ancha chuqur o‘rganilgan, o‘simlik himoya tizimalari bilan o‘zaro munosabatiga javobgar molekulyar bu - hujayra sirtqi komponentlaridan biri - kislotali ekzopolisaxarid yoki auksinoglyukan (EPS-1) hisoblanadi. Beda o‘simligi rizobiylari (*Rhizobium meliloti*) da uning sintezi 20 dan ortiq yexo-genlar bilan nazorat qilib turiladi. Bu exogenlarning katta qismi mazkur bakteriyalarda mavjud bo‘lgan 2 ta megaplazmidalarning birida klaster bo‘lib joylashadi. Bir qator yexogenlarni birlamchi strukturasi va ularni ekspressiya mexanizmi aniqlangan bo‘lib, bu EPS-1 sintezining bir qadar to‘liq chizmasini yaratish imkonini beradi. U o‘z ichiga:

- old avlodning shakllanishi,
- ulardan monomerlar (sakkiz monosaxarid qoldiqlaridan tashkil topgan) sintezi,
- ularning modifikatsiyasi (suksinil, piruvil va atsetil guruhlarning birikishi),
- polimerizatsiya va periplazmaga ko‘chib o‘tish kabi jarayonlarni o‘z ichiga oladi.

Dukkakli o‘simliklar himoya tizimlari orqali amalga oshiriladigan simbioz taraqqiyotining boshqariluvi endosimbiont mikroorganizmlar rivojlanishini nazorat qilishda o‘simliklarga yordam beradigan mexanizm turli tumanligini istisno etmaydi. Shuningdek dukkakli o‘simliklargagina xos tugunak hosil bo‘lishi avtoregulyatsiyasi mexanizmlari katta qiziqish uyg‘otadiki, ular o‘simliklarda ortiqcha tugunaklar hosil qilishni oldini oladi, bu esa o‘z navbatida simbioz jarayonida hamisha tanqis bo‘lgan

energiyani tejash imkonini beradi. Dukkakli o‘simliklar tugunak hosil bo‘lishining birmuncha qat’iy avtoregulyatsiya qilish xususiyatiga egaki, u sistemaviy xarakterga ega bo‘lib, yer ustki qism vositasida amalga oshiriladi.

Ko‘plab dukkaklilarda tugunak hosil bo‘lishi avtoregulyatsiyasi buzilishi bo‘yicha mutantlar olingan. Ularni tanlab olishda o‘ta ko‘p tugunaklar hosil qilish ($Nod^{++}$) fenotipik belgisi, ya’ni tugunaklarni «yovvoyi tipga» nisbatan 2-10 barobar ko‘p hosil qilish xususiyatiga ko‘ra tanlab olinadi. Odatda bunday mutantlar dastlabki o‘simliklarda simbioz taraqqiyotini to‘xtatadigan nitratlarning yuqori dozalari ishtirokida ko‘plab tugunaklar hosil qiladi (Nts-fenotipi – Nitrate tolerant symbiosis). $Nod^{++}$ mutantlarda umumiy nitrogenaza faolligi (bitta o‘simlikka nisbatan hisoblanganda) oshgan bo‘lsa, o‘ziga xos bo‘lgan nitrogenaza fermentini faoligi (tugunaklar massasiga nisbatan) kamaygan bo‘ladi.

Shuni ham ta’kidlash lozimki, ko‘plab $Nod^{++}$ mutantlarda o‘simliklarning yer ustki massasining pasayishi kuzatiladi. Bu energiyaning katta qismini juda ko‘plab azotfiksatsiya qiluvchi tugunaklarga sarflanishi bilan izohlanadi. Shunday qilib, mazkur mutantlar misolida endosimbiontlarning miqdorini nazorat qilish o‘zaro munosabatning mutualitik xarakterini saqlab turishda muhim shart-sharoit ekanligi oydinlashadi. Agar bunday nazorat kamaytirilsa, garchi asosiy biokimyoviy jarayon, ya’ni simbiozning asosi ($N_2$ ning o‘zlashtirilishi) buzilmasada, sheriklarning o‘zaro munosabati parazitizmga o‘tishi mumkin.

***Azotning o‘zlashtirilishi***. Simbiozning yakunlovchi bosqichi, ya’ni rizobiylarning faol azot o‘zlashtirishi va jarayon mahsulotini o‘simlikka eksporti ko‘plab dukkakli o‘simliklarda bakteriyalarning endotsitozi hamda bakteroidlarning shakllanishidan so‘ng boshlanadi. Bakteroidlarda nitrogenaza fermenti sintezi faollashib, u umumiy oqsilning 30% ni tashkil qilishi mumkin. Biroq nitrogenazaning hosil bo‘lishi tugunaklarning simbiotik azotfiksatsiya jarayonini ifodalaydigan asosiy, lekin yagona jarayon emas. Jarayonning boshqa xil ahamiyatlilari sifatida: nitrogenazaning molekulyar kisloroddan himoya tizimini shakllanishi, nitrogenaza kompleksini energetik ehtiyojlarini qondirish va azotfiksatsiya mahsulotlari assimilyatsiyasini ko‘rsatish mumkin.

Bu jarayonlarning barchasi o‘simlik va bakteriyalar bilan birga amalga oshiriladiki, bunda simbiozning sheriklari o‘rtasida strukturaviy va funksional uyg‘unlashuvni ta’minlanadi.

Boshqa azot o‘zlashtiruvchi mikroorganizmlar singari rizobiylarda, nitrogenaza oqsili tarkibini kodlaydigan nif NDK genlari, shuningdek uning kofaktorlari shakllanishi, sintezning boshqarilishi va yetilishini belgilaydigan boshqa xil nif-genlar mavjud.

Rizobiylarda va simbiotik bo‘lmagan azotfiksatorlarda nitrogenaza tarkibi genlari transkripsiyasi nif A genlari orqali faollashadi.

Shu bilan birga rizobiylarda simbiotik azotfiksatsiya uchun xos bo‘lgan, ya’ni fixL, fixJ va fixK genlardan tashkil topgan boshqaruv tizimi aniqlangan. FixLJ genlari ikki komponentli regulyator tizimi (fixL membrananing oqsil-sensori, kinaza va fosfataza faolliklariga ega, fixJ –transkripsiyaning sitoplazmatik fosforillangan regulyatori) ni kodlaydilar.

Bunday boshqaruv tizimining faolligi faqat mikroaerofil sharoitlarda amalga oshadi, chunki FixL $O_2$ sensori vazifasini bajaradiki, bu esa faqat gen ishtirokidagina amalga oshadi. FixK oqsili Crp-Fnr oilasiga mansub bo‘lgan transkripsion regulyatordir.

32-jadval

**Simbiotik azotfiksatsiyani ta’minlaydigan asosiy biokimyoviy jarayonlar**

| Jarayonlar | Sheriklarning xissasi | |
|---|---|---|
| | Mikrosimbiont | xo‘jayin |
| Nitrogenaza jarayoni biogenezi | Nitrogenazaning kofaktorlari va oqsillari sintezi (nif-genlar), regulyator kaskadi (FixL J + FixK) shakllanishi | Nitrogenaza genlarining boshqa-rilishi ehtimoli (turli o‘simliklarda nifgenlar induksiyasining o‘ziga xosligi to‘g‘risidagi dastlabki ma’lumotlar mavjud) |
| Nitrogenazaning kisloroddan himoyalanishi | Ikki komponentli regulyator tizimi FixL J va transkripsion aktivator nif A | Leggemoglobin oqsili va kislorodli to‘siq |
| Tugunak energetik ehtiyojlarining qondirilishi | Dikarbon kislotalar (dctgenlarning) bakteroidlarga transporti, tugunakka xos sitoxromoksidaza $cbb_3$ (fix NOPA, fix GHIS-genlari) ning sintezi | Ko‘p miqdordagi fotosintat (saxaroza) larning tugunaklarga tomon transporti, S-metabolizmining tugunakka xos izofermentlari sintezi |
| Azotfiksatsiya mahsulotlari assimilyatsiyasi | Ammoniyning o‘simlik hujayrasiga eksporti (qisman alanin shaklida) | N-metabolizmning tugunakka xos izofermentlari sintezi |

Rizobiylarda azotfiksatsiyani boshqaruv tizimi, nitrogenazaning tarkibiy genlaridan tashqari, dctABD (ular azotfiksatsiya jarayonining asosiy energiya manbayi bo‘lgan dikarbon kislotalarning bakteroidlarga transportini kodlaydigan), fix NOPQ va fix GHIS (bakteroidlarning nafas zanjirida elektronlar transportini ta’minlaydigan $cdd_3$ tipdagi bakteroid sitoxromoksidazasi sintezini kodlaydigan) genlarning ekspressiyasini va genning biosintezini nazorat qiladilar.

Simbiotik bo‘lmagan azotfiksatorlar rizobial tizimi nifgenlarning bog‘langan azot bilan repressiyasi uchun javobgar, ya’ni Klebsiedlaning nifl geniga xos bo‘lgan elementlarni saqlaydi. Bu tugunaklardagi azotni o‘zlashtirish jarayoni bog‘langan azot miqdori oshiqcha bo‘lgan sharoitlardagina amalga oshishi bilan bog‘liq, tugunaklarning hosil bo‘lishini va bog‘langan azot miqdori me’yoridan ortiq bo‘lganda azotfiksatsiya jarayonini boshqarishni esa xo‘jayin-o‘simlik boshqaradi.

Tugunak faoliyati uchun zaruriy sharoit unda anaerob muhitning saqlab turilishidir, chunki bakteriyalar tomonidan sintezlanadigan nitrogenaza kislorod ta’sirida tez va qaytmas darajada inaktivatsiyalanadi. Biroq oksidlangan fosforillanishning yuqori intensivligidagina anchagina ko‘p miqdorda energiya talab qiladigan azotfiksatsiya jarayoni sodir bo‘ladi, uning uchun bakterial sitoxromoksidazalarga $O_2$ ning katta miqdori kelib tushishi zarur. Ikkala sheriklar genetik tizimlarining muvofiqlashgan faoliyati natijasida hosil bo‘lgan “kislorodli paradoks” masalasi yechiladi. Bakteriyalarda nitrogenaza sintezining kislorodga sezgirligi FixLy va Nif A genlari darajasida amalga oshiriladi. O‘simliklar shuningdek “kisloroddan himoyalanish”ning azotfiksatsiyadagi ikki xil mexanizmiga ega:

a) tugunaklarning qoplovchi to‘qimalarida, ya’ni bu yerda kisloroddan himoyalovchi vosita po‘stloq hisoblanadi, ko‘p komponentli diffuzion barer;

b) kislorodni bog‘lab va simbiosamolarga tashilishini ta’minlaydigan gemoglobinsimon oqsil – legoglobin (u tugunaklarning umumiy oqsillarini 30%gacha miqdorini tashkil etadi).

Uzoq vaqt legoglobin sinteziga simbiozning molekulyar darajadagi yaqqol ko‘rinishi sifatida qaralgan. Dastlab, legoglobinni polipeptidli (globin) qismi o‘simlik genlari, gen qismi – mikrosimbiont genlari bilan kodlanadi deb, hisoblab kelingan. Bu fikr rizobiylarning azotfiksatsiya qilish xususiyatiga ega bo‘lmagan mutantlari, ya’ni gen yoki uning oraliq shakli, aminolevulin kislotasi sintezi defekti to‘g‘risidagi ma’lumotlarga asoslangan edi. Biroq, keyingi tadqiqotlarni ko‘rsatishicha, legoglobinning ikkala qismi ham o‘simlik hujayralari tomonidan sintezlanar ekan. Tugunaklarda joylashgan bakteroidlar ham gemni sintezlaydi, lekin uning azotfiksatsiyadagi ishtiroki sitoxromlar biogenezi, ya’ni nitrogenazaga elektronlar transportini ta’minlashdangina iborat bo‘ladi. Dukkakli o‘simliklarda legoglobin sintezi birikkan bir nechta Lv genlari oilasi ishtirokida kodlanadi. Hozirgi vaqtda mazkur genlarning strukturaviy – funksional tashkillashuvi o‘rganilgan: intron – ekzon strukturasi aniqlangan, promotorlar kodlaydigan va kodlamaydigan qismlarning joylashuvi o‘rganilgan. Lb-genlarning tugunaklarga ekspressiyasi, ko‘p hollarda, ikkala sheriklarning regulyator signallariga asoslanadi. Bu haqida ba’zi bakterial promotorlarga gomologik va signal molekulalarga nishon bo‘lib xizmat qiladigan, o‘simliklar hujayralariga bakteriyalardan kelib tushadigan mazkur genlar ketma-ketliklarining promotorlarda bo‘lishi dalolat beradi. Shuningdek, legoglobin genlari promotorlari bilan munosabatga kirishadigan, bakterial DNKni bog‘lovchi oqsillarni ham aniqlashga erishilgan. Endosibiotik bakteriyalarda tugunaklardagi mikroaerofil sharoitlarga bog‘liq ravishda intensiv nafas olish (busiz simbiotik azotfiksatsiyaning yuqori faolligiga erishib bo‘lmaydi) va nitrogenazaning faol ishlashi kabi jarayonlarni mutanosiblashtirish muammosi turadi. Bu rizobiylarda tarmoqlanib ketgan elektron transport zanjiri borligi tufayli ta’minlanadiki, unda ba’zi komponentlar aerob sharoit (explanta) da ishlasa, ba’zilari anaerob (mikroaerofil) sharoitlarda, shuningdek tugunaklarda faoliyat yuritadi. Simbioz uchun bu zanjirlarda fixNODA va fix GHIS genlari kodlaydigan sitoxromoksidaza

(QM)$v_3$ muhim rol o‘ynaydi. Bu genlardagi mutatsiyalar simbiotik azotfiksatsiyani izdan chiqaradi, lekin erkin yashovchi bakteriyalarning nafas olish faolligiga ta’sir ko‘rsatmaydi. Ammo, rizobiylarni sitoxromoksidazalar shakllanishini izdan chiqaradigan mutatsiyalari simbiotik azotfiksatsiyaga ta’sir o‘tkazmaydi.

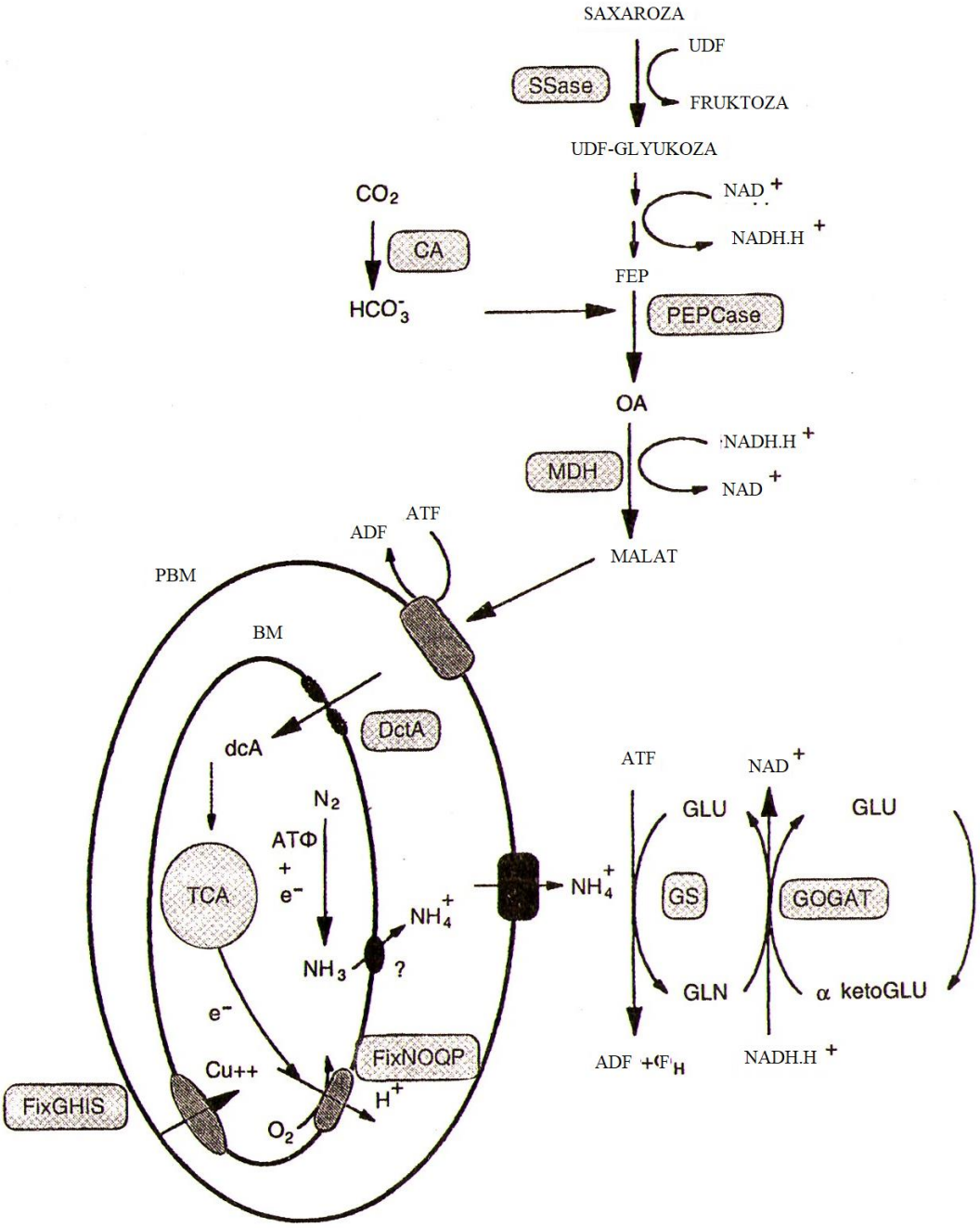
Simbiotik azotfiksatsiyaning asosiy energiya manbayi o‘simlikning yer usti qismlarida amalga oshiriladigan fotosintez jarayonidir. Fotosintatlar tugunaklarda saxaroza shaklida transport qilinadi. Shundan so‘ng o‘simlik saxaroza katabolizmini anaerob bosqichi (glikoliz) ni amalga oshiradi, bu jarayon natijasida nisbatan ko‘p bo‘lmagan miqdorda energiya ajralib chiqadi. Mikrosimbiontning ulushiga katobolizmning anchagina energetik samarador qismi – uch karbon kislotalar halqasi (UKH) ni amalga oshirish to‘g‘ri keladi.

Bakteroidlarga xo‘jayin – o‘simlikdan tushadigan asosiy uglevodlar $C_4$ dikarbon kislotalari (asosan suksinat va malat) hisoblanadiki, ular UKH da bevosita ishtirok etadilar. Shuning uchun bakteroidlarning nitrogenaza tizimi intensiv faoliyati bakteroidlarga dikarbon kislotalarni tashilishini ta’minlaydigan genlar bilan ma’lum darajada bog‘liqdir. Bu jarayonda uchta gen dct A (membranaviy suksinat permeazani kodlaydigan), dct B va dct D (dctA transkripsiyasini belgilaydigan, ikki komponentli regulyator tizimni kodlaydigan) genlari asosiy o‘rin egallaydi. Dct B oqsili sensor hisoblanib, u bakteroidlar membranasiga joylashib olib dikarbon kislotalar mavjudligiga sezgirdir. Dct D geni esa Dct A geni promotori bilan munosabatga kirishib, unga RNKpolimerazaning o‘rnashishini osonlashtiradi. Shuni ta’kidlash lozimki, dikarbon kislotalar transporti tizimi simbiotik azotfiksatsiyaning intensivligi miqdorini belgilaydigan “nozik nuqta”lardan biridir. Bu haqda azotfiksatsiyaning faolligi va simbiozning samaradorligini rizobiylarga dct-genlarini qo‘shimcha nusxalarini kiritish orqali sezilarli darajada oshirish mumkinligi dalolat beradi. Tugunaklarning energetikasi xo‘jayin-o‘simlik tomonidan Smetabolizmining tugunakka xos ferment izoformalari sintezi tufayli ta’minlanadi. Ular orasida saxarozani uridindifosfat ishtirokida gidrolizlaydigan saxarosintetaza (SS) markaziy o‘rinlardan birini egallaydi. Soya tugunaklarida saxarosintetaza oqsillari umumiy miqdorning 3-4%ini tashkil etadi. Gidroliz natijasida hosil bo‘lgan geksoza (glyukoza va fruktoza) katabolizm odatdagi yo‘li – glikolizga uchraydi. Bunga alternativ bo‘lgan pentozofosfatli halqa tugunaklarda ikkilamchi darajada ahamiyatli bo‘lsa ajab emas. Tugunaklarda azotfiksatsiya miqdorini belgilaydigan asosiy omillardan biri tugunaklardagi uglerod miqdori bo‘lganligi uchun fosfenolpiruvatkarboksilazani (RERS) katalizlaydigan $SO_2$ ning nofotosintetik (qorong‘idagi) o‘zlashtirilishi muhim ahamiyat kasb etadi:

$$\text{fosfenolpiruvat} + CO_2 = \text{malat}$$

Bu reaksiya bakteroidlarga malat va boshqa energetik substratlar tarkibidan tushadigan uglerod atomining 25% iga yaqin miqdori manbasi hisoblanadi. Shunday qilib, RERS faoliyati tufayli tugunaklarda faol kechadigan, nafas olish jarayonida ajralib chiqadigan karbon kislotalarning asosiy qismi retsikliga uchraydi. Tugunaklarga tushadigan C-birikmalari azotfiksatsiya uchun faqat energiya manbayi

bo‘libgina qolmay, balki fiksatsiya qilingan azotning assimilyatsiyasi uchun uglerodli “skelet” vazifasini ham o‘taydi.




**56-rasm**. Azot o‘zlashtiruvchi simbiozlar hosil bo‘lishida hamkorlar metabolitik integratsiyasi (bunda: SSase-saxarozosintaza, FEP - fosfoenolpiruvat; PEPCase – fosfoenolpiruvatkarboksilaza; OA – oksaloatsetat; MDH-malatdegidrogenaza; DctA-suksinatpermeaza, GS-glutaminsintetaza; GOGAT - glutamatsintaza; dcA-dikarbon kislota (suksinat, malat); TCA-uchkarbonkislotalar sikli; GLU-glutamin; GLN-glutamat;, αketoGLU-α-ketoglutarat; FixGHIS va FixNOQP - kislorodga maxsusligi yuqori bo‘lgan bakterioidga xos sitoxromlar, PBM – peribakterial membrana; BM – bakteroid membranasi)

33-jadval

**Azotfiksatsiya qiluvchi tugunaklarga xos o‘simlik fermentlari**

| Fermentlar | O‘simliklar | Tugunaklarda faollikni oshiradigan mexanizmlar |
|---|---|---|
| Uglerodli almashinuv | | |
| Saxarosintetaza | Soya | Yangi izo shakl (nodulin N-100) sintezi |
| Malatdegidrogenaza | Bo‘ri dukkagi, no‘xat | Yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi |
| Alkogoldegidrogenaza | Beda | To‘rt xil yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi |
| Laktatdegidrogenaza | Beda | To‘rt xil yangi izo shakl (nodulinlar) sintezi |
| Fosfoenolpiruvatkarboksilaza | No‘xat, dukkaklar, loviya, beda, bo‘ri dukkagi | Yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi |
| Fosfofruktokinaza | Bo‘ri dukkagi | Nst-shakllar sintezining kuchayishi |
| Azotli almashinuv | | |
| Glutaminsintetaza | Loviya, beda, no‘xat, soya | Yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi |
| NADH ga bog‘liq glutamatsintaza | Loviya, bo‘ri dukkagi | Yangi izoshakl (nodulinlar) sintezi yoki Nst-shakllar sintezining kuchayishi |
| Asp-aminotransferaza | Beda, no‘xat, bo‘ri dukkagi | Nst-shakllar sintezining kuchayishi |
| Gln ga bog‘liq asparaginsintetaza | Bo‘ri dukkagi, soya, beda, dukkaklilar, no‘xat | Nst shak AS1 va AS2 sintezi kuchayishi |
| Urikaza | Soya, loviya | Yangi izoshakl (nodulin) sintezi |

Azotfiksatsiya jarayonida hosil bo‘lgan ammoniy bakteroidlardan tugunaklarga o‘simlik hujayralari sitoplazmasiga erkin shaklda yoki alanin tarkibida (bakterial alanin – degidrogenaza faolligi natijasida hosil bo‘ladi) kelib tushadi. O‘zlashtirilgan

azot o‘simlik hujayralari metabolizmiga o‘tadi. Bunda azotning dastlabki assimilyatsiyasi (ammoniyning hujayra membranasiga kirishi), o‘zlashtirilgan (tugunaklardan ildizning o‘tkazuvchi qismiga o‘tadigan) azotning transport shakllarining hosil bo‘lishi va o‘zlashtirilgan azotning translokatsiyasi (uning o‘simlik turli a’zolari o‘rtasida qayta taqsimlanishi) farqlanadi. Azotni o‘zlashtirishga olib keluvchi, simbiotik munosabatlar – ammiak hosil bo‘lishini eng samarali biologik yo‘li hisoblanadi. Mana shu jarayonni boshqarish, unga ta’sir ko‘rsata bilish, oziq-ovqat mahsulotlari yetishtirish muammolarini yechishda katta rol o‘ynaydi. Yuqorida keltirib o‘tilgandek, azotfiksatsiya jarayonini samaradorligini oshirish, undan foydalanish doirasini yanada kengaytirish uchun shu jarayonni olib boruvchi bakteriyalarni genetikasini yanada chuqurroq bilishni talab qiladi. Bu esa o‘z navbatida simbiozni tabiiy tizimiga bog‘liq bo‘lib qolmasdan, kerakli o‘simliklar ishtirokida mana shu jarayonni (azotfiksatsiya jarayonini) tashkil qilish imkonini yaratadi.

Dastlabki assimilyatsiya va fiksatsiya qilingan azotning transport shakllari hosil bo‘lishida o‘simlik sintezlaydigan azotli almashinuvning tugunakka xos ferment formalari muhim rol o‘ynaydi. O‘simlik hujayralarida ammoniyning birlamchi assimilyatsiyasi “glutamatsintaza halqasi” glutaminsintetaza (GS) va NADH ga bog‘liq glutamatsintaza (NADH-GOGAT) fermentlari nazorati ostida kechadi. GS loviya o‘simligi tugunak bakteriyalaridan ajratib olingan bo‘lib, molekulyar og‘irligi bir xil – 40 kD bo‘lgan subbirliklardan tashkil topgan oktamer fermentdir. Bu fermentni uchta izofermenti ($GSN_1$, $GSN_2$, $GSL_2$) aniqlangan bo‘lib, ularning ikkitasi sitoplazmada, uchinchisi zararlangan o‘simlik hujayralari plastidalarida joylashgan. Bunda faqat $GSN_1$ gina tugunakka xos izoshakl (nodulin) hisoblanadi, aniqrog‘i uning subbirliklaridan faqat bittasidir. Tugunakka GS dan farqli o‘laroq, glutamatsintetaza halqasining ikkinchi fermenti o‘simlik hujayralari plastidalarida joylashgan NADH-GOGAT hisoblanadi. Shunday qilib, tugunak bakteriyalar hujayralarida glutamatsintaza halqasi fermentlarining tarqalishi, alohidalanishi (gs-sitoplazmada, NADH-GOGAT plastidalarda) aniqlangan. Ko‘plab ma’lumotlarning ko‘rsatishicha, fiksatsiya qilingan azot assimilyatsiyasi miqdorini belgilovchi bosqich aynan NADH-GOGAT tomonidan katalizlanadigan reaksiya hisoblanadi. Eng samarali tugunaklarda ham NADH-GOGAT fermentini faolligi yuqori emas. Ko‘pincha samarasiz tugunaklarda mazkur fermentning faolligini (shuningdek, uning m-RNKsini ham) ko‘pincha aniqlashga muvaffaq bo‘linmagan. Tugunak hosil bo‘lishida indutsirlanadigan beda va no‘xat tugunagining indutsirlanadigan NADHGOGAT fermentining molekulyar og‘irligi 200 kD dan ortiq birgina molekula sifatida qayd etilgan. Loviya tugunaklarida NADHGOGATning ikkita izofermenti sintezlanib, ularning bittasi tugunak stimulovchi hisoblanadi. Ko‘plab dukkakli o‘simliklar (masalan, beda va no‘xat)da glutamindan tashqari, mu’tadil iqlim mintaqalarida tarqalgan da azotning tashiladigan shakli amidlar, asosan – asparagin hisoblanadi. Bu dukkaklilarni “amidli” tipga kiritiladi. Boshqa dukkaklilar (loviya, soya, vigna) da azotning tashilishi ureidlar allatoin va allatoin kislota shaklida amalga oshiriladi. O‘zlashtirilgan azotning assimilyatsiya reaksiyalarini asosiylari simbiosomalar saqlaydigan hujayralarda kechadi. Bunda aspartatning oraliq

mahsuloti asparaginni hosil bo‘lish reaksiyasini katalizlaydigan aspartataminotransferaza (AAT) alohida rol o‘ynaydi. “Ureidli” tugunaklar metabolizmida urikaza fermenti muhim ahamiyat kasb etadi. U ureidlar biosintezining oxirgi bosqichlaridan biri – purinlar oksidlanganda hosil bo‘ladigan siydik kislotasining oksidlanishi natijasida allatoin hosil bo‘lishidir.

**O‘simliklarning sianobakteriyalar bilan simbiotik munosabatlari**. Azotni o‘zlashtiruvchi sianobakteriyalar bir qator o‘simliklar, jumladan, yopiq urug‘lilar, ochiq urug‘lilar, qirqquloqlar, yo‘sinlar va hatto bir hujayrali dengiz diatom suv o‘tlari bilan simbioz munosabatga kirishadi. Eng ko‘p o‘rganilgan endosimbiozlar seterotsistali sianobakteriya *Anabaena* (*Nostoc*) va suv qirqqulog‘i *Azolla*, shuninggdek, *Nostoc*ning gulli *Gunnera* va *Anthoceros* o‘simligi bilan munosabatidir. *Nostoc*- *Gunnera* simbiozi hujayra ichi simbiozga misol bo‘lsa, qolganlari – hujayra tashqarisi simbiozidir (*Azolla*da sianobakteriya barg yuzasida joylashsa, *Anthoceros* da tallomning ichki yuzasidagi bo‘shliqlarda bo‘ladi). Mikroorganizmlar bog‘langan azotsiz muhitda yorug‘likda ham (ya’ni minimal oziqa muhitida avtotrof C-li oziqlanish,), qorong‘uda ham (uglerod manbalari mavjud muhit, ya’ni geterotrof C-oziqlanish) diazotrof holda o‘sa oladi. Bu simbiotik sianobakteriyalarda azotfikatsiya bilan bog‘liq jarayonlarni genetik tahlil qilishda keng imkoniyatlar ochadi.

O‘simliklar uchun sianobakteriyalar bilan munosabatda simbiozga bog‘liqlik turli darajada ifodalanadi: *Azolla* uchun u obligat bo‘lsa, *Gunnera* va *Anthoceros* uchun – fakultativdir. Azotni o‘zlashtiruvchi sianobakteriyalar bilan simbiozlarning ba’zilari ekologik va qishloq xo‘jalik ahamiyatiga egadir. Sholi yetishtirishda “*Azolla-Anabaena*” tizimi azot manbayi sifatida yuqori samaradorlikka egadir. “*Nostoc-Gunnera*” simbiozini esa dukkakli bo‘lmagan o‘simliklarning katta hajmi uchun azotni o‘zlashtirishda simbiotik munosabat hosil qilish xususiyati berish uchun model sifatida qarash mumkin. *Anabaena*ni azotsiz muhitga ko‘chirib o‘tkazilganda ipi bo‘ylab tartibsiz joylashgan hujayralarining 10% geterosistlargacha differensirovkaga uchraydi. Bu hujayralar hajmi jihatdan yiriklashib, sitoplazmaga erkin kislorod o‘tishini to‘sib qo‘yadigan qalin qobiq bilan o‘raladi. Geterosistalarda fotosintez jarayoni bormaydi, natijada azotni o‘zlashtirish uchun mikroaerofil sharoit vujudga keladi. Bu sianobakteriyalarga aerob sharoitlarda ham azotni o‘zlashtirishga imkoniyat yaratadi. *Anabaena*da geterosistalarning shakllanishini nazorat qiladigan genlarning murakkab tizimi aniqlangan. Ular orasida hetR geni ko‘proq o‘rganilgan bo‘lib, uning genaktivatsiyasi geterosista hosil qilish xususiyatining yo‘qolishiga olib keladi. hetR geni bo‘yicha mutantlar azotsiz muhit mikroaerofil sharoitlarda o‘stirilganda azotni o‘zlashtira olsa, aerob sharoitlarda o‘zlashtira olmaydilar. Agar hetR genini ko‘p nusxali plazmidalar tarkibida amplifikatsiya qilinsa yoki “kuchli” promotor ta’siri ostida uning ekpressiyasi oshirilsa, ammoniy tuzlari mavjud oziqa muhitlarida ham geterosista hosil qilishi kuchayadi. *Anabaena* shtammiga ko‘p nusxali hetR genini kiritish orqali qo‘shimcha geterosistalar hosil bo‘lmaydigan transpozon mutantlarini olish mumkin. Mazkur mutantlarda transpozon insersiyalari pat A va patB genlarida joylashgan. pat A genidagi mutatsiyalar hujayra ixtisoslashuvi jarayonlarining noan’anaviy buzilishlariga olib keladi: geterosistalar hujayra zanjiri oxirlaridagina hosil bo‘ladi. Gen mutatsiyalari geterosistalar hosil

bo‘lishini to‘xtatib qo‘yishga olib keladi: agar *Anabaena* 7120 “yovvoyi” shtammida bu hodisa azotsiz muhitga olib o‘tilgandan so‘ng 24 soat o‘tgach boshlansa, patB mutantlarida 48 soat o‘tib boshlanadi. Biroq mutant shtammlarni azotsiz muhitga bir necha marta ekilgandan so‘ng, yovvoyi shtammiga nisbatan geterosistalarning umumiy miqdori ortadi. patB mutatsiyasini pat A mutatsiyalar (yoki hetR geni bo‘yicha ko‘p nusxalilikni) birga qo‘shilganda sianobakteriya nobud bo‘ladi.

*Anabaena*ning ba’zi mutatsiyalari nitrogenazani kisloroddan himoya qila olmaydigan morfologik jihatdan normal geterosistalarni hosil qiladi. Shuning uchun mazkur mutantlarda mikroaerofil sharoitlarda azotfiksatsiya qilish xususiyati buzilmagan bo‘lsa, aerob sharoitlarda uni amalga oshirish mumkin emas. Bu mutatsiyalar yordamida geterosistalar hujayra devorida glikolipidlar to‘planishini nazorat qiladigan hglB, C, -D, -K genlari oilasi aniqlangan. Taxmin qilinishicha, bu genlar $O_2$ ning geterosistalarga diffuziyalanishiga to‘sqinlik qiluvchi, hujayra devori glikolipidlari tarkibiga kiradigan moy kislotalari sintezini kodlaydilar.

*Anabaena*ning azotfiksatsiya qilishga o‘tishi, $CO_2$ ni fiksatsiyasini nazorat qiluvchi genlar repressiyasi bilan kuzatiladi, buning natijasida geterosistalarda molekulyar $O_2$ ajralib chiqishi kamaya boradi. Bundan tashqari ammoniy assimilyatsiyalanishi uchun zarur azotli metabolizmning ba’zi genlari (masalan, glnA) faollashadi. Mazkur jarayon natijasida hosil bo‘lgan glutamin sianobakteriyalarining vegetativ hujayralariga transport qilinadi yoki xo‘jayin organizmiga o‘tkaziladi. Geterosistali sianobakteriyalarning azotfiksatsiya qiluvchi tizimining nodir xususiyati nitrogenaza sintezidan oldin nif genlarning qayta qurilishidir. *Anabaena*ning vegetativ hujayralarida nitrogenaza sintezi amalga oshishi mumkin emas, chunki nif D geni tarkibida DNK o‘lchami 11 m.j.n bo‘lgan bo‘lagi joylashgan. Bu bo‘lak endonukleazani kodlaydigan xisA geni saqlaydi. Geterosistalar differensirlanishida endonukleaza bo‘lak (fragmenti)ni aniq qirqib tashlaydi, shuning uchun nifD genining yaxlitligi tiklanib, xisA geni ekstraxromosoma holatiga o‘tadi. Shuningdek, xisA geni nif S va fdxN genlari oralig‘ida joylashgan o‘lchami 55 m.j.n bo‘lgan yana bir DNK bo‘lagi ekssiziyasini belgilaydi. Buning natijasida azotni o‘zlashtiruvchi geterosistalarda uchta alohida genlar guruhidan yettita gendan tashkil topgan va nitrogenaza kompleksini kodlaydigan yagona operon hosil bo‘ladi.

Shuni ham qayd etish lozimki, *Anabaena* geterosistalarida nif genlarning qayta qurilishi geterosistalar morfogenezini nazorat qiluvchi genlardan ma’lum darajada mustaqil ravishda amalga oshadi. het R geni bo‘yicha mutantlarda bu qayta qurilish anaerob sharoitlarda normal kechadiki, bu nitrogenaza faolligi induksiyasi jarayonida o‘z ifodasini topadi. O‘z navbatida nitrogenazaning strukturaviy genlari (nifDNK) ni inaktivatsiyalovchi yoki DNK (xisA) protsessini izdan chiqaradigan mutatsiyalar, azotni o‘zlashtirish xususiyatini yo‘qolishiga sabab bo‘ladi, lekin azotsiz muhitda geterosistalarning shakllanish xususiyati saqlanib qoladi.

Azotni o‘zlashtiruvchi sianobakteriyalarning o‘simliklar bilan simbiozi “*Nostoc-Gunnera*” tizimi misolida yaxshi o‘rganilgan bo‘lib, mazkur sistemaning tashkil topishi har ikkala sherik uchun fakultativ hisoblanadi. Bu organizmlarning o‘zaro munosabati o‘ta o‘ziga xos emas: *Gunnera*dan ajratib olingan *Nostoc* shtammlari nafaqat shu o‘simlik, balki ochiq urug‘li *Macrozamia*, pechenochnik –

*Anthoceros* va hatto *Peltigera* lishaynigi bilan ham simbioz hosil qila oladi. Shuningdek, *Nostoc*ning barcha izolyatlari ham simbiotik tizimni hosil qila olmaydilar. Sianobakteriyalar barg bandlari orasida joylashgan maxsus bezchalarda yashaydi. Bu bezlar papillalarga ega bo‘lib, ularning orasida o‘simlik to‘qimalari tubiga olib boradigan kanalchalar mavjud bo‘ladi. Bezchaga sianobakteriya shtammi kelib tushib qo‘shilishi bilan ikkala sheriklarda bir qator morfogenetik jarayonlar indutsirlanadi, ulardan birinchisi bezchalar tubiga faol kirib boradigan sianobakteriyalarning harakatchan shakllari – gormogoniylar (geterosistalar saqlamaydigan kichik havo vakuolalaridan tashkil topgan (qisqa) kalta ipchalar hosil bo‘lishidir. Simbiotik bezchalar ichiga kirib borgan sianobakteriyalar faol ko‘paya boshlaydi va o‘simlik hujayralarini zararlaydi. Sheriklarning o‘zaro aloqasi kuchli joylarda o‘simlik hujayra devori erib ketishi (lizisi) kuzatiladi. Shundan so‘ng endosimbiontlar o‘simlik hujayralariga kirib oladi, hujayra devorlari esa o‘zining yaxlitligini tiklaydi. O‘simlik hujayralari ichida sianobakteriyalar geterosistalarga qadar ixtisoslashib, ularda nitrogenaza faolligi indutsirlanadi. Endosimbiotik sianobakteriyalarda geterosistalar 60-80% gacha hujayra hosil qilsa, erkin yashovchilarda bu ko‘rsatkich 5-10% ni tashkil etadi. Erkin yashovchi sianobakteriyalarga xos harakatsiz spora (akinetlar) hosil bo‘lishi *Gunnera*ning simbiotik bezchalari ichida kuzatilmaydi. *Gunnera* bilan simbiozda sianobakteriyalar nitrogenaza reaksiyalari natijasida hosil bo‘lgan ammoniyni assimilyatsiya qilmaydi, balki ularni o‘simlik hujayralariga yetkazib beradi. Bu simbiotik tizimda (xuddi dukkaklilar va rizobiylar o‘rtasidagi simbioz kabi) ammoniyning birlamchi assimilyatsiyasini xo‘jayin amalga oshiradi.

O‘simliklarning azotfiksatorlar bilan simbiozi o‘simlik mikroorganizm munosabatining eng keng tarqalgan va chuqur o‘rganilgan shakllaridan biri hisoblanadi. Hosil bo‘lgan simbiozlar o‘zining asosiga ko‘ra ikki tomon uchun ham foydali (mutualistik) bo‘lib, biroq ba’zi sharoitlarda (muhitda bog‘langan azot miqdorining ko‘pligi, yetarli bo‘lmagan oziqlanish, genetik o‘zgarishlar) bu munosabatdan parazitizmga o‘tishi ham mumkin. Bundan tashqari dukkaklilarning rizobiylar bilan munosabati mexanizmlari o‘simliklar bilan fitopatogenlar munosabatiga o‘xshash umumiy bosqichlarga ega. Shunday qilib azotfiksatsiyalovchi simbiozlarni o‘rganish Anton De Bari taklif etgan simbioz konsepsiyasining to‘g‘ri ekanligini tasdiqlaydi. Bu olim “simbiozning asosiy belgilovchi xususiyati uning foydali yoki zararliligida emas, balki sheriklar orasidagi aloqaning uzoq davom etishidadir” deb hisoblashni taklif etgan. Bunday yondashuv simbiotik tizimlarni organizmdan tashqari mu’tadil kompleks sifatida, ya’ni bu tizimga kirgan organizmlar erkin yashagan holatida ega bo‘lmagan yangi ekologik va metabolitik imkoniyatlarga erishadilar, degan qarashni yuzaga keltiradi. Ikki xil tipdagi azotni o‘zlashtiruvchi tizimlar – dukkakli-rizobial simbioz va sianobakteriyalarning o‘simliklar bilan simbiozi genetik nazorati to‘g‘risidagi ma’lumotlarni taqqoslab ko‘rib, bu munosabatlarni tavsiflovchi qator umumiy belgilarni ko‘rish mumkin:

34-jadval

**Azotni o‘zlashtiruvchi o‘simlik-mikrob simbioz munosabati ikki xil tipini taqqoslanishi**

| Belgilar | Dukkakli rizobial simbioz | “Sianobakteriyao‘simlik” simbiozlar |
|---|---|---|
| Mikroorganizmlarga dastlabki o‘simlik signallari ta’siri | Nod-genlarning (o‘simlik flavonoidlari ta’siri ostida) faollashuvi | Harakatchan gormogoniylarning shakllanishi |
| Mikrosimbiantlarning sitodifferensiallashuvi | Faqat o‘simliklarda (bakteroidlar) | O‘simliklarda va toza kulturada (geterosistalar) |
| Nitrogenazaning kisloroddan himoyalanishi | Bakteriyalar bilan (Nif A va Fix J oqsillari) o‘simliklar bilan (legoglobin, tugunak to‘qimalarida diffuzion to‘siq) | Faqat bakteriyalar bilan (geterosistalar) |
| Nif genlar tashkillashuvining mikroblarni azotfiksatsiyaga o‘tishi bilan o‘zgarishi | Aniqlanmagan | Aniqlangan |
| O‘simliklardagi morfogenetik jarayonlarni mikrosimbiant tomonidan induksiyalanishi | Po‘stloq hujayralari mitotik reaktivatsiyasi yoki dukkakli o‘simlik ildiz boshlang‘ichining tugunakka qadar rivojlanishi induksiyasi | Simbiotik bezning o‘sishi |
| Mikrosimbiantning diazotroflik va fototroflik xususiyati | Odatda mavjud emas | Mavjud |
| Simbiozning ikkala sheriklar uchun ham zaruriyligi | Ikkala sheriklar uchun fakultativ | Mikroblar uchun fakultativ, xo‘jayin organizmlar uchun obligativ (*Azolla*) yoki fakultativ (*Gunnera*) |
| O‘zaro munosabatning o‘ziga xosligi | Dukkaklilar oilasida chegaralangan | *Nostoc* uchun yer usti o‘simliklari turli tiplarini o‘z ichiga oladi |

Birinchidan**,** simbiozning ikkala guruhi ham sheriklarning signal munosabatiga asoslanadi, signallar esa bevosita genlar ekspressiyasiga ta’sir ko‘rsatadi. Buning natijasida simbiotik tuzilmalarning morfogenezi va o‘simliklar bilan bakteriyalarning

metabolitik yuqori integratsiyasiga olib keladigan sheriklar genlarining muvofiqlashgan boshqariluvi hamda differensial ekspresiyasi kuzatiladi.

Ikkinchidan, har ikkala tizimda ham munosabatlarning tizimi – azotfiksatsiya va simbioz tuzilmalari taraqqiyoti turli gen tizimlari bilan nazorat qilinadi hamda ularni genetik usullar orqali alohida-alohida tahlil qilish mumkin Shu bilan birga ko‘rib chiqilgan tizimlar orasida qator farqlar mavjudligi ham ravshandir. Birinchi farq shundan iboratki, sianobakteriyalar azotni toza kulturada fototroflik bilan muvofiqlashtirgan holda o‘zlashtirsa, rizobiylarning ko‘pchiligi toza kulturada azotni o‘zlashtira olmaydi, fototrof ham emas. Shuning uchun ham sianobakteriyalarda azotfiksatsiya qiluvchi hujayra shakli – geterosist hosil qilish maxsus mexanizmi mavjud, unda fotosintez amalga oshmaydi, nitrogenazaning himoyasi esa qalin hujayra devori orqali ta’minlanadi. Sianobakteriyalarda geterosistalarning ixtisoslashuvini ta’minlaydigan murakkab genlar tizimi mavjud, u diazotrof yashashga moslanish orqali shakllangan bo‘lib, biroq simbiotik tizimda foydalaniladi. Rizobiylarda sitodifferensiallanish odatda faqat in planta holatida amalga oshib, nitrogenazaning kisloroddan himoyasi bilan bog‘liq emas. Azotfiksatsiya qiluvchi simbiozlarning kelib chiqishi va evolyutsiyasi haqidagi masala qiziqdir. So‘nggi yillarda dukkaklilarning simbiotik genlari molekulyar strukturasi haqidagi ma’lumotlar bu masalaga oydinlik kiritish imkoniyatini berdi. Masalan, lyadvinets (*Lotus japanicus*) da nif geni aniqlangan bo‘lib, undagi mutatsiyalar tugunaklarning hosil bo‘lmasligi (infeksiya iplari rivojini to‘sib qo‘yilishi) ga olib keladi, biroq o‘simliklarning boshqa a’zolari taraqqiyotiga ta’sir ko‘rsatmaydi. Bu genning oqsil mahsuloti azot yetishmasligi (azotli ochlik) sharoitida gametogenezni nazorat qiladigan Mid chalomy domonas omiliga gomologik bo‘lib chiqdi. Shunday qilib, mazkur gen simbiotik tizimda evolyutsion qadimgi, ya’ni metabolitik stress (azot yetishmasligi) ta’sirida amalga oshiradigan taraqqiyot jarayonlarini boshqarish vazifasini saqlab qolganligi aniqlandi. Shunga o‘xshash turli nodulinlar va Nst-oqsillari sintezi tizimlari ham evolyutsiyaga uchragan bo‘lishi mumkin.

Tugunaklar hosil qilmaydigan ko‘plab o‘simliklarda leggemoglobinni gomologlari aniqlangan bo‘lib, bu gen mahsulotlari leggemoglobin singari kislorodni bog‘lab olib, uning sensori vazifasini bajaradi. Deyarli barcha nodulinlarning gomologlari, shuningdek C- va N-li metabolizmning tugunakka xos fermentlari, tugunaklar hosil qilmaydigan o‘simliklarda aniqlangan yoki dukkakli o‘simliklarning yer ustki qismlarida faoliyat yuritadi. Bundan kelib chiqadiki, molekulyar genetik jihatdan simbioz evolyutsiyasini simbioz bilan bog‘liq bo‘lmagan funksiyalarni bajaradigan ansestral genlarni o‘simlik-mikrob munosabatlari boshqaruv tizimiga jalb etuvchi sifatida qarash mumkin. So‘nggi yillardagi muhim yutuqlardan biri azotfiksatsiyalovchi simbiozning arbuskulyar mikoriza bilan (ArbM) uzviy aloqasini aniqlanishi hisoblanadi. Dukkaklirizobial simbiozning taraqqiyoti va ArbM bir qator «umumiy» genlar orqali nazorat qilinishini formal va qator molekulyar genetik usullar yordamida kuzatilgan. Bu simbiozlar gomologik o‘simlik mahsulotlari, shu qatorda peribakteroid va periarbuskulyar membrana oqsillari, shuningdek ba’zi nodulinlar sintezi bilan davom etadi. ArbM va tugunaklarning hosil bo‘lishi bilan o‘simliklarni patogenlardan himoyalanishiga xos reaksiyalar sodir bo‘lishi alohida

ahamiyat kasb etadi. Ammo, boshqaruv xarakteriga ko‘ra bu reaksiyalar bir-biridan farq qiladi. Bu esa mikroorganizmlarning antogonizamda faolligini pasayishi va ular faolligini (miqdorining mutualizmdagi regulyatsiyasi) regulyatsiyasi bilan bog‘liq bo‘lishi mumkin. ArbM ning boshqa tipdagi o‘simlik-mikroorganizm munosabatlariga nisbatan qadimiyligini inobatga olib, o‘simliklarning dastlabki himoya vositalaridan biri in planta sharoitida endomikorizali zamburug‘lar rivojlanishini boshqarish bo‘lgan deb taxmin qilish mumkin. O‘simliklarning keyingi evolyutsion o‘zgarishlari natijasida bu tizimlar patogenlardan himoya vazifasi, hatto azotfiksatsiyalovchi simbiontlarni qo‘llab-quvvatlashni nazorat qilish vazifasiga ega bo‘lgan bo‘lishi mumkin. Tugunaklar hosil bo‘lishi va ArbM shakllanishi uchun rmumiy holat, shuningdek, retsepsiya genlari va zamburug‘larni hujayra devorining asosiy komponenti xitin oligomerlariga yaqin bo‘lgan rizobial Nod-omillarining protsessingi bo‘lishlari ham mumkin. Tugunak hosil bo‘lishini faollashtiradigan Nod-omillar, mikorizatsiyani ham mu’tadillashtiradi, dukkaklilarda Nod-omillarni parchalaydigan xitinazalarni sintezi rizobiylar bilan ham, ArbM zamburug‘lar bilan ham indutsirlanadi. Bu ma’lumotlar shuni ko‘rsatadiki, rizobiylar o‘simliklar bilan koevolyutsiya jarayonlarida mikorizali zamburug‘lar singari signal omillarni sintez qilishni “o‘rganib” olganlar. Shunday qilib, tugunaklar hosil bo‘lishini nazorat qiluvchi genetik tizimning sezilarli qismi o‘simliklarning ArbM zamburug‘lar bilan koevolyutsiyasi davrida paydo bo‘lgan. Shuning uchun ArbM hosil qilish qobiliyatini o‘simliklarning azotfiksatsiya qiluvchi simbiozga moslashuvdan oldingi asosiy holatlardan deb qarash lozim. Biroq dukkaklilar va rizobiylar koevolyutsiyasi jarayonida o‘zaro munosabatlarning yangi bosqichlari paydo bo‘ldiki, (ulardan eng ahamiyatlisi endotsitoz va avtonom simbiosomalarning shakllanishidir), ular sheriklarning chuqur funksional integratsiyasi va morfologik tizimlarining murakkablashuvini ta’minlaydilar. Simbiotik azotfiksatsiyaning barcha tizimlari uchun xos belgi, mazkur jarayonning intensivligi ikkala sheriklar genlari orqali muvofiqlashtirilishidir. Shuning uchun azotfiksatsiyalovchi simbiozlarni yaxshilash, boshqa xil o‘simlik-mikrob munosabat tizimlari singari mikroorganizm va o‘simliklar o‘rtasida muvofiqlashtirilgan gen muhandisligi va seleksion tadqiqotlar olib borishni taqozo etadi. O‘simliklar va bakteriyalarning kuchli integratsiyalashgan simbiotik genlari funksiyalari tashkillashuvini aniqlamasdan turib, simbiotik tizimni yaxshilash, hatto yangi simbiozlar hosil qilish to‘g‘risida so‘z ochish mumkin emas. Bu ma’lumotni inobatga olib o‘simlik-mikroorganizm azotfiksatsiyalovchi tizimda maksimal sinergetik samaraga erishib bo‘lmaydi. Hozirga kelib amalda samarador mikroorganizm va dukkakli o‘simlik navlarida optimal birga qo‘shilgan variantlari olingan. Yuqori spetsifik tanib olish xususiyatini hosil qilish o‘simliklarni metabolitik va himoya tizimlari bilan mikrosimbiontlarning o‘zaro mos kelishini yaxshilash yo‘lida jiddiy ishlanmalarni ishlab chiqish talab qilinadi. Ko‘plab simbiozlarning katta energiya talab qilishini inobatga olib, o‘simliklarni energiya bilan ta’minlash tizimlari, birinchi navbatda fotosintez apparati bilan endosimbiontlarning munosabatini tartibga keltirish, optimallashtirish masalasi dolzarb masala hisoblanadi. Bu boradagi fundamental va amaliy muammolarning yechimi turli soha mutaxassislari ishtirok etadigan sohalararo tadqiqotlar olib borishni taqozo etadi.

Tabiatdagi simbiotik tizimlarni o‘simlik va mikroblar borasida yuksak bilim va amaliy ko‘nikmalarga ega olimlar jamoasi – “ilmiy simbiozi” faoliyati natijasida o‘rganish mumkin. Bunday jamoalarning tashkil etilishi juda muhim vazifa bo‘lib, unda zamonaviy fanning barcha moliyaviy va tashkiliy imkoniyatlari ishga solinishi lozim bo‘ladi.

## 14§. CHORVACHILIKDA BIOTEXNOLOGIYALARDAN FOYDALANISH

**Qishloq xo‘jalik hayvonlarining ko‘payishini biotexnologik nazorat qilish**. Qishloq xo‘jalik hayvonlarining ko‘payishini biotexnologik nazorat qilish bir necha ususllar yordamida amalga oshiriladi.

*Hayvonlarning ko‘payishini endokrin nazorati*. Qishloq xo‘jalik hayvonlarini ko‘payish biologiyasini o‘rganish, ayniqsa, endokrinologiyada oxirgi 40-45 yil mobaynida erishilgan muvaffaqiyatlar bu jarayonini biotexnologik usullar yordamida boshqarish imkoniyatlarini yaratdi. O‘tgan asrni birinchi yarmida hayvonlarning ko‘payish fiziologiyasini o‘rganishda erishilgan eng katta muvaffaqiyat gipofiz bezini oldingi qismini vazifalarini aniqlanishi bo‘ldi, desak xato bo‘lmaydi. Bu sohani o‘rganish natijasida yaratilgan bir qator yangiliklar gipofiz bezining oldingi qismida organizmda o‘tadigan qaror biologik jarayonlar to‘g‘ridan – to‘g‘ri yoki uning boshqa organlarga ta’siri orqali boshqarib turilishini isbotlab berdi. Bugungi kunda jinsiy bezlarni rivojlanishi va ularni funksiyasi gipofiz bezini oldingi qismida sintez bo‘ladigan gonadostimulyatorli xususiyatiga ega bo‘lgan gormonlar (turkum hujayralarini sekretsiyasini boshqarib turuvchi gormonlar) bilan bog‘liq ekanligi tasdiqlangan. Sut emizuvchilarni gipofizini oldingi qismida jinsiy bezlarni faoliyatini boshqarib turadigan 3 ta gormon ishlab chiqariladi. Bular: follikulalarni mu’tadillashtiruvchi gormon (FMS), lyuteinlashtiruvchi gormon (LG) va prolaktin yoki lyuteinotrop gormon (LTT). Prolaktin yoki lyuteinotrop gormonni faqatgina kemiruvchi hayvonlardagina lyuteinotrop (etilgan tuxum hujayrasini tuxum folikulasidan chiqishini chaqirilishi) ta’sir ko‘rsatishi aniqlangan. Urug‘langandan keyingi dastlabki 6-8 kunda sigirlarni qonida LG miqdori uncha yuqori bo‘lmaydi. Keyin bu ko‘rsatkich doimiy ravishda ko‘tarilib boradi. Bu jarayon LG ni gipofizda oshib borishi bilan parallel ravishda sodir bo‘ladi. Ammo bu gormonni to‘planish tezligi gipofizda sigir qonidagi miqdorga nisbatan balandroq bo‘ladi. Gipofizda LG ni tezroq to‘planishi, yoki uni miqdorini gipofizda oshib borishi eng avvalo organizmning biologik talabidan kelib chiqib, yetilgan tuxum hujayralarini chiqishi bilan bog‘liq. Demak yetilgan, ya’ni, urug‘langan tuxum hujayrani tuxum follikulasidan chiqishi oldida gipofizdagi LG miqdori maksimumga ko‘tariladi. Gipofizdan ajraladigan ikkinchi-gonadotrop gormon FMG ni miqdori ham follikullari yetilishi bilan bir vaqtda sodir bo‘ladi. 7-10 kunlarda LG ni sekretsiyasi (ajralishi) 60-80 minutda qaytariladigan pulesimon shaklga o‘tib, bug‘oz bo‘lgan sigirlarda tuxum hujayralarini chiqish oldidagi holatga, bo‘g‘oz bo‘lmaganlarida esa unchalik ko‘p bo‘lmagan darajada ko‘tarilish seziladi. Ilmiy adabiyotlarda, barcha hayvonlarda qo‘shiladigan kunda, ba’zilarida esa bu kundan avvalroq ham LG miqdorini oshishi kuzatilgani haqida bayon etilgan.

Qo‘ylarning qonlarida LG gormonini chiqish halqasi qo‘shilishdan keyingi dastlabki 12-16 soatda boshlanib, 8-10 soat davom etadi. Bu davrda uning miqdori dastlabki miqdordan 30-50 marotaba oshadi. Tuxum hujayralarini chiqishi LG miqdori eng yuqori nuqtaga chiqqandan so‘ng 21-26 soatlar orasida sodir bo‘ladi.

O‘tgan asrning ikkinchi yarmida gipofizni gonadotroplik (jinsiy gormonlarni sekretsiyasini boshqarib turish xususiyati) xususiyatini (vazifasini) nazorat qilib turuvchi, gonadotropik-rizling (GN-RG) gormoni ochildi. Gipofizning bu xususiyati quyidagicha amalga oshiriladi: gipotalamusning nerv tolalari oxiridan neyrogormonal moddalar ajralib, gipofizar oyoqchalar orqali gipofizning oldingi qismidagi siuslarga uzatiladi va shu tufayli gipofizar hujayralarni sekretsiya qilish faoliyatiga ta’sir ko‘rsatadi. Neyrosekretor hujayralar ham nerv ham endokrin faoliyatga ega bo‘lganliklari tufayli gipotalamusda boshlang‘ich nerv impulslarini efferent zanjirlarni gumoral qismiga tomon boshqarib yuboriladi.

Bugungi kunda GN-RG o‘nta aminokislotadan tashkil topgan dekapeptid ekanligi va barcha hayvonlarda bir xil ekanligi aniqlangan. GN-RG ning murakkab bo‘lmagan strukturaviy tuzulishga ega bo‘lishi va uni barcha hayvonlarda bir xil bo‘lishi tez orada uni kimyoviy sintez yo‘li bilan olishga imkon yaratdi. Rossiyada surfagon nomi bilan GN-RG ishlab chiqariladi va u hayvonlarda tuxum hujayralarni ajralishini boshqarish maqsadida ishlatiladi. XX asrda yaratilgan ulkan ilmiy ishlamalardan yana biri – prostaglandin F-2 a lyuteolitik omilning ochilishidir. Ko‘pgina olimlar tomonidan hayvonlar bachadonini olib tashlangandan keyin ham uzoq vaqt davomida sariq tana saqlanib qolishi kuzatilgan. Bu esa bachadonda litik faktorlar faoliyat ko‘rsatib turishlaridan guvohlik beradi. Lyuteolizin tuxumdon venasidan, unga yaqin o‘tgan tuxumdon arteriyasiga qaytarma tok mexanizmi bo‘yicha o‘tishi va arterial qon orqali to‘g‘ridan – to‘g‘ri tuxumdonga tushishi aniqlangan. Sigirlar, cho‘chqalar va qo‘ylar bachadonidan prostoglandin F-2a to‘lqinsimon shaklda chiqarilib turiladi. Bu to‘lqinni har biri bir necha soat davom etadi. Sariq tananing regressiyasi, odatda prostoglandin F- 2a ajralish boshlangandan so‘ng 2 sutka o‘tganda boshlanadi, qo‘shilishga talab esa sariq tana tanazzulidan 24-48 soat o‘tgach namoyon bo‘ladi.

*Hayvonlarning jinsiy davrini boshqarish.* Bir guruh hayvonlarni qo‘shilishga intilish davrini boshqarish usuli - qo‘shilishni bir-biriga mos ravishda olib borishdir. Bu esa chorvachilikni rivojlantirish uchun qator qulayliklar yaratadi. Eng avvalo sun’iy urug‘lantirish davrini anchaga qisqartiradi. Bu esa qo‘shilishga ketadigan vaqtni qisqartirishga, shu tufayli mehnat haqini kamaytirishga olib keladi. Bundan tashqari, bu usul tuxum hujayralarini yetilishini aniq vaqtini belgilashga imkon yaratadi, qo‘shilishga ishtiyoq bo‘lish-bo‘lmasligiga qaramasdan, sun’iy urug‘lantirishni ma’lum bir vaqtda o‘tkazish imkonini beradi.Oqibatda urug‘ni eskirib qolishdan asraydi, hayvonlarni urchitish bilan bog‘liq bo‘lgan sarf-xarajatlarni tejashga olib keladi.

Hayvonlarda qo‘shilishiga bo‘lgan ishtiyoqni uyg‘otish va yetilgan tuxum hujayralarni tuxumdon follikulasidan bir-biriga mos ravishda chiqarishda ikki asosiy yondoshuv ma’lum:

➢ Birinchi yondashuv – sariq tana faoliyatini to‘xtatish yoki uni butunlay olib tashlashga asoslangan. Natijada barcha guruh hayvonlar jinsiy davrning follikulyar fazasiga bir vaqtda kiradilar va shu tufayli bir vaqtda qo‘shilish ishtiyoqida bo‘ladilar. Bu maqsadni amalga oshirish uchun yuqorida keltirib o‘tilgan, omil lyuteolitik faktor=prostaglandin $F_{(2a)}$ (PGF-2α) dan keng foydalaniladi.

➢ Ikkinchi yondashuv – follikullarni rivojlanishini sekinlashtirishga asoslangan bo‘lib, bunda lyutein faza davrini sariq tanalar regressiyasi amalga oshmaguncha, sun’iy ravishda cho‘zib turiladi. Sekinlashtiruvchi farmakologik preparatni ta’sirini tugashi, follikullarni o‘sib, rivojlanishiga olib keladi va bir vaqtni o‘zida follikulyar faza davriga va nixoyat bir-biriga mos ravishda qo‘shilishga ishtiyoqqa va yorilgan tuxum hujayralarni follikullardan ajralishiga olib keladi. Buning uchun farmokologik agent sifatida progesteron yoki uning sintetik muqobili progestagendan foydalaniladi. Bu preparatlarni qabul qilgan barcha hayvonlarda, davrning qaysi fazasida bo‘lishlaridan qat’iy nazar bir necha kun orasida qo‘shilishga intilish paydo bo‘ladi.

35-jadval

**Sigirlarni urug‘lanish davri**

| **Qo‘shilishga intilish oldidagi davr** | **Qo‘shilishga intilish bilan harakatsizlanish refleksi namoyon bo‘lish vaqti** | **Follikullarda yetilgan tuxum hujayralarini ajralish davri (ovulyatsiya)** | **Tuxum hujayra hayotining davom etish davri** | |
|---|---|---|---|---|
| 6-10 soat | 18 soat | 10-14 soat tuxum hujayralarni ajralishi | 6-10 soat | |
| urug‘lanish uchun vaqtli | urug‘lanish mumkin | urug‘lanish uchun eng yaxshi vaqt | Urug‘lanish mumkin | Urug‘lanish vaqtidan o‘tgan |

Sun’iy urchitish (urug‘lantirish) natijalariga ta’sir etadigan yakkayu-yagona omil bu qo‘shilishga intiltirishdir. Qo‘shilishga intilish –18-24 kun orasida qaytarilib turiladigan sigir yoki g‘unojinni qisqa jinsiy talabidir. Sigir tuxum hujayrasi yetilib, tuxumdon follikulidan ajralib, tuxum (urug‘) o‘tkazgich voronkaga tushganda, u tez va to‘liq urug‘lanadi. Qochishga intilish paydo bo‘lgandan 10-14 soat o‘tgandan keyin, yetilgan tuxum hujayralari folikullardan ajraladi va bu jarayon o‘rtacha 18 soat davom etadi. Spermatozoidlar tuxum hujayralari bilan qo‘shilish qobiliyatiga ega bo‘lgunga qadar, bir necha vaqt ular sigirni jinsiy yo‘lida bo‘lishi kerak, ligini e’tiborga olsak, (bu jarayon fan tilida “Kapatsitatsiya” deb ataladi) urug‘lanish ovulyatsiyadan bir necha soat oldin sodir bo‘ladi. Demak, urchish sifatli o‘tishi uchun urug‘lanish, qo‘shilishga intilish davrining keyingi 2/3 qismida amalga oshishi maqsadga muvofiq bo‘ladi. Bu esa sigirlarni qo‘shilishga intilish davri

boshlangandan keyingi 24 soatni tashkil etadi. Qo‘shilishga hohishi bo‘lgan sigirlar yoki g‘unojinlarni tashqi ko‘rinishi ham o‘zgarib, ular tez harakatchan, buqalardan urchiydigan ahvolga tushib qoladilar. Urug‘lanishni optimal vaqtini aniqlash uchun 35-jadvalda keltirilgan ma’lumotlardan foydalanish mumkin.

Yuqorida aytib o‘tilganidek, urug‘lanishga (qo‘shilishga) intilish davrini bir-biriga mos qilishni asosiy yo‘llaridan biri sariq tananing faoliyat davrini qisqartirishdir. Bu maqsadda, yirik shoxli hayvonlar uchun prostaglandin preparatlari ishlatiladi. Jinsiy davr halqasini dastlabki kunlarida (1-5 kunlar) ya’ni sariq tana paydo bo‘lmaganda prostaglandinni foydasi bo‘lmaydi. Agar sariq tana jinsiy halqani oxirida o‘z faoliyatini yo‘qotsa, (18-21 kunlar) bunda ham prostaglandinlardan foyda yo‘q. Agar sigir yoki g‘unojinlarda sariq tana hosil bo‘lgan kunlar (asosan jinsiy halqaning 6-17 kunlari) prostaglandin yuborilsa, u sariq tanalarni regressiyasini (parchalanishini) chaqiradi, oqibatda mollarda qo‘shilishga ishtiyoq paydo bo‘ladi va ovulyatsiya dorilanganidan keyin 2-5 kun ichida sodir bo‘ladi. Odatda prostaglandindan bir yoki ikki marotaba foydalaniladi. Prostoglandinlardan bir martotaba ukol qilinganda, jinsiy halqadan 4-5 kun o‘tgan bo‘lsa, u barcha hayvonlarda qo‘shilishga intilish hisini o‘yg‘otadi. Sigirlarda qo‘shilishga intilish ukoldan keyin 48-72 soat o‘tgach, ovulyatsiya esa qo‘shilgandan keyin taxminan 20-24 soat o‘tganda sodir bo‘ladi. Shunday qilib, bir martotabalik ukoldan keyin urug‘lanish mumkin, sariq tana hosil bo‘lgan mollarni 2-3 kun mobaynida, qo‘shilishga intilish boshlanganda amalga oshirish mumkin. Prostoglandin ikki marotaba ukol qilinganda, ukollar orasi 11 kunni tashkil etishi kerak. Ikkinchi ukoldan 5 kun o‘tgach 90-95 % mollarda qo‘shilishga intilish paydo bo‘ladi. Hayvonlarni, odatda bir marotaba prostaglandin qabul qilgandan keyin 60-72 soatdan keyin, ikki marotaba ukol qabul qiladigan bo‘lsa 72 va 96 soatdan keyin urug‘lantirish tavsiya etiladi. Shuni ham aytib o‘tish lozimki, ikkinchi ukoldan keyin 76-80 soat o‘tgach, sigirlarda qo‘shilishga hohish uyg‘onmagan bo‘lsa ham ularni urug‘lantirish mumkin. Ko‘pchilik vaqtlarda, prostoglandin bir marta ukol qilingan sigirlarda 32-38 kundan keyin, ikki marotaba ukol qilinganlarida esa 20-26 kundan keyin qo‘shlishga ishtiyoq qaytariladi. Qo‘shilishga intilishni qaytarilish davrini rejalanishi va uni qisqa vaqt orasida aniqlanishi urug‘lantirishga ketadigan sarf xarajatlarni kamayishiga olib keladi. Qo‘shilishga intilishni bir-biriga monan o‘tkazishga ikkinchi yondoshishi, jinsiy halqani lyutein faza (bosqich) davrini uzaytirishga asoslangan bo‘lib, bu maqsadda yirik shoxli hayvonlar uchun progesteron yoki uning hosilalari ishlatiladi. Shunday preparatlardan biri Sinxromat-B. Bu preparatdan foydalanish quyidagicha amalga oshiriladi: eng avvalo sigirni qulog‘i tersining tashqi tomoni tagiga norgestamet (uni tarkibida sintetik progestagaen bo‘ladi) kiritiladi, (inplantatsiya qilinadi)keyin mushak orasiga 3 mg norgestamet va 6 mg estradiol valeriant yuboriladi. 9 kundan keyin quloq terisi tagiga qo‘yilgan inplantat olib tashlanadi. Oqibatda, barcha hayvonlar 24-36 soat orasida qo‘shilishga intiladilar. Inplantat olib tashlangandan keyin 48-54 soat orasida sigirlarda qo‘shilishga ishtiyoq uyg‘onmasa ham ularni urug‘lantirish mumkin bo‘ladi. Qo‘shilishga ishtiyoq uyg‘onishni yana bir yo‘li hayvonlar jinsiy organlari ichiga progesteron shimiltirilgan maxsus usqurma o‘rnatib qo‘yishdir. Bu usul

Rossiyada keng qo‘llaniladi va usqurmani “prid” deb nomlangan. “Prid” hayvonga 6 yoki 7 kun qo‘yib qo‘yiladi. Qo‘shilishga intilishni bir-biriga monand qilib o‘tkazish maqsadida, usqurmani olib tashlashdan 1-2 kun avval prostoglandin F-2 a yoki uni muqobillari ukol qilinadi. “Prid” olib tashlangandan keyin 3000 M.Ye SJK ukol qilinsa ham yaxshi natija ko‘rsatadi. Sigir va gunojinlarda tana poliovulyatsiyani kuchaytirish maqsadida ko‘plab gormonlardan foydalanish yo‘llari ham sinab ko‘rilgan. Ulardan eng ko‘p ishlatiladiganlari 2,5-3,0 ming birlikka ega bo‘lgan SJK dan foydalanishdir. Ma’lumki, baytallarga yuborilgan SJK ni yarim hayot davri 6 kunni tashkil etib, gisterektomiya usuli yordamida SJKda 2 ta kompleks borligi aniqlangan, ulardan birini yarim hayot o‘tish davri 40,0 – 51,2 soat, ikkinchisiniki 118,4-129,4 soatdir. SJK ning bu xususiyati hayvonlarda superovulyatsiya vaqtida bir marotaba yuborish bilan chegaralanish imkoniyatini bersada, uzoq vaqt ta’siri natijasida tuxumdon faoliyatiga salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Shuni ham eslab o‘tish lozimki, salbiy ta’sir nafaqat qo‘shilishga moyillik davridan avvalroq, bu davrdan keyin ham namoyon bo‘lishi mumkin. Bu esa, organizmda jinsiy gormonlarni normal me’yorini o‘zgarishiga ayniqsa ularni bir-birlariga nisbatini o‘zgarishiga olib keladi. SJKning bunday salbiy ta’sirini oldini olish hamda superovulyatsiya davrida olinadigan embrionlarni sonini ko‘paytirish va ularni sifatini yaxshilash maqsadida keyingi vaqtlarda gonadotrotinga qarshi antiteladan foydalanib kelinmoqda. Sigirlarni qo‘shilishga moyillik davrida, 3000 shartli birlikka SJK (10 kunda halqasi) va 37,5 mg prostaglandin F2a (12 kun), monoklonal antitelalar yoki qo‘yning SJK qarshi antitelasi yuborilganda ovulyatsiyaga uchramagan follikulalar soni kamayib nazoratdagi 6,5%dan 1,7 va 2,7%ga tushib qoladi va urug‘lanish nazoratdagi 60% o‘rniga 80%ga ko‘tarilib ketganligi kuzatilgan. Antizardob yuborilgan sigirlar qonida tezda ergosteronlar miqdori keskin kamayib ketishi, hamda bu ko‘rsatkich embrionlarni ajaratib olmaguncha bir xil turishi, nazoratdagi hayvonlarda esa erogosteronlar miqdori qo‘shilishiga moyillik davrida asosiy ko‘rsatkichdan kamaymaganligi hamda qo‘shilishga ishtiyoq o‘tishi bilan yana ko‘tarilishi kuzatilgan. Sigirlarda polivulyatsiyani mutadillash maqsadida SJK dan tashqari gipofiz gonadotropinlaridan ham foydalaniladi. Bu maqsadda tozalangan FMG yoki uni LG bilan aralashtirib foydalaniladi. Ammo, bu gormonlar SJK dan farqli o‘laroq, 4-5 kun davomida 2 marotaba ukol qilinadi. Donor - sigirlarga gormonlar yuborish keltirilgan 36-jadval asosida olib boriladi.

36-jadval

**Sigirlarga gonadotropinlar yuborish jadvali**

(V.Xansel va B.A.Xilva, 1985)

| Dori yuborish kuni | FMG | | F2a | |
|---|---|---|---|---|
| | miqdori, mg | Vaqti, soatda | miqdori, mg | Vaqti, soatda |
| 1 | 6 | 7; 18 | - | - |
| 2 | 4 | 7; 18 | - | - |
| 3 | 2 | 7; 18 | 10 | 7 |
| 4 | 2 | 7; 18 | 12 | 12; 18 |

Bunda sigirlarda qo‘shilishga intilish prostaglandin F2a yuborilgandan keyin 40-50 soatdan so‘ng boshlanadi. Urug‘lantirish undan 12-24 soat o‘tgandan keyin amalga oshiriladi. Embrionlar jarrohlik ishlatmasdan urug‘langandan keyin 7,0-7,5 kun o‘tgach ajratib olinadi. Gormon qabul qilgan hayvonlar ovulyatsiya davri (vaqti) ko‘payishi munosabati bilan, ularni urug‘lantirish texnologiyasi ham o‘zgaradi. Avvallari sigirlarga bir necha doza sperma yuborish yo‘li bilan urug‘lantirish tavsiya etilgan edi. Odatda 50 mln. tirik spermatozoid yuborib, qo‘shilishga moyillik tug‘ilgandan keyin 12-20 soat o‘tgach urug‘lantirish qaytarilgan. Ko‘p yillik ilmiy nazoratlar oqibatida, yaxshi urug‘lantirish uchun bir doza spermatozoid ham yetarli, faqat u sigirlarda qo‘shilishga ishtiyoq uyg‘ongandan 24 soat o‘tgandan keyin yuborilishi lozim. 37-jadvaldan ko‘rinib turibdiki, sigirlarga qo‘shilishga intilish boshlangandan keyin 24 soat o‘tgach bir doza urug‘ni ishlatganda, urug‘lanish darajasi (78,0 va 90% o‘rniga 87,2%) va ko‘chirib o‘tqazishga yaraydigan embrionlar soni (60,6 va 75,9% o‘rniga 65,1%) ikki doza urug‘ni ishlatganda olingan natijalardan unchalik farq qilmaydi.

37-jadval

**Urug‘lanish davri va spermaning dozasi superovulyatsiyaga uchragan sigirlarni urug‘lanishiga ta’siri**

| Guruh | Qo‘shilishga moyillik boshlangandan keyingi davr, soat | Spermaning dozasini soni | Urug‘langan tuxum hujayralarni soni, ajratib olingan tuxum hujayralar soniga nisbatan, %da | Ko‘chirib o‘tqazishga yaraydigan embrionlar soni, %da |
|---|---|---|---|---|
| 1 | +12 | 1 | 26,1 | 23,0 |
| 2 | +12 | 2 | 78,0 | 60,6 |
| 3 | +24 | 1 | 87,2 | 65,1 |
| 4 | +24 | 2 | 90,0 | 75,7 |

Yuqori sifatli ho‘kizlarni spermalaridan foydalanganda bu ko‘rsatkichlarni iqtisodiy samarasi katta ahamiyatga ega.

Qo‘ylarda superovulyatsiya chaqirish mezonlari qoramollarga o‘xshaydi: SJK yoki FSG jinsiy doiraning lyuten bosqichini oxirgi kunlari (11-13 kunlar) prostoglandinlar bilan ishlov berish bilan birga yoki prostoglandin bilan ishlov berishni oxirgida yuboriladi. SJK tirik vaznni har bir kilogrammiga 20-45 IE yoki har bir qo‘yga 2000 IE hisobidan yuboriladi. Masalan, prostoglandinni muqobili prostenol 100 mkg miqdorida jinsiy siklning 4-13 kunlari orasida SJK bilan ishlov berilganda keyin 24-72 soat o‘tgach yuboriladi. Qo‘shilishga ishtiyoq prostoglandin bilan ishlov berilgandan keyin 2-4 kun o‘tgach boshlanadi. Prostoglandin bir

marotaba ukol qilinganda sovliqlarni faqatgina 65% dagina qo‘shilishga ishtiyoq tug‘ilishi mumkin. Shuning uchun ham sovliqlarga oradan 8-9 kun tashlab ikki marotaba prostaglandin bilan ukol qilish tavsiya etiladi. Ikki marta prostaglandin qabul qilgan sovliqlarda qo‘shilishga ishtiyoq 38-40 soatda, LGning eng yuqori miqdori 50 soatda, ovulyatsiya – 73-74 soatdan keyin sodir bo‘ladi. Qo‘shilishga moyillikni bir-biriga moslab chiqarishning yana bir yo‘li sovliqlarni jinsiy organlari ichiga progestaglar (kronol 30-45 mg) shimitilgan usqurma o‘rnatishdir. Bunday usqurmalar 14-16 kunga qo‘yilib, undan asosiy maqsad o‘tovdagi barcha qo‘ylarni bir vaqtda jinsiy halqaning follikulyar bosqichiga keltirishdir. Usqurma olib tashlangandan keyin ko‘pchilik sovliqlarda qo‘shilishga intilish 24-72 soatdan keyin, ya’ni usqurma olingandan keyingi kunga to‘g‘ri keladi. Usqurma olinayotgan vaqtda 350-750 shartli birlikda SJK yuborilsa, qo‘shilishga ishtiyoqni bir-biriga monanligi yanada oshadi va bu jarayon tezlashadi. Sovliqlarga gormonal preparatlar berish quyidagicha amalga oshiriladi: urchitish faslida jinsiy organlar ichiga flyugesteron austat – FGA, kronolon, medroksiprogesteron atsetat MAP yoki progestagenlarni boshqa hosilalari eritmasida shimitilgan usqurma 14 kunga qo‘yib qo‘yiladi. Usqurmalarni chiqarib olayotgan vaqtda 500 shartli birlik SJK ukol qilinadi. Shundan keyin 2 kun ichida sovliqlar qo‘chqorga keladilar. Bu jarayondan o‘tgan qo‘ylar agar iyun yoki iyul oyida urug‘langan bo‘lsalar ularni 60%dan ko‘prog‘i qo‘zilaydilar. Tabiiy urug‘lantirilganda 10ta sovliqqa 1 ta qo‘chqor bo‘lishi va qo‘chqorlar sovliqlarga yuqoridagi tashkiliy masalalar tugagandan 48 soat o‘tgandan keyingina qo‘yilishlari shart.

Baytallarga (urg‘ochi ot) 1,25-10 mg prostaglandin $F_{2a}$ bir marotaba yoki 300-600 mkg prostoglandin JCJ 79939 ni muqobillaridan ikki marotaba ukol qilinganda qo‘shilishga intilish uch kun orasida chaqiriladi (sariq tanalar hosil bo‘lganda ukol qilingan bo‘lsa). Sigirga o‘xshab baytallarni sariq tanasi ham 5 kunlikkacha prostoglandinlar ta’sirida namoyil bo‘lib turadi. Shuning uchun ham jinsiy halqani dastlabki 4 kunida qilingan prostaglandinni ta’siri bo‘lmaydi. Baytallarda qo‘shilishga moyillik har xil bo‘lganligi sababli prostaglandin ukoldan 3 kun orasida qo‘shilishga intilishni bir-biriga mos ravishda o‘tishini ta’minlasada, ovulyatsiya jarayoni unchalik aniq o‘tmaydi (7-12 kun ukoldan keyin). Shunig uchun ham ovulyatsiya o‘tish davrini kamaytirish maqsadida qo‘shilishga ishtiyoq boshlangandan 2 yoki 3 kun o‘tgach XG yoki GN-RG inyeksiya qilinadi. 2000-3000 shartli birlikda XG preparatini vena qoniga yuborilganda, 36-48 soat orasida 90 % baytallarda ovulyatsiya boshlanadi, shu munosabat bilan bir martalik qo‘shilishga ishtiyoq davridagi qochirilgan baytallarni soni 2,7 dan 1,8 gacha qisqaradi va bug‘oz bo‘lgan baytallar esa 50 dan 56 % gacha oshadi.

Cho‘chqalar ko‘p urug‘li hayvon bo‘lganliklari uchun, ko‘p sonli embrionlarni gormonlar yubormasdan ham olish imkoniyati bor. Ammo, gormon qabul qilgan cho‘chqalarda ovulyatsiyalar soni ko‘payishini unutmaslik kerak.

**Embrionlarni transplantatsiyasi.** Qishloq xo‘jalik hayvonlarini sun’iy qochirish usullarini yaratilishi va ularni qo‘llanishi hayvonlar genetikasini yaxshilash sohasida katta yutuqlarga erishishga olib keldi. Bu hamda hayvon urug‘ini (spermatozoidlarni) muzlatilgan holda uzoq vaqt saqlash usullaridan foydalanish bir

erkak hayvondan bir yilda o‘n minglab nasl olish imkoniyatini yaratdi. Shu orqali zotli hayvonlardan unumli foydalanish muommasi yechildi. Ma’lumki an’anaviy yo‘l bilan bir urg‘ochi hayvonning umri davomida atigi bir necha avlod olish mumkin xolos. Urg‘ochi mollarni avlod qoldirish imkoniyatlarini pastligi va avlodlar orasidagi davrni uzunligi (masalan qoramol 6-7 yilda avlod qoldiradi) chorvachilikda genetik jarayonlarni chegaralab qo‘yadi. Bu muammoni hal qilishni olimlar, embrionlarni transplantatsiya qilish usulidan foydalanish bilan bog‘liq deb biladi. Bu usulni asosiy mohiyati shundan iboratki, genetik sog‘lom va har tomonlama yetuk bo‘lgan sigirlar, homilasi ko‘tarib yurishdan va o‘z bolasini oziqlantirishdan ozod etiladi. Bundan tashqari tuxum hujayralarini umumiy miqdorini ko‘paytirish maqsadida, bunday mollar rag‘batlantiriladi ham (oziqani sifatliroq va ko‘proq berishdan tortib, har xil kasalliklarning oldini olish uchun kerak bo‘ladigan doridarmonlargacha). Urug‘langan tuxum hujayra ma’lum vaqtdan keyin zotli sigirdan olinib, zoti pastroq bo‘lgan mollarga o‘tqaziladi va unda rivojlanadi.

Embrionlar transplantatsiyasi texnologiyasi quyidagi asosiy bosqichlarni o‘z ichiga oladi:

- superovulyatsiya chaqirish donorni su’niy uruglantirish;
- embrionlarni tashqariga chiqarib olish (jarrohlik yoki nojarrohlik yo‘llari bilan);
- ajratib olingan embrionlarni baholash ularni saqlash (uzoq vaqt yoki qisqa vaqt);
- boshqa molga o‘tqazish.

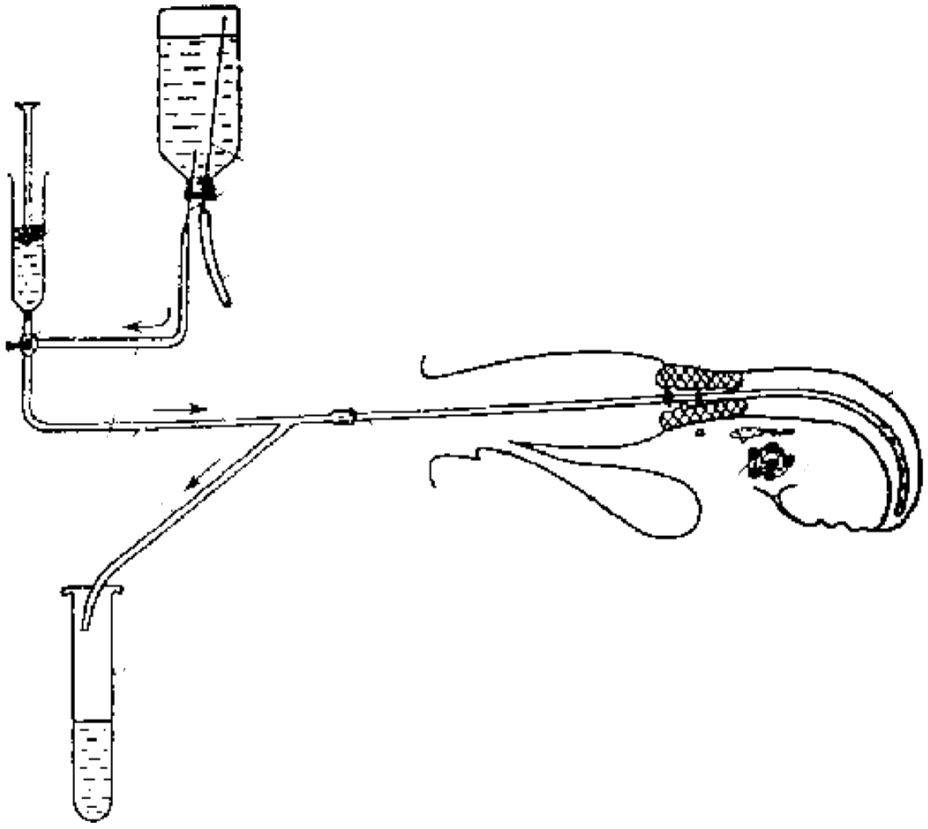
Sut emizuvchilarni urgochilari ko‘plab (o‘n minglab) jinsiy hujayralar bilan tugiladilar. Ulardan ko‘pchiligi follikulalarni shikastlanishi oqibatida o‘lib ketadilar.Ammo o‘layotgan follikulalarni barchasi gonadotrop ta’siriga sezuvchan bo‘lganligi sababli ular yetiladilar. Urgochi mollarni follikulyar bosqichda gonadotropinlar bilan ukol qilinganda yoki lyutein bosqichda prostoglandin $F_2$a yoki uning muqobillari yordamida sariq tanalarni regressiyani kuchaytirilganda ko‘plab ovulyatsiyaga yoki boshqacha aytganda superovulyatsiyaga olib keladi.

*Embrionlarni ajratib olish.* Yirik shoxli hayvonlarda embrionlar tuxum yo‘lidan bachadonga qo‘shilgandan keyin 4-5 kunlar orasida kelib tushadi (ovulyatsiyadan 3 yoki 4 kun o‘tgach), ammo superovulyatsiyaga uchragan sigirlarning tuxum yo‘lida embrionlar 7 kungacha qolib ketishi mumkin. Shu sababli, embrionlarni tuxum yo‘lidan yoki bachadon shoxlaridan ajratib olishlik, ularni xarakati bilan aniqlanadi. Embrionlarni jarrohlik yo‘lidan foydalanmasdan ajratib olish faqatgina bachadon shoxlari mumkinligini e’tiborga olib, ularni faqatgina qo‘shilishga moyillik boshlanganidan 5 kun o‘tgach ajratish tavsiya etiladi.

Jarrohlik usuli bilan embrionlarni ajratib olish juda yaxshi ko‘rsatkichlarga ega bo‘lgan bo‘lsada, ishlab chiqarish sharoitida bu usuldan foydalanish iqtisodiy jihatdan qimmatga tushib ketadi. Shishadigan qadama (manjet) saqlovchi egiluvchan kateter jinsiy organdan bachadon bo‘yini orqali bachadon shoxlariga kiritiladi. Qadama shishirilganda bachadon shoxidan chiqish yo‘li bekiladi. Kateter ikki kanalli bo‘lganligi sababli bachadon ichiga yuborilgan suyuqlikni tashqariga oqib chiqish imkonini yaratadi. Agar kateter bir kanallik bo‘lsa, yuvadigan suyuqlik bir necha (5-

8) marotaba yuboriladi va keyin suyuqlik bachadon shoxidan oqib chiqadi. Har ikki holatda ham 200-300 ml Dyulbekko yaratgan fosfat buferi eritmasidan foydalaniladi.

Embrionlarni ajratib olishni eng optimal vaqti qo‘shilishga intilish o‘tgandan keyingi 6-8 kun chunki yosh blastotsitlar juda past haroratda muzlatish (195%) ga chidamli va yuqori natija bilan jarrohlik bo‘lmagan yo‘l bilan boshqa hayvonga o‘tkazilishi mumkin. Donor-sigirdan bir yilda 6-8 marotaba foydalanish va 3-6 embrion ajratib olish mumkin.



**57-rasm.** Qoramol bachadonini yuvish chizmasi

Qo‘y va cho‘chqalarning bachadoni bo‘ynidan bachadon shoxiga kateter o‘tishi juda qiyin bo‘lganligi sababli, nojarrohlik usulidan foydalanish mumkin emas. Ammo, bu hayvonlarda jarrohlik usulidan foydalanish juda ham oson. Cho‘chqalarda ovulyatsiyadan keyin 40 soat orasida 1-,2-, 4 ta embrionni urug‘ yo‘lidan ajratib oladi. Buning uchun shisha idishchalarni (kayula) bachadon shoxining tepa qismidagi kichik teshikcha orqali ichkariga qo‘yiladi. Shisha idishchalar orqali 20-30 ml yuvadigan suyuqlik yuboriladi va suyuqlikni tuxum yo‘lini ampulyar oxiridan Petri likobchasiga yig‘ib olinadi. Embrionlarni ajratib olish uchun bachadondan urug‘ yo‘li va bachadonni yuqori shoxi yuviladi. Bachadan shoxi qisib turilib, unga shisha idishcha qo‘yiladi. Odatda yuvish uchun laktat, piruvat va ho‘kiz zardobidan olingan olobumin saqlovchi Dyulbekko buferidan foydalaniladi. Cho‘chqa embrionlari qo‘shilishgandan keyingi 12-kungacha ajratib olinishlari mumkin. Odatda 95% gacha embrionlar ajraladi. Bir yilda bir dona cho‘chqadan 3-4 marotaba embrion olish mumkin. Sovliqlardan embrionlar ajratib olish uchun urug‘ yo‘lini ampulyar ohiriga

shisha yoki polietilendan yasalgan konyula kiritiladi va bachadon shoxidan urug‘ yo‘liga qarab yuviladi. embrionlar ajralish faolligi 80% ni tashkil etadi.

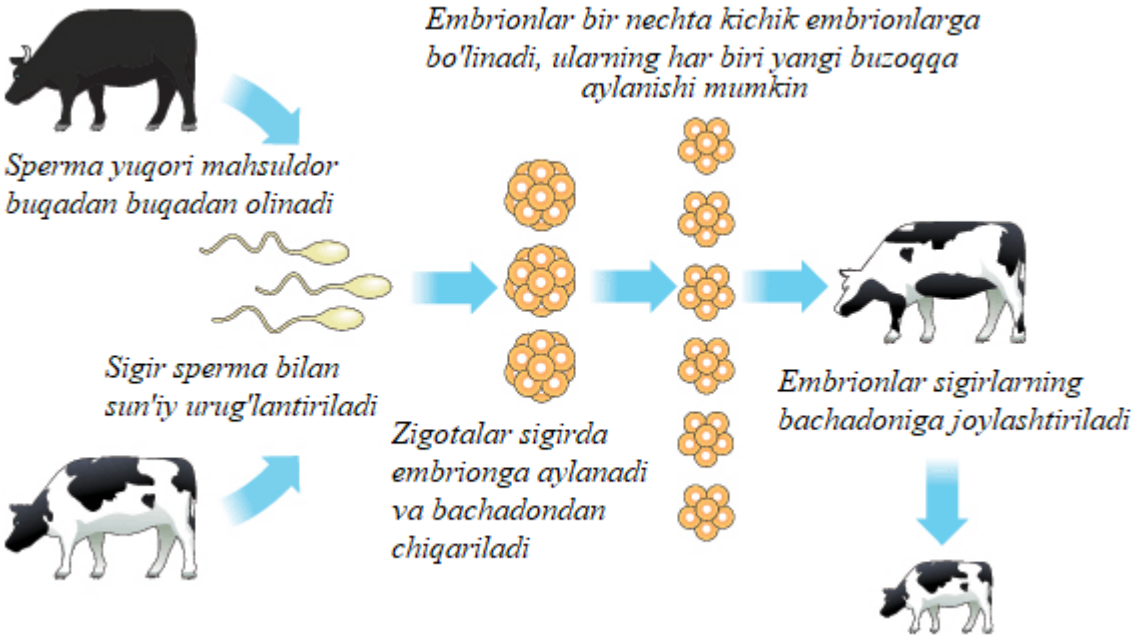
Embrionlarni jarrohlik yo‘li bilan ko‘chirib o‘tkazish bilan bir qatorda nojarrohlik yo‘lidan foydalanish ham keng rivojlangan. Payeta deb ataladigan mahsus idishchaga yangi tayyorlangan oziqa muhiti so‘rib olinadi (suyuqlikni balandligi 1,0-1,3 sm), keyin 0,5 sm havo va 2-3 sm hajmda embrion saqlovchi asosiy muhit so‘rib olinadi. Keyin yana 0,5 sm havo va oziqa muhiti 1,0-1,5 sm so‘rilganda bu idishcha Kassa nomi bilan atalgan kateterga o‘rnatilib, 37$^{o}$C li termostatga solib qo‘yiladi. Keyin orqa chiqaruv teshigidan nazorat qilish orqali kateter bachadon bo‘yinchasi orqali sekinlik bilan bachadon shoxiga yuboriladi (5-7sm ichkariga kiritiladi). Kateterni shtokini bosish bilan payeta ichidagi suyuqlik embrion bilan birgalikda bachadon shoxiga yuboriladi.

Embrionlarni ko‘chirib o‘tkazishni samarasi donor (embrion beruvchi) bilan retsipiyent (embrion qabul qiluvchi) hayvonlarda qo‘shilishga bo‘lgan ishtiyoqni bir-biriga mos ravishda, monand kelishiga bog‘liq. Ayniqsa yirik shoxli hayvonlarda homilador bo‘lish soni mana shu monandlik vaqtida embrion ko‘chirishga bog‘liq. Embrionlarni bachadonni har ikki shoxiga yuborish katta samara beradi. Bu usuldan egizaklar olishda keng foydalaniladi. Egizak olish uchun 7 kunlik embrionlarni urug‘langan hayvonlarning qarama-qarshi turgan sariq tana saqlovchi tuxumdoniga yuborish kerak. Baytollar uchun embrionlarni jarrohlik bo‘lmagan yo‘l bilan o‘tkazish usuli ham yaratilgan. Bu usulning samaradorligi ovulyatsiyadan keyingi 6-8 kunlarda ekanligi tasdiqlangan. Yuqorida ta’kidlab o‘tilganidek, sovliqlarda va cho‘chqalarda embrionlarni ko‘chirib o‘tkazish faqat jarrohlik yo‘li bilan amalga oshiriladi. Retsipitentlarda ham donorlarda amalga oshirilgan ishlar bajariladi. Embrionlarni rivojlanish bosqichiga qarab, ular yoki urug‘ yo‘liga yoki bachadonga tashlanadilar. Qo‘shilishga bo‘lgan ishtiyoqini boshlangan sovliqlardan 1-4 kunlari ajratilgan bo‘lsa, urug‘ yo‘liga, kattaroq yoshdagilari esa to‘g‘ridan–to‘g‘ri bachadonga tashlanadilar. Ko‘chirib o‘tkazilgan embrionlarni tutib qolish samarasi 70-75% ni tashkil etadi. Cho‘chqa embrionlari bachadonni bir shoxidan ikkinchisiga o‘tib yurish xususiyatiga ega bo‘lganligi sababli, ularni bitta shoxga ko‘chirish yetarlidir. 2-5 kunlik embrionni ko‘chirib o‘tkazilganda, uni tutib qolish samarasi 60-70 % ni tashkil etadi. Kechroq o‘tkazilgan embrionlar cho‘chqalarda samara bermaydi. Shuning uchun 2-4 kunlik embrionlardan foydalanish tavsiya etiladi.

Embrionlarni transplantatsiya qilish yo‘llaridan foydalanish, ularni ajratib olgandan to boshqa hayvonga o‘tkazguncha o‘tadigan davrda samarali saqlash yo‘llarini yaratishni talab qiladi. Ishlab chiqarish sharoitida, odatda embrionlar ertalab ajratib olinib, kechki payt retseient hayvonga o‘tkaziladi. Mana shu vaqt orasida embrionlarni saqlash uchun har xil modifikatsiyaga uchragan yoki yirik shoxli hayvonlarni embrional zardobi saqlagan fosfatli buferdan foydalaniladi va uy haroratida yoki 37$^{o}$C da saqlanadi. Izlanishlar yirik shoxli hayvonlarni embrionlarini *in vitro* sharoitida 24 soatgacha, tutib qolish xususiyatlarini o‘zgartirmasdan o‘stirib turish mumkinligini ko‘rsatdi. 24 soat davomida o‘stirib turilgan cho‘chqa embrionini ko‘chirib o‘tkazilganda, uning tutib ketishida o‘zgarish bo‘lmaganligi kuzatilgan. Embrionlarni yashashga chidamliligini ma’lum ma’noda ularni haroratini hayvon

haroratidan biroz pasaytirish orqali oshirish mumkin. embrionlarni sovuqqa chidamliligi hayvon turiga bog‘liq. Sovuqqa ayniqsa cho‘chqa embrionlari chidamsizdir. Hozircha -10-15$^{o}$C saqlangan cho‘chqa embrionlarini yashab ketishi kuzatilmagan.

Rivojlanishni bosh bosqichida yirik shoxli hayvonlarni embrionlari ham 0$^{o}$C dan past haroratga chiday olmaydilar. Ammo, keyingi bosqichga o‘tgan, (masalan morula yoki blastotsist) embrionlar past haroratga chidamli bo‘ladilar. Sovliqlarni embrionlari yoshlaridan qat’iy nazar (bir-ikki hujayralik bosqichdan to blastotsistgacha) 0$^{o}$C gacha bo‘lgan sovuqqa yaxshi chidaydilar. Embrionlarni saqlash haroratini 37$^{o}$C dan 10$^{o}$C va 0$^{o}$C haroratda ushlab turilishi, ularni rivojlanishini to‘xtatadi, ammo modda almashinuvi jarayonlari 5-6 sutka davomida saqlashni ta’minlaydigan holatda amalga oshib turadilar. Embrionlarni ko‘proq muddatga saqlash uchun nafaqat ularni rivojlanishini, balki butun modda-almashinuv jarayonlarini to‘xtatish lozim bo‘ladi. Bunday holat -195$^{o}$C yoki undan ham past haroratda namoyon bo‘ladi, xolos.




**58-rasm.** Qoramollarda embrionlar transplantatsiyasi jarayoni bosqichlari

Keyingi vaqtlarda amalga oshirilgan ilmiy izlanishlar natijasida yirik shoxli hayvonlarni embrionlarini muzlatish va eritish tezligi orasidagi optimal nisbatini aniqlashga olib keldi. Masalan, agar embrionlarni sekin (1$^{o}$C /min) juda past haroratgacha sovutilsa, (-50$^{o}$C dan past) va keyin suyuq azotga o‘tkazilsa, u juda sekin (25$^{o}$C /min yoki undan ham sekinroq) eritishni talab qilar ekan. Bunday embrionlarni tezlik bilan eritib yuborish, ularni osmotik parchalanishigacha olib kelar ekan. Agar embrionlar sekin (1$^{o}$C /min), ammo faqat -25$^{o}$C va 40 $^{o}$C gacha muzlatilsa va keyin suyuq azotga solinsa, ularni tez (hatto 300 $^{o}$C /min) eritsa ham bo‘lar ekan. Bu holatda qolgan suv suyuq azotga o‘tkazilishi bilan shishasimon holatga o‘tib

qolishi kuzatilgan. Bunday holatlarni ochilishi, sigirlar embrionlarini muzlatish va eritishni oson yo‘llarini topishga olib keldi. Masalan, embrionlarni xuddi shuningdek spermani ham hayvonlarga transplantatsiya qilishdan oldin iliq suvda 35$^{o}$C da, 20 sekund davomida eritib ishlatish mumkin. Muzlatilgan va keyin eritilgan (muzdan tushirtilgan) embrionlar muvaffaqiyat bilan bir bosqichda, o‘zi muzlatilgan payetada (idishchani o‘zida) suyultirilishi mumkinligi ham isbotlangan. Bu usulni asosiy mohiyati quyidagilardan iborat: muzlatib eritilgan embrionlar bir bosqichda muzlatilgan krioprotektorlar eritmasidan, masalan, 1,5m glitserinni fosfatli buferdagi aralashmasidan hujayra ichiga kirish imkoniyati (xususiyati) bo‘lmagan (masalan, saxaroza) gipertonik eritmaga o‘tkaziladi. Bu esa embriondan krioprotektorlarni (himoya muhitlari) asta-sekin osmotik borabarlikni buzmasdan chiqishiga olib keladi (0,02 ml 1,5 m glitserin). Havo pufakchalari yordamida payetani uch bo‘lmaga bo‘linadi: birinchisida– krioprotektorlar eritmasi; ikkinchisida– kriprotektor eritmasidagi embrion; uchinchisida – erituvchi (1,08 m saxaroza). Muzlatib, eritilgandan keyin payetalar tebratib aralashtiriladi. Keyin payetadagi embrion nojarrohlik yo‘li bilan retsipiyentga o‘tkaziladi. Bu usul muzlatib – eritilgan embrionlarni sun’iy urug‘lantirish singari ishlari imkoniyatini beradi. embrionlarni erishini bir va ko‘p bosqichli usullar bilan eritishni taqqoslab o‘rganilganda har ikki usul bir xil natija berishi kuzatilgan.

Shunday qilib, yirik shoxli hayvonlarni embrionlari rivojlanishni dastlabki kunlarida sovuqqa juda sezgir bo‘lishi, ammo keyingi bosqichlarda ayniqsa blastotsist bosqichida sovuqqa chidamliligi oshib borishi aniqlangan. Cho‘chqalar embrionlari rivojlanish davridan qat’iy nazar sovuqqa chidamsiz ekanligi, ular 10-15$^{0}$Sda faoliyatini to‘xtatishi kuzatilgan. Yirik shoxli hayvonlar, qo‘ylar va otlarning embrionlarini morulalar va blastotsistlar bosqichlarida -196$^{0}$S gacha muzlatish mumkinligi kuzatilgan va shunday embrionlardan avlodlar olingan. Hozircha bu usuldan yirik shoxli hayvonlarni ko‘paytirish maqsadidagina foydalanib kelinmoqda.

Urug‘lantirish tizimini yaratish va sut emizuvchilar embrionlarini hayvon organizmidan tashqarida (*in vitro*) tezroq rivojlanish bosqichlarini belgilab berish vazifalari ulkan ilmiy va amaliy ahamiyatga ega bo‘lib, hayvonlarning ko‘payish samaradorligini oshirishga xizmat qiladi. Organizmdan tashqarida (*in vitro*) urug‘lantirish tizimi, urug‘lanish jarayonida ya’ni erkak va ayol qo‘shilishi jarayonida sodir bo‘ladigan biokimyoviy va fiziologik faktorlarni o‘rganish uchun bebaho analitik instrument bo‘lib xizmat qiladi. Faqatgina organizmdan tashqari urug‘lanish tizimini o‘rganib chiqish, qishloq-xo‘jalik hayvonlarida gen va hujayra muhandisligi usullaridan foydalanish, bu usullarni mana shu sohaga tadbiq etish imkoniyatini yartadi. Ma’lumki, gen va hujayra muhandisligi bo‘yicha izlanishlar olib borish uchun endigina paydo bo‘lgan (eng dastlabki yoshdagi) embrionlar kerak, bu esa faqatgina jarrohlik yo‘li bilan tuxum yo‘lidan ajratib olinmog‘i lozim. Yuqorida ta’kidlab o‘tganimizdek, bu ham mashaqqatli ish, hamda har doim ham eksperiment uchun zarur bo‘lgan darajadagi yosh homilani (zarodish) beravermaydi. Buning ustiga, qishloq xo‘jalik hayvonlarining ko‘payishini gormonal boshqarishni bugungi kunda o‘rganadigan usullar ovulyatsiya vaqtini aniq nazorat qilish imkonini beraolmaydi, oqibatda embrionlarni tajriba uchun kerakli bo‘lgan rivojlanishi

fazasida, kerakli miqdorda ajratib olish katta muommolarni keltirib chiqaradi. Hujayra va gen muhandisligi usullari embrionlar bilan uzoq vaqt organizmdan tashqarida tajribalar olib borishni taqqoza etadi. Ko‘rsatib o‘tilgan barcha muommolarni, sut emizuvchi hayvonlarni tuxum hujayrasini organizdan tashqarida chatishtirish (urug‘lantirish) tizimidan foydalanish muvaffaqiyatli hal qilib bera oladi. Sut emizuvchilarni tuxum hujayralarini in vitro chatishtirish quyidagi asosiy bosqichlarni o‘z ichiga oladi: ootsitlarni yetilishi, spermatozoidlarni kapatsitatsiyasi, chatishtirish va zarodishlarni (embrionlarni) dastlabki rivojlanish bosqichida tanlab olish.

Sut emizuvchi hayvonlarni, jumladan yirik shoxli hayvonlar, qo‘ylar, cho‘chqalarning tuxumdonidagi jinsiy hujayralarni ko‘pchiligi, yuqori darajadagi genetik imkoniyatlarga ega bo‘lib, mana shu hayvonlarni ko‘payish imkoniyatlarini belgilovchi behisob manba hisoblanadi. Ular genetik rivojlanishni belgilashda ovulyatsiyaga nisbatan ancha yuqori turadi. Hayvonlarning qo‘shilishga ishtiyoq paydo bo‘lgan davrda chiqadigan va ovulyatsiyaga uchraydigan ootsitlar soni tuxumdondagi ootsitlarning bir qismini tashkil qiladi xolos. Qolgan ootsitlar tuxumdon ichida regenratsiya uchraydi yoki boshqacha qilib aytganda atreziyaga uchraydi. Shunday vaziyatda o‘z-o‘zidan savol tug‘ilish muqarrar. Nima uchun tuxumdon ichida qolgan ootsitlarni qandaydir yo‘llar bilan chiqarib olib, ularni organizmdan tashqarida chatishtirish mumkin emas? Hozircha hayvonlarda yig‘ilgan barcha ootsitlarni hammasini chiqarib olish usuli yaratilmagan bo‘lsada, ularni bir qismi follikulalaridan ajratib olinib, yetiltirilib, in vitro sharoitida urug‘lantirish uchun ishlatiladi. Quyonlar follikulalari ajratib olinib, kultural muhitga solinganda, ootsitlar meyozini (xromosomalar sonini reduksiyaga va genlarni rekombinatsiyaga olib keluvchi, jinsiy hujayralarni bo‘linish jarayoni) o‘z-o‘zidan qayta tiklanishi, birinchilardan bo‘lib, 1935-yilda G.Pinkus va N.Enzman tomonidan kuzatilgan edi.

38-jadval

**Ovulyatsiya oldidan chiqadigan gonodotropinlarga javoban har xil turdagi hayvonlar ootsitlari yadrosida (meyoz bosqichida) namoyon bo‘ladigan vaqtinchalik ko‘rsatkichlar** (Xanter, 1980)

| Hayvonlar turi | Tezlashtirilgandan keyingi yashirin davr, soat | Meyotik yetilish bosqichlari, soat | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Metafaza I | anafaza | telofaza | Metafaza II |
| Sigir | 10-12 | 14-21 | 22 | 23 | 24 |
| Qo‘y | 10-11 | 12-20 | 21 | 22 | 24 |
| Cho‘chqa | 17-18 | 26-34 | 35 | 36 | 37 |

Follikulalardan ootsitlar ajralib chiqqanda, shuningdek ovulyatsiyadan oldin endogen LG chiqarilganda, ootsitlar meyotik tormozlangan holatdan chiqib, zarodishlar pufakchalari yorilib ketishiga olib keladi. Yirik shoxli hayvonlar organizmida zarodish pufakchalari LG chiqqanidan 5 soatlar o‘tganda yoriladi. Ootsitlar metafazaning I holatiga 12 soatdan keyin, metafazaning II holatiga esa 24-25 soatdan keyin yetadilar. Organizmdan tashqarida ham zarodish pufakchasining

yadro membranasi, yirik shoxli hayvonlarda 5-6 soatdan keyin yuqoladi, 12 soatdan keyin xromosomalar metafazaning I holatiga, 20-24 soatdan so‘ng esa metafazaning II holatiga yetadi.

Tuxumdon follikulalaridan ajratib olingan ootsitlarni ko‘pchiligida meyoz qaytarilib, metafaza II bosqichiga yetilsada, ularni urug‘lanishi zarodishlarni to‘laqonli yetilishiga olib kelaolmaydi. Bunga asosiy sabab ootsitlarni yaxshi yetilmasligidir. Sabablardan yana biri ootsitlar in vitro yetilganda, ularni sitoplazmasida erkak pronuklein tashkil bo‘lishi va rivojlanishini nazorat qiluvchi faktor yetarli hosil bo‘lmasligi bilan ham bog‘liq bo‘lsa ajab emas. Olimlarni fikrlaricha ootsit sitoplazmasida erkak pronukleusi yetilishini chaqiradigan faktori hosil bo‘lishi uchun meyotik yetilish boshlangandan keyin eng kami 6 soat davomida ootsitlarni follikula ichida normal rivojlanishini ta’minlaydigan sharoit bo‘lishi shart ekan.

Bu fikr meyozning har xil bosqichidagi follukullardan ajratilgan cho‘chqa ootsitlarini *in vitro* sharoitida urug‘lantirish buyicha qo‘yilgan tajribalarda o‘z tasdig‘ini topgan. Rivojlanish bosqichini ko‘tarilishi bilan follikullardan ootsitlar ajratib olish nuqtasida zarodishlrni normal urug‘lanish koeffitsenti quyidagi cha oshganligi kuzatilgan:

- zarodishlarni pufakcha bosqichida – 31,7 %;
- diakinez bosqichida – 51,6 %;
- metafaza I bosqichida esa 78,2 % urug‘lanish sodir bo‘lganligi kuzatilgan.

Sut emizuvchilarda meyoz uyg‘otish uchun ateroid gormonlar talab qilishmasligi, ular faqatgina ootsitlarni normal fiziologik holatda turishi uchun zarur ekanligi aniqlangan. Ma’lumki, follikulyar hujayralarda ishlab chiqariladigan steroidli gormonlar va boshqa bir qancha faktorlar, ootsitlarni pishib yetilishiga ijobiy ta’sir ko‘rsatadi. Shu munosabat bilan ootsitlarni follikulyar hujayralar bilan birga o‘stirilishi ularni normal urug‘lanishi va keyinchalik embrional rivojlanishini kuchaytirishi mumkin degan fikrga kelingan. Follikulalar ichidagi ko‘pgina hodisalarni jumladan, steroidlar va oqsil moddalar biosintezi gonadotrop gormonlar tomonidan boshqarib turiladi. Shuning uchun ham ootsitlarni follikulalar ichida yoki follikulyarli hujayralar bilan birgalikda o‘stirilganda, oziqa muhit tarkibida gonadotropinlar bo‘lishi shart. Somatik (follikulyar) va jinsiy hujayralar orasida to‘g‘ridan – to‘g‘ri aloqa bo‘lishini shartligiga bir qator sabablar mavjud. Follikulyarli hujayralar ootsitlar oziqlanishida katta rol o‘ynaydilar. Ular ootsitlarni energetik substratlar bilan ta’minlab turadilar, aminokislotalarni, nukleotidlarni va fosfolipidlarni ba’zi –bir oldingi avlodlarini ootsitga o‘tkazishda qatnashadilar, yadroga va ba’zi bir oqsillarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri sintez bo‘lishiga yo‘l-yo‘riq ko‘rsatuvchi signallarni tiklaydilar. Yuqorida qayd etib o‘tilganidek, ootsitlarni yetilishi uchun zarur bo‘lgan yo‘l-yo‘riq ko‘rsatuvchi signallar, initsiatsiyadan keyingi dastlabki 6-8 soat orasida juda zarurdir. Hozircha faqatgina yirik shoxli hayvonlar ootsidlarini in vitro sharoitida yetiltirish texnologiyasi ishlab-chiqarish sharoitida amaliyotda qo‘llanilib kelinmoqda. Ootsitlarni sigirlarni tuxumdonidan so‘yilgandan keyin yoki tirikligida xaftasiga 1-2 marotaba yuvib olish mumkin.

Birinchi holatda hayvon so‘yilgandan keyin, tuxumdonlari olinib, laboratoriyaga maxsus konteynerlar yordamida 1,5-2,0 soat orasida yetkaziladi. Laboratoriyada tuxumdon ikki marotaba yangi tayyorlangan fosfatli bufer bilan yuviladi. Ootsitlar diametri 2-6 mm bo‘lgan follikullardan, tuxumdondan so‘rib olish yoki uni plastinkalarga o‘xshatib kesish yo‘li bilan ajartib olinadi. Ootsitlar 10 % sigir qoni zardobi saqlagan (qo‘shilishga moyillik ko‘rsatgan sigir qoni) TSM 199 muhitida yig‘iladi, keyin ikki marotaba yuvib tashlab in vitro holatida yetishtiriladi. Oxirgi vaqtda tirik sigirlarning tuxumdonlaridan ultra tovush uskunalar yoki laparoskop yordamida ootsidlar ajratib olish usullari ixtiro qilingan. Buning uchun bitta sigirni diametri 2 mm dan kam bo‘lmagan folikullaridan xaftasiga 1-2 marotaba ootsitlar so‘rib olinadilar. O‘rtacha 1 ta hayvondan 5-6 ta ootsit ajratib olish mumkin. 50% dan kamroq ootsitlar in vitro sharoitida yetiltirishga yaroqlidir. Ootsitlar miqdorini kamligiga qaramasdan, bu maqsadda hayvondan ko‘p marotalab foydalanish mumkinligini hamda olingan ootsitlarni kelib chiqishi haqidagi ahborotlarni aniqligini e’tiborga olgan holda *in vitro* sharoitda urug‘lantirish usulini istiqbolli usullardan deb hisoblashga asos bo‘la oladi. Ajratib olingan ootsitlar 24 soat orasida pishib yetiladi. Ootsitlarni *in vitro* sharoitida yetiltirish uchun ishlatiladigan buferni tarkibi: 20 % baytal qonidan ajratilgan zardob saqlagan TSM 199 muhiti va uncha ko‘p bo‘lmagan miqdorda antibiotiklar (50 yed. penitsillin, 50 mkg streptomitsin 1 ml muhitga). Ootsitlar follikulalardan 500 xd da 5 minutdan ikki marotaba sentrifuga qilish orqali ajratib olinadi. Cho‘kmaga tushgan hujayralar yuqoridagi muhitda suspenziya qilinib, yetilishga qo‘yiladi. Ootsitlar va granulyozli hujayralarni hamkorlikda 38,5$^{o}$C da 5% $CO_2$ atmosferasida 2 ml muhit saqlagan Petri likobchasida o‘stiriladi.

Sutemizuvchilarni urug‘lantirish usulini yaratilishida spermalarni kapatsitatsiyasi hodisasini ochilishi katta bosqich bo‘lib xizmat qildi. 1951-yil M.K.Chang va u bilan bir vaqtda G.R.Austin sut emizuvchi hayvonlarni urug‘lanishi uchun sperma ovulyatsiyadan bir necha soat oldin hayvonlarni ypyg‘ yo‘lida bo‘lishlari shart degan fikrga kelishgan. Shuningdek G.R.Austin kalamushlarni tuxum hujayralariga spermani kirishini kuzatib borib, kapatsitatsiya degan atamani kiritdi.

Kapatsitatsiya deganda – spermatozoid urug‘lantirish xususiyatiga ega bo‘lgunga qadar, spermada sodir bo‘ladigan ba’zi—bir fiziologik o‘zgarishlar jarayoni tushuniladi.

M.K.Chang spermalarni kapatsitatsiyasi uchun shart bo‘lgan optimal sharoitni aniqlash bilan birga dekapatsitatsiya imkoniyatlarini ham ko‘rsatib berdi. Dekatsitatsiya kalamushlarni spermalari bachadondan ajratib olinib, quyon, odam yoki xo‘kizni ypyg‘ plazmasi bilan ishlov berilib, tuxum yo‘liga yuborilganda, shuningdek, urug‘ plazmasidan sentrifuga qilish yo‘li bilan dekapatsitatsiya qiluvchi omilni ypyg‘ plazmasidan ajratib olinganda sodir bo‘lishi kuzatilgan.

Kapatsitatsiya spermani ikkinchi fazaga o‘tishini ta’minlovchi (akrosomli reaksiya), uning membranasidagi o‘zgarishlarni boshlanishi, hamda plazmali va tashqi akrosomli membranalarni qo‘shilishini o‘z ichiga oladi. Hozirgi vaqtda birinchi fazani (sperma membranalarini o‘zgarishi) kapatsitatsiya, ikkinchi bosqichni

(membranalarni qo‘shilishini) akrosomli reaksiya deb yuritiladi. Yirik shoxli hayvonlar spermasida akrosomli reaksiya faqatgina, ovulyatsiya vaqtida yoki undan keyin tuxum yo‘li ampulasida sodir bo‘ladi. Bu kuzatishlar kapatsitatsiya tuxum yo‘lining ovulyatsiyaga uchragan follikulyar saqlagan tuxumdon tomonida sodir bo‘lishini ko‘rsatadi. Estrus vaqtida faqatgina jinsiy halqaning lyutenn fazasida emas quylarini tuxum yo‘lidan ajratib olingan suyuqlik ho‘kiz (buqa) spermasida kapatatsiya va akrosomli reaksiya chaqirishi aniqlangan. Buqalarning epididimal spermalarida kapatatsiya va akrosomali reaksiyani organizmdan tashqarida (*in vitro*) glyukozoaminglyukanlar geparin ham chaqirishi kuzatilgan. Sigir organizimidagi rangsiz qobiqqa yopishgan spermalarni barchasi akrosomli reaksiya ekanligi aniqlangan Bundan tashqari elektron mikroskop yordamida, tuxum yo‘lida akrosomalarni to‘lik saqlaganligi, faqatgina rangsiz qobiqqa yopishgan spermalargina akrosomli reaksiyaga ega bo‘lishi kuzatilgan. Bu ilmiy dalillar buqa spermasi tuxum yo‘lida kapatsitatsiyaga uchrashi, urug‘langan spermalar esa akrosom reaksiyani tiniq qobiq ichida yoki uni atrofida nihoyasiga yetkazishi ko‘rsatadi. Uy hayvonlari spermalarini kapatsitatsiya qilishning bir necha usullari ishlab chiqilgan. Spermalar sirtidagi, kapatsitatsiyaga halaqit qiladigan oqsilni ajratib olish uchun yuqori ion kuchiga ega bo‘lgan muhitdan foydalanilgan. Ammo, spermatazoidlarni geparin yordamida kapatsitatsiya qilish usuli ko‘proq tan olingan. Buqa ypyg‘i muzlatilgan idishchalar, suv hammomida 39°S da 30-40 soat davomida muz eritiladi. Taxminan 250 mkl erigan urug‘ni kapatsitatsiya qilish maqsadida 1 ml muhit tagiga qo‘yiladi. Kapatsitatsiya uchun ishlatiladigan muhit Tiroyda muhitini, modifikatsiyaga uchragan (kalsiy ioni saqlamagan) tarkibidan foydalaniladi. Inkubatsiyadan keyin bir soat davomida muhitni harakatchan spermatazoidlar saqlovchi tepa qismi (0,5 — 0,8 ml) probirkadan olib tashlanadi va ikki marotaba 500xg da 7 — 10 minut dan sentrifuga qilish yo‘li bilan yuviladi. Keyin 200 mkg/ml geparin eritmasida 15 min. inkubatsiya qilinadi va suspenziya har bir 1 mlda 50 million spermatazoid saqlaydigan holatga kelguncha suyultiriladi.

Rossiyaning biotexnologiya markazi ma’lumotlariga ko‘ra, spermalar quyuqlashib, tepaga ko‘tarilayot davrda 5 daqiqa ichida mu’tadillashib ulguradi va keyingi bir soat davomida o‘zgarishsiz qoladi. Sut emizuvchilarda tuxum hujayralarini urug‘lanishi tuxum yo‘lida sodir bo‘ladi. Shu tufayli ham bu jarayonni o‘rganish biroz qiyinchilik tug‘diradi. Shuning uchun ham urug‘lanish jarayonini ayniqsa, ikki urug‘ning qo‘shiladigan davrda amalga oshayotgan biokimyoviy va fiziologik omillarni *in vitro* sharoitida o‘rganish katta ahamiyatga ega.

Har-xil hayvonlarning *in vitro* urug‘lantirish sharoitida ishlatiladigan usullar quyidagilardan iborat:

*Yirik shoxli hayvonlar***.** Urug‘lantirish jarayoni Tiroyda muhitida bir tomchisida amalga oshiriladi. *in vitro* sharoitida, yetilgan ootsitlar atrofidagi pishib yetilmagan hujayralardan qisman tozalanadi va mikrotomchi holatida 5 tadan ootsitlardan iborat qilib boshqa idishga ko‘chiriladi. Har bir idishga 2-5 mkl dan spermatazoid suspenziyasi solinadi. (1 tomchida spermatazoidlarni miqdori 1-1,5 mln dan kam bo‘lmasligi kerak.) Urug‘langandan 44-48 soat o‘tgach, ootsitlarni bo‘linish jarayoni

kuzatiladi. Keyin embrionlar bir qavat (monosloy)li epitelialli hujayralar ustiga qo‘yiladi va yana 5 kunga rivojlanish uchun qoldiriladi.

*Qo‘ylar*. Qo‘ylarda urug‘lanish jarayoni ikki usul bilan tekshirilgan: birinchi *in vitro* usuli, ikkinchi follikulyarli ootsitlarni urug‘langan tuxum yo‘liga kiritish usuli. Yirik shoxli hayvonlar singari, qo‘ylarda ham urug‘langan tuxum hujayralarning soni follikulyarli va ovulyatsiyalangan ootsitlar sperma bilan birga tuxum yo‘liga yuborilganda ko‘proq bo‘lishi kuzatilgan. Urug‘lantirish tizimini *in vitro* sharoitida ishlatilganda bunday hujayralar soni juda ham kam ekanligi aniqlangan.

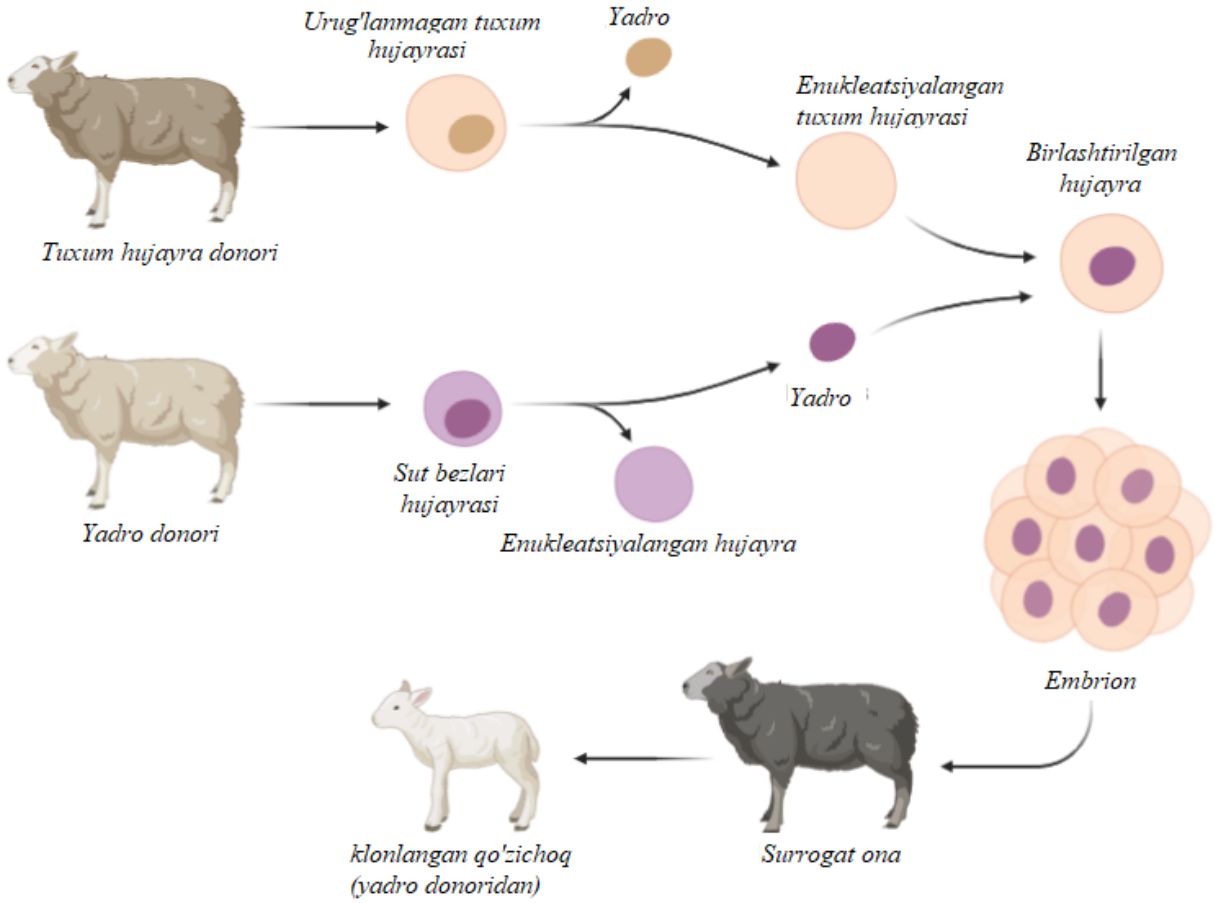
*Cho‘chqalar*. Hozirgi vaqtgacha cho‘chqalar ootsitlarni *in vitro* sharoitida urug‘lantirish yo‘llari ma’lum emas. Ammo ba’zi—bir olimlar o‘stirilgan spermalarni pishib yetilgandan keyin cho‘chqa ootsitlariga o‘tishini *in vitro* sharoitida kuzatganlar. Bunday sharoitda ko‘proq polispermiya hosil bo‘lganligi va ootsitlar rivojlanmaganligi aniqlangan. Cho‘chqalarni yosh embrionlarini *in vitro* holatda o‘stirilganda yaxshiroq natijalar olingan. Masalan, birdan to‘rttagacha hujayraga ega bo‘lgan cho‘chqa embrionlarini *in vitro* sharoitida 48 soat davomida o‘stirilib, ularni jarrohlik yo‘li bilan ko‘chirilganda 13 ta cho‘chqadan ikkitasida homila paydo bo‘lganligi aniqlangan. Sakkiz hujayrali embrionlarni 48 soat davomida blastotsitlar bosqichigacha o‘stirilib, ko‘chirilganda 19 ta cho‘chqaning 10 tasida homila paydo bo‘lganligi, lekin o‘tkazilgan 229 dona embriondan atigi 51 tasi tirik qolganligi kuzatilgan.

Ma’lumki, embrionlarni ko‘chirib o‘tkazish faqatgina bir turga mansub bo‘lgan urg‘ochi hayvonlar orasidagina yaxshi natijalar ko‘rsatadi. Embrionlarni echkidan qo‘yga, yoki qo‘ydan echkiga o‘tkazilganda, ma’lum vaqt rivojlansalarda ular avlod bermaydi. Bunga asosiy sabab boshqa hayvon antigeniga nisbatan urg‘ochi hayvonning immunologik reaksiyasi oqibatida plansetalarni funksiyalarini buzilishidir. Bunday holat mikrojarrohlik usullari yordamida ximerli embrionlar olish yo‘llari bilan tuzatilishi mumkin. Eng avval, bir turga mansub bo‘lgan hayvonlarning embrionlaridagi blastomerlarni qo‘shish orqali ximerli hayvonlar olingan. Shu maqsad yo‘lida 2 —, 4 —, 8 — hujayrali qo‘sh embrionlarni qo‘shib murakkab ximerlar olingan. Murakkab birlashgan embrionlarning har biri 2 tadan 8 tagacha erkak va urg‘ochi hayvonlardan iborat bo‘lgan barobar sonli embrionlar blastomerlaridan tashkil topgan. Embrionlarni agarga o‘tkazilib, keyin qo‘ylarni tuxum yo‘liga ko‘chirilgan va dastlabki blastotsitlar bosqichigacha rivojlantirilgan. Yaxshi rivojlangan blastotsistlar retsipiyent qo‘ylarga ko‘chirib o‘tkazilgan va natijada tirik qo‘zichalar olingan. Shu usulda olingan qo‘zichoqlarni ko‘pchiligini qon tarkibi va tashqi ko‘rinishi ximer bo‘lganligi kuzatilgan. Donor embrionlarini ichki qismidan immunojarrohlik yo‘li bilan olingan hujayra massasini retsipiyent embrionlarining blastotsistlariga inyeksiya qilish orqali ham ximer hayvonlar olingan. Bunda donor blastotsitlari pronaza fermenti 0,5%li eritmasida inkubatsiya qilinadi. Pronaza fermenti bilan ishlov berilgan embrionlarni o‘z holatiga qaytarish va ularni faoliyatini tiklash uchun, 3 soat davomida o‘stiriladi. Keyin tiniq qobiqsiz embrionlar 1 soat davomida qo‘y jigari hujayralariga qarshi olingan antizardobda o‘stiriladi, uch marotaba yuvib tashlanib, dengiz cho‘chqasi (morskaya svinka) qonidan olingan zardobni eritmasiga (1:4) 1 soat solib qo‘yiladi. Trofoblastlarni lizisga uchragan

hujayralari pipetkalar yordamida olib tashlanadi, ajratib olingan hujayra ichidagi massa retsipiyent blastotsistlarning trofoblastlariga inyeksion pipetka yordamida yuboriladi. Shu yo‘l bilan blastotsitlarni ko‘chirib o‘tkazish orqali qon guruhlari va tashqi belgilar bilan ajralib turuvchi ximerli qo‘zichoqlar olingan. Yirik shoxli ximerli hayvonlarni shuningdek, 5-6,5 kunlik embrionlarni yarimta—yarimtasini o‘zaro qo‘shish yo‘li bilan ham olingan. Qo‘shilgan (agregatsiya uchragan) embrionlarni jarrohsizlik yo‘li bilan ko‘chirib o‘tkazilgan, agregatsiyaga uchragan embrionlardan olingan yetti buzoqchaning beshtasida ximerlik belgilari bo‘lmagan. 1984-yilda S.V.Fexilli va boshqalar agarga kiritilgan va 4-5 sutka davomida qo‘yni tuxum yo‘liga joylashtirilgan qo‘y va echki blastomerlari aralashgan blastotsitlar tashkil qilishini kuzatganlar. Bu blastotsitlar hayotiy bo‘lib, yangi avlod tug‘ilish fazasigacha rivojlangan. Ushbu tajribada qo‘y va echkini 4 hujayrali embrionlaridagi 1 tadan blastomerdan 17 blastotsit olingan va ulardan 7 ta avlod tug‘ilgan. Barcha hayvonlar qo‘zichoqlarga o‘xshagan bo‘lsalarda ularni uchtasining jun tuzilishi uloqchalarnikiga o‘xshab ketgan.

**Hayvonlarni klonlash**. Hayvonlar qoldiradigan avlodlar soni unchalik ko‘p bo‘lmaydi. Yuqori hosildorlikni belgilovchi, ixtisoslashgan genlar kompleksining soni juda ham kam bo‘lib, keyingi avlodlarga o‘tganda o‘zgarishlarga uchraydi. Shunday bo‘lishiga qaramasdan, somatik hujayralarning yadrosida muayyan organizm haqida to‘liq genetik axborot to‘plangan bo‘lib, bu axborotni to‘liq faoliyati uchun sharoit yaratib berilganda, istalgancha genetik nusxalar (klonlar) olish imkoni borligi ma’lum. Ko‘pgina somatik hujayralar differensiallangan holatda bo‘lishini e’tiborga olib, dastlab bu vazifani rivojlanishni ma’lum bosqichidagi, ammo differensiyaga uchramagan murtaklarning embrional hujayralari yordamida yechishga harakat qilingan. Ootsitlarning sitoplazmasida ko‘chirib o‘tkazilgan yadro ishini qayta dasturlash va yangi embrionlarning rivojlanganligi dasturini ishlatib yuboradigan maxsus omillar saqlanishi, yadroni (blastomerlarni) yetilgan ootsitlarga ko‘chirib o‘tkazish imkonlarini yaratadi. Bir urug‘li egizaklarni olinishi chorvachilik uchun katta ahamiyat kasb etadi. Bir tomondan, bir donordan olinadigan buzoqchalarni soni ko‘payadi, ikkinchidan genetik bir xil bo‘lgan egizaklar paydo bo‘ladi. Bir biriga mos bo‘lgan egizaklarni ko‘plab olinishi — buqalarni avlod koldirish sifatini baholash, sperma mahsulotlar bahosini kamaytirish, preparatlarni bahosini kamaytirish, hamda chorva mollarini boqish sohasida olib boriladigan izlanishlarni soddalashtirish imkoniyatini yaratadi. Bir necha o‘n yillar ilgari sut emizuvchilarni embrionlarini endi rivojlanib kelayotgan bosqichida mikrojarrohlik yo‘li bilan ikkiga va undan ko‘proq qismga ajratish va har bir bo‘lagi keyinchalik alohida organizmgacha rivojlanishini ta’minlash mumkinligi haqida fikr qilingan edi. 1970 yilda ikki hujayrali embrionlarni blastomerlarni mexanik yo‘l bilan ajratish orqali bir urug‘li sichqonlarni dastlabki avlodi yaratilgan edi. 1979-yilda S.M.Villadsen yuqoridagi texnikadan foydalanib, ammo blastomerlarni agarga kiritib, ikki hujayrali embrionlarni bo‘lish orqali bir urug‘lik egizak qo‘zichoqlar yaratishga erishgan edi. (Bir urug‘li—iborasi bir embriondan ajratilgan blastomerlardan olingan egizaklar—red). Keyinchalik qo‘yilgan tajribalar 4 — 6 — 8— hujayrali embrionlar blastomerlarni ikki guruhga ajratish orqali bir xil egizaklar olish mumkinligini

ko‘rsatgan edi. 2,4,8-hujayrali embrionlarni yarmi ham, qo‘ylarni butun embrionlari singari to‘la rivojlanish imkoniyatiga ega. Bunday bo‘lingan blastomerlarni muzlatilgan holatda saqlanish mumkinligi, har xil yoshdagi monozigot eshaklar olish uchun qo‘yiladigan tajribalarda ishlatish mumkinligini ko‘rsatdi. Chorak embrionlarni yoki 8-hujayrali embrionlarni 4 juft hujayraga ajratib saqlanganda, ularni yashab kolishi normal embrionlardan past ekanligi kuzatilgan. Sakkiz hujayrali embrionlarning alohida ajratib olingan blastomerlaridan hosil bo‘lgan embrionlarni yashab qolishi deyarli nolga teng ekanligi ham kuzatilgan. Yarimta embriondan olingan blastotsitlar 32 ta hujayradan tashkil topishi, ya’ni me’yoridagidan 50% hujayra saqlashi aniqlangan. To‘rt hujayrali embriondan olingan alohida blastomerlar ham blastotsit holatigacha rivojlanishi kuzatilgan. Ammo bunday blastotsitlar 16 yoki undan ham kamroq hujayradan tashkil topadi. Me’yoridagi blastomerlarda hujayralar soni 32 tani tashkil etadi. Sakkiz hujayrali bosqichda har bir blastomer blastotsitgacha rivojlanish imkoniyatiga ega, ammo ular juda kichik bo‘lib, taxminan 8hujayradan iborat bo‘ladi. Bunday blastotsitlarni ko‘chirib o‘tkazilganda, ularni bor-yo‘g‘i 10% ga yaqinigina tug‘ilish bosqichigacha rivojlanadi xolos. Bu tajribalar asosida quyidagi cha xulosaga kelish mumkin: embriondagi hujayralar sonini kamayishi, ularni blastotsistlargacha rivojlanishini pasaytiruvchi asosiy omil bo‘lib xizmat qilsada, bo‘linish jarayoni rivojlanishini bosqichida sodir bo‘lishi unchalik katta ahamiyatga ega emas. Olimlarni fikricha, monozigot egizaklar olish uchun yetilgan morullalardan va blastotsistlardan foydalanish maqsadga muvofiqdir. Hozirgi vaqtda rivojlanishini har— xil bosqichida embrionlarni bo‘linishi uchun oddiy texnikadan foydalaniladi, ya’ni ularni sellyutsitlar qismidan barobar 2 qismga bo‘lish. Bir urug‘li egizaklar olish maqsadida yirik shoxli hayvonlarni embrionlari rivojlanishini keyingi bosqichda foydalanish yengillashadi, chunki ularni ajratib olish uchun jarrohlik yo‘llardan foydalaniladi. Cho‘chqalarni 6 kunlik embrionlarini bo‘lishni ham oddiy texnikasi ishlab chiqilgan. Buning uchun shisha ninalar yordamida embrionni ichki hujayra massasi va taxminan 40% sellyutsid qismi kirqiladi. Keyin sellyutsidlarni ichki qismidagi trofoektoderma qavati kesiladi. Embrionlarni yarmini o‘zini sellyutsid qismi bilan ikkinchi yarmini esa sellyutsid qismsiz retsipiyentni bachadon shoxiga (bachadon g‘uvur ulangan joydan 5 sm oraliqqa) ko‘chirib o‘tkaziladi. Embrionlarni ikkiga bo‘lish texnikasi qo‘y va echkilarda ham keng qo‘llanilib kelinmoqda. Blastotsistlarni rivojlanishini keyingi bosqichida bo‘lish qulayroq, chunki yaltiroq qobig‘i yosh blastotsistlarnikiga nisbatan yupqaroq, sitoplazmasi esa elastiksimon bo‘ladi. Monozigot egizaklarni olishni qulay sharoitini ishlab chiqishda, bo‘lingandan keyin va yarimta embrioni transplaktatsiya qilingandan keyin in vitro sharoitida o‘stirishni davomiyligi va ularni muzlatilgan holatda saqlanishiga katta e’tibor berilgan. Yarimta embrionni 4 soat yoki undan ko‘proq vaqt davomida o‘stirilishi keyingi yashab qolishiga salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Yirik shoxli hayvonlarni embrionlarini yarimtasini *in vitro* sharoitida 24 soat davomida o‘stirilishi, ularni yashab qolishini 4—6 soat davomida *in vitro* o‘stirilganlariga qaraganda taxminan 3 marta kamaytiradi.




**59-rasm.** Hayvonlarni klonlash jarayoni bosqichlari

Sigirlarning bo‘lingan embrionlarini muzlatilgan holatda saqlash mumkinligi aniqlangan. Embrional hujayralar yadrosini enukleatsiya qilingan tuxum hujayrasiga ko‘chirib o‘tkazilgandan keyin yadro qaytadan dasturlanadi va oqibatda yangi embrion rivojlanadi. Nazariy tomondan donor embrionidan ajratilgan barcha blastomerlar bir xil genetik asosga ega bo‘ladilar va bir xil zotlarni rivojlanishini belgilash imkoniyatiga ega bo‘ladilar. Yadroni ko‘chirib o‘tkazish oqibatida hosil bo‘lgan embrionlar, o‘z navbatida yadro donorlari sifatida ishlatilishlari mumkin. Bir necha generatsiyadan keyin yuzlab, hatto minglab bir-biriga juda ham o‘xshash embrionlar olish imkoniyati yaratiladi. Yadroni qayta ko‘chirish yo‘li bilan embrionlarni klonlash uch asosiy bosqichni o‘z ichiga oladi: donorning sof yadrosini ajratish, ootsitlarni enukleatsiyasi hamda yadroni enukleirlangan tuxum hujayrasiga ko‘chirib o‘tkazish. Sut emizuvchilarni yadrosini ko‘chirib o‘tkazish ootsitlarni kuchaytirmaydi. Shuning uchun ham to‘rtinchi bosqich ya’ni ootsitlarni kuchaytirish va urug‘ hamda ootsit membranalarini qo‘shilishi kerak bo‘ladi. Elektr impulsi ta’sirida ootsitlarni va donorning hujayra yadrosi bilan retsipiyentning enukleirlangan ootsitlari membranalarini qo‘shilishi faollashadi. Hujayra yadrosini ko‘chirib o‘tkazish texnologiyasi klonlangan tirik quyonchalar, sichqonchalar, qo‘zichoqlar, uloqchalar, buzoqchalar va cho‘chqalar olishni faollashtirib yubordi. Faqat implantatsiyadan oldingi davrda embrionlar totipotent (somatik hujayralarni avlod

berish dasturini to‘liq amalga oshirish holati) bo‘lishi aniqlangan bo‘lsada, bu texnologiyaning samaradorligi hozircha past. Yirik shoxli hayvonlarda turli bosqichda bu texnologiyaning samaradorligi quyidagi cha (% hisobida): enukleatsiya (tuxum hujayradan yadro materiallarini olib tashlash) bosqichi- 70-80 klonlangan embrionlarni morul—blastotsitlarini rivojlanish bosqichi 2-30% ni tashkil etadi. K.R.Vondioli (1991) tajribalarida bir dona embriondan klonlangan embrionlarni yadrolarini bir necha bor qayta ko‘chirib o‘tkazish natijasida 190 dona yadrosi qayta ko‘chirib o‘tkazilgan embrionlar olinganligi ko‘rsatilgan. Ammo yadroni ketma-ket qayta ko‘chirish, to‘rtinchi davrdan keyin bachadonda embrional yo‘qotishlar yuqori darajada ko‘tarilishi ham kuzatilgan. Natijada, embrionlarni ketma-ket uch marotaba ko‘chirib o‘tkazilgandan keyin buzoqcha olish imkoniyati bo‘lmagan. Embrional hujayralar yadrosini enukleirlangan tuxum hujayrasiga ko‘chirib o‘tkazish, embrionlarni bo‘linish texnologiyasiga nisbatan ko‘plab ustunlik tomonlariga ega. Bular quyidagilardan iborat:

birinchidan, embrionlarni 64 hujayrali bosqichida olingan alohida embrional hujayralar bir hujayrali zigotalarda qayta dasturlanishi va ko‘plab genetik bir xil hayvonlarni nusxalarini berish mumkin;

ikkinchidan, klonlangan embrionlardan qayta ko‘chirish yo‘li bilan olish, klonlar texnologiyani potensial imkoniyatini oshirib, ko‘plab klonlar ishlab chiqarish imkoniyatini yaratadi.

Yuqorida keltirilgan eksperimentlar, usullar va yo‘llar oqibatida yigilgan tajribalar somatik hujayralar yadrosini enukleirlangan tuxum hujayraga ko‘chirib o‘tkazish orqali hayvonlarni klonlashni tashkil qilish uchun asosiy manba bo‘lib xizmat qildi. Bu ikki usulni bir-biridan jiddiy farqi shundan iboratki, embrional hujayralar yadrosini ko‘chirib o‘tkazish yo‘li bilan klonlash o‘zaro bir xil bo‘lgan hayvonlar yaratish imkonini bersa, katta yoshli hayvonlarni somatik hujayralar yadrosini ko‘chirib o‘tkazish nafaqat o‘zaro bir xil hayvonlarni, balki somatik hujayralar donori bilan bir xil bo‘lgan hayvonlar yaratish imkoniyatini yaratadi. Bu esa birinchi kundayoq chegaralanmagan sonli genetik bir xil bo‘lgan nasl olish imkoniyatini yaratdi. Shu tufayli ham bu usulni qishloq xo‘jalik hayvonlarini seleksiyasi va ko‘paytirish uchun qanchalik inqilobiy bo‘lganligini aytib o‘tishga hech qanday ehtiyoj yo‘q.

Somatik hujayralar yadrosini ishlatib, hayvon klonlarini yaratish birinchi marotaba, yaqindagina olamdan o‘tgan Dolli ismli qo‘yni tug‘ilishi bilan 1977-yilda Vilmut boshchiligidagi bir guruh olimlar tomonidan namoyish etilgan edi. Vilmut hamkasblari bilan sut bezi hujayrasining yadrosini qo‘yni enukleirlangan tuxum hujayrasiga transplantatsiya qilgan edilar. O‘shandan boshlab jahonni ko‘plab ilmiy laboratoriyalarining yo‘nalishlari katta yoshli hayvonlar va urug‘ hujayralarini qayta dasturlash imkoniyatlarini o‘rganishga qaratilgan edi. Neyman va boshqalar (1998 yil) yetilgan urug‘ni terisi va mushagidan olingan fibroplastlar yadrosi bilan klonlangan embrionlardan ikkita buzoqcha olishga erishdilar. Ammo klonlangan embrionlarni blastotsitlargacha rivojlanish faolligi juda ham past (3-8%) ekanligi aniqlangan. Klonlarni yaratish maxsus monografiyalarda hamda mutaxassis olimlar tomonidan yozilgan ilmiy maqolalarda ko‘plab chop etilgan.

Hayvonlarni klonlash bo‘yicha yig‘ilgan ilmiy natijalar shuni ko‘rsatadiki, qayta tuzilgan embrionlarni rivojlanishi bo‘yicha erishilgan yutuqlar asosan, yadro donorining retsipiyent bilan kelishtirilishiga bog‘liq. Rekonstruksiya vaqtida retsipiyent yoki donor hujayra halqalari fazalarini bir-biriga to‘g‘ri kelmaydigan holatda tanlash DNK ni parchalanishiga va qayta tiklangan embrionni noto‘g‘ri urug‘lanishiga olib keladi. Donor yadrosi bilan retsipiyent sitoplazmasi orasidagi o‘zaro aloqa har xil bosqichda amalga oshirilishi mumkin. Bu jarayon hozirgi vaqtda chuqur tahlil qilinmoqda. Rivojlanishni dastlabki bosqichida alohida blastomerlarni barobarlashtirishi har xil hayvonlarni, jumladan quyonlarni, yirik shoxli hayvonlar va sichqonlar hujayra davrini o‘zaro aloqasini o‘rganish uchun vosita bo‘lib xizmat qiladi.

**Gen muhandisligi usuli bilan transgen hayvonlar yaratish.** Genning mikroinyeksiyasi ikki yo‘l bilan amalga oshiriladi:

1-embrionlarni rivojlanishini pronukleus bosqichida jarrohlik yo‘li bilan chiqarib olish;

2-donorni so‘ygandan keyin ajratib olish.

Mikroinyeksiya uchun zarur bo‘lgan urug‘langan tuxum hujayra olish maqsadida, hayvonlarga gormon yuborib, ularda superovulyatsiya chaqiriladi va undan keyin narkozlangan yoki so‘yilgan hayvonlar tuxum yo‘lini yuvish orqali tuxum hujayralar ajratib olinadi. Embrionlarni mikroinyeksiya qilish uchun eng avvalo mustahkam o‘rnatilgan ishchi stoli bo‘lmog‘i shart. Stol ustiga mikroskopni ushlab turuvchi va inyeksiya qiluvchi pipetkalarni boshqarib turuvchi ikkita mikromanipulyator hamda inyeksion bosimni boshqaruvchi uskuna o‘rnatiladi. Mikroskop turgan stolchaga og‘zi parafinlangan inyeksiya muhit saqlovchi idish joylashtiriladi. Muhitga embrionlar aralashtiriladi. Kerak bo‘lganda, inyeksiya uchun tayyorlangan embrionlar past bosim yordamida ushlab turuvchi pipetka ustiga, inyeksiya qilinishi lozim bo‘lgan pronukleus esa yaxshi ko‘rinadigan joyga joylashtiriladi. Inyeksiya qiluvchi pipetkani uchi (uni ichki diametri 1 mkm gacha) DNK eritmasi bilan to‘ldiriladi va sekin astalik bilan 1-2 pkl hujayra membranasi orqali pronukleusga kiritiladi. Operatsiyani aniq bajarilganligi pronukleusning shishib chiqishidan seziladi. Faqat mana shunday, ko‘zga ko‘rinadigan holatda yadro hajmini kengayishi haqiqatdan ham DNK eritmasi proukleusga kiritilganligi haqida guvohlik beradi. Inyeksiyadan keyin embrionlar ushlab turuvchi pipetkadan bo‘shatilib retsipiyentga ko‘chirilib o‘tkazilguncha o‘stirib turiladi. Sichqonlarni va quyonlarni rivojlanish bosqichiga mos holda ajratib olingan urug‘langan tuxum hujayralaridagi pronukleuslar ko‘zga yaxshi ko‘rinadilar, bu esa inyeksiyani muvaffaqiyatli o‘tishini ta’minlaydi. Qishloq xo‘jalik hayvonlarining embrionlarining sitoplazmasida qoramtir, yog‘ saqlovchi granulalar bo‘lib, ular pronukleuslarni ko‘rinishini qiyinlashtiradi.

Embrionlarni 3-5 minut davomida 15000 g tezlikda sentrifuga qilinganda qoramtir granulalar tuxum hujayralarini bir tomoniga to‘planadilar, markazda joylashgan pronukleuslar yaxshi ko‘rinib, inyeksiya uchun sharoit tug‘iladi. Qo‘ylarni embrionlari uchun sentrifugalash talab qilinmaydi, ulardagi pronukleuslarni ko‘rish uchun Nomrskiy optikasidan foydalanish kifoya. Shuni ham

eslab qolish lozimki, qishloq xo‘jalik hayvonlarini embrionlariga mikroinyeksiya qilish sichqon yoki quyonlarnikiga nisbatan biroz qiyinroq kechadi. *In vitro* sharoitida qisqa muddatli (bir necha soatgacha) o‘stirilgan embrionlar bir-birlariga moslashtirilgan retsipiyentlarni tuxum yo‘llariga transplantatsiya qilinadi. Ba’zi paytlarda uzoq muddatda o‘stirilgan mikroinyeksiya qilingan embrionlarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri retsipiyentlarni bachadoniga transplantatsiya qilish ham mumkin. Genlarni (embrionlarni) ko‘chirib o‘tkazish va embrionlar olinishi va ularni donorlarni moslashishiga bog‘liq. Chunki tuxumdonlar, tuxum yo‘llari va bachadon ko‘chirib o‘tkazilgan embrionlarni rivojlanib ketishini ta’minlaydigan holatda bo‘lishlari lozim.

Spermatozidlari urug‘lantirish holatida bo‘lmagan erkak mollar bilan qo‘shilish, inson gonadotropinlari yordamida ovulyatsiyani kuchaytirish, gipofiz bezini oldingi qismidan olinadigan gormon ta’sirida amalga oshiriladi. Qishloq xo‘jalik mollarining tuxum hujayralariga qon chiqarmasdan kirish mumkin bo‘lmaganligi sababli, mikroinyeksiya qilingan tuxum hujayralari retsipiyenti jarrohlik yo‘li bilan transplantatsiya qilish orqali amalga oshiriladi. Bu maqsadda, retsipiyent narkoz ostida retsipiyentdan tuxumdon va tuxum yo‘li chiqarib olinib, tuxumdonni ovulyatsiyani kuchaytirishga (ovulyatsion hujayralar, sariq tana) munosabati nazorat qilinadi va moslashmagan (sinxronizatsiya bo‘lmagan) retsipiyentlar chiqarib tashlanadi. Keyin maxsus kateterlar yordamida mikroinyeksiya qilingan embrionlar maxsus voronka orqali tuxum yo‘liga yuboriladi. Sichqon, quyon va cho‘chqalarga 20-30 tadan zigotalar yuboriladi. Cho‘chqaga embrionlar hammasi bir tuxum yo‘liga, sichqon, quyon, qo‘y, echki va yirik shoxli hayvonlarni har bir tuxum yo‘liga alohida, ikki-to‘rttadan embrion yuboriladi. Mikroinyeksiya qilingan embrionlardan paydo bo‘lgan (tug‘ilgan) hayvonlar alohida nazoratda bo‘lib, ularning to‘qimalari, qonidan analizlar olib DNK ni integratsiyasi (hamkorlikda ishlab ketganligini) aniqlanadi. Buning uchun PZR—diagnostika, dogblogibridizatsiya (Sauzern usuli) usullaridan foydalaniladi.

Hayvonlarni transgen liniyasini tashkil qilishda ularni jinsiy hujayralarini barchasi, hech bo‘lmaganda ularning yarmi transgen saqlanganligi katta ahamiyat kasb etadi. Transgen tug‘ilgan hayvonlar va ulardan olingan avlodlarni tekshirib ko‘rilganda DNK rivojlanishni dastlabki bosqichida (urug‘langan tuxum hujayralarning pronukleus bosqichi) inyeksiya qilinishiga qaramasdan xilma xil (mozaika) hayvonlar paydo bo‘lishi kuzatilgan. Mozaika deb bir zigotadan kelib chiqqan, ammo har xil genotipga ega bo‘lgan ikki va undan ko‘proq hujayra liniyasidan tashkil topgan hayvonlarga aytiladi. Transgen mozaik hayvonlarda, transgen hujayra liniyalaridan tashqari transgen bo‘lmagan liniyalar ham saqlaydi. Bunday hayvonlardan transgen avlodlar olishda qiyinchiliklar paydo bo‘ladi. Olim va mutaxassislarni fikrlaricha mikroinyeksiya yo‘li bilan olingan transgen hayvonlarni taxminan 30% mozaika hisoblanadi. Nima bo‘lganda ham transgen hayvonlar yaratish Mendel qonuniga (50% qaytarilish) unchalik ham to‘g‘ri kelaverdi. Ularda transgen o‘tkazish imkoniyati meros qolganligi sababli, mozaikalarni bir qismi, transgen liniyalarga asos bo‘la olmaydi. Me’yorida transgen meros koldirish, monogibrid chatishtirish uchun Mendel qonuni to‘g‘ri keladi, chunki ko‘pchilik

hollarda integratsiya faqat xromosomaning birgina nuqtasida sodir bo‘ladi. Gomologik transgen bo‘lmagan xromosomada transgenga to‘g‘ri keladigan allel bo‘lmaganligi sababli “geterozigota” to‘g‘ri kelmaydi. Mozaikalarga qaytadigan bo‘lsak, ular faqatgina $F_o$ - generatsiyada paydo bo‘lishini eslab qolish lozim. $F_j$ — generatsiyasi hayvonlar va ularni keyingi avlodlari (agar ular ijobiy bo‘lsalar) barcha somatik va embrional hujayralarida gen tuzilmalarini saqlaydilar. Shunday bo‘lishiga qaramasdan bir necha holatlarda avloddan-avlodga transgenni meros qoldirishda nomu’tadillik sezilgan. Birlamchi transgen hayvonlarni genomida birdaniga bir nechta integratsiya nuqta bo‘lishi juda ham kam kuzatilgan. Ikkita bir-biriga bog‘liq bo‘lmagan integratsiya nuqtaga ega bo‘lgan transgen hayvonlarning 75% ga transgenni avlodga meros qoldirish (bunda 25%) ikki transgendan biri meros qoldirsa, 25% hayvonlarni genomida integratsiyaning har ikki nuqtasi bo‘ladi va faqat 25% avlodlar notransgen bo‘lishi mumkin. Me’yorida, gomozigot transgen avlodlarni qo‘shilishida quyidagi cha parchalanishni kuzatish mumkin: 50% gomozigotli, 25% gomozigot transgenli va 25% notransgen organizmlar. 1997-yilgacha genlarni mikroinyeksiya qilish orqali o‘tkazish, yirik transgen hayvonlar olishni birdan - bir ishonchli usuli bo‘lib xizmat qilgan. Dastlab bu usul transgen sichqonlar olish uchun, keyinroq esa yirik qishloq xo‘jalik hayvonlarini yaratish maqsadida ishlatilgan. Iqtisodiy va texnik imkoniyatlar chegaralanganligi sababli avvaliga bu usuldan faqatgina ba’zi-bir laboratoriyalar foydalanish imkoniyatiga ega bo‘lganlar. Bu laboratoriyalarda yirik hayvonlar jumladan, yirik shoxli hayvonlarni transgen formalari olingan. *In vitro* sharoitida urug‘lantirilgan qoramollar embrionlariga mikroinyeksiya orqali gen kiritish usulidan foydalanish jarrohlik yo‘li bilan pronukleus bosqichida embrionlarni ajratib olish yoki superovulyatsiyaga uchragan donor sigirlar so‘yilgandan keyin transplantatsiya qilish kabi qimmatbaho usullardan voz kechishga olib kelgan. *In vitro* sharoitida o‘stirilgan embrionlarga mikroinyeksiya orqali gen kiritish usulini paydo bo‘lishi, donor-sigirlarni saqlashga imkoniyati bo‘lmagan laboratoriyalarda ham bunday eksperimentlar qo‘yish imkoniyatini yaratilgan. Ammo bu usulni samaradorligi hamon juda ham past bo‘lgan. Transgen avlod berish imkoniyatiga ega bo‘lgan 1 ta hayvon yaratish uchun 100 dan kam bo‘lmagan hayvonlarni homilador qilishga to‘g‘ri keladi.

Shuning uchun ham olimlar transgenozni samaraliroq usulini topishga harakat qildilar. Shunday usullardan biri- embriondagi genni integratsiyasini retsipiyentga ko‘chirib o‘tkazguncha aniqlashdir. Embrionlarda kiritilgan DNK ni bor yo‘qligini, rivojlanishni dastlabki bosqichda PCR yordamida aniqlash mumkin deb taxmin qilingan edi. Ammo bu texnika, DNK ni nointegratsion shaklda uzoq muddatda saqlanganligi tufayli transgen embironlarni oddiy embrionlardan ajrata olmadi. Boshqa bir usul, hamma miqdori genomga integratsiya qilingandagina ekspressiya qilinadigan reporter genlar faolligini aniqlashga asoslangan. Ulardan ba’zi birlari antibiotiklarga chidamlilikka, lyutsiferaza fermentini faolligini yoki yashil nur beradigan oqsilni (GFP) aniqlashga asoslangan. Bu oqsilni aniqlash juda ham oson, ammo uning espressiyasi faqat DNK integratsiyasi bilan chegaralanmaydi. Shuning uchun ham ijobiy yoki salbiy xatolikka yo‘l qo‘yilishi mumkin. Transfikatsiya qilingan yadrolarni ko‘chirib o‘tkazish faqat transgen embrionlarni ko‘chirish

imkoniyatlarini ochadi, chunki bunda transgen integratsiyasi asosida tanlangan hujayralarning yadrosi ishlatiladi. TTTu munosabat bilan rekonstruksiya qilingan embrionlarni transplantatsiya qilishdan keyin olingan har qanday yangi tug‘ilgan organizm transgen bo‘ladi va transgen embrionlarni keyingi seleksiyasi talab qilinmaydi. Transfikatsiya qilingan yadrolarni ko‘chirib o‘tkazish, genomni maxsus qismiga to‘g‘ridan-to‘g‘ri integratsiya qilish imkoniyatini beruvchi ustunlikka ham ega. Mikroinyeksiya qilinganda transgenlar genomni har qanday qismida joylashib olishlari mumkin. Natijada ular ahamiyatli genlarni buzilishlari, yoki xromosomani translyatsiya va transkripsiya uchun mumkin bo‘lmagan qismlarida aralashib ketishlari va bundan tashqari ular hech qachon ta’sirchan bo‘lmaydi.

Ikkinchi tomondan, mikroinyeksiya yordamida tuzilgan konstruksiyalar o‘zi bilan qo‘shimcha axborot olib kiradi va genomda bor axborotlarni boyitadi xolos. Agar biror bir endogen genlarni faolligini susaytirishdek muammolar maqsad qilib qo‘yilsa, bunday muammolar to‘g‘ridan-to‘g‘ri emas, balki bilvosita yechiladi, masalan RNK yoki ribosomalar yordamida.

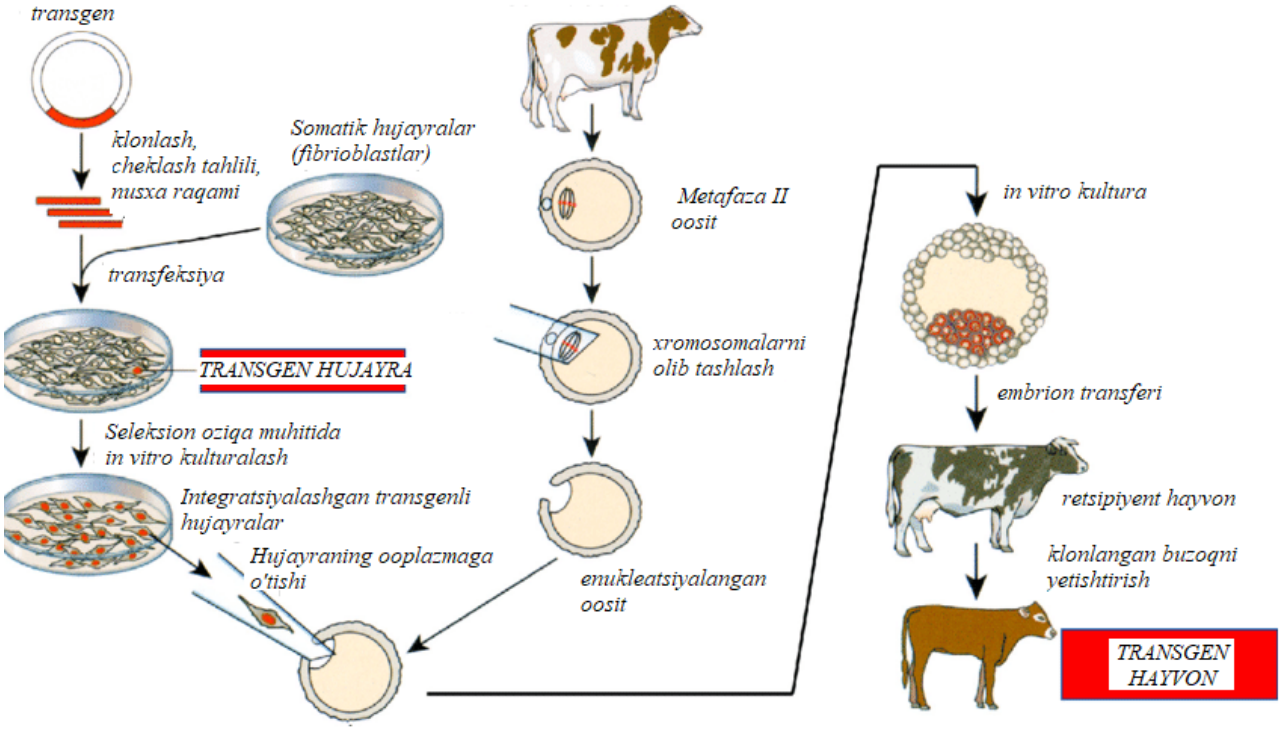
S.Chan hamkasblari bilan birgalikda (1998) birinchilardan bo‘lib, retrovirusli vektorga ega bo‘lgan genni bevosita ootsitga kiritish yo‘li bilan bog‘liq bo‘lgan transgenlarni o‘lchamlari bilan chegaralangan bo‘lsalarda, urug‘lanadigan hayvonlar uchun ayniqsa *in vitro* sharoitida muqobil usul hisoblanadi. Ekzogen DNK vektorlari sifatida spermatazoidlarni ishlatilish hozirgacha har xil mulohozalarga sabab bo‘lib kelmoqda. Keyingi olingan natijalar, izlanish uchun yagona yo‘ldan foydalanilganda ham, har xil laboratoriyalarda (ba’zan bitta laboratoriyada ham) bir biriga to‘g‘ri kelmaydigan fikr mulohozalar kelib chiqishiga sabab bo‘lmoqda. Spermatazoidlar erkak hayvonlardagi transgen olish uchun foydalanishi mumkin bo‘lgan, yagona embrion hujayra emasligi aniqlangan. 1994 yil Brinster et.al., bir hayvondan olinib, boshqa turdagi hayvonga yoki o‘sha hayvonni tuxumdoniga kiritilgan spermalar faoliyat ko‘rsatishini kuzatgan edilar. Bu esa boshqa hayvon tuxumdoniga ko‘chirib o‘tgo‘nga qadar bu hujayralarga ekzogen genlarni qo‘shish imkoniyatini yaratadi. *in situ* sharoitida erkak hayvonlar murtak hujayralarini liniyasini tirik hayvonlar tuxumdoniga bevosita DNK inyeksiya qilish orqali transformatsiya qilish mumkinligi ko‘zatilgan. Bu usul spermatazoidlarni ba’zi bir texnik yoki tibbiy sabablarga ko‘ra, urug‘ tukuvchi kanallar orqali o‘tkazilishi mumkin bo‘lmagan hayvonlar uchun o‘ta muhimdir.

Dunyodagi ko‘plab seleksioner olimlarni niyati nafaqat foydalixo‘jalik ko‘rsatkichlari yaxshilangan hayvonlarni tanlash balki, genotiplarni o‘zgarish orqali o‘ziga yoqqan ma’lum maqsadga yo‘naltirilgan hayvon turlarini yaratish hamdir. Masalan, kimga yoqmaydi deysiz, agar kattaligi mushukday bo‘lgan liliput tuyalar uyingizda chopqillab yursa. DNK ni genetik axborot tashuvchi ekanligi aniqlanguncha, rekombinant texnika asoslari yaratilmaguncha (restriktaza fermenti ochilmaguncha va DNK ni klonlash usuli yaratilmaguncha) bu xom xayol ko‘rinar edi va shunday bo‘lib qolgan edi. Nisbatan qisqa vaqtda genomdan alohida gen ajratib olish, samarali faoliyat ko‘rsatuvchi gen konstruksiyalari yaratish yo‘llari ishlab chiqildi. Keyinroq begona genlarni retsipiyent hayvonlar genomiga kiritish usullari yaratildi. Shunday qilib, seleksionerlar xususiyatlari oldindan belgilab

qo‘yilgan hayvonlar yaratish imkoniyatlariga ega bo‘ldilar. Har xil genlarni qishloq-xo‘jalik hayvonlariga ko‘chirib o‘tkazishdan qo‘yilgan asosiy maqsad bir tomondan hayvonlarni hosildorligini (sut berish, yog‘ yoki go‘sht yig‘ish, junlarni tez o‘stirish) oshirish bo‘lsa, ikkinchi tomondan ularni har xil kasaliklarga chidamliligini oshirishga hamda biologik faol moddalarni ko‘plab sintez qila oladigan hayvonbioreaktorlarni yaratishga qaratilgan.

Dastlab, gen muhandisligini asosiy yo‘nalishlaridan biri hayvonlarni o‘sish tezligini oshirish, sut berish imkoniyatlarini va mahsulotlarini sifatini yaxshilashga qaratilgan edi. Hayvonlarni o‘sishi murakkab jarayon bo‘lib, genlarni ta’siriga, oziqlanish sharoitlariga va atrof-muhit ta’siriga bog‘liq. Genetik nuqtai nazardan ayniqsa, oqsillarni kodlovchi, o‘stirish gormonlari to‘plami, jumladan o‘stirish gormoni (UG), o‘stirish gormonining rilizing omili (UG- RF) va insulinga o‘xshash omil (UG-IF) katta qiziqish uyg‘otadi. O‘tgan asrning 40-yillarida gipofiz bezidan olingan UGni sigirlarni sut berishiga ta’siri borligi isbotlangan edi. Ammo, bu preparatni juda ham qimmatligi uchun hamda hayvonlar gipofizidan ko‘p miqdorda olishni iloji bo‘lmaganligi sababli, bu preparat keng qo‘llanila olmadi. 1970-yillarda gen muhandisligini rivojlanib borishi oqibatida bu preparatni mikrobiologik sintez orqali ishlab chiqarish imkoniyati tug‘ildi. Mikrobiologik sintez orqali olingan UG, xuddi gipofizdan olinganga o‘xshab, laktatsiyani hamda hayvonlarni o‘sishini kuchaytirishi tasdiqlandi. Rekombinat UG ni yirik fermalarda ishlatganda (13 mg/kun) sigirlarni sut berishi 23-31% ga oshganligi kuzatildi. Bu preparatni ta’sirini uzoq muddatga cho‘zadigan shakllarini yaratish usullari ishlab chiqildi. Bu preparat hayvonlarga har 15 kunda yoki 1 oyda yuboriladi. UG qo‘zilarga, uloqchalarga, cho‘chqa bolalariga yoki buzoqchalarga har kun yuborilganda (inyeksiya yo‘li bilan), ularni o‘rtacha o‘sishi 20-30% ga oshganligi va rivojlanish birligiga nisbatan oziqa miqdori kamayganligi kuzatildi. Cho‘chqa bolalarini o‘sishi to‘qimalarida oqsil miqdorini ko‘payishiga va yog‘ miqdorini kamayishiga olib kelishi va shu tufayli mahsulot sifatini oshganligi kuzatilgan. UG saqlagan birinchi sichqon 1982-yilda yaratilgan. Ularda o‘sish tezligi to‘rt marotabaga, oxirgi tirik vazn esa ikki marotaba oshganligi kuzatilgan. UG yordamida o‘sishni tezlashtirish uchun cho‘chqalarni oziqasi odatdagidan ko‘proq oqsil (18% gacha) va qo‘shimcha lizin saqlashi lozim. Transgen cho‘chqalarni keyingi avlodlari yuqorida ko‘rsatilganidek oziqlantirilganda ularni o‘rtacha sutkalik vazni 16,5% gacha oshganligi kuzatilgan. UR va UR RF saqlagan transgen qo‘ylarda UR miqdori balandligi ammo o‘sish tezligi oshmaganligi kuzatilgan. Ko‘pchilik olimlar UG qabul qilingan cho‘chqalarda yog‘ qatlami nazoratdagi 18-20 mm o‘rniga, transgenlarda 7-8 mm bo‘lganligi, transgen qo‘ylarda ham yog‘ miqdori 25-30% dan 5-7% ga tushganligini kuzatganlar. Transgen liniya olish uchun ishlatilgan sichqonlarda o‘sish mahsuldorligi bo‘yicha avval seleksiya ishlari olib borilgan. Ko‘pincha cho‘chqalar esa shu ko‘rsatkich bo‘yicha o‘n yillar davomida tanlangan avlodlardan olingan. Bunday fikrni tasdig‘i sifatida 30 avlod o‘sish tezligi bo‘yicha seleksiya qilingan sichqonlarni og‘irligi dastlabkisidan ikki barobar oshganligini ko‘rsatib o‘tish kifoya. Ular, transgenlarga nisbatan juda ham kam og‘irlikka egalar. Aytilganlar asosida begona UG ni kiritilgan sichqonlar seleksiya qilinmagan sichqonlarga nisbatan o‘sish tezligini birdaniga

tezlatib yuborar ekan degan fikrga kelish mumkin. Cho‘chqalarni mavjud populyatsiyasida buning teskarisi, balki o‘sishni genetik potensiali, ko‘tarilish potensialiga juda ham yaqin bo‘lganligi sababli UG yoki uni genini kiritish o‘sish tezligiga juda kam ta’sir ko‘rsatishi mumkin. Tirik organizmlarga kerakli gen tizimini kiritish orqali mahsulot sifatini yaxshilash va uni tarkibini o‘zgartirish bo‘yicha istiqbolli ishlar amalga oshirilishi mumkin. Masalan, laktaza fermenti genini qo‘y, echki yoki yirik shoxli hayvonlar genomiga kiritish orqali laktozasiz sut beradigan transgen hayvon yaratish mumkin. Kiritilgan gen laktaza fermentini ko‘plab ishlab chiqaradi, laktaza laktozani glyukoza va galaktoza parchalaydi, oqibatda parhez sut yetishtirish imkoniyati yaratiladi.




**60-rasm**. Transgen hayvon olish texnologiyasi

Hayvonlarda mastitni yo‘qotadigan antitelalar ishlab chiqaradigan genlardan foydalanish ham katta istiqbolga egadir. Yuqorida ko‘rsatib o‘tilganidek, UG saqlagan transgen hayvonlar hujayralarida oqsil miqdori ko‘payib, yog‘ miqdori kamayadi. Bu esa olinadigan go‘sht maxsulotlarini sifatini tubdan yaxshilash imkoniyatini yaratadi. Mahsuldorlikni oshirish, ayniqsa mahsulotlarni sifatini yaxshilashni molekulyar usullari kelajak zootexnika fanini ayniqsa, chorvachilikni rivojlantirishda katta ahamiyat kasb etadi.

Qishloq xo‘jalik hayvonlaridan olinadigan mahsulotlarni 10% ga yaqini yo‘qotiladi. Shuning uchun ham kasalliklarga chidamli bo‘lgan hayvon zotlarini yaratish seleksionerlar oldida turgan eng dolzarb masalalardan biridir. Chidamlilik-hayvonlarni muayyan mikroorganizmlar, viruslar, parazitlar va toksinlarga bo‘lgan moyilligini belgilovchi merosiy genetik bog‘liqlikdir. Afsuski, ba’zi bir ijobiy misollarni e’tiborga olmaganda har xil kasalliliklarga chidamli bo‘lgan hayvonlar turlarini seleksiya yo‘li bilan yaratish unchalik katta muvaffaqkiyatlarga olib

kelmagan. Masalan, yovvoyi hayvonlar qoni aralashgan yirik shoxli hayvonlarni bir qator qonni kasallantiruvchi parazitlarga chidamli bo‘lgan populyatsiyasi yaratilgan. Kasalikka chidamlilik odatda poligen belgilarga ega bo‘ladi. Misol uchun, yirik shoxli hayvonlarni muayyan zotlarini tripan kasalikka chidamliligini yaratish, ushbu kasallikdan tashqari, issiqqa chidamliligini oshiradi va ularda oziqa yoki turar joy tanlamaslik xususiyatlarini beradi. Shuning bilan birga rezistentlikni alohida genlarga asoslangan mexanizmlari ham bor. Masalan, endi tug‘ilgan cho‘chqa bolalarini diareya kasalligiga rezistentligi *E.coli* bakteriyasining K88 shtammiga bog‘liq ekanligi yoki sichqonlarni grippga chidamligini ko‘rsatib o‘tish mumkin. Bu voqelik begona gen saqlagan transgen hayvonlarni alohida kasalliklarga moyil bo‘lmagan turlarini yaratish uchun asos bo‘lib xizmat qilgan. Yuqumli kasalliklarga nisbatan himoya mexanizmi, kasal qo‘zg‘atuvchisini kirishiga to‘sqinlik qilish yoki retseptorlarni o‘zgartirish bilan bog‘liq. Kasal qo‘zg‘atuvchilarni organizmga kirishi yoki ularni ko‘payishiga to‘sqinlik qiluvchilar-immun mexanizmlari va gistologik moslikni bosh kompleksini genlarini ekspressiyasi yoki interleykinlar, interferon, neyropeptidlar va gormonlar kabi molekulalarni immunologik xususiyatidan kelib chiqadi. Rezistentlik genlariga misol qilib, sichqonni $M_x$ genini ko‘rsatish mumkin. Barcha sut emizuvchilarda modifikatsiyaga uchragan holda topilgan bu gen $M_x^+$ - sichqonlarda gripp A ning virusga nisbatan immunitet ishlab chiqaradi. Bu shtamm alohida ajratib olingan, klonlashtirilgan va amaliyotda qo‘llanilgan. Xususan transgen cho‘chqalar olishda ishlatilgan. Bu cho‘chqalar RNK darajasida $M_x$ genini ekspressiya (genetik axborotni ko‘rinishi) qilishgan (Brem G. va boshqalar, 1991). Transgen cho‘chqalarni $M_x$_-oqsil ekspressiya qilishi va bu cho‘chqalarni gripp virusiga rezistentligi haqida ma’lumotlar hozircha chop etilmagan.

Gollandiyada mastit kasalligiga chidamli transgen hayvonlar yaratish ustida ilmiy izlanishlar olib borilmokda. Bunday hayvonlarni sut bezi to‘qimalarida laktoferin gormoni miqdori odatdagidan ko‘proq bo‘lishi aniqlangan. Adashgan RNK geni saqlovchi transgen hayvonlar yaratish ham katta ahamiyatga ega. Bu RNK ni hujayra ichiga ekspressiya bo‘lishi, boshqa RNK bilan gibridizatsiya bo‘lishiga olib keladi, bu esa virus genomini replikatsiyasini susaytirish bilan barobar.

Rossiya akademiyasining akademigi T.I.Tixonenko tomonidan adenovirusga karshi RNK genini qonstruksiyasi yaratilgan va uning asosida Rossiyaning Biotexnologiya markazida transgen quyonlar olingan. Shu guruh olimlarni boshka bir tajribalari natijasida adashgan RNK geni saqlagan transgen hayvonlarni leykoz virusi bilan kasallantirilganda bu ksalga nisbatan, chidamlilik xususiyati paydo bo‘lganligi kuzatilgan. Yuqumli viruslarga qarshi hujayra (to‘qima) ichida immunizatsiya qilish imkoniyatlari ko‘rsatilgan. Viruslarni endogen oqsillari, ayniqsa ularni mutant shakllari o‘sha viruslarga karshi himoya vositasi bo‘lib xizmat qila oladi. Xususan, hujayralariga virus qobig‘i oqsillari kiritish yo‘li bilan tovuqlarni leykoz kasaliga qarshi chidamli bo‘lgan tovuq zotlari yaratilgan. Yuqorida ko‘rsatilgan misollar har xil kasallikka chidamli bo‘lgan transgen hayvonlar yaratish qanchalik istiqbolli ekanligiga guvohlik bera oladi.

Bozorni kengaytirishni va sut mahsulotlarini ishlab chiqarish bahosini tubdan kamaytirishni eng samarali yo‘llaridan biri transgen hayvonlar yaratish orqali sut

tarkibini yaxshilashdir. Genetik seleksiya tufayli oxirgi 10-15 yilda sut sanoati, sut mahsulotlarini sifatini ko‘tarish bo‘yicha ancha yutuqlarga erishildi. Ammo, avlodlar orasidagi vaqt uzoq bo‘lganligi sababli, seleksiyaning an’anaviy usullariga asoslangan yangi genetik yutuqlar juda ham sekin o‘tadi. Bu xususiyatlarni meros qolishini juda ham kam bo‘lishi, ular orasidagi o‘zaro munosabatni pastligi har xil xususiyatga ega bo‘lgan sut mahsulotlari seleksiyasini har xil yunalishi orqali olinishi bu usuldan foydalanishni chegaralab qo‘ygan. Sut tarkibiga o‘zgartirishlar kiritish ko‘proq farmatsevtika sanoati tomonidan amalga oshirilgan. AQShda yillik bahosi 3 mlrd dollar qilib belgilangan sut bezidan bioreaktorlar sifatida foydalanish bozori farmatsevtika sanoati uchun juda katta qiziqish uyg‘otgan. Bunday bioreaktorlar yordamida sutda bir necha farmatsevtika mahsulotlari sintez qilingan hamda sut bezini sintez va sekretsiya qilish imkoniyatlaridan unumli foydalanilgan. Sut bezidan bioreaktor sifatida foydalanishni samaradorligi shunchalik yuqoriki, agar tozalash jarayonini samaradorligi kam bo‘lganda ham mahsulot bahosi bir necha marotaba pasayishi mumkin. Sut bezida nafaqat farmatsevtik oqsillar balki biologik faol peptidlar ham sintez qilinishi mumkin. Masalan, transgen quyonlar sut bilan, kalsiy almashinuvini boshqarib turuvchi kalsitonin—peptid olingan. Bu peptid osteoporozada ishlatiladi. Yaqin orada sut beziga qo‘shimcha genlar kiritilgan transgen hayvonlar yordamida inson salomatligi yo‘lida xizmat qila oladigan biologik faol moddalar ishlab chiqarilsa ajab emas. An’anaga ko‘ra sutning bahosi, uni sifati sutdagi yog‘ miqdori bilan belgilanar edi. Bugungi kunda bu munosabat o‘zgargan va endilikda, sutdagi oqsil bilan belgilanadigan bo‘lmoqda. Sut sifatini shuningdek, uning tarkibida bo‘lmagan yoki kam miqdorda uchraydigan komponentlar qo‘shish orqali ham oshirish mumkin. Sut tarkibida 4 ta asosiy komponent: yog‘, oqsil, laktoza va transport bo‘ladigan komponentlar uchraydi. Transgen sichqonlar bilan olib borilgan tajribalar asosida birinchi kundayoq ishlab turgan sanoat talablariga javob beradigan hamda iste’molchilarni talablarini qondiradigan holatda sut mahsulotlari olish mumkin degan fikrga kelingan.

Iqtisod nuqtai nazaridan sut tarkibida kazeinni miqdorini oshirish katta ahamiyatga ega, chunki u sifatli pishloq tayyorlash imkoniyatini yaratadi. Pishloq hosil bo‘lish jarayonida kazein o‘ziga yog‘ni va suvni tortib oladi shu tufayli sutni bijg‘ishini tezlatadi va sifatli pishloq hosil bo‘ladi. Sut bezida oqsil sintezi chegaralab qo‘yilgan degan fikr bor. Har qanday qo‘shimcha oqsil ishlab chiqarish sutdagi endogen oqsil miqdorini kamayishiga olib keladi. Mana shu voqeylikdan kelib chiqqan holda sut tarkibidagi keraksiz oqsillarni sintezini sekinlashtirish, hisobdagi kazein miqdorini oshirishga intilish mumkin. Bu maqsadga S-laktoglobulin to‘g‘ri keladi. Bu oqsil faqatgina kavsh qaytaruvchi hayvonlar suti tarkibida bo‘lib, sigir sutining asosiy allergeni hisoblanadi. Shuning uchun ham sut tarkibida uni miqdorini kamayishi, sut sifatini yaxshilashga xizmat qiladi. Muayyan genni faolligini pasaytirish yoki to‘xtatish maqsadida k-RNK yoki ribosomalar antisenslaridan foydalanilgan.

Laktoza sut tarkibidagi asosiy shakar bo‘lib, ko‘pchilik insonlarni oshqozon-ichak faoliyatini buzilishiga olib keladi. Ba’zi bir insonlarni sut iste’mol qilganda oshqozon dimlanishi ham shu shakar tufaylidir. Laktaza fermenti — disaxarid

laktozani ikkita monosaxarid glyukoza va galaktozagacha parchalaydi. Sut tarkibidagi laktoza miqdorini kamaytirish maqsadida bir necha sanoat usullari ishlab chiqilgan. Shunday usullardan biri sutni immobilizatsiya qilingan laktaza fermenti saqlagan vertikal reaktorlardan o‘tkazishdir. Laktozasiz sut inson organizmi uchun ham foydali bo‘lib, undan pishloq ishlab — chiqarish samaradorligi ham oshadi.

Bu muammoni transgen texnologiya bir necha yo‘llar bilan yechishga harakat qilgan. Birinchidan, bir necha tajribalar laktozani kam saqlaydigan sut ishlab chiqarishga asoslangan. Bu maqsadda gomologen rekombinatsiya orqali a-laktoalbumin tanqisli sichqonlar yaratilgan, chunki bu oqsil laktoza sintezida ishtirok etadigan komponentlar to‘plamidan biridir. Bunday genetik manipulyatsiya natijasida sutida oz miqdorda laktoza saqlaydigan yoki butunlay saqlamaydigan sichqon yaratishga erishildi. Ammo bu shakar sut bezida osmotik bosimni boshqarib turishda alohida ahamiyatga ega bo‘lganligi sababli yuqori yopishqoqlikka ega bo‘lgan juda kam miqdorda sut paydo bo‘ladigan bo‘ldi va bunday hayvonlar o‘z bolalarini to‘ydira olmaydilar. Yana bir usul sutni *in vitro* holatda laktozasizlantirishdir. Sut bezi to‘qimalariga ekspressiya qilish yo‘li bilan laktoza gidrolizga uchratiladi. Bunda bir yo‘la ikki muammo yechiladi, ya’ni hayvonlarni sut berish imkoniyatlari kamaymaydi va shakarni sutdagi miqdori kamayadi, ammo sut beziga salbiy ta’sir ko‘rsatilmaydi.

Sut o‘zining eng muhim xususiyatlari qatori har xil kerakli moddalarni tashuvchi vazifasini ham bajaradi, bu esa uning oziqa birligini hamda funksional xususiyatlarini yanada ko‘taradi. Masalan, ayol sutidagi laktoferrin nordon tabiatli oqsil bo‘lib, bakteriostatik (bakteriyalarni o‘sishini to‘xtatib qo‘yish) xususiyatiga ega, hamda organizmga temirni adsorbsiyasini kuchaytiradi. Bu oqsil juda kam miqdorda sigir sutida ham uchraydi, ammo uni miqdori ko‘paytirilganda bir necha ijobiy natijalarga olib keladi. Masalan, inson laktoferrinini ekpressiya qiluvchi transgen sichqon yaratilgan. Bu tajribalarda laktoferrin temir adsorbsiyasini ko‘paytirishi va avlodlarni saqlanishini himoya qilishi kuzatilgan. Bunga sabab, hujayralar orasidagi bo‘shliqqa joylashib olgan temirni miqdorini chegaralab qo‘yadi va shu tufayli bakteriyalarni rivojlanishini nazorat qiladi.

Bunday yondoshish endi tug‘ilgan hayvonlar uchun oddiy sut tezroq va osonroq o‘tkazishga olib keladi. Mana shu xususiyatlardan kelib chiqqan holda, insonni laktofermen genini saqlovchi transgen ho‘kiz yaratilgan. Bakteriostatik ta’sir, bevosita sut beziga yo‘naltirilgan va mastit kasalligini kamaytirish xususiyatiga ega bo‘lgan boshqa oqsil tomonidan ham ko‘rsatilishi mumkin. Masalan, lizotsim nafaqat bakteriyalarga qarshi ta’sirga ega, bu fermentni kazein bilan bog‘lanish xususiyatiga sutdan pishloq tayyorlashda ham ko‘l keladi. Kazeinni ko‘proq cho‘ktirish hisobidan pishloq miqdorini oshiradi. O‘ziga xos antitela chiqarish hisobidan, chaqaloqlarda uncha katta bo‘lmagan immunitet ham hosil qilsa kerak degan fikrlar ham bor. Transgen sichqonlarning sutida maxsus virusli omilni neytralizatsiya qiladigan, yuqori titrga ega bo‘lgan, sut bezidan maxsus immunoglobulinlar ekspressiyasini kuchaytira oladigan antitelalar olingan. Shunday qilib, inson oqsillarni sigir sutiga o‘tkazish natijasida uni inson iste’moliga yanada yaqinroq, qulayroq bo‘lishiga olib kelish mumkin. Hayvon sutiga inson laktoferinni, lizotsimi yoki immunoglabulinlarni

qo‘shilishi bu sohada qilingan dastlabki kadamlardir. Shuning bilan birga bu qo‘shilishlar davolash nuqtai nazaridan ham katta foyda keltiradi. Xuddi shuningdek hayvon organizimiga uni fiziologik faoliyatiga hech qanday ta’sir ko‘rsatmasdan hayvon oqsillarini, insonnikiga almashtirish ham mumkin.

Transgen hayvonlardan bioreaktorlar sifatida foydalanish asosida, hayvonlarga tibbiyot yoki texnologiyalar uchun kerakli bo‘lgan fiziologik faol moddalar sintez qiluvchi genlarni kiritish yotadi. Avvallari bunday moddalar inson to‘qimalari yoki inson to‘qimalarining biologik suyuqliklaridan, ya’ni qon (qon ivishini boshqaruvchi omil va qondagi boshqa oqsil moddalar) yoki gipofizdan (o‘stirish gormoni) olinar edi. Inson to‘qimalarini tayyorlash juda ham qimmat va qiyin bo‘lganligi sababli bunday moddalar juda kam miqdorda ishlab chiqarilar edi. Buning ustiga inson to‘qimalari (qoni), insondagi ba’zi-bir kasalliklarni (gepatit, OITS va boshqa) donorga o‘tkazishgacha olib kelishi mumkin edi. Molekulyar genetika fani yutuqlarini ishlab chiqarishga joriy qilingan dastlabki kunlarda rekombinat mikroorganizmlar, keyinroq esa sut emizuvchilarni transgen hujayrali liniyalari yaratildi. Bunday transgen sut emizuvchi hayvonlar xuddi bioreaktorlar singari ekzogen boshqacha qilib aytganda begona genlar kodlaydigan oqsil tabiatli moddalarni ishlab chiqarish imkoniyatiga egalar. Bunday tizim farmakologiya va tibbiyot uchun o‘ta zarur bo‘lgan- insulin, insonni o‘stirish gormoni, ba’zi bir qon ivitadigan omillar kabi biologik faol moddalar ishlab chiqarish uchun keng va muvaffaqiyatli foydalanildi. Transgen hayvonlar biologik faol moddalarni produsentlari sifatida mikroorganizmlar yoki hujayra (to‘qima) tizimi oldida bir qator ustunlikka egalar. Sut emizuvchilarni oqsillari transgen mikroorganizmlar tomonidan sintez qilinganda to‘liq glikozirlanmaydi (shakarlarni o‘zlariga ulab olmaydilar), gidrooksilana olmaydilar yoki karboksillana olmaydilar. Mikroorganizmlarni oddiy rekombinat tizimida bunday ishlarni amalga oshirish mumkin emas yoki amalga oshganda ham qisman amalga oshiriladi, o‘z navbatida bu esa oqsil tuzilishini buzilishiga va fiziologik faollikni pasayishiga olib keladi. Sut emizuvchilarni gen muhandisligi yordamida yaratilgan hujayralarida paydo bo‘ladigan oqsillar to‘g‘ri va to‘lig‘icha modifikatsiyaga uchrashadi ammo, kultural hujayralardan olinadigan oqsillarni umumiy miqdori juda ham past bo‘ladi. Buni ustiga transgen hujayra liniyasini yaratishni o‘zi o‘ta murakkab va qimmat ishdir. Transgen to‘qimalar o‘stiriladigan sanoat reaktorlarini bahosi ham o‘ta baland. Transgen hayvonlarni yaratish qimmat bo‘lishiga qaramasdan, bir marotaba yaratilgan hayvonlar o‘zlaridan butun xususiyat va xossalari avlodiga o‘xshagan meros qoldiradi, shu tufayli ham ulardan olinadigan moddalar bahosi unchalik bahona bo‘lmaydi, ularni faolliklari esa baland bo‘ladi. Geterogen oqsillar hayvon tanasidagi ko‘pgina to‘qimalardan olinishi mumkin. Struktura genlarni maxsus boshqarish elementlari bilan birlashtirib, transgenlar ekspressiyasini muayyan organda to‘plash mumkin bo‘ladi. Transgen bioreaktorlar yordamida ishlab chiqarish sut bezining epitelial hujayrasiga maqsadli yo‘naltirilgan transgen ekspressiya orqali sut bilan oqsil ishlab-chiqarishda eng katta muvaffaqiyatlarga erishilgan. Sut oqsilini sintezi uchun javobgar genni promotori bilan o‘ralgan struktura geni birinchi navbatda sut bezining hujayralariga ekspressiya qilinadi. Sut bilan geterogen oqsil sintez qiluvchi transgen hayvonlar yaratishning

asosiy bosqichlaridan biri ekspressiyani sut bezining sekretsiyasida ishtirok etuvchi epiteliyasiga yo‘naltiruvchi promotorni aniqlashdan iboratdir. Hozirgi vaqtda aSl—kazeinni promotori, P-kazein, a—laktoalbumin va zardobni nordon oqsili (WAP) promotorlari ajratib olingan. Sut bezini begona oqsil sintezi uchun ishlatilishi uning oqsil sintezi bo‘yicha yuqori hosildorligi bilan asoslanadi. Endogen sut oqsillarning umumiy qonsentratsiyasi turga qarab 2% dan 6% gacha tashkil qiladi (jadval ), demak 1 litr sutda 20 dan 100 gramgacha oqsil saqlanadi. Hozircha 1 l sutda ko‘rsatilgan miqdorda rekombinat oqsil olish mumkin bo‘lmasada shuncha miqdor sutdan bir yoki undan ko‘proq farmatsevtika nuqtai nazaridan ahamiyatli oqsil ajratib olish tijorat uchun yetarli hisoblanadi. Transgen hayvonlar sutidan olingan rekombinat oqsillardan quyidagi lar ma’lum: insonni C-oqsili, gemofilga karshi omil IX, alfa-1-antitripsin, to‘qimalarni plazminogenli aktivatori, laktoferrin, insonni zardob albumini, interleykin-2, urokinaza va ximozin alfa-1-antitripsin va ximozindan tashqari rekombinant oqsillar olish tijorat nuqtai nazaridan qiziqish uyg‘otadigan bosqichdan o‘tganicha yo‘q. Insonni rekombinant alfa-1-antitripsini va ximozin olish usullari hozirning o‘zidayoq tijorat bosqichidan o‘tgan.

Buyuk Britaniyaning Edinburg shahrida faoliyat ko‘rsatayotgan bir guruh olimlar 1992-yilda inson alfa-1-antitripsin geni va bettaglobulin promotori saqlovchi transgen qo‘y yaratishga erishgan edi. Bu olimlar yaratgan to‘rtta qo‘y sutidan bu oqsil miqdori 1 litrga 1 gr, bitta qo‘yda esa avvaliga 60 g/l, keyinroq bu ko‘rsatkich 35 g/l ga tushib, shu holda uzoq muddat saqlangan va u sut tarkibidagi barcha oqsillarni yarmini tashkil etgan. Yaratilgan barcha qo‘ylar sog‘lom bo‘lib, laktatsiyada hech qanday o‘zgarish kuzatilmagan. Oqsil miqdori shunday bo‘lgan har bir qo‘y sutidan yiliga 10 kg gacha farmatsevtika va tibbiyot uchun zarur bo‘lgan oqsil ishlab chiqarish mumkin, bu esa o‘pka emfizemasi bilan og‘rigan 50 ta kasalni davolashga yetadi. Moskva shahridagi bir guruh olimlar: L.K.Ernest, G.Brem., M.I. Prokofev, I.L. Goldman va boshqalar 1 l sut tarkibida 200-300 mg ximozin fermenti saqlovchi transgen qo‘y yaratishga erishdilar. Pishloq ishlab chiqarishda asosiy komponentlardan biri bo‘lgan ximozinni mana shu yo‘l bilan ishlab — chiqarishni yo‘lga qo‘yilganda, u buzoq va qo‘zichoqlarni shirdon suvidan olinadigan fermentni o‘rnini bosadi, bu esa an’anaviy usuldan 5—10 marotaba arzonga tushadi.

Farmakologik oqsillarni ishlab chiqarishga bo‘lgan qiziqish eng avvalo iqtisodiy foyda keltirish bilan bog‘liq. Transgen hayvonlardan foydalanib, farmakologik oqsillarni ishlab chiqarish baxosi gen muhandisligi yordamida yaratilgan mikroorganizmlar va sut emizuvchilar hujayralarini rekombinat liniyalari yordamida olinganiga qaraganda 100-1000 marotaba arzonroq tushadi. Dunyoni nufuzli kompaniya va firmalarida farmakologik faol oqsil tabiatli moddalarni transgen hayvonlar yordamida ishlab chiqarishni yo‘lga qo‘yish ustida ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Shunday firmalardan Djinzaym (AQSh), PPL Terapevtike (Angliya -AHN), Red. Kross (AQSh) Farmint (Gollandiya) va boshqalar. Farmatsevtika firmalarni buyurtmalari bo‘yicha AQShni Infigen firmasi sutitsar farm preparatlar saqlagan transgen hayvonlar yaratish ustida ishlaydi. Rossiyani Biotexmarkazida ham oxirgi 10 yilda transgen hayvonlar yaratish ustida ishlar olib borilmoqda. Hozirgacha transgen quyon, qo‘y, echki yaratishgan. Bu markazda oxirgi

yillarda sutida qimmatbaho onkologiya va kardiologiyada ishlatiladigan dorivor moddalar saqlangan, transgen hayvonlar yaratish bo‘yicha ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Transgen quyonlar ishlatilganda 10—12 oy mobaynida klinik tekshiruvlarga yetarli miqdorda dorivor modda yig‘ib olish imkoniyati bor.

Sutida rak (kimyoterapiya va radioterapiyadan keyin) ilikni ko‘chirib o‘tkazganda (hamda OITS bilan og‘rigan o‘tkir leykopiya (okqonlik) kasalliklarida ishlatiladigan granulotsitlar koloniya stimulyatsiya qiladigan omil saqlovchi transgen quyon olingan. Bunday preparatni glikozillanmagan shakli chikariladi. Uning bir davolash kursini (5-7 mg) bahosi 2,5-4,0 ming dollar. Hozircha bu oqsilni samaraliroq bo‘lgan, ya’ni glikozillangan shaklini tayyorlash yo‘lga qo‘yilmagan. Transgen hayvonlardan foydalanilganda preparatni ham samaradorligini oshirish ham uni bahosini 10 marotabaga kamaytirish mumkinligi haqida taxmin qilinmoqda. Sutda inson qon zardobining albumini saqlagan yirik shoxli hayvonlar, xususan, transgen sigir yaratish ustida ishlar tezkorlik bilan olib borilmokda. Bunga sabab bu preparatga bo‘lgan talab juda ham katta dunyo bo‘yicha 100 tonnani tashkil etadi. Shuncha preparat olish uchun 5400 ta transgen sigir kerak bo‘ladi. Faqatgina Rossiya bozorida bu preparatga talab yiliga 1 mlrd. dollarni tashkil etadi. Sutida monoklonal antitelalar saqlovchi transgen hayvonlar tayyorlash dasturi tayyorlanmoqda. Monoklonal antitelalar texnologiyasidan foydalanib, organizmdagi qator eng muhim biologik jarayonlarni boshqarish, har xil kasal qo‘zg‘atuvchilarni ishtirokini aniqlash, organizmni muayyan guruh hujayralariga jumladan, rak hujayralariga tanlab ta’sir etish mumkin. Bunday tizimni qo‘yilishi rak kasalliklarini davolashda inqilobiy rol o‘ynashga niyat qilinmoqda. Insonga ko‘chirib o‘tkazish maqsadida, transgen hayvonlardan organlar donori sifatida foydalanish bo‘yicha ishlar olib borilmokda. Kerakli gen konstruksiyalari hayvon murtagiga o‘tkazish orqali, odamga transplantatsiya qilingan nojins to‘qimalar va a’zolarni bitib ketmasligi xavfni kamaytirilgan transgen hayvonlar yaratish mumkin. Olimlarni fikrlaricha, birinchi bosqichda bu texnologiya kandli diabet kasalligini davolashda ishlatilishi mumkin. Bunda, kasalga Langengars orolchalari to‘qimalari (P~hujayralar) ko‘chirib o‘tkaziladi va o‘tkazilgan to‘qimalar o‘z-o‘zidan ko‘payib, oshqozon osti bezini faoliyatini bajaradi.

Transgen hayvonlar yaratgan ko‘pchilik olimlar, yaratilgan hayvon salomatligida qandaydir o‘zgarishlar bo‘lishini kuzatganlar. Shuni ham aytib o‘tish lozimki, transgen hayvonlar hamisha nazorat ostida bo‘ladilar va ozgina o‘zgarishlar sezilgan hayvonlar keyingi ko‘payishiga qo‘yilmaydi. Shuning uchun ham bunday o‘zgarishlarni kuzatilishi transgen hayvonlardan meros olish uchun unchalik xavf tug‘dirmaydi. Amerikalik olimlarni fikrlaricha, o‘stirish gormoni geni o‘tkazilgan transgen cho‘chqada ba’zi bir o‘zgarishlar, jumladan ularni o‘sish nazorat qiladigan oziqa moddalarni samarasini oshishi, tanasidagi yog‘ miqdorini kamayishi hayvonlarda oqsoqlik va oshqozonida yara paydo bo‘lishiga, glyukoza metabolizimini buzilishi, boshqa o‘zgarishlarga olib kelishi mumkin. Ular bunday o‘zgarishlarni transgen hayvon qoniga so‘rilgan o‘stirish gormonini ta’siri natijasi deb taxmin qilganlar. Har xil transgen hayvonlarda me’yordan tashqariga chiqadigan o‘zgarishlar bo‘lishi yoki bo‘lmasligi haqida bir-birlariga qarama-qarshi fikrlar

aytilgan. Shunday bo‘lishi ham o‘rinli, chunki bunday izlanishlar boshlanganiga hozircha ko‘p vaqt bo‘lganicha yo‘q, buni ustiga har xil ilmiy laboratoriyalarni imkoniyatlari turlichadir.

## 15§. VETERINAR TIBBIYOTDA BIOTEXNOLOGIYALARDAN FOYDALANISH

Hayvonlar orasida har-xil kasallik tarqalishi qator omillar bilan bog‘liq bo‘lishi, ular orasida esa mamlakatga xorijdan keltiradigan oziqa mahsulotlarini sifati ham sabab bo‘lishi mumkin. Oziq-ovqat va hayvonlardan olinadigan barcha mahsulotlar mamlakatga kirishdan oldin davlat chegara nazoratidan o‘tkaziladi. Uni chegara veterinar nazorat punkti aeroportda, temir yo‘l vokzallarida, avtomobil yo‘llarida amalga oshirmoqlari lozim. O‘zbekistonda qator Yevropa mamlakatlarida sodir bo‘lib turgan epizootiya kasalliklari hozircha uchramagan bo‘lsada, bunday kasalliklarni kelib chiqishi sabalari chuqur o‘rganishni va eng avvalo har xil xavfli kasalliklarga o‘z vaqtida tashxiz qo‘yishni talab qiladi. Veterinariya – sanitariya qoidalariga asosan O‘zbekistonga kiritiladigan oziqa moddalari va oziqaga qo‘shiladigan qo‘shimchalar faqatgina shu mahsulotlarni ishlab chiqarishga, ularni eksport qiluvchi mamlakatlarni markaziy davlat xizmati tomonidan ruxsat etilgan korxonalarda ishlab chiqarilishi va doimiy ravishda ularni nazoratida bo‘lishi kerak.

Oxirgi yillarda Yevropaning eng rivojlangan mamlakatlarida sodir bo‘layotgan, o‘ta xavfli, yirik shoxli hayvonlarga qirg‘in solgan labsimon ensefalopatiya kasalligi haqida fikr qilmoqchimiz. Bu kasallik prion tabiatli kasalliklarga kiradi. Prionlar odam va hayvon bosh miyasida neyrodegenerativ o‘zgarishlar chaqiradi. Eng xavfli tomonlaridan biri – bu kasallik juda uzoq muddatli inkubatsion davrga ega bo‘lib, (ba’zida 30 yilgacha), sekin o‘tadi, ba’zan, shamollash belgilari bilan boshlanib, javobi bo‘lmagan hamda faqat o‘lim bilan tugaydigan kasalliklar safida turadi. Bu kasallik Buyuk Britaniyada epidemiyaga aylanib ketib, millionlab hayvonlarni o‘limiga sabab bo‘lganligi va bu epidemiya bir necha bor qaytarilayotganligi tashvishli holdir.

Shuning uchun ham bu kasallikni mamlakatga kirib kelishini oldini olish maqsadida Rossiya 1989-yildan boshlab Buyuk Britaniyadan go‘sht mahsulotlari (konserva, qoramol sut mahsulotlari, tirik qoramol, sperma, embrionlar, go‘sht va go‘sht suyak uni va boshqa oziqalar) ni xarid qilish ta’qiqlab qo‘yilgan. Mol go‘shtini Yevropada hamkorlik mamlakatlaridan reeksport qilish ham man etilgan. Yuqumli kasalliklarga qarshi kurashni eng asosiy yo‘llaridan biri- bu vaksinatsiyadir. Boshma-bosh vaksinatsiya qilish orqali ospa butunlay yo‘qotilgan, quturish, yashur va boshqa kasalliklar keskin qisqargan. O‘z vaqtida vaksinatsiya o‘tkazish katta iqtisodiy samara beradi. An’anaviy vaksina preparatlari kuchsizlangan yoki butunlay faoliyatini yo‘qotgan kasal qo‘zg‘atuvchilar asosida, har xil oziqa muhitida kupaytirish asosida, aniq bo‘lgan yoki yangi yaratilgan texnologiyalar asosida ishlab-chiqariladi.

Zamonaviy biotexnologiya ko‘plab vaksinalar variantlarini ishlab chiqarishni rejalashtirgan, ammo ular orasida katta qiziqish uyg‘otadiganlari: rekombinat vaksinalar va vaksina antigenlardir. Har ikkala vaksinalar ham gen-muhandislik

usullaridan foydalanib yaratiladi. Rekombinant vaksinalar tayyorlash uchun odatda yaxshi o‘rganilgan qoramollarda ospa chaqiradigan virusdan foydalaniladi (ospa vaksinalar). Ospa virusining DNK siga har xil kasallikni chaqiradiganlarga qarshi immunogen oqsillar kodlovchi begona genlar kiritiladi: gripp virusining gemagmotinini va gerpes virusining genkoprotein D, gipatit B virusining sirtqi antigeni, molyariya antigeni va boshqa yo‘llar orqali olingan vaksinalarni ustunlik tomoni shundaki, DNK qismlarini birlashtirish asosida, har xil patogenlarga qarshi polivalent preparatlar yaratish mumkin. Bu esa hayvonlarni bir vaqtni o‘zida o‘sha regionga xos bo‘lgan ko‘plab yuqumli va xavfli kasalliklarga qarshi emlash imkoniyatini beradi.

Vaksina antigenlar kasal qo‘zg‘atuvchilarni genini *E.coli*ga, achitqilarga, hasharotlar yoki sut emizuvchilar to‘qimalariga klonlash orqali tayyorlanadi. Hozirgi vaqtda gepatitning HBS – virusini sirtqi antigeni (zardob gepatiti), yashur virusi qobig‘idagi oqsil VPI – genlari klonlangan. Yashur virusi bir necha serotip holatida uchraydi. Oqsil muhandisligi usullari yordamida bir oqsil antigeni doirasida har xil serotiplarning iimunogen kompopentlarini tuzilishi mumkin. Vaksina antigenlar saqlash va tashishga chidamli, ishlatilishi nisbatan sodda, juda kam miqdorda oqsil saqlagani uchun allergenlik xususiyati ham o‘ta past, infeksion kasallik chaqirmaydi. Ammo, hozircha ularni immunogenligi pastligi uchun foydalanishda biroz muomma paydo bo‘lib turibdi. Bunga sabab, vaksina kasal qo‘zg‘atuvchini immunitet hosil qilish uchun zarur bo‘lgan barcha kompopentlarini saqlamasligidir. Masalan, virus hujayrani tark etayotib, ko‘pincha uni membranasiga “o‘ranib” oladi. Mana shu membrananing gen muhandisligi yo‘li bilan olingan oqsilda yo‘q bo‘lgan kompopentlari, immunogen hossalarga ega bo‘lishlari mumkin. Vaksin-antigenlarni immunogenligini ko‘tarishni, vaksinalarni immobilizatsiya qilish, yoki ularni liposomalarga kiritish, ularga adyuvantlar (mu’tadillashtiruvchi moddalar) qo‘shish orqali amalga oshirish mumkin.

Biotexnologik izlanishlarni ko‘p yo‘nalishlari tibbiyot va veterinariya muommolarini yechish bilan bog‘liq. Olimlar yangi avlod antibiotiklarini yaratish ustida tinmay mehnat qilmoqdalar. Bunga sabab, hozir ishlatilib kelayotgan antibiotiklarga ko‘pchilik kasal qo‘zg‘atuvchi mikroorganizmlarni o‘rganib qolganligi, ularni zaharliligi, ba’zi birlarini allergenlik xususiyati va boshqa kamchiliklaridir. Bu muammoni yechishda quyidagi yo‘nalishlarda izlanishlar olib borilishi lozim:

- yangi produsentlarni sinab ko‘rish, katta miqdorda antimikrob agentlar sintez qiladigan mikroorganizmlarni tanlash va o‘rganish;
- antibiotiklarni zaharliligini pasaytirish maqsadida ularni kimyoviy modifikatsiya qilish (masalan, uzoq vaqtlardan buyon og‘ir mikozga qarshi ishlatilib kelinayotgan amfoteritsin B, buyrukda qaytarib bo‘lmaydigan buzilishlar chaqirishi aniqlangan, amfoteritsinni metil efiri kamroq toksinlikga ega bo‘lishi bilan birga zamburug‘ga qarshi xususiyatini yo‘qotmagan; penitsillinlar va sefalosporinlarni har xil immobilizatsiya qilingan fermentlar yordamida modifikatsiya qilingan, o‘zlaridan faolroq hosilalari olingan).

- antibiotiklarni molekulalarini tashkil qiladigan alohida fragmentlarni sintez qilmaydigan mutant shtammlarni olish va ularni ishlatish, bundan fragmentlarni muqobillari (yoki antibiotiklarni muqobillari) oziqa muhiti tarkibiga kiritiladi, mikroorganizmlar bu muqobillarni biosintez uchun ishlatadi, oqibatda modifikatsiya qilingan antibiotiklar sintez bo‘ladi;
- gen muhandislik usullarini ishlari mikroorganizm genomiga antibiotiklarni modifikatsiya qilishda qatnashadigan fermentlar haqida ahborot kiritish, masalan: antibiotiklarga metil guruhi kiritish uchun metilaza fermenti kerak bo‘ladi;
- hujayra muhandisligi usullaridan foydalanib, gibrid antibiotiklar yaratish; (masalan shakarlar aglikonini yangi kombinatsiyalari ).

Ma’lum bo‘lgan antibiotiklarni biosintezini samaradorligini ko‘tarish ham biotexnologiya fanining dolzarb masalalaridan biridir. Olimlar va mutaxassislarni produsent shtammlarni indutsirlangan mutagenez va ko‘p bosqichli tanlash bo‘yicha olib borgan izlanishlari yaxshi natijalarga olib kelgan. Masalan, penitsillin sintez qiluvchi *Penicillium*ni shtammining samaradorligi yuz marotabadan ko‘proq oshirilgan. Antibiotiklar biosintezida “muammolik joylar” genlarini klonlash yoki biosintetik fermentlarni yagona operonda kodlashgan mumkinligi ma’lum ma’noda istiqbollar ochadi.

Istiqbolli yo‘nalishlardan yana biri antibiotiklarni kapsulalangan holatda ishlab-chiqarish, ularni liposomal shakllari ularni organizmni kerakli qismiga yetkazadi va o‘sha joyda o‘z ta’sirini ko‘rsatadi, demak ularni ikkinchi darajali ta’siri kamayadi va samaradorligi oshadi. Bunday ishlanmalar boshqa dorivor moddalar uchun ham foydalidir. Masalan, kalazar – leyshmaniyalar chaqiradigan kasallik bo‘lib, uni davolashda o‘ta zaharli bo‘lgan surma preparatlari ishlatiladi. Bu preparatlarni davolash miqdori (dozasi) inson hayoti uchun zaharli. Liposoma tarkibiga kiritilgan surma to‘g‘ridan-to‘g‘ri kasallangan organlarga qorataloq va jigarga olib kelinadi, shu tufayli odatdagidan kamroq miqdorda (dozada) bo‘lsada, samaraliroq ta’sir ko‘rsatadi.

Antibiotiklar o‘rniga inson organizmiga ularni produsentlari – kasallik qo‘zg‘atuvchisining antogonistlari yuborilishi mumkin. Bunday usullar M.I.Mechnikov ishlaridan boshlangan bo‘lib, u yiring chaqiruvchi mikroblarga qarshi sut achituvchi bakteriyalardan birinchi bo‘lib foydalangan edi. Tishlarni koriesini kelib chiqishidan og‘iz bo‘shlig‘ida yashovchi bakteriya S.mutans katta rol o‘ynaydi, uni og‘izga kiritilganda o‘zidan korroziv kislotalar chiqaradi va shu tufayli yovvoyi shtammlarni siqib chiqaradi. Yuqorida ta’kidlab o‘tilganidek, chorvachilikni rivojlantirishda qishloq xo‘jalik hayvonlari orasida ko‘plab uchraydigan yuqumli kasalliklarni oldini olish, bu maqsadda tirik rekombinant vaksinalar va gen muhandislik usullari bilan yaratilgan vaksin – antigenlardan, foydalanish, bunday kasalliklarni monoklonal antitelalar va DNK RNK – proba orqali erta diagnostika qilish katta ahamiyatga ega. Hayvonlarni mahsuldorligini oshirish maqsadida hozirgi vaqtda mikrobiologiya sanoati zamburug‘lar, bakteriyalar, achitqilar va suv o‘tlari asosida qimmatli oziqalar ishlab chiqarmoqda. Bir hujayralilarni yuqori miqdorda oqsil saqlovchi biomassasi qishloq xo‘jaligi hayvonlari organizmida yaxshi so‘riladi.

Masalan, 1 t achitqi oziqasi – 400-600 kg cho‘chqa go‘shti, 1500 kg gacha parranda go‘shti, 25-30 ming dona tuxum berishi va 5-7 tonna bug‘doyni iqtisod qilish imkonini yaratadi. Buni juda katta ahamiyati bor, chunki butun dunyoda 30 % qishloq xo‘jalik maydoni hayvonlar va parrandalarga oziqa yetkazishga ajratilgan.

Oziq-ovqat sanoatida, oziqa mahsulotlarini qayta ishlash va saqlashni yangi usullarini yaratish, oziqa qo‘shimchalari olish (masalan, mikroorganizmlar sintez qiladigan biopolimerlar, aminokislotalar, hushbo‘y hid va ta’m beradigan moddalar), bir hujayraliklar sintez qiladigan oqsillardan foydalanish va oziqa mahsulotlarini qayta ishlashda fermentlardan foydalanish va x.k. iqtisodiyotni ko‘tarishga xizmat qiladigan qo‘shimcha omillardir. Shuningdek, diagnostikani takomillashtirish uchun fermentlardan foydalanish, murakkab dori-darmonlar yaratishda fermentlardan foydalanish (masalan, steroidlar), yangi antibiotiklar sintez qilish va ulardan hayvonlarni yuqumli patologiyasida foydalanish ham katta foyda keltiradigan sohalardir. Hozirgi vaqtda tobora kengayib borayotgan veterinariya tibbiyotida vaksinalardan foydalanish, ularni gen muhandisligi usullari asosida zamonaviy shaklda raqobatbardosh qilib chiqarishni sanoat asosida yo‘lga qo‘yish ham katta ahamiyat kasb etadigan biotexnologik jarayonlardan biridir. Ammo, bu usulni ishlatilishi quyidagi sababga ko‘ra murakkablashgan: ma’lumki, har qanday tipdagi antigenli deatamaantlarni immunogenlik aktivligi qanchalik namoyon bo‘lishi uchun ularni antitela bilan o‘zaro ta’sirini ko‘p yoki kamligini belgilab beruvchi omil antitela tomoniga qaragan sirtqi qismi hisoblanadi. Boshqacha qilib aytganda virus oqsillarini immunogenlik va antigenlik xossalari ularni ikkilamchi, uchlamchi va to‘rtlamchi strukturalariga bog‘liqdir. Ayni mana shu dalil sub’edinitsalarni immunlik faoliyati kamroq bo‘lishiga asosiy sababdir, chunki sub’edinitsalarda eng kerakli antigen deatamaantlar joylashgan bo‘ladi.

Yaqinlargacha, virus va bakteriyalarni yuzali oqsillarini sintez qilishni eng afzal yo‘li mikrobiologik sintez deb hisoblanar edi. Shu yo‘l bilan o‘ziga xos muvoffaqiyatlarga ham erishildi (Rekombinant DNK olishni ko‘zda tutilmoqda). Virus genlarini bakteriyaga ekspressiya qilindi (gemagglyutinin, gripp, yashur va boshqa viruslar oqsillari). Ammo, bakterial hujayralarning rekombinantli plazmidalarida sintez bo‘ladigan qobiqli oqsillarni birortasi ham sub’edinitsa tipidagi vaksina bo‘la olmadi. Shunday bo‘lishiga shubha bilan qaraydigan olimlar soni oshib bormoqda. Bu bakterial tizimda sintez bo‘ladigan virus oqsillari o‘zlarining immunogenlik xususiyatlari va mahsulotni miqdori bo‘yicha eukariot organizmlarda o‘tadigan sintez oldida samarasiz ekanligi bilan tushuntiriladi. Bugungi kunda yashurga qarshi sintez qilingan, tabiatan oligopeptid bo‘lgan vaksina keng qo‘llannilib kelinmoqda. Bunday vaksinalar umuman xavfsizdir. Ular ikkinchi darajali ta’sirga ega emaslar, faqatgina ularni ishlab chiqarish bahosi juda ham qimmat. Shularni hisobga olgan holda viruslarni bir necha xillari va serotiplariga nisbatan poliantigenli deatamaantlarni gen muhandislik yo‘li bilan sintez qilish istiqbolliroq ko‘rinadi. Antigen deatamaantlar ularni tashuvchi oqsil molekulasiga antitela bilan uchrashuvi ta’minlanadigan holatda joylashishlari kerak. Bu vazifa bajarilishi qiyin bo‘lmagan vazifalar sirasiga kirib, u oqsil molekulasini erigan holatida ikkilamchi va uchlamchi strukturalarini aniqlash usullari orqali yechiladi.

Bunday holatda oqsillarni immunogenlik aktivligi, ularni multimer agregatlar hosil qilish imkoniyatlari bilan bog‘liq bo‘lmaydi. Oqsillarni immunogen xususiyati albatta ularni birlamchi strukturasi bilan aniqlangan bo‘ladi. Shunday bo‘lganda, gen-muhandisligi usullari yordamida ishlab-chiqarilishi boshlab yuborilgan ikkinchi avlod vaksinalarni mikroorganizmlar tizimida ham tayyorlashni yo‘lga qo‘yish texnologiya nuqtai nazaridan mumkin bo‘lib qoladi.

Faqat mana shu yo‘nalish bilan sun’iy vaksinalar yaratish imkoniyatlari chegaralanib qolmaydi. Viruslarni neytralizatsiya qiluvchi antitelalarni paydo bo‘lishi uchun javobgar antigen deatamaantlar ko‘pchilik viruslarda birlamchi strukturasi o‘zgaruvchanlikga molik bo‘lgan oqsillarni muayyan qismlarida joylashgan bo‘ladi. Shuning uchun ham virusning bir serotipiga qarshi tayyorlangan vaksina, shu turga mansub bo‘lgan, ammo boshqa serotipli viruslardan yaxshi himoya qilaolmaydi. Ammo, hayvonlarni oqsilni o‘zgarmaydigan qismi bilan immunizatsiya qilinganda, organizmda oqsilni kam o‘zgaruvchan qismiga qarshi antitela hosil bo‘ladi. Bundan farqli o‘laroq butun virus yoki antigen deatamaantlar saqlovchi, ajratib olingan oqsil bilan immunizatsiya qilinganda bunday hodisa kuzatilmaydi. Bu fenomenni mexanizmi hozircha noma’lum. Bu jarayonni mexanizmini ochilishi kengroq ta’sir spektriga ega bo‘lgan vaksinalar yaratilishiga xizmat qilsa ajab emas. Grippning A va B virusi qobig‘ida joylashgan oqsilning konservativ (o‘zgarmaydigan) qismlariga qarshi antitela shu serotiplarni barchasini neytralizatsiya qilaoladi. Mana shu texnologiyani yo‘lga qo‘yilishi keng ta’sir spektriga ega bo‘lgan virusga qarshi vaksinalar yaratilishiga olib keladi degan fikrlar mavjud.

Oqsil molekulasida immunogen bo‘lmagan qismlarni borligini tushuntiruvchi umumiy nazariya hamda “jim turgan”, ammo “gapirish”ga imkoniyati bor qismlarni immunogenligini oshiruvchi bir qator tadbirlar ishlab chiqilgan hozirgi vaqtda hayvonlarni bir qator yuqumli kasalliklarini (yashur, quturish, ichketish va boshqa virusli kasalliklari) oldini oluvchi gen-muhandislik vaksinalari yaratilgan. Shuningdek bakteriyalar chaqiradigan infeksiyaga qarshi preparatlar ham ishlab chiqarilmoqda. Masalan, AQShda stafilokokklar uchun zaharli bo‘lgan oqsil topilgan. Ma’lumki, stafilokokklar yirik shoxli hayvonlarda mastit (sut bezlarini shishishi) chaqiradilar. Laboratoriya tekshiruvlar bu oqsil bir necha minut orasida ta’sir qilish hamda antibiotiklarga chidamli bo‘lib qolgan hujayralarni o‘ldirishini ko‘rsatgan. Kelajakda, ko‘p valentlik gen-muhandislik vaksinalarni yaratish va ishlab-chiqish, ko‘p ma’noda shu yo‘l bilan xususiyatlari oldindan belgilangan oqsillar yaratish muammolarini yechishdek fundamental tadqiqotlarni natijasi sifatida amalga oshirilishi mumkin.

Kasal qo‘zg‘atuvchilarni molekulyar gibritsidizatsiya usullari orqali aniqlashda rekombinant DNK dan foydalanish mumkin. Bu usul yuqumli kasalliklarni tez va aniq diagnostika qilish, shu kasalni tashuvchi hayvonlarni aniqlash imkoniyatini yaratadi. Bu usul asosida radiaktiv moddalar yoki biochiplar bilan belgilangan (mechonnыy) DNK zondlarini ishlatish, keyin zondlarni kasallik qo‘zg‘atuvchisini olib hayvon to‘qimalarini nushalari bilan gibridizatsiya qilish yotadi. Bu usul ayniqsa bekilgan (aniq bo‘lmagan) infeksiyalarni xlamidiozlar, sekin infeksiyalar va x.k. aniqlash uchun juda bebahodir. DNK asosidagi molekulyar zondlardan foydalanish

xususiyatlari bir-birlariga yaqin bo‘lgan yuqumli kasalliklari qo‘zg‘atuvchilarini aniqlash imkoniyatini yaratadi.

Tibbiyotdagi kabi, veterinariya fanida ham avloddan meros o‘tadigan kasalliklarni davolashda gen-terapiya usullaridan foydalanish istiqbollari bor. Qimmatbaho hayvonlarni genomini sun’iy o‘zgartirish albatta amalga oshirilmog‘i lozim. Bunday texnologiyani prinsipial chizmalari hozirgi vaqtda tibbiyotda sinab ko‘rilmoqda. Ma’lum miqdordagi sog‘lom to‘qimalarni (genomli sog‘lom) ko‘chirib o‘tkazish ijobiy natijalarga olib kelishi muqarrar. Bunday sharoitlar hozirgi vaqtda tibbiyotda tekshirilib, sinovlardan o‘tkazilmoqda. Shuning bilan bir qatorda olimlar va mutaxassislar oldida hayvonlarda trangenoz texnologiyasini takomillashtirish, genetik chidamli hayvonlar yaratish va ularni har xil infeksion kasalliklarga yuqori darajada chidamli bo‘lgan turlarini yaratishdek ulkan vazifalar turibdi. Shunday qilib, veterinar tibbiyotda biotexnologiyadan eng avvalo genetik muhandislik usullaridan keng foydalanishni biqiyos imkoniyatlari yotibdi. Bundan bosh maqsad chorvachilikni sanitariya ahvolini yaxshilash, inson hayoti uchun xavf tug‘dirmaydigan chorva mahsulotlari yaratishdir.

# VII bob. OZIQ-OVQAT BIOTEXNOLOGIYASI

## 16§. BIOTEXNOLOGIK JARAYONLARNING ENG MUHIM BIOKIMYOVIY ASOSLARI

**Bijg‘ish**. Bijg‘ish hodisasi juda ham qadimdan ma’lum bo‘lsada, uning haqiqiy tabiati va umumiy mexanizmi mashhur fransuz olimi *Lui Paster* tadqiqotlari asosida aniqlandi. 1861-yilda L.Paster glyukozadan etil spirti va uglerod (IV)- oksidining (karbonat angidridi) hosil bo‘lishi atmosfera kislorodi ishtirokisiz sodir bo‘lishini kuzatdi. Fermentatsiya deb ataladigan bu jarayon, tirik organizmlarning kislorod bo‘lmagan sharoitda, glyukozadan oziqa va energiya olish qobiliyatining ifodasi degan ta’rifi, ilmu-fan tarixida buyuk ahamiyatga ega bo‘ldi. Ammo bu jarayonni L.Paster faqat tirik organizmlar (achitqi zamburug‘lari va boshqa mikroorganizmlarlar) hayot faoliyatigagina bog‘lab, bu organizmlarsiz bijg‘ish yuz bermasligini ta’kidlagan edi. Keyinchalik bu jarayonni amalga oshiradigan fermentlarni batafsilroq o‘rganishga muvaffaq bo‘lindi. 1897-yili Byuxner hujayrasiz achitqi shirasini (zimazani), A.N.Lebedov esa achitqi zamburug‘laridan shira (matseratsiya) mahsuloti ajratib olishga erishdilar. Bijg‘ish (achish) jarayonida ishtirok etuvchi fermentlar va ularning substratlari bir qator mashhur olimlar tomonidan batafsil o‘rganilib chiqildi hamda achitqi shirasi murakkab ferment va kofermentlar tizimidan iborat ekanligi tasdiqlandi.

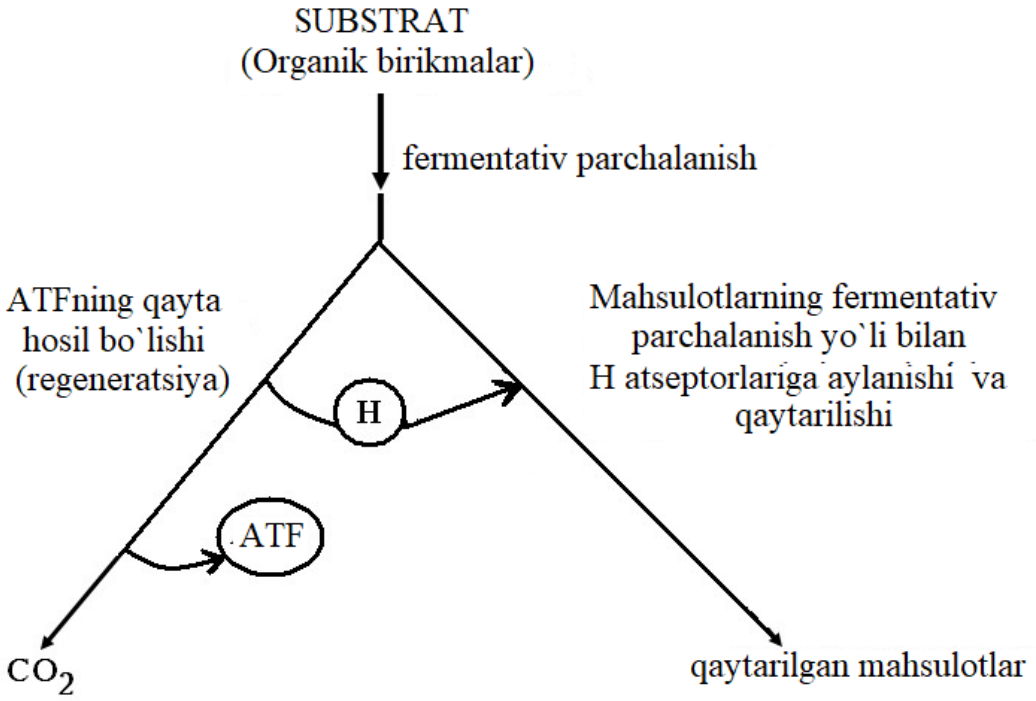
Hayvon to‘qimalaridagi singari ba’zi bakteriyalarda ham achish jarayoni natijasida sut kislotaning hosil bo‘lish jarayoni bilan birga achitqi hujayralari, muskul va jigarda ro‘y beradigan achish jarayonining reaksiyalari asosan bir xil ekanligi aniqlandi. Spirt va laktat kislota achishining kimyoviy asosini o‘rganish jarayonida A.A.Ivanov, Garden va Yonglar tomonidan hujayrasiz achitqi shirasida, achish uchun zarur bo‘lgan fosfat kislota lozim ekanligi ko‘rsatilgan hamda birinchi fosfat efiri - fruktoza -1,6 - difosfatning ajratib olinishi, deyarli bir vaqtda boshlangan. Shunday qilib, bijg‘ish anaerob sharoitda sodir bo‘ladigan oksidlanish-qaytarilish jarayonida organik moddalarning o‘zgarishi (parchalanishi) bo‘lib, uning natijasida organizm o‘zining hayoti uchun zarur bo‘lgan energiya oladi. Bunda, ADF va anorganik F dan ATF sintezlanadi:

$$\text{Glyukoza} + 2\ aF + 2\ ADF = 2\ \text{Laktat} + 2\ ATF + 2H_2O$$

ADF ni fosforlashga olib keladigan reaksiya, oksidlanish reaksiyasi hisoblanadi. Bijg‘ish vaqtida energiya tiklanishidan tashqari vodorod atomini bir organik birikmadan ikkinchisiga o‘tishi sodir bo‘ladi. Organik birikmalar bijg‘ishni har xil bosqichlarida donor yoki akseptor vazifasini bajaradi. Bijg‘itishni oraliq bosqichlarida suvsizlanish reaksiyalarida vodorodning akseptori vazifasini $NAD^+$ bajaradi. Reaksiya natijasida hosil bo‘lgan NADN keyinchalik oksidlanib $NAD^+$ ga aylanadi, vodorod atomlari esa substratni oraliq mahsuloti metabolizmiga o‘tadi. “Bijg‘ish” atamasi biologik jarayonlarda umumlashgan ma’noda ishlatilib, u tirik organizmlar tomonidan kislorodsiz sharoitda, energiya olish uchun organik birikmalarni to‘la bo‘lmagan parchalanishi ma’nosini beradi. Mana shundan kelib chiqqan holda, yerda dastlabki organizmlar atmosferada kislorod bo‘lmagan sharoitda

paydo bo‘lgan deb hisoblanadi. Bijg‘ishni organik substratlardan energiya ajratib chiqaruvchi birinchi biologik jarayon deb qarash mumkin.

Har qanday tipdagi bijg‘ish jarayoni quyidagi rasmda keltirilgan bosqichlar asosida amalga oshadi.




**61-rasm.** Bijg‘ish davrida o‘tadigan jarayonlarning umumiy chizmasi

Amalda u yoki bu tipdagi bijg‘ish jarayoni, o‘sha murakkab va ko‘p bosqichli fermentativ reaksiyalar natijasida hosil bo‘luvchi oxirgi mahsulot bilan aniqlanadi. Bijg‘ish jarayoni har xil taksonomik guruhlarga mansub bo‘lgan mikroorganizmlar tomonidan amalga oshiriladi. Fundamental fanlarni rivojlantirish doimiy ravishda biotexnologiyadan foydalanish davrasini yanada kengaytirib borgani sari, biotexnologiyaning o‘zi fundamental fanlar oldiga yangidan yangi vazifalar qo‘yib boradi. Biotexnologiyaning asosiy vazifalaridan biri tirik mikroorganizmlarga xos bo‘lgan ochiq yoki yopiq tizimdagi biotexnologik jarayonlardan sanoat sharoitida foydalanishdan iboratdir. Bu birinchi navbatda, mikroorganizmlarga xos bo‘lgan fermentativ reaksiyalarning beqiyos imkoniyatlaridan foydalanish va mikroorganizmlar shtammlarini genetik modifikatsiya qilish orqali bu imkoniyatlarni yanada kuchaytirishdan iborat.

***Spirtli bijg‘ish***. U yoki bu mahsulotni qayta ishlashni biotexnologik jarayonlarni boshqarish, mana shu jarayonlar asosida yotgan kimyoviy o‘zgarishlarni chuqur o‘rganishni talab qiladi. Bu esa, hujayrada sodir bo‘ladigan modda almashinuvini energetikasi bilan chambarchas bog‘liqdir. XIX asrning o‘rtalarida L.Paster spirtli bijg‘ishni achitqi zamburug‘larining faoliyati bilan bog‘liqligini aniqlagandan keyin spirtli bijg‘ish biologik jarayon sifatida qaraladigan bo‘ldi. Byuxner va Xan tomonidan spirtli bijg‘ish jarayonini hujayra ekstrakti tarkibidagi oksidlovchi va qaytaruvchi fermentlar yordamida boshqarish mumkinligini ko‘rsatib berilishi bijg‘ish jarayonining tabiati haqida zamonaviy tasavvurni paydo bo‘lishiga

olib keldi. “Bijg‘ish” yoki “achish” degan iboralar har xil davrlarda jarayonning mohiyatini har xil ko‘rsatgan, dastlab bijg‘iyotgan muhitning tipini ko‘rsatuvchi ma’no bergan bo‘lsa, keyinroq – hayotning anaerob shakli sifatida qaralgan. Zamonaviy tasavvurga binoan spirtli bijg‘ish biokimyoviy reaksiyalarning birin-ketin keladigan jarayoni bo‘lib, bunda achitqi zamburug‘i hujayralari organik birikmalarning energiyasini to‘liq ishlata olmaydi. Har bir achitqi zamburug‘ining hujayrasi o‘zini og‘irligidan 30 va undan ko‘proq marotaba miqdordagi shakarni parchalay olishi hisoblab chiqilgan. Natijada, hujayraning energetik potensiali oshadi va bu ATF ning ajralib chiqishi ko‘rinishida namoyon bo‘ladi. Bu energiyani hujayra zahira moddalari – glikogen, karbon suvlar (tregalozalar), yog‘lar va boshqa birikmalar sintezi uchun ishlatadi. Shuning uchun spirtli bijg‘ishni, shakarni – to‘liq bo‘lmagan ammo, ko‘p bosqichli anaerob, fermentativ parchalanishi deb qaralmog‘i lozim. Bu jarayon oqibatida bijg‘ishni asosiy mahsulotlari – etanol va karbonat angidrid gazi hosil bo‘ladi. Spirtli bijg‘ish jarayonini amalga oshirish uchun ko‘proq *Saccharomyces* avlodiga mansub achitqi zamburug‘lari (*S.cerevisiae*, *S.elipsoidus*, *S.vini* ishlatiladi. Achitqi zamburug‘laridagi spirtli bijg‘ish jarayoni yuksak organizmlardagi glikoliz jarayonidan faqatgina oxirgi bosqichi bilan farq qiladi. Bunga asosiy sabab, achitqi zamburug‘laridagi piruvatdekarboksilaza fermenti hisoblanadi. Bu ferment piruvatni atsetaldegidga aylantirib beradi, hosil bo‘lgan atsetaldegid esa etanolgacha qaytariladi.

Gey-Lyussak spirtli bijg‘ish jarayonini quyidagicha izohlagan edi:

$$\underset{\text{Glyukoza}}{C_6H_{12}O_6} \rightarrow \underset{\text{Karbonat angidridi}}{2CO_2} + \underset{\text{Etanol}}{2CH_3CH_2OH}$$

Bu tenglamani sodda qilib, shakarning karbonat angidrid gazi va etil spirtigacha parchalanishi deb qaralsa ham bo‘ladi.

Zamonaviy nuqtai nazarga asosan, bu jarayon sitozolda amalga oshadi. Buni shartli ikki bosqichga bo‘lish mumkin.

Birinchi bosqichda - glyukozadan fruktoza -1,6-bifosfat hosil bo‘ladi. Keyin u 2 molekula trioza hosil qiladi. Ikkinchi bosqichda – 2 molekula triozadan 2 molekula piruvat hosil bo‘ladi.

Oltita uglerod molekulasiga ega bo‘lgan glyukozaning ikkita uch uglerodli piruvatga parchalanishi birin-ketin amalga oshuvchi 10 ta fermentativ reaksiyalar yordamida amalga oshadi. Dastlabki, besh reaksiya glyukozani parchalash uchun tayyorgarlik bosqichi hisoblanadi. Bu reaksiyalarda glyukoza C6 holatida ATF hisobidan fosforillanadi, keyin izomerlanish oqibatida fruktoza-6-fosfatga aylanadi, u esa C1 holatida fosforillanadi va fruktoza-1,6-bifosfat hosil bo‘ladi. Bu molekulaning parchalanishi oqibatida ikki molekula glitseroaldegid-3-fosfat hosil bo‘ladi.

Ikkinchi bosqich ham birin-ketin keladigan 5 ta fermentativ reaksiyadan iborat bo‘lib, piruvat hosil bo‘lishi bilan tugallanadi.

1-reaksiya. Glyukozaning 1-reaksiyasida D-glyukozani ATF energiyasi hisobidan fosforillanish sodir bo‘ladi. Shuni ham alohida ta’kidlash lozimki,

hujayradagi ozod D-glyukozaning miqdori ko‘p emas, buning ham ko‘proq qismi fosforillangan shaklda bo‘ladi. Bu reaksiya qaytmas bo‘lib, geksokinaza fermenti yordamida amalga oshadi. Geksokinaza fermenti deyarli barcha o‘simlik va mikroorganizmlar hujayralarida uchraydi. Bu ferment nafaqat D-glyukozani, balki boshqa geksozalarni xususan, D-fruktoza va D-mannozalarni ham fosforlash xususiyatiga ega. Geksozalar faolligini namoyon qilishlari uchun $Mg^{2+}$ ioni zarur, chunki bu fermentning haqiqiy substrati bo‘lib, ATF emas, balki ATF va magniy kompleksi hisoblanadi.

2-reaksiya. Glyukozofosfatizomeraza fermenti ta’sirida glyukoza-6-fosfat, fruktoza-6-fosfatga izomerlanadi. Bijg‘ish jarayonida fruktoza-6-fosfat hosil bo‘lsa ham, bu reaksiya qaytmas hisoblanadi.

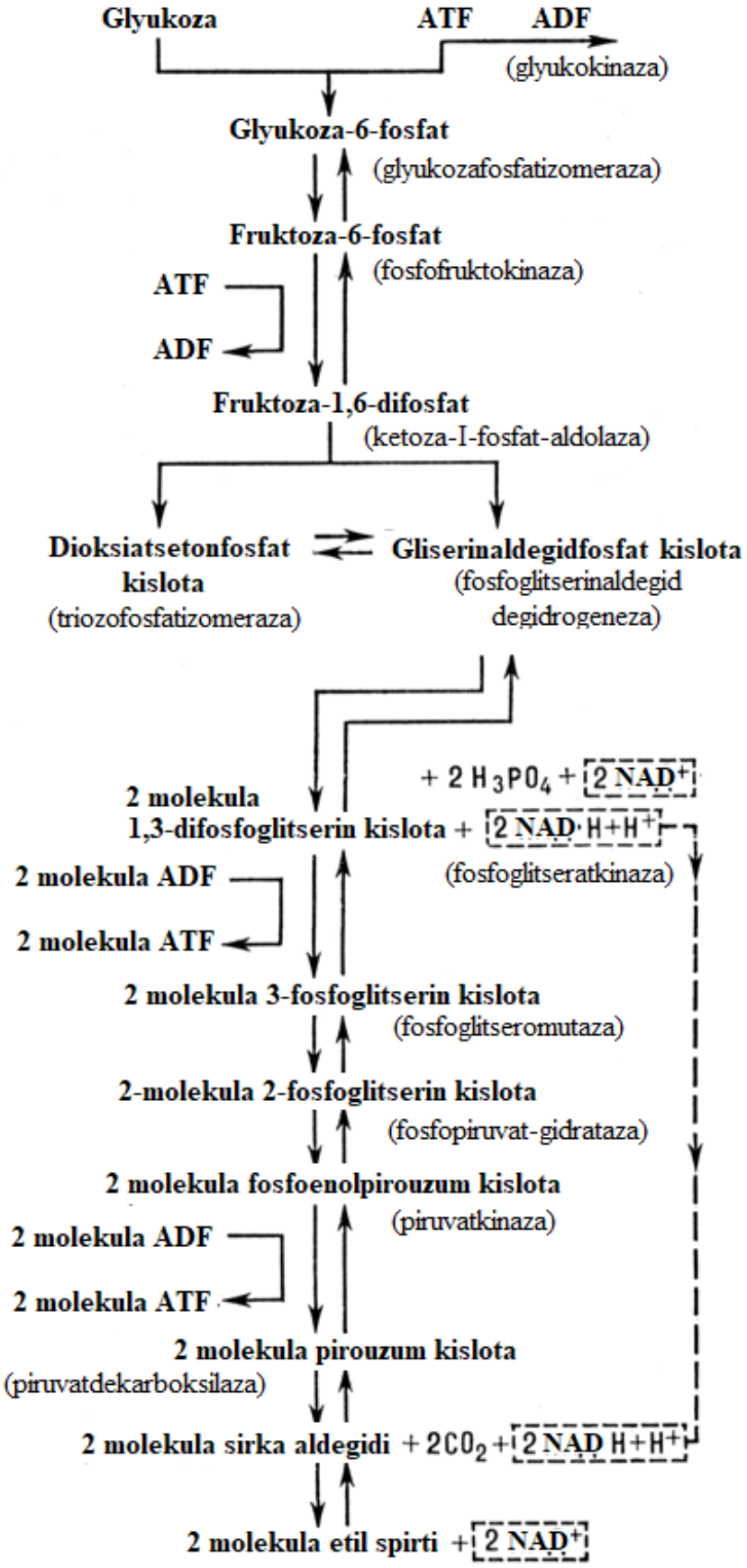
3-reaksiya**.** ATF hisobidan D-fruktoza-6-fosfat $C_1$ holatida fosforillanadi. Bu reaksiya fosfofruktokinaza fermenti tomonidan katalizlanadi. Bu fermentni faollashuvi uchun ham $Mg^{2+}$ ioni zarur. Substrat ham, undan hosil bo‘lgan mahsulot ham tezgina glikolizning keyingi mahsulotlariga aylanadilar. Geksokinazaga o‘xshab, fosfofruktokinaza ham glikoliz jarayonini boshqaruvchi ferment hisoblanadi. Hujayralarda zahiradagi ATF miqdori kamayib, ADF (adenozin difosfat) va AMF (adenozin monofosfat) miqdori oshib ketganda, tezda fosfofruktokinaza fermenti faolligi ko‘tariladi va bunga teskari o‘laroq, hujayrada ATF miqdori oshganda yoki limon kislotasi halqasi (sitrat, yog‘ kislotalari) uchun energetik kuch beruvchi birikmalar miqdori ko‘tarilganda, fosfofruktokinaza fermentining faolligi pasayadi. Fosfofruktokinaza allosterik ferment hisoblanadi va shu tipga kiruvchi boshqa fermentlar singari uning molekulyar massasi katta (300 kDa).

4-reaksiya**.** Bu reaksiya davomida fruktoza-1,6-bifosfatning molekulasi ikkita trioza molekulasiga parchalanadi: glitseraldegid-3-fosfat (aldozalar) va digiroatseton-3-fosfat (ketozalar). Achitqi zamburug‘larida sintez bo‘lgan aldaza fermentining molekulyar massasi – 65 kDa ga tengdir. Bu fermentning ta’sir etishi uchun ikki valentli metallar $Zn^{2+}$, $Ca^{2+}$ yoki $Fe^{2+}$ ionlari zarur bo‘ladi.

5-reaksiya**.** Hosil bo‘lgan ikki trizofosfatlardan bittasi – glitseraldegid-3-fosfat keyinroq o‘zgarishga uchraydi. Ammo, gidrooksiatseton-3-fosfat triazofosfatizomeraza fermenti ta’sirida izomerlanib, glitseraldegid-3fosfatga aylanadi va shu tarzda uning keyingi o‘zgarishlari sodir bo‘ladi. Ushbu reaksiya bilan glikolizning dastlabki, tayyorlanish bosqichi tugaydi. Yuqorida ta’kidlanganidek, bu bosqichda glyukoza fosforillanadi, keyin ikkiga bo‘linib, ikki molekula triozani hosil qiladi va oxirida ikki molekula glitseraldegid-3-fosfat hosil bo‘ladi. Glikolizning ikkinchi bosqichida o‘tadigan reaksiyalarda glyukozaning qisman energiyasi ajralib chiqib, ATF ko‘rinishida to‘planadi. Ikki molekula glitseraldegid-3-fosfatni ikki molekula piruvatga aylanishida to‘rtta molekula ATF hosil bo‘ladi, oqibatda, glikolizning umumiy energetik samarasini ikki molekula ATF hosil qiladi. Chunki ATF ning qolgan ikki molekulasi fosforillanish reaksiyalarida sarflanadi.

6-reaksiya**.** Bu reaksiyada glitseraldegid-3-fosfatning –C-OH-guruhi oksidlanib, natijada 3-fosfoglitserin va fosfor kislotasining-3-fosfoglitseroilfosfat (1,3-bifosfatglitserat) larning angidridlarini aralashmasi

hosil bo‘ladi. Bu jarayon glitseraldegid-3fosfatdegidrogenaza fermenti yordamida o‘tadi.




**62-rasm.** Spirtli bijg‘ishda o‘tadigan jarayonlarning umumiy chizmasi

7-reaksiya**.** 3-fosfoglitseratkinaza fermenti yuqori energiyalik fosfor guruhini 3-fosfoglitseralfosfatning karboksil guruhidan ADF ga o‘tkazadi va ATF hamda 3-fosfoglitserat hosil qiladi. Bu ikki reaksiyaning natijasida aldegid guruhining oksidlanishi hisobidan ATF holatida energiya to‘planadi.

8-reaksiya**.** 3-fosfoglitserat molekulasidagi fosforil guruhi ikkinchi uglerodga o‘tadi. Bu jarayon 2-fosfoglitseratmutaza fermenti tomonidan kataliz qilinib, u qaytmasdir. Bu reaksiyani sodir bo‘lishi uchun $Mg^{2+}$ ioni zarur.

9-reaksiya. Bu glikolizdagi makroenergetik bog‘lar saqlovchi birikmalar hosil qilgan ikkinchi reaksiya hisoblanadi. Bu reaksiya o‘tishi uchun ham $Mg^{+2}$ ioni kerak bo‘ladi.

10-reaksiya**.** Glikolizning oxirgi bosqichi – fosfoenolpiruvatdan yuqori energiyali fosfat guruhining ATF ga o‘tishidir. Bu reaksiya piruvatkinaza fermenti tomonidan kataliz qilinadi. Piruvatkinaza – jarayonni boshqaruvchi ferment hisoblanadi. Hosil bo‘lgan piruvatni yenol shakli, tezda fermentativ bo‘lmagan yo‘l bilan ketoshaklga o‘tadi. Shunday qilib, glikoliz ko‘p bosqichli murakkab, fermentativ, oksidlanish-qaytarilish jarayonidir. Bunday fikrni glyukozadagi hamda oxirgi mahsulot bo‘lgan piruvatdagi uglerod atomlarining joylashishi ham ko‘rsatib turibdi. Glyukozaning birinchi va oltinchi uglerod atomlari ikki molekula piruvatda – $CH_3$ ko‘rinishida, ya’ni glyukozaga nisbatan qaytarilgan holatdadir. Shuning bilan birga, piruvatning boshqa uglerod atomlari glyukozaga nisbatan oksidlanganroq holatdadir.

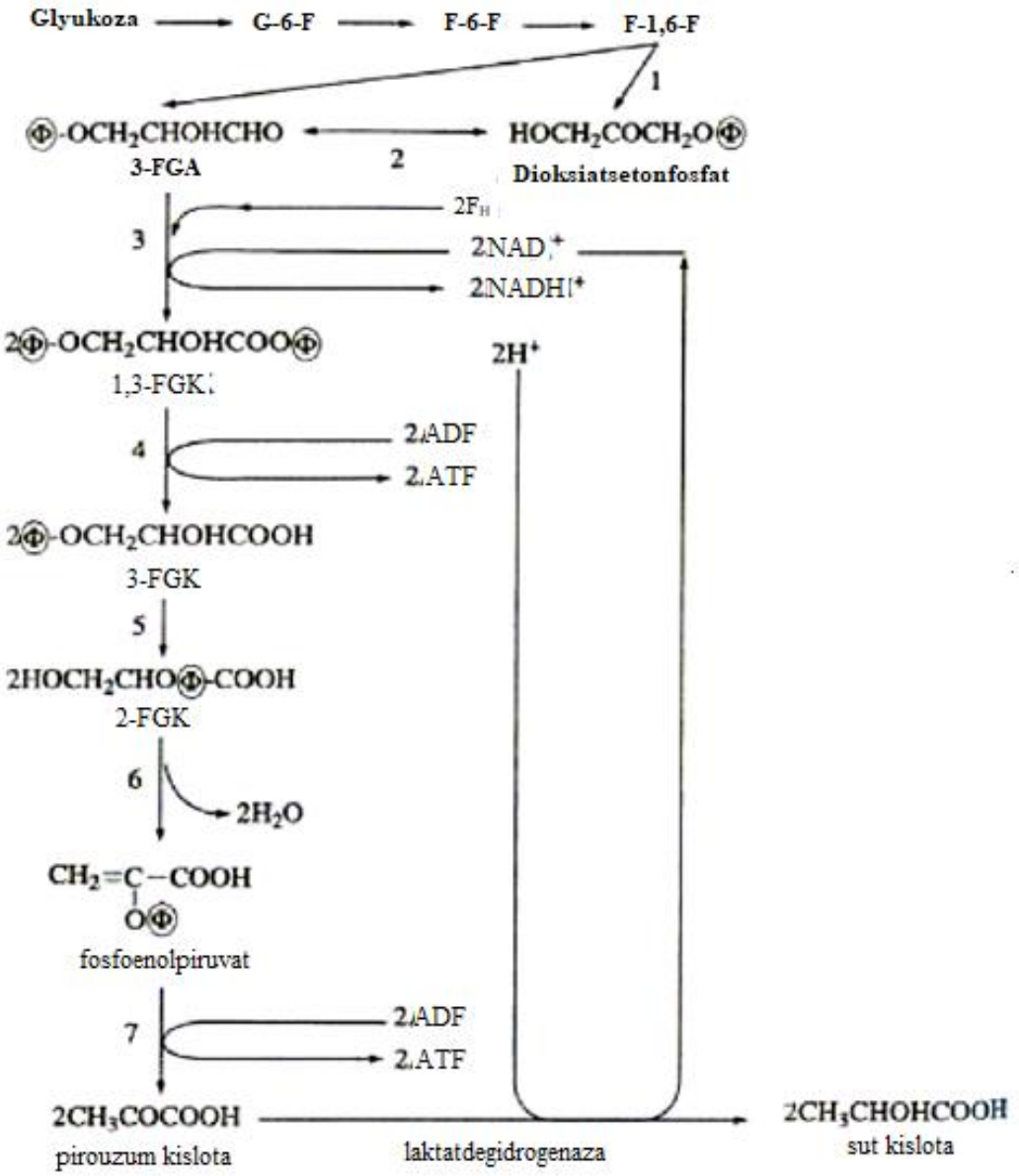
Glyukozaning biologik nazorati, hamda yuqorida ko‘rsatilgan reaksiyalarni birin-ketinligini boshqarish va piruvatni glyukoza-6fosfatdan hosil bo‘lish tezligi asosan fermentlar tomonidan: fosfofruktozakinazalar va piruvatkinazalar darajasida amalga oshiriladi. Shuning bilan birga NAD (nikotin amid adenin dinukleotid) ni regeneratsiyasi ham katta ahamiyatga ega. Chunki, NAD glikoliz jarayonida faol ishtirok etadi va u ko‘p miqdorda sarflanadi, NAD ning tugab qolishi glikoliz jarayonini tez to‘xtashiga olib keladi. Piruvatni keyingi o‘zgarishi xuddi mana shu NAD ni regeneratsiyasini har xil yo‘llariga bog‘liq bo‘lib, har qanday organizm uchun xarakterli bo‘lgan uglevodlarni oksidlanishini qanchalik chuqur oksidlanishi (glikoliz, sut kislotali bijg‘ish, spirtli bijg‘ish, aerob nafas olish) ga olib keladi. Spirtli bijg‘ish jarayonida piruvatdan etil spirti hosil bo‘ladi. Dastlab, piruvatkarboksilaza fermenti ta’sirida piruvatni dekarboksillanishi sodir bo‘ladi. Natijada atsetaldegid hosil bo‘ladi. Bu reaksiyani tezligi ham $Mg^{2+}$ ioniga bog‘liq:

Spirtli bijg‘ishning eng muhim reaksiyasi atsetaldegidning spirtga aylanishidir. Bu jarayon glitseraldegidfosfat degidrogenaza reaksiyasida sarf qilingan NAD ni regeneratsiyasi bilan birga amalga oshadi. Spirtli bijg‘ishning bu klassik yo‘li achitqi zamburug‘lari uchun xarakterlidir. D-glyukozadan ikki molekula etanol va karbonat angidridi hosil bo‘ladigan jarayonda uglerod va vodorod atomlarini yig‘ma nisbati o‘zgarmaydi (H:C=12:6=2:1). Ammo, glyukozada bor bo‘lgan energiyani qisman ajralishi va ajralib chiqqan energiyani sarflanishi kuzatiladi.

Bijg‘ish jarayonida glyukozani taxminan 7% energiyasi ajraladi, 93% esa ikki molekula etil spirtiga qoladi. Ajralib chiqqan 52 kkal dan faqatgina 14,6 kkal ATF shaklida saqlanib qoladi. Shuning uchun ham spirtli bijg‘ishni energetik salmog‘i

ham juda past. Yuqori konsentratsiyali glyukozali muhitda aerob nafas olishning pasayishi Krebtr samarasi (effekti) deb ataladi va o‘z mohiyati bilan katabolik repressiya mexanizmining o‘zidir.

***Sut kislotali bijg‘ish***. Sut kislotali bijg‘ish jarayonini *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* avlodlariga mansub bo‘lgan bakteriyalar amalga oshiradi. Ularni morfologik tuzilishi tayoqchasimon va sharsimon, harakatsiz, sporalar hosil qilmaydigan, grammusbat, pigmentsiz; ko‘pchiligida katalaza va sitoxrom tizimi yo‘q, ammo bulardan istisnolari ham uchrab turadi. Ba’zi bir kulturalar sporalar hosil qiladi va katalazalar faolliklariga ham ega.




**62-rasm.** Gomofermentli sut kislotali bijg‘ishda o‘tadigan jarayonlarning umumiy chizmasi (bunda: 1,3-FGA - 1,3-fosfoglitserin aldegidi; 2-FGK – 2-fosfoglitserin kislotasi; 3-FGK – 3-fosfoglitserin kislotasi; Fermentlar: 1-fruktozobisfosfataldolaza; 2-triozofosfatizomeraza; 3-fosfoglitserin aldegid degidrogenazasi; 3-fosfoglitseratkinaza; fosfoglitseromutaza; 6-yenolaza; 7-piruvatkinaza)

Sut achituvchi bakteriyalar o‘stiruvchi moddalarga, aminokislotlarga, vitaminlarga bo‘lgan ehtiyojlari bilan farq qiladi va shuning uchun ham bu guruh bakteriyalarni alohida vakillari indikatorli bakteriyalar sifatida ishlatiladi. Bu bakteriyalarni birlashtirib turuvchi asosiy xususiyatlari, ularni bijg‘ish bosh mahsuloti sifatida sut kislotasi hosil qilishidir. Gomofermentativ va geterofermentativ bijg‘ish jarayonlari ma’lum. Bunday ajratish uglevodlarni parchalanishda tubdan farq qiluvchi yo‘llar borligini ko‘rsatadi.

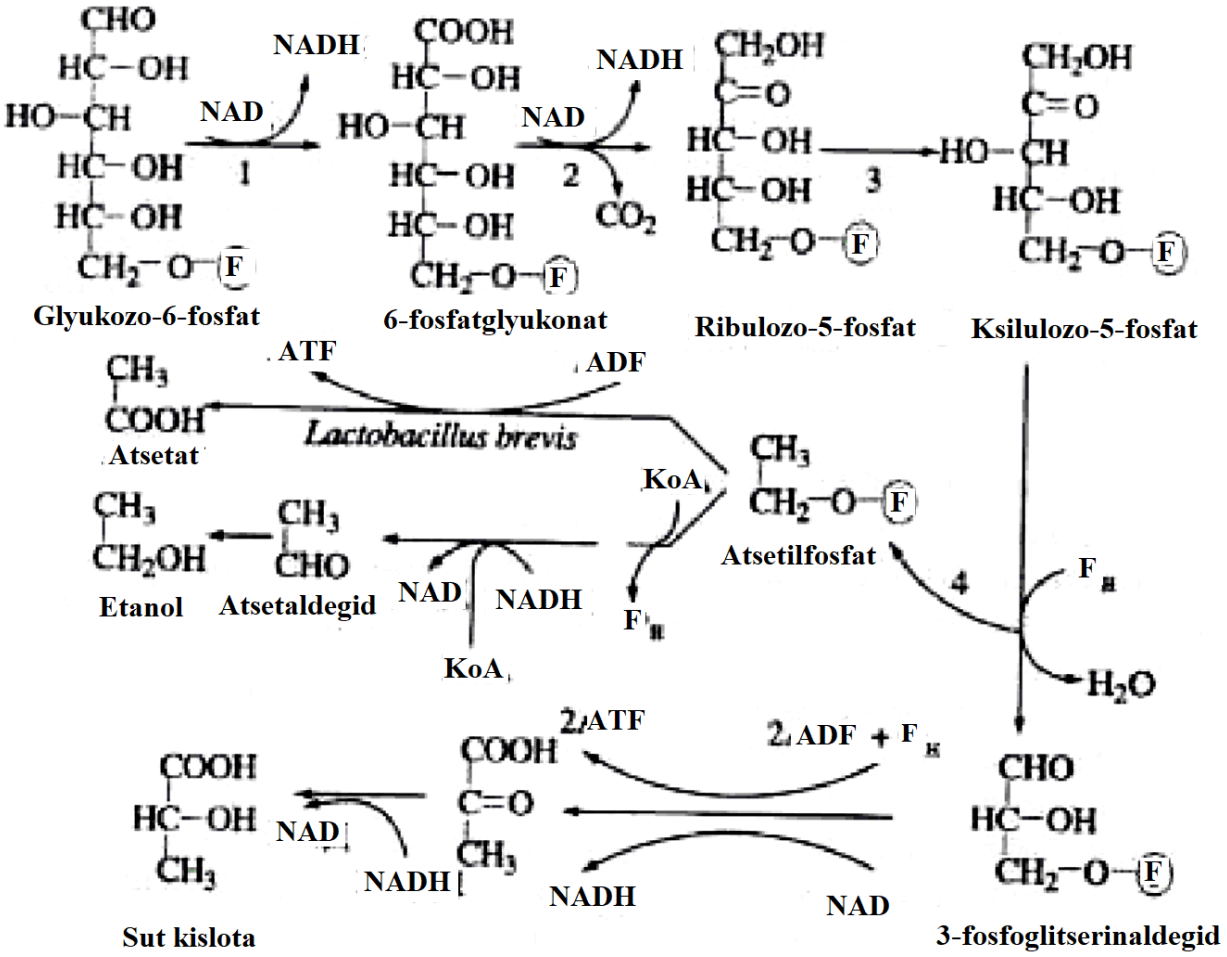
Gomofermentativ sut kislotali bijg‘ishni yakkayu-yagona mahsuloti sifatida sut kislotasi hosil bo‘lishi bilan tavsiflanadi. Bu reaksiyaning umumiy ko‘rinishi quyidagicha:

$$C_6H_{12}O_6 + 2F_H + 2ADF \rightarrow CH_3CHOHCOOH + 2ATF + 2H_2O$$

Bunda mahsulotning hosil bo‘lishi 98% gacha yetadi. Bunday yuqori ko‘rsatkich, karbon suvlarni bijg‘ish jarayoni modda almashinuvi jarayoni bilan deyarli bog‘liq emasligidan dalolat beradi. Karbon suvlar konstruktiv almashuvda juda ham kam miqdorda ishlatiladi yoki butunlay ishlatilmaydi. Ma’lumki, konstruktiv almashinuv jarayonlarida substratlarning tayyor aminokislotalari ishlatiladi. Shunday qilib, sut achituvchi gomofermentativ sharoitlarida bijg‘ishni ko‘pchilik boshqa turlaridan farqli o‘laroq, konstruktiv va energiya almashinuvi bir-birlaridan ko‘proq ajratilgan. Bijg‘ishning ushbu tipida glyukoza metabolizmiga glikolizni an’anaviy yo‘l bilan, Embden-Meyergof chizmasi asosida kirib boradi (63-rasm). Ushbu tizimni faoliyat ko‘rsatuvchi reaksiyalardan biri fosfoglitserin aldegidining oksidlanish reaksiyasidir. Bu reaksiya natijasida pirouzum kislotasini sut kislotasiga aylanish reaksiyasida qatnashuvchi koferment NADN hosil bo‘ladi. Yuqorida ta’kidlab o‘tilganidek, pirouzum kislotasini sut kislotasiga aylanish reaksiyasini laktatdegidrogeneza fermenti boshqaradi. Qanday mahsulot hosil bo‘lishi, (–D(-), L(+) yoki DL-sut kislotasimi) laktatdegidrogenaza fermentini qanday stereospetsifiklikka ega ekanligiga va laktatatsemaza fermentini borligiga bog‘liq bo‘ladi.

Geterofermentativ bijg‘ish jarayonida nafaqat sut kislotasi balki pirouzum kislotasiga biogenetik a’loqador bo‘lgan, boshqa, bir birlariga yaqin birikmalar: sirka kislotasi, etanol hosil bo‘ladi. Geterofermentativ bijg‘ish jarayonini olib boruvchi bakteriyalar glyukozani parchalashni dastlabki bosqichini pentozofosforli yo‘l orqali amalga oshiradi. Ularda fruktozabisfosfataldolaza va trizofosfatizomeraza fermentlari yo‘q. Reaksiyani ketish yo‘llarini aniqlovchi moddalardan biri pentozafosfat yo‘lini mahsuloti bo‘lgan ribuloza-5-fosfatdir. Bu birikma epimeraza fermenti ta’sirida ksiluloza-5-fosfatga aylanadi, hosil bo‘lgan bu modda esa pentozafosfat ketolaza fermenti ta’sirida, 3-fosfoglitserin aldegid va atsetilfosfatga parchalanadi. 3-fosfoglitserin aldegidining keyingi o‘zgarishlari xuddi sut kislotali bijg‘ishning gomofermentativ yo‘lidagidek amalga oshadi. Ko‘pchilik bakteriyalarda atsetilfosfat atsetil-KoA orqali etanolgacha qaytariladi. Xuddi shu reaksiya *Leuconostoc mesenteroides* bakteriyasida ham kuzatilgan. ADF ga yuqori energiyali fosfat bog‘ini o‘tkazish bilan bog‘liq bo‘lgan boshqa bir yo‘l orqali sirka kislotasi va ATF hosil bo‘ladi.

Gomofermentativ bijg‘ish jarayonida 1 mol bijg‘igan glyukozadan ikki mol ATF hosil bo‘lsa, geterofermentativ yo‘l orqali 1 mol ATF hosil bo‘ladi. Bu jarayonning chizmasi quyidagicha:




**63-rasm.** Geterofermentativ sut kislotali bijg‘ish chizmasi (bunda: 1-glyukozo-6-fosfatdegidrogenaza; 2-fosfoglyukonatdegidrogenaza; 3-epimeraza; 4-fosfoketolaza)

Geterofermentatsiya bakteriyalari yordamida 3 molekula fruktoza bijg‘itilganda, laktat, atsetat, $CO_2$ va mannitol hosil bo‘ladi:

Fruktoza = laktat + atsetat + mannitol + $CO_2$

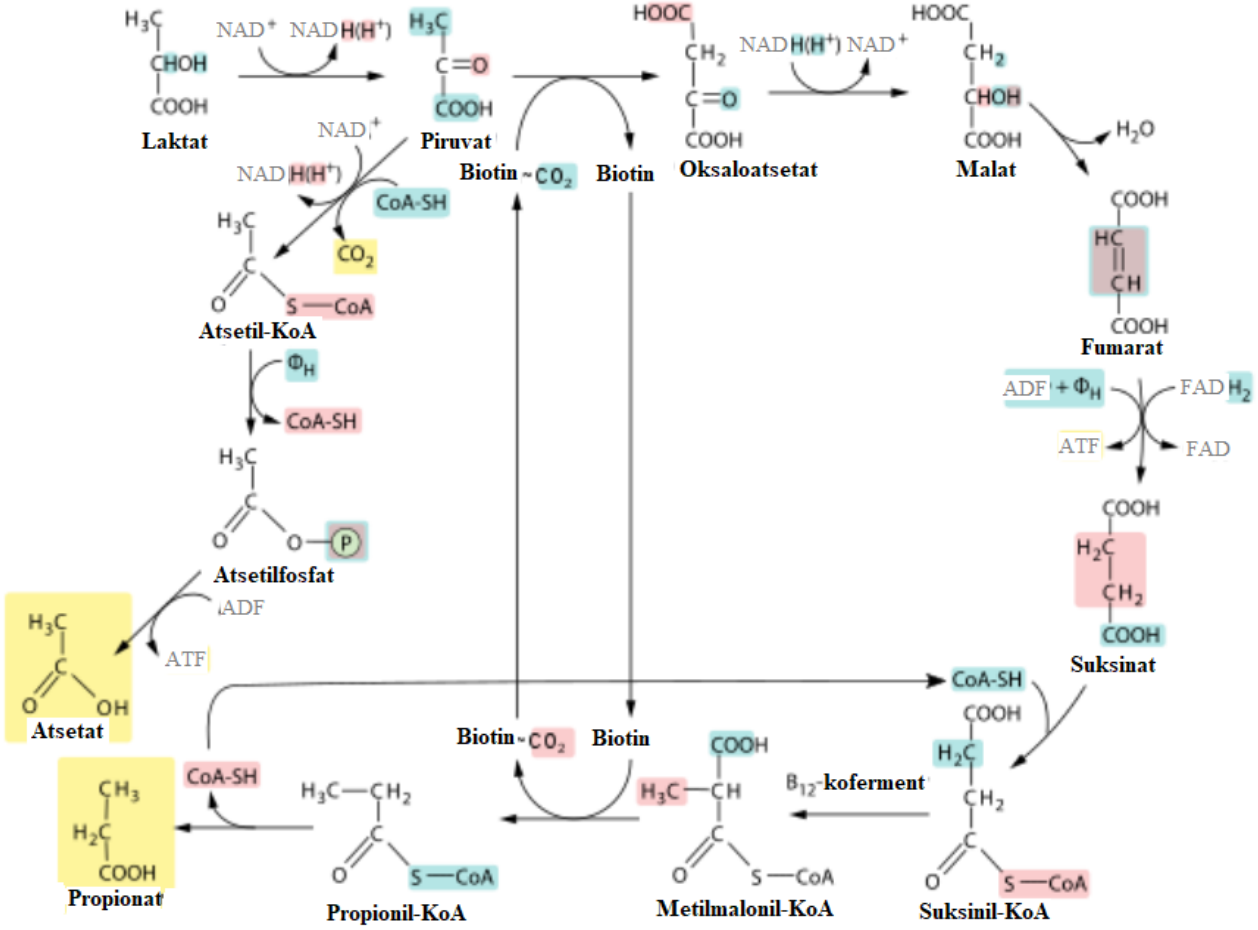
Bu reaksiya mannitoldegidrogenaza fermenti tomonidan amalga oshirilib, unda fruktoza mannitgacha qaytariladi. Glyukozadan tashqari, gomo-, hamda geterotrof bakteriyalarni (*Lactobacterium plantarum*, *L.brevis*) ba’zilari pentozalarni ham assimilyatsiyasini amalga oshiradilar. Bunda, pentozalar D-ksiluloza-5-fosfatga keyin esa pentoza-fosfoketolaza fermenti ishtirokida atsetilfosfatga va 3-fosfoglitserin aldegidga parchalanadi, o‘z navbatida keyingi mahsulotlar sut va sirka kislotalariga aylanadilar. Sut kislotasini bijg‘ituvchi bakteriyalar katta amaliy ahamiyatga egadir. Ular sterilizatsiya qilinmagan sutlarda doimo uchraydi va ma’lum o‘zgarishlar natijasida sutni achishiga olib keladi. Iqlimga qarab, sutga har xil sut bakteriyalari

tushishlari mumkin. Shimoliy mintaqalarda sutda *Streptococcus lactis*, janubda esa *Lactobacillus caucasicus* va *Lactobacillus bulgaricus* uchraydi. Sut kislotali bijg‘ish natijasida ko‘plab mahsulotlar tayyorlanadi: smetana, kefir, qimiz, tvorog, qatiq. Sut achituvchi bakteriyalar pishloq ishlab chiqarishda keng qo‘llaniladi, ular sabzavotlarni tuzlashda, somon, makkajo‘xori, g‘o‘zapoya va boshqa o‘simliklar qoldiqlarini siloslashda ham keng qo‘llaniladi. Karamni kislorodsiz sharoitda achitilganda, sut kislotali bakteriyalar tez rivojlanib ketadilar, dastlab *Leuconastoc*, keyin esa *Lactobacillus plantarum* rivojlanadi.

***Propion kislotali bijg‘ish***. Propion kislotali bijg‘ish *Propionobacterium* avlodiga mansub bakteriyalar tomonidan amalga oshiriladi. Bu bakteriyalar grammusbat, harakatsiz, tayoqchasimon bo‘lib, spora hosil qilmaydilar va anaerob mikroorganizmlar safiga kirsada, kislorodli, past bosimda ham rivojlanib, ko‘paya oladi. Ular uchun energiya manbayi bo‘lib karbonsuvlar, organik kislotalar, spirtlar va boshqa metabolitlar xizmat qiladi. Bu bakteriyalardan tashqari propion kislotasini shuningdek, *Selenomonas* va *Micromonospora* va boshqa avlodga mansub bakteriyalar ham sintez qila oladi. Shulardan biri *Micrococcus lactilyticus* bakteriyasidir. Ular anaerob sharoitda glyukozani, saxarozani, laktozani va pentozalarni, hamda laktat, malat, glitserol va boshqa substratlarni bijg‘itib propion kislota hosil qila oladi. Propion bakteriyalar ishtirokida shakarlarni parchalashni pirouzum kislotasigacha bo‘lgan bosqichi Embden-Meyergof sxemasi asosida o‘tadi. Bijg‘ishni boshlang‘ich mahsuloti bo‘lib, sut kislotasi ham bo‘lishi mumkin. Bu holatda reaksiya laktatdegidrogenaza fermenti ishtirokida amalga oshadi va natijada pirouzum kislotasi hosil bo‘ladi. Keyin piruvat biotin-$SO_2$ kompleksi ishtirokida metilmalonil-KoAkarboksitransferaza fermenti yordamida karboksillanadi va aksaloatsetatga aylanadi, keyin malat va fumarat orqali suksinatgacha qaytariladi. Bunda fumaratreduktaza fermenti ATF ni regeneratsiyasida ishtirok etadi. Undan keyin suksinat suksinil-KoA-transferaza fermenti ishtirokida KoA ga bog‘lanadi, oqibatda suksinatning faollashuvi bo‘ladi. Suksinil-KoA metilmalonil-KoA-mutaza fermenti ta’sirida va koferment $B_{12}$ ishtirokida metilmalonil—KoA ga aylanadi. Mana shu oraliq mahsulotdan $CO_2$ ajralib chiqadi. Natijada propionil-KoA hosil bo‘ladi, $CO_2$ esa jarayonning dastlabki bosqichida faoliyat ko‘rsatayotgan metilmalonil-KoA-karboksitransferaza fermentiga bog‘lanadi. Propionil-KoA dan KoA-transferaza fermenti KoA ni suksinatga o‘tkazganligi oqibatida propionat hosil bo‘ladi. Reaksiya muhitida propion kislotasi bilan bir vaqtda sirka kislotasi (u piruvatdan hosil bo‘ladi) ham to‘planadi. Bijg‘ish jarayoni mu’tadil holatda o‘tganda propion kislotasining sirka kislotasiga nisbati: 9:1 ni tashkil etadi.

Propion kislotali bakteriyalarga xos bo‘lgan biokimyoviy xususiyatlardan biri ularning tiamin, biotin va pantoten kislotasini sintez qila olmasliklaridir. Ma’lumki, bu moddalar bijg‘ish jarayonini ta’minlovchi ferment tizimining faoliyat ko‘rsatishi uchun eng kerakli moddalar hisoblanadi. Bakteriyalar uchkarbon kislotasi halqasigi kiruvchi barcha fermentlarni hamda elektron-transport zanjiriga kiruvchi komponentlarni (degidrogenazalar, nogeminli temir, metaxinon va sitoxromlarni) saqlaydilar. Shuning uchun ham substratni fosforlashdan tashqari bakteriyalar sitoxromdan elektronlarni ko‘chirib fumaratga o‘tkazuvchi va fumarat hosil qiluvchi oksidlanib fosforlantirish xususiyatiga ham ega.

Propion kislotali bakteriyalardan tashqari bunday yo‘l bilan bijg‘ish jarayonini *Veilonella alcalescens* va *Selenomonas ruminantium* ham amalga oshirishi mumkinligi kuzatilgan (64-rasm).




**64-rasm.** Propion kislotali bijg‘ishning biokimyoviy jarayonlari

***Yog‘ kislotali va atseton butilli bijg‘ish***. *Clostridium* avlodiga mansub, spora hosil qiluvchi bakteriyalar har xil bijg‘ish jarayonlarini amalga oshiradilar. Ularning barchasi anaerob sharoitda amalga oshadi. Kislorodli muhitda (ba’zi bir holatlardan tashqari) bu bakteriyalar o‘smaydilar. Kislorodning zaharli ta’siri bu bakteriyalarda sitoxromlarni va katalazani yo‘qligi hamda flavinli fermentning ko‘pligi bilan tushintiriladi. Ma’lumki, flavinli fermentlar substratdan vodorodni kislorodga tashib o‘tkazadilar va perekis hosil qiladilar. Ular esa zaharli miqdorda to‘planadilar. Bakteriyalarning turlariga qarab bijg‘ishning har xil mahsulotlari to‘planadi. Jumladan:

*Clostridium butyricum, C.pasterianum, C.pectinovarum* bakteriyalari bijg‘ish jarayonida butirat, atsetat va karbonat angidrid gazi;

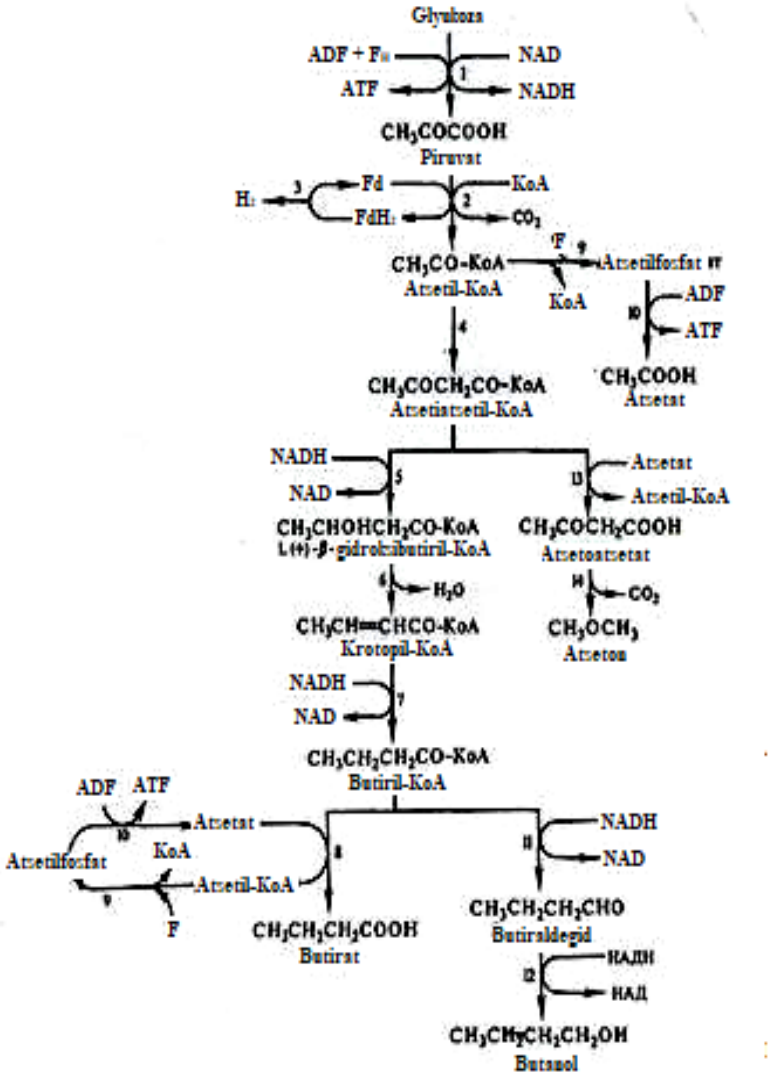
*Clostridium acetobutylicum, Clostridium butyricum* butirat, atsetat, atseton, butanol, vodorod va karbonat angidridi;

*Clostridium kluyveri* kapronat, butirat va vodorod;

*Clostridium tetanomorphum* butirat, atsetat, ammiak, karbonat angidridi va vodorod;

*Clostridium acidiurici* atsetat, formiat va karbonat angidridi hosil bo‘ladi.

Mahsulotlarni miqdori, ko‘proq bijg‘ish jarayoni kechadigan sharoitga bog‘liq bo‘ladi. Bijg‘ish jarayonida mahsulotlarni hosil bo‘lishiga muhitni pH ko‘rsatkichi katta rol o‘ynaydi. Muhitni pH ko‘rsatkichi nordon tomonga o‘zgarganda, n-butanol va atseton hosil bo‘lishi kuchaysa, ishqoriy sharoitda sirka va moy kislotasini hosil bo‘lishi kuchayadi. Bu hodisa, nordon sharoitda atseton va n-butanol sinteziga javobgar bo‘lgan atsetatdekarboksilaza va butanoldegidrogenaza fermentlarini faolligini oshishi bilan tushintiriladi. Bijg‘ish jarayoni ishqoriy muhitda sodir bo‘lganda, masalan, muhitga $CaCO_3$ qo‘shilganda mahsulotlarning bir-birlariga bo‘lgan nisbati o‘zgaradi. Klostridiylar tomonidan amalga oshiriladigan har xil bijg‘ish jarayonlarining umumlashtirilgan chizmasi 65-rasmda aks ettirilgan.




**65-rasm.** Atseton-butil bijg‘ishni umumlashtirilgan chizmasi (bunda: 1 - fruktoza-fosfat yo‘lining fosfotransferaza tizimi; 2 - piruvat: ferredoksin oksidoreduktaza; 3 - gidrogenaza; 4 - asetoasetiltransferaza (tnolaza); 5 - L (+)-b-gidroksibutiril-KoA-degidrogenaza; 6- L-3-gidroksiatsetil-KoA gidrolaza (krotoiaz); 7 - butiril-KoA-de-gidrogenaz; 8 - KoA transferaza; 9 - fosfotransatsetilaza; 10 - asetat kinaza; 11 -

butirilaldegid-degidrogenaza; 12 - butanol degidrogenaza; 13 - CoA-transferaza; 14-- asetoatsetat dekarboksilaza; Fd – ferredoksin)

Bijg‘ishni dastlabki bosqichlarida glyukozani assimilyatsiyasi glyukolitik yo‘l bilan o‘tadi. Atsetil KoA dan boshlab, bijg‘ish tipiga qarab, metabolizm yo‘llari ajraladi. Moy kislota hosil bo‘lganda, atsetil-KoA ni ikki molekulasini kondensatsiyasi (qo‘shilishi) sodir bo‘ladi va bu jarayon atsetoatsetiltransferaza fermenti ishtirokida atsetoatsetil-KoA hosil bo‘lishiga olib keladi. Atsetoatsetil-KoA NADH hisobidan qaytariladi. Bu reaksiyani β-gidrooksibutiril-KoAdegidrogenaza fermenti amalga oshiradi va natijada β-gidrooksibutiril-KoA hosil bo‘ladi va undan krotonaza fermenti yordamida suv ajralib chiqadi. Krotonil-KoA butiril-KoA-degidrogenaza fermenti ta’sirida butiril-KoA gacha qaytariladi. Butiril-KoA dan KoA-transferaza fermenti yordamida KoA atsetatga o‘tishi mumkin. Shunday bo‘lgan sharoitda moy kislotasi ajralib chiqadi.

Atsetil-KoA dan fosfotransatsetilaza va atsetatkinaza fermentlari ishtirokida bo‘sh holda atsetat olinishi mumkin, bu esa ADF dan ATF sintez bo‘lishi bilan birga kuzatiladi. Toza moy kislotali bijg‘ish jarayonida piruvatni oksidlanishida hosil bo‘ladigan vodorod gazsimon ko‘rinishda ajraladi. Bunday glyukoza quyidagi tenglama asosida bijg‘iydi:

$$\text{Glyukoza} = \text{butirat} + 2CO_2 + 2H_2$$

O‘tgan asrda atseton va n-butanolni bijg‘ish yo‘li bilan sanoat miqyosida tayyorlash juda katta ahamiyatga ega bo‘lgan. Yuqorida ko‘rsatib o‘tilganidek, bu ikki mahsulotni metabolik yo‘li bir-biriga juda ham yaqindir. Atsetoatsetatni dekarboksillash natijasida atseton hosil bo‘ladi, bunda butiratga qaytarilish jarayonida ikki marotaba 2[H] qo‘shilish imkoniyatiga ega bo‘lgan vodorodni potensial akseptori yo‘qoladi. Bunday holatda vodorodni akseptori bo‘lib, butirat xizmat qiladi. Butanolga qaytarilishi uchun butirat dastavval butirat-KoA ga aylanish yo‘li orqali faollashuvi kerak. Klostridiylar bijg‘ish jarayonida uglerod manbayi sifatida har xil substratlardan foydalanishlari mumkin. Shu maqsadda ishlatiladigan deyarli barcha shtammlar uchun eng yaxshi substrat bo‘lib, monosaxaridlar (pentozalar va geksozalar), disaxaridlar va suvda eruvchi oligosaxaridlar hisoblanadilar. Ko‘pchilik klostridiylar polisaxaridlarni (sellyuloza, gemitsellyuloza, kraxmal, pektin) ham faol parchalash qobiliyatiga egadirlar. Ba’zi bir klostridiylar uglerod manbayi sifatida nuklein kislotalarini va oqsillarni ham ishlata oladi. Shuni ham ta’kidlash lozimki, klostridiylar har xil kimyoviy tabiatga ega bo‘lgan moddalarni, aynan etanol, glitserin, aminokislotalar, purin va pirimidin asoslari, mochevina, ksantin va boshqalarni bijg‘itishi ham mumkin. Klostridiylarni ba’zi bir vakillari faol azotfiksatsiya qilish xususiyatiga ham egadir. Shulardan biri – *Clostridium pasterianum* dir. Klostridiylar parchalaydigan substratlarning xilma xilligi, ularni oksidlovchi va gidrolitik fermentlarga boy ekanligidan guvohlik beradi. Ilmiy manbalarda sellyuloza fermenti sintez qiluvchi klostridiylar ham mavjudligi haqida ma’lumotlar chop etilgan.

***Chumoli kislotali bijg‘ish.*** Ichak mikroflorasining ba’zi bir namoyondalari chumoli kislotali bijg‘ish jarayonini amalga oshirishi ham mumkin. Ba’zi hollarda bu jarayonni aralashgan bijg‘ish ham deb yuritiladi, Chunki, bunda chumoli kislotasidan tashqari boshqa moddalar, chunonchi, organik kislotalar, spirtlar hosil bo‘lishlari

mumkin. Bu jarayonni amalga oshiruvchi bakteriyalar *Enterobacteriaceae* oilasiga birlashgan bo‘lib, ular grammanfiy, fakultativ anaeroblardir. Enterobakteriyalar orasida yaxshi o‘rganilganlari *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Aerobacter* (*Euterobacter*) *aerogenus* va *Salmonella* hisoblanadi. Bu bakteriyalar ichakdan tashqari, tuproqda va suvda ham uchraydilar. Ma’lum sharoitda ularni deyarli barchasi patologik ta’sirga egaliklari bilan tavsiflanadi. Chumoli kislotali bijg‘ish jarayonida karbon suvlarni metabolizmi asosan fruktozabisfosfat yo‘li orqali amalga oshsadi, karbon suvlarni unchalik ko‘p bo‘lmagan qismi pentozafosfat yo‘li orqali o‘zgaradi. Chumoli kislotali bijg‘ish natijasida chumoli, sut, sirka, yantar kislotalari, etanol, glitserin, atseton, 2,3-butilenglikol, karbonat angidrid gazi va vodorod hosil bo‘ladi. Yuqorida ko‘rsatib o‘tilgan barcha kulturalar o‘ziga xos bo‘lgan metabolik asoslarga ega.

***Gomoatsetatli bijg‘ish***. Klostridiylar (*Clostridium thermoaceticum*, *C.formicoaceticum*, *C.acidiurici*) va ba’zi bir boshqa kulturalar oksidlanishni dastlabki bosqichlarida $CO_2$ tegishli substratlardan ajralgan vodorod bilan quyidagicha bog‘lanadi:

$$8[H] + 2CO_2 = CH_3COOH + 2H_2O$$

Klostridiylar shakarni atsetatgacha fruktozabisfosfat yo‘li orqali oksidlaydi va shunday qilib, 1 mol geksozadan 3 mol atsetat sintez bo‘ladi. Piruvatni parchalanishi hisobidan ajralib chiqqan karbonat angidrid gazining katta bir qismi vodorodni akseptori rolini o‘ynaydi, natijada u atsetatgacha qaytariladi. Geksozalar klostridiylarga xos bo‘lgan fruktozabisfosfat yo‘li bilan piruvatgacha oksidlanadi. Keyin esa piruvat fermentativ yo‘l bilan (piruvat ferredoksin-oksidoreduktaza, fosfotransatsetilaza va atsetatkinaza fermentlari yordamida) atsetatga va karbonat angidrid gaziga parchalanadi. Karbonat angidridi vodorod akseptori sifatida ishlatiladi va qisman formiatga qaytariladi. Bijg‘ishni alohida tipini olib boruvchi mikroorganizmlarni tanlash an’anaviy seleksiyaning asosiy usuli bo‘lgan: “kerakli metabolitni ko‘proq sintez qiluvchi mikroorganizm tanlash” asosida olib boriladi.

Bunday mikroorganizmlarni gen-muhandislik asosida modifikatsiya qilish bo‘yicha hozircha yangi strategiyalar ishlab chiqilgani yo‘q. Bunga bir necha sabablar mavjud:

- har qanday tipdagi bijg‘ish jarayoni ximizmi qaysi fermentlarni yetishmovchiligini to‘ldirish darajasida chuqur

o‘rganilmagan;

- anaerob kulturalar hosil qiluvchi fermentlar spektri to‘liq o‘rganib chiqilmagan;
- ba’zi bir tipga kiruvchi bijg‘ish jarayonlarida qatnashuvchi mikroorganizmlarni o‘sish sharoitini chuqurroq o‘rganishni talab qiladi.

Shunday qilib, nazariy va amaliy jihatlardan juda ham muhim bo‘lgan masala – har xil tipdagi bijg‘ish jarayonini olib boruvchi mikroorganizmlarni genetik modifikatsiya qilish masalasi hozircha o‘rganish bosqichida turibdi. Hech shubha yo‘qki, bijg‘ish jarayonini olib boruvchi shtammlarni katta kommersial ahamiyatga ega ekanligi, bu yo‘nalishni jadal olib borilishiga asos bo‘lib xizmat qiladi.

***Metanli bijg‘ish***. Barcha turdagi bijg‘ish jarayonlari organik moddalarni har xil toksonomik guruhga mansub bo‘lgan mikroorganizmlar tomonidan o‘ziga xos bo‘lgan o‘zgarishlarga uchratish sifatida namoyon bo‘ladi. Yuqorida keltirib o‘tilganlardan tashqari, tabiatda o‘zining miqdori, doirasi, unda qatnashadigan mikroorganizmlarning xilma xilligi bilan boshqalardan tubdan farq qiladigan yana bir jarayon borki, u ham bo‘lsa metanli bijg‘ish jarayonidir.

Metanli bijg‘ish – har xil mikroblar to‘plamini (assotsiatsiyasini) ta’siri natijasidir. Bu jarayonda organik material (lignin bundan mustasno) chuqur o‘zgarishga uchraydi va oqibatda metan, karbonat angidridi va boshqa mikrob mahsulotlari hosil bo‘ladi. Sharoitga qarab (termofil, mezofil, psixrofil) – bu juda uzoq davom etadigan jarayondir. Bunda tirik bo‘lmagan organik substansiyalar (o‘simlik va hayvon biomassalari) oddiy komponentlarga parchalanadilar. Metan hosil qiluvchi arxebakteriyalar uchun bijg‘uvchi materiallar tayyorlash dastlabki mahsulotlarga yaxshilab ishlov berishni taqqazo qiladi. Aerob va anaerob mikrooorganizmlar ishtirokida kechadigan bu jarayon shunchalik murakkab, ko‘p bosqichli va ko‘p komponentlikki, uni boshqarish mumkin emas. 1960-yillardan boshlab, organik birikmalardan anaerob sharotida mikroorganizmlar yordamida biogaz ishlab chiqarishga alohida e’tibor berilib kelinmoqda. Metanli bijg‘ish natijasida organik birikmalarning transformatsiyasi sodir bo‘lib, ulardan metan va karbonat angidrid gazi paydo bo‘ladi. Oqibatda, organik birikmalarning molekulalari kimyoviy bog‘larida yig‘ilgan energiya, metan molekulasining kimyoviy bog‘larida to‘planadi. Bu jarayon metanogenez deb atalib, anaerob arxebakteriyalar (metanogenlar) tomonidan amalga oshiriladi. Hosil bo‘ladigan gazdagi metanning solishtirma miqdori 70-80% ni tashkil etadi, undagi karbonat angidrid esa 20-30% ga teng. Gazlarning aralashmasi, 1% atrofida $H_2S$ (oltingugurt kislotasi) va juda kam miqdorda ammiak ham saqlaydi. Metanogenezning suvda erimaydigan qismi, ko‘plab bakteriyalar assotsiatsiyasi hosil qilgan biomassadir. Biomassa organik azotga boy bo‘lganligi uchun ham yuqori sifatli o‘g‘it sifatida ishlatiladi.

Metanli bijg‘ish boshqa bijg‘ish turlariga nisbatan keng tarqalgan tabiiy jarayondir. Bunga sabab jarayonni aerob sharoitda ham o‘tishidir. Bu quyidagicha o‘tadi**:** ko‘pgina organik birikmalarni yuzalarida yupqa qobiq hosil bo‘ladi, ichida esa metanli bijg‘ish jarayoni uchun zarur bo‘lgan anaerob sharoit tashkil bo‘ladi. Bunday substratlarga barcha xildagi o‘simlik materiallari, jumladan qarigan va chiriyotgan ko‘p yillik va bir yillik o‘simliklar, hayvon biomassalari ham kiradi. Metanli bijg‘ish uchun istiqbolli mahsulotlarga ayniqsa, qishloq xo‘jalik chiqindilari, xususan, o‘simlik, mikrobiologiya sanoati chiqindilari, suv o‘tlarining biomassalari va oziq-ovqat hamda yengil sanoat chiqindilari va boshqalar kiradi. Mana shulardan kelib chiqqan holda metanogenezning ahamiyati nafaqat noan’anaviy energiya ishlab chiqarishni, balki sanitariya-ekologiya muammolarini hal qilish bilan ham bog‘liqdir. Ammo, metanli bijg‘ish jarayonini foydasi shular bilan chegaralanmaydi. Bijg‘igan biomassa (metan saqlamagan) yuqori sifatli bioo‘g‘it ham bo‘lib xizmat qiladi. Masalan, go‘ngni aerob sharoitda parchalanganda uning tarkibidagi 50% azot yo‘qoladi (issiqlik chiqishi bilan birga), ammo o‘sha go‘ngni metanogenez orqali parchalanganda (anaerob shaoritda) uning tarkibidagi barcha azot biomassada to‘planib, o‘simlik uchun yengil singdiriladigan holatga o‘tadi. Bundan tashqari

anaerob sharoitda yig‘ilgan biomassa tuproqning unumdorligini tiklovchi gumus moddasiga ham boydir. Metanogenez mahsulotlaridan kompleks foydalanish nafaqat samarali, balki yuqori rentabelli hisoblanadi. Organik moddalarni anaerob sharoitda o‘zgartirilganda ularni sterilizatsiyasi va bijg‘iydigan massani detoksikatsiyasi amalga oshadi, patogen mikroblar, gelmentlarni tuxumlari yo‘qoladi, toksik xususiyatga ega bo‘lgan moddalar metanogenez metabolitlariga aylanadi. Metanogenezning:

birinchi bosqichida, hujayradan tashqaridagi gidrolitik fermentlarni ta’siri hisobidan, bijg‘uvchi massaning deyarli barchasi (lignindan tashqari) qisman parchalanadi. Metanli bijg‘ishni bu bosqichida unchalik ko‘p bo‘lmagan miqdorda kislorod ishtirok etishiga ham ruxsat etiladi.

Ikkinchi bosqichda, fermentatsiya fazasida past molekulali shakarlar, asosan monomerlar va boshqa organik birikmalar (polimer substratlarni fermentativ gidrolizidan hosil bo‘lgan moddalar), n-butanolga, propanolga, etanolga, atseton va boshqa birikmalarga aylanadilar. Bu bosqichda kislorod jarayonni bo‘g‘ib qo‘yadi, demak uning ishtiroki butunlay mumkin emas.

Uchinchi bosqich, atsetogen faza hisoblanadi va unda shu paytga kelib rivojlangan mikroflora – sirka, chumoli va sut kislotalarini hosil qiladi. Bu jarayon kislorodsiz faza bo‘lib, unda faqat obligat (shart bo‘lmagan) anaeroblar faoliyat ko‘rsatadilar.

Oxirgi bosqich**,** metanogen fazada, metan hosil bo‘ladi. Metanli bijg‘ish texnologiya nuqtai nazaridan ikki fazaga bo‘linadi: metanli biotsenozning yetilishi va fermentatsiya.

Oxirgi bosqichda azot saqlovchi organik birikmalar ham jadal o‘zgaradilar. Bijg‘iydigan muhitni ishqorlanishi bilan (pH=8,0) oltingugurtni qaytaruvchi anaerob bakteriyalarning ta’siri hisobidan uchuvchan organik birikmalar: chumoli, sirka, propion, moy, sut, yantar (qahrabo) kislotlari va shuningdek, spirtlar va gazlar hosil bo‘ladilar. Bu birikmalar anaerob metanogen organizmlar uchun substrat bo‘lib xizmat qiladi. Metanogen bijg‘ish $3^oC$ dan $60^oC$ gacha bo‘lgan harorat oralig‘ida amalga oshadi. Jarayonning jadallashishi harorat ko‘tarilishi bilan oshib boradi va termofil sharoitda 2-3 marotabaga oshadi. Metanogen bakteriyalarning rivojlanishi uchun bijg‘iydigan muhit chumoli va sirka kislotalari, vodorod, karbonat angidridi hamda oltingugurt va azot manbalari, $H_2S$ va ammiak saqlashi kerak. Hozirgacha 25 dan ortiq metan hosil qiluvchi bakteriyalar aniqlangan bo‘lib, ular bir-birlaridan morfologiyalari (dumaloq, spiralsimon, ipsimon) bilan farq qiladilar.

Anaerob sharoitdan tashqari jarayon ketishi uchun qorong‘ulik, neytral yoki juda ham kam bo‘lgan ishqoriy muhit (pH-8,0) bo‘lishi shart. Barcha, shu kungacha aniqlangan metanogen bakteriyalar kerakli energiyani vodorodning oksidlanishi hisobidan oladilar.

Vodorod akseptori vazifasini karbonat angidrid bajaradi:

$$4H_2 + CO_2 = CH_4 + 2H_2O$$

Metanogen bakteriyalarning ba’zilari vodorod akseptori sifatida CO dan foydalanadilar:

$$4CO + 2H_2O = CH_4 + 3CO_2 \quad \text{yoki} \quad CO + 3H_2 = CH_4 + H_2O$$

Yuqorida ko‘rsatilgan reaksiyalarning barchasida energiya chiqariladi. Har xil birikmalardan metan hosil bo‘lishi turli xil tezlikda amalga oshadi. Oxirgi davrlarda metanogen bakteriyalar juda yaxshi va har tomonlama chuqur o‘rganilmoqda.

Birinchi navbatda bu ularni tabiiy gazlar genezisida hal qiluvchi roli borligi bilan tushintiriladi. 1990-yildagi xabarga ko‘ra Yevropada yirik (1000 $m^3$ va undan ko‘proq) biogaz ustqurmalari xususiy korxonalarda va davlat sektorlarida 500 dan ko‘proq bo‘lgan bo‘lsa, AQSh da o‘sha davrda undan ikki barobar ko‘proq bo‘lgan. Bunday ustqurmalarda asosan har xil chiqindilar (qishloq xo‘jaligi va maishiy xizmat chiqindilari) qayta ishlangan. 1985-yilda AQSh da faqatgina hayvon chiqindilari 250 mln. tonna bo‘lib, uning anaerob metanogenezi oqibatida 120 mlrd.$m^3$ metan tayyorlash mumkin bo‘lgan. Biogaz ustqurmalari tayyorlash bilan hozirgi davrda dunyoning juda ko‘plab kompaniyalari shug‘illanadilar. Sanoat ustqurmalarining hajmi 10-1500 $m^3$ oralig‘ida.

Osiyoning ba’zi mamlakatlarida (Xitoy, Hindiston, Nepal) elektroenergiya yetishmaganligi uchun biogazdan keng foydalaniladi va u juda ham sodda uskunalarda tayyorlanadi:

- ✓ chuqur qazilib, unda anaerob jarayon ketishi uchun sharoit yaratiladi;
- ✓ ajralib chiqqan biogaz kichik bochkalarda saqlanadi yoki to‘g‘ridan-to‘g‘ri ishlatiladi.

Xitoyda bunday ustqurmalar soni 50 mln. dan ko‘proq bo‘lib, yildanyilga ularning soni oshib bormoqda. Hindistonda esa bunday ustqurmalar bir necha milliondan ko‘proqni tashkil etadi. Biogaz va bioo‘g‘it ishlab chiqaradigan ustqurmalarning unchalik katta bo‘lmaganlari, fermer xo‘jaliklari, cho‘ponlar va cho‘lda ishlovchilar uchun juda foydalidir.

**Fotosintez**. Quyosh bitmas, tugamas, energiya manbayi, uning yergacha yetib keladigan energiyasi yiliga $3x10^{24}$ kDj. ni tashkil etadi. Shuni ham eslab qolmoq zarurki, shuncha vaqt mobaynida, qayta tiklanmaydigan energiya manbalaridan (neft, gaz, toshko‘mir) olinadigan energiya miqdori $2,5x10^{22}$ kDj. ni tashkil etadi. Issiqlikdan tashqari quyosh energiyasi yordamida fotosintez kabi hayotiy zarur jarayon amalga oshadi. Inson hayoti ikki energiya manbayi bilan: fotosintez natijasida hosil bo‘lgan o‘simlik biomassasi va uzoq o‘tmishda fotosintez mahsuloti bo‘lgan issiqlik energiyasi tashuvchilari muxofaza qilinib turiladi. Butun sayyoramiz miqyosida fotosintezni mahsuldorligi har xil hisob kitoblarga qaraganda, taxminan, yiliga 120 dan 150 mlrd. tonna hosil bo‘lgan uglerodga teng bo‘lib, ulardan 6-8% oziqlanish, issiqlik va qurilish mahsulotlari sifatida ishlatiladi.

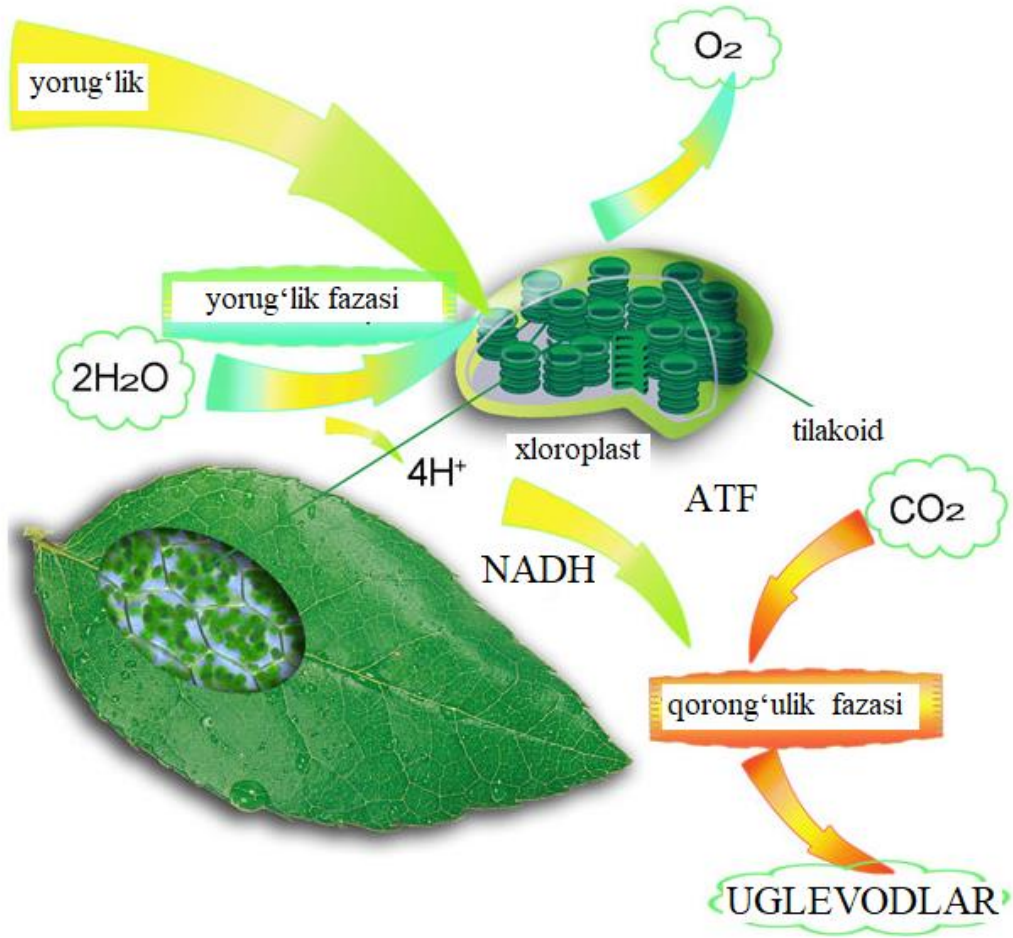
Kimyoviy nuqtai nazardan fotosintezni elektronlarning to‘lqinlanishi natijasida hosil bo‘lgan energiya ko‘chishi va hujayraning fotosintetik apparatida o‘zgarishiga olib keluvchi oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarining murakkab birin-ketinligi oqibatida sodir bo‘ladigan jarayon sifatida faraz qilish mumkin. Asl ma’noda fotosintez - karbonat angidridi va suvdan yorug‘lik energiyasi yordamida organik birikmalarning sintez bo‘lishi va molekulyar kislorodning ajralib chiqish jarayonidir.

Shunday qilib, fotosintezning asosiy jarayoni noorganik moddalarning organik moddalarga aylanishidir. Sodda qilib, fotosintez jarayonini 66-rasmda keltirilgan shaklda amalga oshadi.

Fotosintetik xususiyatiga qarab, butun mavjud bo‘lgan organizmlar ikki guruhga bo‘linadilar:

1. Avtotrof organizmlar – yagona uglerod manbayi sifatida uglerod ikki oksidini (karbonat angidridi) ishlatadi va undan, uglerod saqlovchi hujayra komponentlari “quradi”.

2. Geterotrof organizmlar – uglerod va energiya manbayi sifatida ekzogen (tashqaridan olinadigan) organik birikmalardan foydalanadi. Geterotroflar avtotroflarga nisbatan ko‘proqni tashkil etadi. Tuban geterotroflarning ba’zi birlari uglerod ikki oksidini assismilyatsiya qilish xususiyatiga ham ega bo‘ladi. Ammo, ularni biomassa hosil qilishdagi roli unchalik katta emas va uglerodga hisoblaganda 10% dan oshmaydi.




**66-rasm.** Fotosintez jarayoni

Tirik organizmlarni klassifikatsiya qilishni boshqa prinsipi – bu ularning energiya manbalariga bo‘lgan munosabatlaridir (48-jadval). Ko‘pchilik organizmlar fotolitotrof va xemoorganotrof tipiga kiradilar. Qolganlari esa, ularning ba’zi bir muhim biologik jarayonlarda (masalan, molekulyar azotni yutish) qatnashishlariga qaramasdan, kam tarqalgan hayot shakllari vakillari hisoblanadilar. Xemoorganotroflar aerob va anaerob organizmlarga bo‘linadilar. Aerob

organizmlarda elektronlarni atomal akseptorlari bo‘lib, molekulyar kislorod, anaeroblarda esa – organik birikmalar xizmat qiladilar. Anaerob organizmlar fakultativ (ixtiyoriy) va obligatlarga (shart bo‘lmagan) bo‘linadilar. Shuni ham eslab qolish zarurki, barcha organizmlar ham u yoki bu guruhgagina taaluqli bo‘lib qolavermaydi.

Bu fikrga yaxshi misol bo‘lib, yuksak o‘simliklarni kiritish mumkin, ularda fotosintez hisobidan yashovchi xlorofil saqlovchi hujayralar – avtotrof, ildiz hujayralari esa geterotrof hisoblanadi.

39-jadval

**Organizmlarning uglerod va energiya manbalarini ishlatishlari bo‘yicha tasnifi**

| Organizmlar | Uglerod manbasi | Energiya manbasi | Elektronlar donori | Misollar |
|---|---|---|---|---|
| Fotolitotroflar | $CO_2$ | Yorug‘lik | Noorganik birikmalar ($H_2O$, $H_2S$, C) | Yuksak yashil o‘simliklar, suv o‘tlari, fotosintez qiluvchi bakteriyalar |
| Fotoorgano-troflar | Organik birikma va $CO_2$ | Yorug‘lik | Noorganik birikmalar ($H_2O$, $H_2S$, C) | Oltingugurt saqlamaydigan bakteriyalar va to‘q qizil (purpur) bakteriyalar |
| Xemolito-troflar | $CO_2$ | Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalari | Noorganik birikmalar ($H_2O$, $H_2S$, C) | Denitrifikatsiya qiluvchi bakteriyalar |
| Xemoorgano-troflar | Organik birikma | Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalari | Organik birikmalar | Barcha hayvon organizmlari, ba’zi bir mikroorganizmlar |

Eukariot organizmlar singari prokariotlar ham fotosintezni amalga oshirish imkoniyatlariga ega. Albatta, bunday ajoyib xususiyat yuksak o‘simliklarga xosdir. Shuningdek, tuban eukariotlar – yashil, qizil va bir hujayrali evlena suv o‘tlarida ham fotosintez qilish xususiyati yuqoridir. Prokariotlar orasida ikki guruh – yashil va to‘q qizil (purpur) hamda ko‘k-yashil suv o‘tlari fotosintezlovchilarga kiradilar. Keyingilari yagona uglerod manbasi sifatida $CO_2$ dan foydalanadilar. Shuni alohida ta’kidlash lozimki, ba’zi-bir mikroorganizmlar va ko‘kyashil suv o‘tlarida fotosintezni amalga oshirish tezligi, yuksak o‘simliklarnikidan qolishmaydi.

Bakteriyalardan tashqari, ko‘pchilik fotosintez qiluvchi organizmlar vodorod atomlari va elektronlar donorlari sifatida suvdan foydalanadilar. Bu guruh organizmlarda fotosintez quyidagi tenglama asosida belgilanadi:

$$6H_2O + CO_2 \xrightarrow{Yorug‘lik} C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

Fotosintez qiluvchi bakteriyalarning katta qismi obligat anaeroblar hisoblanadilar. Shuning uchun ham ularni kislorod bilan bog‘lanishi (kontakti) fotosintez jarayonini to‘sib qo‘yadi. Bakteriyalar donor sifatida noorganik birikmalarni ishlatadilar, juda ham kam holatlarda organik birikmalar: izopropil spirti, sut kislotasi va boshqalardan foydalanish mumkin. Masalan, oltingugurtli yashil bakteriyalar shakarni $H_2S$ va $CO_2$ dan quyidagi reaksiya asosida sintez qiladilar:

$$2H_2S + CO_2 \xrightarrow{Yorug‘lik} (CH_2O)_n + H_2O + 2S$$

Elektronlar akseptorlari sifatida $CO_2$ dan tashqari boshqa birikmalar ham ishlatishlari mumkin. Masalan, nitrat va vodorod ionlari. Fotosintez qiluvchi azotfiksatorlar elektronlar akseptorlari sifatida karbonat angidridi yoki molekulyar azotni ishlatadilar. Quyida har xil elektronlarning akseptorlari ishtirokida o‘tadigan fotosintez jarayonini qo‘shma tenglamasi keltirilgan:

$$2D \cdot H_2 + CO_2 \longrightarrow (CH_2O)_n + H_2O + 2D,$$

$$9D \cdot H_2 + 2NO_3^- \longrightarrow 2NH_3 + 6H_2O + 9D,$$

$$3D \cdot H_2 + N_2 \longrightarrow 2NH_3 + 3D,$$

$$D \cdot H2 + 2H \longrightarrow 2H_2 + D$$

Fotosintez qiluvchi hujayralarning xloroplastlari sun’iy akseptorlar ishtirokida (masalan, ferritsianidlar ishtirokida) kislorod ajratib chiqaradilar, u esa akseptorlarni quyidagi reaksiya tipida qaytarilishiga olib keladi:

$$2H_2O + 2A \xrightarrow{Yorug‘lik} 2A \cdot H_2 + O_2,$$

*bu yerda: A-vodorod atomining (yoki elektronlarning) akseptori hisoblanadi; $A \cdot H_2$ –uning qaytarilgan shakli.*

Sun’iy akseptor o‘rniga, shu maqsadda NADF ishlatilishi mumkin, u ham yorug‘likda qaytarilib, kislorod ajralib chiqishiga olib keladi:

$$2H_2O + 2NADF^+ \xrightarrow{Yorug‘lik} 2NADF \cdot H + 2H^+ + O_2$$

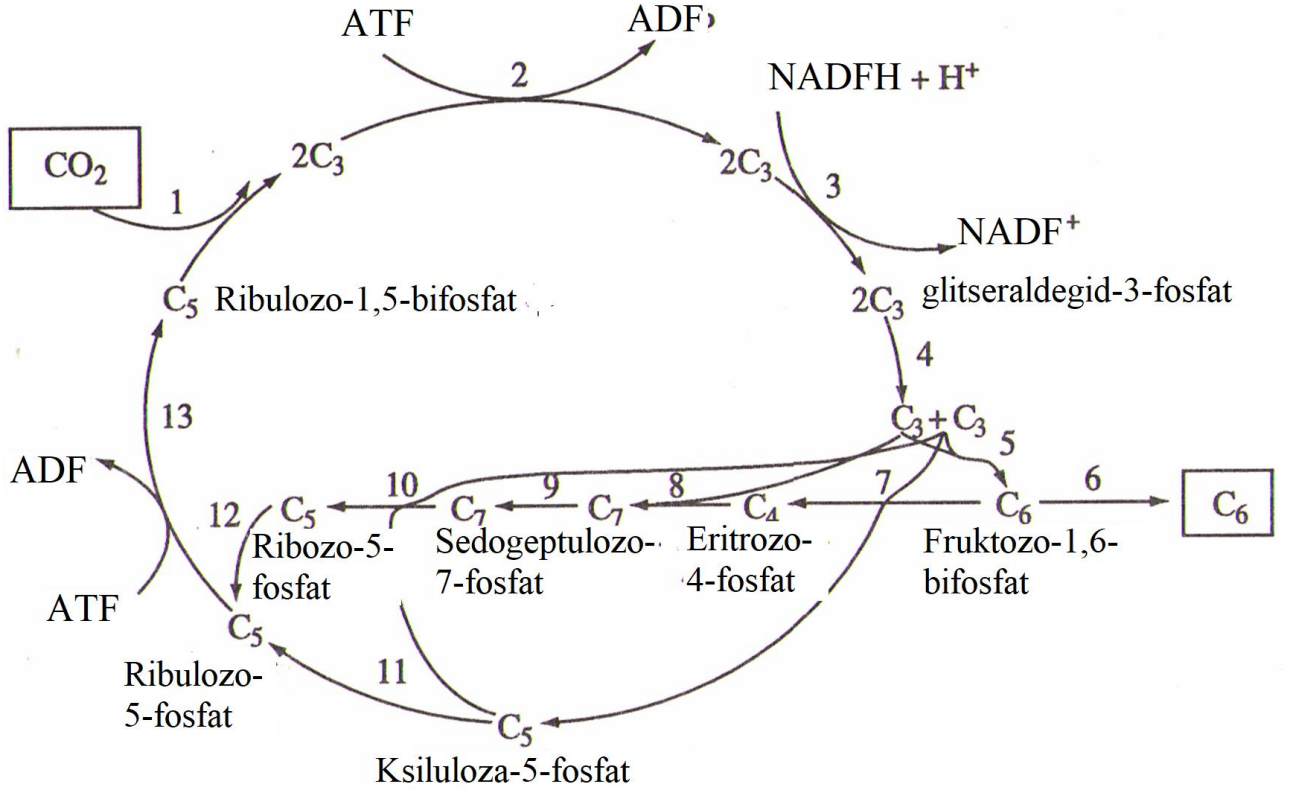
Fotosintezni yorug‘lik va qorong‘ulik davri borligi katta ahamiyatga ega. Yorug‘lik energiyasi hisobidan nafaqat NADF qaytariladi, balki ADF ni fosforlanib ATF hosil bo‘ladi. Shunday qilib yorug‘lik energiyasi kimyoviy energiyaga aylanadi

va NADF-n va ATF molekulalarida to‘planadi. Bu energiya karbonat angidrid gazini qaytarilish reaksiyalarida ishlatiladi. Fotosintez jarayonini zamonaviy ko‘rinishiga asos bo‘lib, Kalvinning fotosintezlovchi organizmlar hujayralarida uglerod assimilyatsiyasini aniqlash bo‘yicha olib borgan izlanishlari xizmat qiladi. Bu esa o‘ta murakkab biokimyoviy reaksiyalar asosida assimilyatsiya dastlabki mahsulotlari – karbon suvlarni hosil bo‘lishini tushintirib beradi.

Shartli ravishda Kalvin halqasi Krebs halqasiga murojaat sifatida qaralishi mumkin. Agar Krebs halqasida karbonsuvlar va boshqa energiyaga boy bo‘lgan uglerod manbalarini oksidlanishidan hosil bo‘lgan energiya kimyoviy potensial sifatida, qaytarilgan piridinnukleotidlar va ATF ko‘rinishida to‘planadigan bo‘lsa, Kalvin halqasida mana shu birikmalarni oksidlashi davrida ajralgan energiya karbonsuvlarni molekulalari ichida energiyaga aylanadilar. Fotosintez reaksiyasi yaxshi o‘rganilgan. Bu reaksiyalar xloroplastlarda, karbonat angidridi yutilishi bilan o‘tishi ma’lum. Oxirgi yillarda fotosintez jarayoniga nisbatan biokimyogarlarning tasavvuri elektronlarni tashqarida yaxshi tanish bo‘lgan, qator fotokimyoviy reaksiyalardan tashkil topgan Z –chizma qiyofasida namoyon bo‘ldi.

Karbon suvlarning karbonat angidridi gazini qaytarilishi ko‘pchilik eukariot organizmlar uchun ko‘p bosqichli fermentativ jarayon hisoblanadi. Uglerodning bu yo‘li qaytariluvchi pentozafosfat halqasi, Kalvin-Benson-Basem yoki uglerodni fotosintetik assimilyatsiyasining $C_3$-yo‘li deb ataladi. Bu halqada ishtirok etuvchi birikmalar va reaksiyani ketma-ketligi aniqlangan. Shuningdek, barcha oraliq mahsulotlar va bu jarayonda ishtirok etuvchi fermentlar ham aniqlangan. Jarayon halqa tabiatli o‘tishi ham aniq. Bu jarayonga xos bo‘lgan reaksiyalar 67-rasmda aks ettirilgan. Uglerodni fotosintetik assimilyatsiyasining boshqa yo‘li ham ma’lum, unda karbonat angidridi gazining birlamchi akseptori bo‘lib to‘rt uglerod atomiga ega bo‘lgan organik kislotalar xizmat qiladi. Shuning uchun ham bu yo‘l $C_4$ fotosintez deb ham yuritiladi.

Sitokimyoviy tekshiriklar asosida $C_3$ va $C_4$ fotosintez yo‘llariga ega bo‘lgan o‘simliklarni fotosintezni molekulyar mexanizmi asosida klassifikatsiya qilishga asos bo‘ldi. Fotosintez hisobidan organizmni uglerod va energiya bilan ta’minlab turilishini va unda kislorod ajralib chiqishini yo‘naltirilishi juda katta voqea bo‘ldi. Yuqorida ta’kidlanganidek, fotosintez orqali to‘planadigan uglerodni yillik miqdori 150 mlrd. tonnani tashkil etadi. Yer yuziga quyosh tomonidan yerga yo‘naltirilgan radiatsiyani yarmiga yaqini yetib keladi. Mana shundan atigi 0,4% biomassa hosil qilish uchun ishlatiladi, xolos. Yuzaki qaraganda juda ham kam ko‘ringan, fotosintezni mahsuloti sifatida to‘plangan bu energiya, har yili $4{,}19 \times 10^{17}$ kDj ozod energiya to‘playdi. Fotosintezni energiya miqdori bo‘yicha hosildorligi foydali qazilmalarnikiga nisbatan ancha ko‘proqdir. Shuning bilan birga fotosintez, hosildorlik uchun asos, atmosferani kimyoviy tarkibini boshqarib turuvchi va shu orqali yerda hayotni borligini ta’minlovchi muhim ekologik omildir. Fotosintetik jarayonlarni tezligiga har xil omillar, masalan $CO_2$ ni miqdori ta’sir ko‘rsatib turadi. Dala maydonlari sharoitida mana shu karbonat angidridi bu jarayonni boshqarib turuvchi bosh omil ekanligi isbotlangan.




**67-rasm.** Kalvin bo‘yicha karbonat angidridi gazining fotosintetik assimilyatsiyasini chizmasi (bunda Kalvin halqasi fermentlari: 1-ribulozafosfatkarboksilaza; 2fosfoglitseratkinaza; 3-triozofosfatdegidrogenaza; 4-triozofosfatizomeraza; 5-fruktozobisfosfataldolaza; 6-fruktozobisfosfataza; 7-transketolaza; 8-transaldolaza; 9-sedogeptulozobisfosfataza; 10transketolaza; 11-ribuluzofosfatepimeraza; 12-ribozofosfatizo-meraza; 13-fosforibulokinaza).

Fotosintezni mahsuldorligiga atmosferani ekotoksikantlar bilan ifloslanishi salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Shuni ham ta’kidlash lozimki, fotosintez jarayonida gazlarni almashinuvi, $CO_2$ yutilishi va $O_2$ ajralib chiqishi bilangina chegaralanmaydi. Hozirgi davrda fotosintez jarayonida boshqa birikmalar, masalan, alifatik uchuvchan to‘yinmagan uglevodorodlar – izopren ($C_5H_8$) ajratib turuvchi 200 dan ortiq o‘simlik turlari aniqlangan. Izoprenni jadal ajralib turishi uchun yorug‘likning ahamiyati katta. Izoprenning sintezida assimilyatsiya qilingan $CO_2$ ning uglerod atomi to‘g‘ridan-to‘g‘ri ishtirok etishi aniqlangan. Shuning uchun ham izoprenni sintezida birlamchi karboksillanish reaksiyasi katta ahamiyatga ega.

*Sayyoramizning fotosintetik mahsuldorligi.* Butun ekosistema darajasida, fotosintez yordamida amalga oshuvchi uglerodni fiksatsiyasi, taxminan “toza birlamchi hosildorlik”ga teng bo‘lib, uglerodni haqiqiy fiksatsiyasining integrali, minus nafas olish va o‘simlikni saqlash uchun ketgan xarajatlarga tengdir. Ba’zi-bir hisob kitoblarga qaraganda toza birlamchi hosildorlikni (o‘simlik biomassasini) sayyoramizning alohida komponentlari orasida bo‘linishi quyidagicha: qurg‘oqlik uchun -$120x10^9$ t quruq biomassalari yiliga; okean uchun – $55x10^9$ t/yiliga. Boshqacha hisob kitoblar asosida olingan shu ko‘rsatkichlar -10% dan +40% gacha farqlanib turadi va haqiqatga yaqinroq bo‘lsa ajab emas. Dunyoni suv basseyni (havzalari) maydoni quruq yer maydoniga nisbatan 2,5 marotaba ko‘proq bo‘lishiga

qaramasdan fotosintetik tiklanib turadigan biomassaning miqdori yerda, okeannikiga nisbatan taxminan uch marotoba ko‘proq. Shuningdek, yuqoridagi jadvalda keltirilgan raqamlarda fermerlarning ichki ehtiyojlari uchun ishlatiladigan, savdoga chiqarilmagan mahsulotlar miqdori ham hisobga olinmagan. Insoniyat har xil shaklda yiliga $12x10^9$ t. quruq qayta tiklanadigan fotosintez mahsulotlarini iste’mol qilishini va uning energetikasi $0,24x10^{21}$ kDj/yil ni tashkil etishini hisobga olinganda bu raqamlar va ko‘rsatkichlar juda ham e’tiborni tortadigan holatdir. Darhaqiqat, boshqa hisobga kiritilmaydigan yo‘qotishlar ham bor (cho‘llanish, suv havzalarining qurishi, shaharsozlik (urbanizatsiya)). Bor-yo‘g‘i 150 yil ilgari fotosintetik qayta tiklanadigan biomassa, insoniyatni issiqlik, yorug‘lik, sanoat-ishlab chiqarishi, oziq-ovqat tayyorlash va boshqa ehtiyojlari uchun sarflanadigan energiya bilan ta’minlay olar edi. Ammo, rivojlangan mamlakatlarda neft, toshko‘mir, tabiiy gazning borligi o‘simlik biomassasidan foydalanishni tubdan o‘zgartirib yubordi. Shunday qilib, qayta tiklanmaydigan issiqlik energiyasidan foydalanish rivojlanishning yangi bosqichini boshlab berdi va bu jarayon hozirgacha davom etib kelmoqda.

Oxirgi 100 yilda qazilma boyliklarning issiqlik energiyasidan foydalanish o‘rtacha yiliga 4,35% ga oshib bordi. Energiyaning alternativ manbalarini topish yo‘lida turli xil ilmiy izlanishlar olib borilmoqda: yadroning parchalanish zanjirli reaksiyasidan chiqqan energiyadan foydalanishdan boshlab, fotosintetik qayta tiklanadigan o‘simlik biomassasidan (suyuq issiqlik) foydalanishgacha. Nima bo‘lganda ham bugungi kunga kelib, energiya manbalarini qisman o‘rnini bosaolayotgan bo‘lsada, eng keng tarqalgan energiya manbayi tayyorlash texnologiyalarini yaratishga kirishib ketildi. Bu texnologiya quyidagilardir: ko‘p yillik daraxtlarni biomassasini maydalab, uni ligninsizlantiriladi (har xil fizikaviy yoki kimyoviy usullar yordamida), olingan massa tarkibidagi sellyulozani glyukozagacha parchalanadi (kimyoviy yoki fermentatsiya yo‘l bilan) va nihoyat hosil bo‘lgan glyukozani spirtgacha bijg‘itib, uni distilyatsiya usulida konsentrlab, energiya manbayi sifatida ishlatishga tavsiya etadi.

Bu texnologiya bilan yonma-yon biotexnologiyaga oid yana bir necha texnologiyalar ishlab chiqildi:

- o‘simlik mahsulotlarini delignifikatsiya qilish (bu texnologiya boshqa maqsadlar uchun ham ishlatilib kelinmoqda);
- sellyulozani fermentativ parchalanishini mexanizmi yaratildi (bu jarayonda bir nechta gidrolitik fermentlar ishtirok etishi aniqlandi);
- sellyuloza fermentining o‘ta faol produsentlari yaratildi, ular orasida aerob va anaerob sharoitda faoliyat olib borayotganlari, eukariot va prokariot organizmlar bor;
- sellyuloza fermenti sintezi uchun javobgar bo‘lgan gen ajratib olinib, bir mikroorganizmdan boshqasiga o‘tkazish sharoitlari ishlab chiqildi;
- pentoza va geksozalarni bijg‘ish sharoitlari yaratildi.

O‘simlik biomassasiga boy bo‘lgan mamlakatlarda (Rossiya, Kanada, Finlyandiya va boshqalar, shular qatoriga O‘zbekistonni ham kiritish mumkin, chunki mamlakatimizda yiliga 4 mln. tonnadan ko‘proq g‘o‘zapoya yetishtiriladi va undan foydalanish usullari hamon eskichasiga qolib ketmoqda.) suyuq energiya manbayini olish texnologiyasidan foydalanilmaydigan bo‘lsada, bu texnologiyani alternativ deb

qarash lozim. Chunki, bu texnologiyadan bir qator mamlakatlarda keng foydalanilib kelinmoqda. Masalan, AQSh da gazoxol (10% etanol va 90% benzin aralashmasi), Braziliyada 50% benzinni etanolga almashtirish bo‘yicha ilmiy-amaliy ishlar jadal olib borilmoqda.

Mamlakatni tuproq va iqlim sharoiti, suyuqlik energiyasi tayyorlash biotexnologiyasini keng kirib kelishiga yordam beradi:

birinchidan, Braziliyada ishlatilmay yotgan haydaladigan maydon juda ko‘p, bu esa mu’tadil mahsulot tayyorlash tizimini yaratishga yordam beradi;

ikkinchidan, fotosintetik qayta tiklanadigan biomassaning mahsuldorligi tropik sharoitda, butun sayyoramiz bo‘yicha eng baland hisoblanadi.

Shu munosabat bilan yashil kontingent – Avstraliya juda katta qiziqish uyg‘otadi. Iqlim sharoitini hisobga olgan holda, katta maydon va unchalik ko‘p bo‘lmagan aholi (15 mln.), xuddi shu mamlakatda o‘simlik biomassasidan bioissiqlik tayyorlash qanchalik dolzarbligini ko‘rsatadi. Mutaxassislarning fikrlaricha g‘alla tayyorlash tizimini buzmasdan turib, bu yerda yiliga $50x10^6$ t. (quruq og‘irlik) lignotsellyuloza materiallari to‘plash va undan $17x10^6$ t. (quruq og‘irlik) bijg‘uvchi material tayyorlash mumkin. Ammo, shuni ham eslab qolish lozimki, har qanday qulay sharoitda (mamlakatda) fotosintetik qayta tiklanadigan o‘simlik biomassasidan spirt tayyorlash, toshko‘mirdan metanol tayyorlashga nisbatan ikki maratoba qimmatroq tushadi. An’anaviy, qayta tiklanmaydigan issiqlik manbalaridan qanchalik iqtisodiy foydasiz bo‘lishiga qaramasdan, iqtisodiy rivojlangan mamlakatlarda o‘simlik biomassasidan issiqlik manbayi tayyorlash tobora rivojlanib boraverishi lozim. O‘simliklar $CO_2$ ning konsentratsiyasi oshib borishiga har xil munosabat bildiradilar. $C_4$-o‘simliklar yoki karboksillanishni birlamchi reaksiyasi to‘rt uglerod atomiga ega bo‘lgan mahsulot sintez qiluvchi (masalan, qahrabo-sirka kislotasi), o‘simliklar (makkajo‘xori) suvli sharoitda $CO_2$ ni konsentratsiyasini oshishini unchalik sezmaydi. Tajriba o‘tkazish o‘ta murakkab bo‘lganligi sababli, dala sharoitida $C_3$ va $C_4$ – o‘simliklar $CO_2$ miqdorini oshishiga qanday munosabatda bo‘lishini kuzatish qiyin. Bunday qiyinchiliklardan biri ba’zi-bir o‘simliklarda $CO_2$ konsentratsiyasining oshishiga fotosintez tezligini moslashuv (adaptatsiya) o‘zgarishlari namoyon bo‘la boshlaydi. Ammo, bunday hodisalar universal xarakterga ega emas, masalan, bug‘doy, tamaki o‘simligi va bodring $CO_2$ miqdorining oshishiga fotosintez tezligi kuchayishi bilan javob qaytarganlar, keyin ikki hafta oralig‘ida, odatdagi atmosferaga teng darajaga tushirganlar.

O‘simliklarda juda kam uchraydigan, bunga qarama-qarshi reaksiya, ya’ni fotosintez intensivligini to‘g‘ridan-to‘g‘ri pasayishi – bu o‘simliklarni fotosintezini juda qisqa vaqtga ham kuchaytirish imkoniyati bo‘lmaganligi bilan tushuntiriladi. Uglerod ikki oksidi (karbonat angidridi) atmosferani holatini aniq ko‘rsatkichi hisoblanadi. Yildan-yilga atmosferaga chiqariladigan ekotoksikantlarning miqdori oshib borishi (energiya tashuvchilarning yoqilishi, transportning ko‘payib borishi, industrial chiqindilar miqdorining oshib borishi), shu bilan bir vaqtning o‘zida sayyoramizda o‘rmonlar maydonining tabora qisqarib borishi atmosfera tarkibida $CO_2$ miqdorining oshib borishini bashorat qilishga asos bo‘lib xizmat qila oladi. Ammo, 25 yil mobaynida kuzatib borilgan $CO_2$ amplitudasining yillik halqasi, yaxshiyamki, atmosfera tarkibidagi $CO_2$ ning miqdori o‘zgarmaganligidan dalolat beradi. Bu hodisani o‘simliklarning $CO_2$ yutish imkoniyatlarining oshib borishi, ya’ni

fotosintez jarayonini tezlashishi bilan bog‘lab tushintirish mumkin. Hech shubha yo‘qki, bu jarayon juda ko‘p omillarga bog‘liq. Afsuski, fotosintezga ta’sir etish o‘ta faollik bilan olib borilayotgan bo‘lsada u haqdagi bilimlarimiz anchagina sayozdir.

Fotosintezni, o‘simliklarning uglerod bilan oziqlanish jarayoni sifatida ham qarash mumkin. Shunday ekan, uning funksiyasi faqatgina quyosh energiyasini to‘plash bilangina chegaralanib qolmaydi. Fotosintezning mahsulotlari bo‘lib, yorug‘likda $CO_2$, azot va oltingugurtdan hosil bo‘ladigan qator organik moddalar hisoblanadi. Bu jarayon xloroplastlarda joylashgan (to‘plangan), u joyda o‘tadigan fotokimyoviy reaksiyalar natijasida, energiya yig‘uvchi moddalar to‘planadilar va ularni hujayra, keyinchalik $CO_2$ assimilyatsiyasiga va qator boshqa jarayonlarga sarflaydi. Hozirgi vaqtda, fotosintezning yagona mahsuloti karbon suvlar degan fikr ekanligi haqiqatga to‘g‘ri kelmaydi. Fotosintez natijasida karbonsuvlar qatori, organik kislotalar, aminokislotalar, peptidlar, oqsil moddalar, yog‘lar va boshqa birikmalar sintez bo‘ladilar. Fotosintetik apparatning faoliyatini o‘rganish asosida to‘plangan materiallar asosida, biotexnologik xarakterga ega bo‘lgan istiqbolli vazifalarni rejalash mumkin. Bunday vazifalarning yechimi suv fotolizi mexanizmidan amaliyotda foydalanish, organik birikmalarning sintezi bilan bog‘liq bo‘ladi. Bunday mexanizmlarning yechilishi va aniqlangan qonuniyatlarning ishlatilishi insoniyatga vodorod singari ekologik toza issiqlik manbayi ishlab chiqarish imkoniyatini yaratadi. Mana shulardan kelib chiqqan holda keyingi vaqtlarda fotosintez qiluvchi mikroorganizmlarga va odatdagi sharoitda suvni vodorod va kislorodga parchalab beraoladigan hujayrasiz ferment tizimini yanada chuqurroq o‘rganishga alohida e’tibor berilmoqda. Biologik yo‘l bilan vodorod olish bo‘yicha ko‘pgina mamalakatlarda har tomonlama izlanishlar olib borilmoqda. 130 dan ortiqroq vodorod hosil qiluvchi, fotosintez qiluvchi organizmlar aniqlangan. Bular orasida aerob va anaerob xematrof bakteriyalar, to‘q qizil (purpur) va yashil fototrof bakteriyalar, sianobakteriyalar, har xil suv o‘tlari mavjud. Har xil fotoretseptorlardan foydalanadigan fototizimlar modellari yaratilgan. Biotexnologiyaning vazifalaridan biri – vodorod hosil qiluvchi, samarali va mu’tadil fototizmlar yaratishdir.

*Fotosintez orqali qayta tiklanadigan o‘simlik polimerlari*. Millionlab yillar davomida o‘simliklarning karbon suvlar sintez qilishlari va ulardan xilma xil organik birikmalar hosil bo‘lishiga qaramasdan, yerda hech qachon organik birikmalarning keragidan ortiqcha miqdorda to‘planib qolganligi kuzatilmagan. Faqatgina o‘simlik massasining kichik qismigina, qaytarilgan holatda, anaerob sharoitda toshko‘mir, tabiiy gaz va neft ko‘rinishida saqlanib qolgan. Bu organik birikmalarning sintezi, ularning o‘zgarishlari bilan hamohang kechishini, ayniqsa bu jarayonlar aerob sharoitda, molekulyar kislorod ishtirokida jadal amalga oshishidan darak beradi.

Dinamik alohida o‘ralgan tizim sifatida, sayyoramizga katta miqdorda har qanday kimyoviy element tashqaridan kirib kela olishi qat’iyan mumkin emas. Shuning uchun ham sayyoramizning uglerod potensiali qanchalik katta bo‘lishiga qaramasdan, qandaydir darajada u bari-bir chegaralangan. Mutaxassislarning fikricha, urbanizatsiya va industrializatsiya jarayonlarining jadal rivojlanib borishlariga qaramasdan, sayyoramizning fotosintez qilish potensiali, eng kamida 50% ga ko‘payadi. Bunga uglerodning ikki terminal holati: $CO_2$ va organik birikmalar orasida yanada faolroq aylanishini jadallashtirish orqali erishish mumkin. Bu jarayonni

(uglerod aylanishini) chegaralovchi bosqich shak-shubhasiz – fotosintezdir. Yuqorida ko‘rsatib o‘tilgan hisob kitoblardan kelib chiqqan holda, fotosintez jarayonini jadallashtirish, orqali qayta tiklanadigan o‘simlik mahsulotlarini yiliga taxminan 75 mlrd. tonnaga ko‘paytiradi degan fikrga kelish mumkin. O‘simlik massasining 70-80% ini biopolimerlar tashkil etishi ma’lum. Bular asosan glyukoza (sellyuloza) va pentoza (gemitsellyuloza) larning polikondensatsiya mahsulotlari hisoblanadi.

Zamonaviy nuqtai-nazarga asosan, o‘simliklarning fotosintezlovchi apparatining faolligini ko‘tarish, quyidagi shart-sharoitlarga rioya qilish orqali amalga oshishi mumkin:

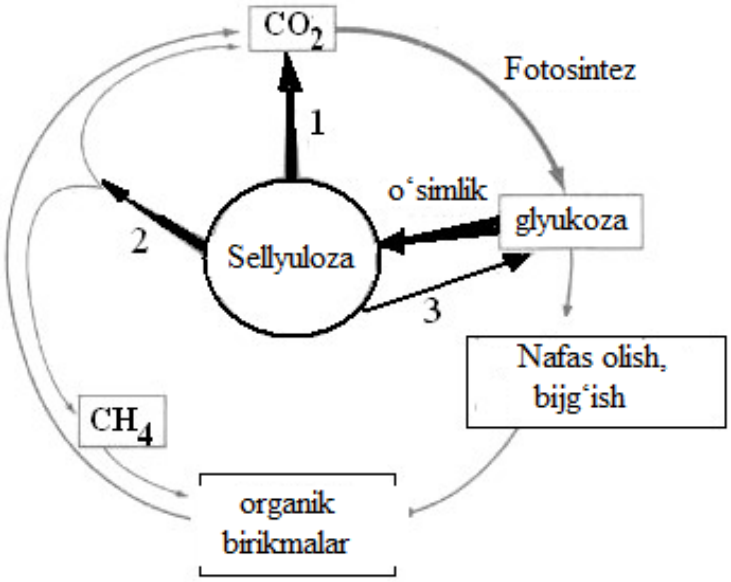
- barglarning umumiy yuzasini kengaytirish;
- fototizimlarni boshqarishda gormonlardan foydalanish;
- xloroplastlar sonini oshirish;
- fototizmlar orasida elektronlar transportini tezlashtirish; ➢ fotonafas olishning tezligini pasaytirish.

Bu vazifalarning bajarilishi – fotosintezning jadalligini kuchaytirish uchun asos bo‘lib xizmat qilgan bo‘lar edi. Ammo, fotosintezning mahsuldorligini chegaralab qo‘yadigan faktorlarning rolini ham hisobga olishga to‘g‘ri keladi. Ularning ta’siri ichki fotobiologik chegaralovchi o‘ziga xoslik hamda atrof muhitning o‘ziga xos omillari: hosildorlik indeksi, yorug‘lik, $CO_2$, suv, harorat, oziqa moddalari, fotonafas olish tezligi, zararkunandalar, kasalliklar va h.k. bilan aniqlanadi. Shuning uchun ham fotosintezni kuchaytiradigan universal retsept yo‘q. Shunga qaramasdan ba’zi bir natijalarga erishilgan. Masalan, ko‘plab tez o‘sadigan o‘simliklar navlari yaratilgan, ulardan ba’zilari sanoat nuqtai nazaridan katta ahamiyatga ega. Masalan, tol o‘simligining yiliga 10-12 m o‘sadigan navlari yaratilgan, ularning biomassalarida lignin miqdori juda ham kam (3-4%). Ko‘p yillik o‘simliklar singari bu navni katta maydonlarda ekib, ularning plantatsiyalari tashkil etilsa, albatta katta sanoat ahamiyatiga ega bo‘ladi. Agar bugungi kunda sayyoramizning har bir vakiliga yiliga 40 t. fotosintez mahsulotlari (qayta tiklanadigan o‘simlik polimerlari) yetishtirilishini e’tiborga olinsa, bunday substratlarning ahamiyati o‘z-o‘zidan ma’lum bo‘ladi. Kimyoviy sintez yo‘li bilan olinadigan uglerodli birikmalarning tabiatda aylanishini alohida muammo sifatida qarash lozim. Ma’lumki, inson qo‘li bilan yaratilgan qator past molekulali (detergentlar, yadoximikatlar) yoki yuqori molekulali (poliuretanlar, polistirollar, epoksidlar) birikmalar butunlay mikrobiologik o‘zgarishlarga uchramaydilar yoki juda ham sekinlik bilan parchalanadilar. Bunday birikmalarni yo‘qotishning yagona yo‘li – yoqishdir. Sintetik ximikatlarni tayyorlash, ularning tarkibidagi moddalarni (uglerod, azot, oltingugurt, fosfor), o‘zlariga xos bo‘lgan aylanishdan chetlatib qo‘yadi (bor elementlar polimer ko‘rinishida bo‘lganligi sababli parchalanmaydi, demak, element tabiatda aylanmaydi).

Yiliga bir necha yuz million tonnalab kimyoviy sintez orqali tayyorlanadigan polimerlar ishlab chiqarilayotganligini va bu yanada kengayib borayotganligini hisobga olgan holda insoniyatning “kimyoviy” faoliyatini alohida nazoratga olishni talab qiladi.

*Sellyuloza* – tabiatda eng ko‘p tarqalgan biopolimerdir. U har qanday o‘simlik materiallarining asosini tashkil etuvchi komponent hisoblanadi. O‘simlik biomassasida sellyulozaning miqdori o‘rtacha 50% ni, ko‘p yillik o‘simliklarda esa

60-70% ni tashkil qiladi. Sellyuloza bir birlari bilan β-(1→4)-glyukozid bog‘lari bilan bog‘langan Dglyukozalardan tashkil topgan. Sellyulozadagi glyukozaning polimerlanish darajasi 10000 dan ko‘proq, molekulyar og‘irligi esa 1,5 mln. Dalton. U suvda erimaydigan polimer hisoblanadi. O‘simliklarda, polimer zanjirlar tabiiy holatda fibringa o‘xshash joylashgan. Vodorod bog‘larining ko‘pligi va ularning tuzilish xarakteri amorf qism bilan almashib turgan kristall qismlari paydo bo‘lishini belgilaydi. Hisob kitoblarga qaraganda, yiliga qayta tiklanadigan (fotosintez yo‘li bilan) sellyulozaning miqdori sayyoramiz bo‘yicha 100-140 mlrd. tonnani tashkil etadi. Bu degani, yer yuzidagi har bir insonga yiliga 25 tonna sellyuloza to‘g‘ri keladi. 68-rasmda uglerod aylanishida sellyulozaning oraliq o‘rni aks ettirilgan.




**68-rasm.** Uglerod aylanishida sellyulozaning ishtiroki (bunda: 1-mikrobiologik oksidlanish; 2-anaerobli aylanish; 3-fermentativ parchalanish)

Hozirgi vaqtda sellyulozani qayta ishlash va uning hosilalarini olish bo‘yicha katta texnologik ishlar amalga oshirilmoqda. Sellyuloza kraxmalga o‘xshab, kimyoda, biologiyada, tibbiyotda, sanoatning turli xil tarmoqlarida, oziq-ovqat sanoatida, ilmiy izlanishlarda keng ishlatilmoqda. Sanoat miqyosida sellyulozadan glyukoza tayyorlash yo‘lga qo‘yilgan. Sanoat sharoitida sellyuloza saqlovchi mahsulotlarni - yog‘ochni gidroliz qilish ikki xil yo‘l bilan amalga oshiriladi.

Birinchisi – an’anaviy mineral (xlorid va oltingugurt) kislotalari bilan gidroliz qilish.

Bu yo‘l bilan olingan gidrolizat murakkab aralashma bo‘lib, u tarkibida glyukoza, pentozalarning aralashmasi va spirtlar (kumarin, sinap, koniferil spirtlari) saqlaydi. Bu aralashmani qayta ishlash orqali gidroliz spirti va achitqi zamburug‘ini biomassasi (em achitqisi) olinadi. Bu texnologiyaning o‘ziga yarasha kamchiliklari mavjud:

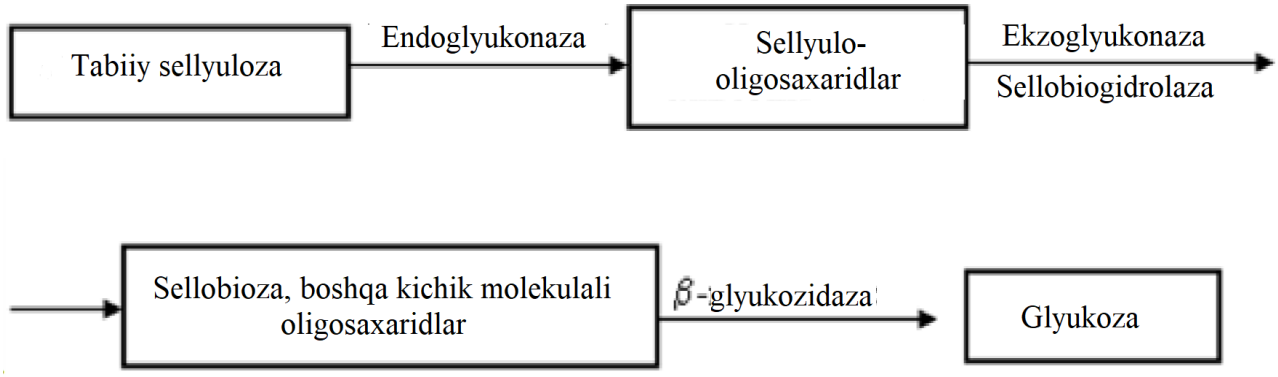
- kislotaga chidamli, katta hajmli maxsus idishlar talab qiladi;
- ish sharoiti juda ham og‘ir;
- ekologik ifloslanish manbayi hisoblanadi.

Mana shu kamchiliklarga qaramasdan bu texnologiya ko‘plab mamlakatlarda xanuzgacha ishlatib kelinmoqda. Yaqinlargacha bunday zavod mamlakatimizning Yangiyo‘l shahrida ham faoliyat ko‘rsatgan, ammo mahsulot (daraxt chiqindisi) yetishmaganligi sababli, bu zavodni faoliyati to‘xtatilgan.

Ikkinchi texnologiya (hozircha keng ishlatilganicha yo‘q) – bu fermentativ texnologiyadir. Sellyulozani gidroliz qiluvchi sellyuloza kompleksi eng kamida uch fermentdan:

1. β-endo-(1-4)-glyukoza molekulasi ichidagi β-(1-4)-bog‘larni tartibsiz uzadigan ferment -β-endo (1-4)-glyukanazalar;
2. Ekzo-(1-4)-glyukoza yoki sellobiogidrolaza-sellooligosaxaridlarni redutsirlanmagan oxiridan disaxarid sellobiozani kesib tashlovchi ferment;
3. β-glyukozidaza – past molekulali (suvda eruvchi) sellyulooligolsaxaridlarni redutsirlanmagan oxiridan glyukoza molekulasini kesib tashlovchi fermentlardan iborat bo‘ladi.

Sellyuloza fermentlarini uzoq vaqt davomida, chuqur o‘rganilib kelinayotganligiga qaramasdan, ularning ta’sir mexanizmlari haqida to‘liq bir to‘xtamga kelinmagan. Gap shundaki, har xil toksonomik guruhga mansub bo‘lgan mikroorganizmlar bir-birlaridan solishtirma faolligi, substrat spetsifikligi va qator boshqa xususiyatlari bo‘yicha tubdan farq qiladigan sellyulozalar sintez qiladilar. Ilmiy adabiyotlarda kristall sellyulozaning fermentativ gidrolizining bir necha variantlari chop etilgan. Eng ko‘proq ishlatiladigani quyidagicha:




Sellyulozani parchalovchi fermentlar indutsibel fermentlardir. Ularni aerob hamda obligat anaerob mikroorganizmlar ham sintez qiladilar. Anaerob sharoitda selyuyulozani parchalanishida mikroskopik zamburug‘lar, ayniqsa: *Trichoderma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Allesheria*, *Geotrichum* va boshqalar faol ishtirok etadilar. Sellyulozani parchalaydigan bakteriyalardan *Cellilomona*s, *Sporangium*, *Archangium* va boshqalar ma’lum. Anaerob sharoitda sellyuloza termofil bakteriyalar – *Clostridium thermocellum* va ko‘plab mezofil bakteriyalar yordamida faol parchalanadi. Bakteriyalarda sellyulozani parchalanishini oxiriga yetkazuvchi β-glyukozidaza fermenti kamroq uchraganligi sababli, sellyuloza past molekulali oligosaxaridlar va sellobiozagacha parchalanadilar, xolos. Shuni ham ta’kidlash lozimki, anaerob bakteriyalarning endoglyukanazalari, aerob bakteriyalarnikiga nisbatan kengroq substrat spetsifikligiga ega. Anaerob mikroorganizmlar endonukleazalari bilan parchalangan sellyulozaning sellooligosaxaridlari aralashmasida 5% gacha glyukoza ham bo‘lishi aniqlangan.

Umuman olganda sellyulozani anaerob bakteriyalar fermentlari bilan gidrolizi yaxshi o‘rganilmagan.

Yog‘och materiallaridan qog‘oz tayyorlash uchun sellyuloza olish juda yaxshi yo‘lga qo‘yilgan. Har yili ishlab chiqariladigan mahsulotning hajmi millionlab tonna bilan belgilanadi. Yog‘och materiallaridan sellyuloza olishda kimyoviy usullardan foydalaniladi. Bu usullar sulfitli va sulfatli usullardir. Ular murakkab va ko‘p bosqichli usullardir. Oxirgi o‘n yillarda biotexnologik – fermentativ usullardan foydalanishga kirishilgan. Kimyoviy usullardan ekologik nuqtai nazaridan afzalroq bu usul asosida sellyuloza bilan birga ishtirok etib kelayotgan gemitsellyulozani tanlab gidroliz qilishga asoslangan va bu yuqori sifatli qog‘oz tayyorlash imkonini beradi.

*Gemitsellyuloza (ksilan).* O‘simlik substratlari tarkibida gemitsellyulozani miqdori sellyulozadan keyingi o‘rinda turadi. Yog‘ochli o‘simliklarning qattiqligi sellyuloza, gemitsellyuloza va lignin birligi bilan belgilanadi. Nina bargli o‘simliklar 12% gacha, barglilar esa 25% gacha gemitsellyuloza saqlaydilar. O‘simliklarda gemitsellyuloza zahira va tayanch vazifasini bajaradi. Gemitsellyuloza pentozalardan, asosan β-(1-4) bog‘lari bilan bog‘langan D-ksilozalardan tashkil topgan. Har xil gemitsellyulozalar ksilozadan tashqari arabinozalar, qisman esa geksozalar – glyukoza, galaktoza va glyukuron kislotalar ham saqlaydi. Polimerizatsiya darajasiga qarab gemitsellyulozalarning molekulyar og‘irligi 30 dan 200 kDa gacha bo‘lishi mumkin. Gemitsellyulozalar har xil toksonomik guruhga mansub bo‘lgan, xususan, *Aspergillus, Trichoderma, Penicillium, Alternaria, Allescheria* mikroorganizmlar ta’sirida oson parchalanadilar. Ksilan parchalovchi bakteriyalarga *Bacillus, Streptomyces* va *Clostridium* turiga mansub bo‘lgan bakteriyalar kiradi. Tabiiy substratlarda sterik murakkab bo‘lganliklari uchun gemitsellyulozaning parchalanishi biroz qiyinroq kechadi. Shuning bilan birga gemitsellyulozani fermentativ parchalanishi sellyulozanikiga nisbatan osonroq va to‘laroq bo‘lishini alohida ta’kidlash lozim. Gemitsellyulozaning amaliy ahamiyati katta bo‘lganligi sababli uni parchalovchi fermentlar ham jadal o‘rganilmoqda.

*Kraxmal* – yashil o‘simliklarning asosiy, zahira moddasi hisoblanadi. Amaliy ahamiyati katta bo‘lganligi hamda oson ajratib olinishi uchun kraxmalni o‘rganish o‘tgan asrdayoq boshlab yuborilgan. Kraxmal kartoshkada 30% gacha, turli xil boshoqlilarda esa (80% gacha) ko‘proq to‘planadi. Kraxmal ikki komponentdan – amilaza va amilopektindan tashkil topgan. Har xil manbalardan olingan kraxmal tarkibidagi amilaza 20-25% ni, qolganini esa amilopektin tashkil etadi. Amiloza lineyli polimer bo‘lib, bir-birlari bilan α-(1-4)- glikozid bog‘i bilan bog‘langan D-glyukoza qoldiqlardan iborat. Kraxmaldagi Dglyukozani polimerlanish darajasi 200 dan bir necha minggacha bo‘lishi mumkin. Kraxmal issiq suvda bo‘kmasdan, yengil eriydi. Yod bilan o‘ziga xos bo‘lgan qo‘ng‘ir rang beradi. Amilozadan farqi o‘laroq, amilopektin molekulasi yoniga tarqalgan. Tarqalgan nuqtada glyukoza molekulalari o‘zaro α-(1-4)-glikozid bog‘lari (amilazaga o‘xshab) bilan bog‘langan. Har xil manbalardan ajratib olingan kraxmallar polimerizatsiya darajasi, yon bog‘larining soni va fermentativ gidrolizga munosabati bilan farq qiladi. Kraxmalni ishlab chiqarish ko‘rsatkichlaridan muhimi, uning yopishqoqligidir (kleystrilizatsiya).

Kraxmalning eruvchanligi polimerizatsiya darajasiga bog‘lik. Polimerizatsiya darajasi oshib borishi bilan eruvchanlik pasayib boradi, 100-150 glyukoza qoldig‘idan iborat bo‘lgan kraxmal faqat issiq suvda eriydi, xolos. Kraxmalning gidrolizini ikki yo‘li: kislotali va fermentativ yo‘li ma’lum. Kislotalar yordamida gidroliz qilinganda, kraxmal molekulasidagi kristall qismi amorfga aylanadi va keyin gidrolizga uchraydi. Fermentativ gidrolizda ham shunday bo‘lsa kerak - deb taxmin qilinadi. Kraxmalning parchalanishida amilaza deb atalmish bir guruh fermentlar ishtirok etadi va o‘zining ta’sir xarakteriga qarab, endo-, hamda ekzofermentlarga bo‘linadi. α-amilaza- endoferment, kraxmal molekulasi ichidagi bog‘larni tartibsiz gidrolizlaydi. Glyukoamilaza (amiloglyukozidaza) va β-amilaza ekzo tipga kiradigan fermentlardir. Ular kraxmalni nativ molekulasidan ketma-ket glyukoza (glyukoamilaza) va maltozani (β-amilaza) kesib olinadi (qaytarilmaydigan uchidan).

Kraxmal inson oziqasida katta solishtirma og‘irlikka ega (non, kartoshka, sabzavotlar va h.k.) shuning uchun ham organizmning asosiy energetik resursi hisoblanadi. Oziqa mahsulotlarida kraxmal quyidagi qismda uchraydi: bug‘doy uni – 74%, guruch-77-78%, oq non- 51%. Inson organizmida kraxmalni parchalanishi og‘izdagi so‘lakning amilazasi ta’siridan boshlanadi (og‘izda kraxmal qisqa bo‘lakchalarga bo‘linadi), keyin ovqatlanish yo‘lida bu fragmentlar glyukozagacha parchalanadilar va hosil bo‘lgan glyukoza qonga so‘riladi. Oziqlanish bahosi nuqtai nazaridan, o‘simliklar polimerlari orasida kraxmalga yetadigani yo‘q.

*Pektin*. Pektinlar poligalakturonidlarni to‘g‘ri chiziqli zanjiri bo‘lib bir birlari bilan β-(1-4)-glikozid bog‘lari bilan bog‘langan. D-galaktron kislotasi qoldiqlaridan tashkil topgan. Pektinlarning karboksil guruhlarining katta qismi metanol bilan efir bog‘i hosil qilgan. Pektin moddalarining molekulyar massasi 20-200 kDa. Har xil manbalardan ajratilgan pektinlar molekulyar og‘irliklari va efirlanish darajalari bilan farqlanadi. Mikroorganizmlar har xil pektinlarni faol parchalaydi. Shunisi qiziqki, o‘simlik mikroflorasining patogenligi ularning pektolitik fermentlar sintez qilishlari bilan belgilanadi. Pektin moddalarining buzilishida ikki tipdagi fermentlar – esterazalar va depolimerazalar ishtirok etadi. Pektin esterazalar ta’sirida efir bog‘lari parchalanadi va oqibatda metanol ajralib chiqadi. Depolimerazalar, gidrolazalar poligalakturon kislotasini di- va trimer oligomerlarigacha, hatto ba’zi vaqtlarda monomerlargacha (D-galakturon kislota) parchalaydilar. Tabiiy sharoitda dekarboksillanish oqibatida poligalakturon kislota pentoza-arabanga aylanadilar. O‘simliklarda bu kislotani pektin moddalarning yo‘ldoshi ham deb yuritiladi. Pektin moddalarga, shuningdek, galaktozaning polimeri - galaktan ham kiradi. Ko‘p miqdorda pektin moddalari saqlaydigan ko‘plab o‘simliklar ma’lum: olma, uzum, olxo‘ri.

Pektinlar va ularning qisman gidrolizatlari oziq-ovqat sanoatida, jumladan, djem, pavidlo, konfet va boshqa shirinliklar tayyorlashda keng qo‘llaniladi.

*Lignin*. Qayta tiklanadigan polimerlar orasida lignin - karbon suv bo‘lmagan, yagona polimer hisoblandi. Miqdor jihatidan o‘simliklar biopolimerlari orasida lignin, sellyuloza va gemitsellyulozadan keyin uchinchi o‘rinda turadi. Yog‘ochli o‘simliklarda ligninning miqdori 15-30% ga yetadi. O‘simlikda lignin sellyuloza bilan gemitsellyulozani bog‘lab turuvchi agent rolini o‘ynaydi va o‘simlikka qattiqlik

beradi. O‘simlik polimerlari orasida lignin mikroblar ta’siriga eng chidamlidir. Kimyoviy nuqtai nazardan lignin, bir xil bo‘lmagan birikma bo‘lib, tarkibida ko‘mar spirti (asosiy komponent) sinap va koniferil spirtlarini saqlaydi. Ammo, ligninni murakkabligi har xil monomerlarni saqlashida emas, balki monomerlar orasidagi bog‘lar to‘plami bilan belgilanadi. Har xil manbalardan ajratilgan lignin metoksil guruhini saqlashi bilan farqlanadi. Masalan, bargli daraxtlarda metoksil guruhining miqdori 20-21%, nina bargli o‘simliklarda esa 16%, boshoqlilarda 1415% ni tashkil etadi. Yuqorida ta’kidlab o‘tilganidek, o‘simliklarning boshqa biopolimerlariga nisbatan lignin mikroblar ta’siriga ancha chidamli. Ligninni parchalaydigan yagona organizm – bu yuksak bazidial zamburug‘lardir. Bu mikromitsetlar ikki ekologik va fiziologik guruhga bo‘linadilar. Bir guruhga mansub zamburug‘lar qo‘ng‘ir rangli chirindi hosil qilsa, (ular sellyulozali va gemitsellyulozali komponentlarni parchalaydilar, ligninni parchalamaydilar), ikkinchisi oq rangli chirindi hosil qiladilar. Faqatgina mana shu guruhga kiruvchi mikromitsetlar o‘simlikning barcha biopolimerlarini, jumladan, ligninni ham parchalay oladilar. Ligninni ko‘proq parchalash imkoniyatiga ega bo‘lgan bazidiomitsetlar ham ajratilgan. *Pleurotus ostreatus* shular jumlasidandir. Yog‘och mahsulotlarini sanoat miqyosida qayta ishlash jarayonida (qog‘oz ishlab chiqarish, fermentativ va kislotali gidroliz, mikrokristall sellyuloza ishlab chiqarish) lignin keraksiz komponent hisoblanadi va shu sababli, uni ajaratib tashlashga to‘g‘ri keladi. Bu jarayon delignifikatsiya deb ataladi. Shu maqsad uchun yog‘och massasiga har xil kimyoviy va fizikaviy ishlov beriladi (kislotalar, ishqorlar, organik erituvchilar, bosim, bug‘, mexanik ishlov berish, maydalash).

*Fruktanlar, mannanlar va inulin*. Fruktanlar, mannanlar va inulinlar muhim biopolimerlar bo‘lib, yuqori oziqa bahosi bilan tavsiflanadi.

Fruktanlar (levanlar) – fruktozadan tashkil topgan polimerlardir. Ular o‘tli o‘simliklarning quruq massasining 14-15% ini tashkil etadi va hayvon oziqasi uchun eng muhimi hisoblanadi. Tuproqdagi bakteriyalar fruktanlarni parchalaydilar, ammo ularni parchalaydigan eng faol mikroorganizmlar - aspergillar hisoblanadi. Tabiatda fruktanlarga o‘xshash bo‘lgan polimerlarni hosil qiluvchi bakteriyalarning katta guruhi ma’lum.

Mannanlar – mannozalardan tashkil topgan polimerlardir. Ular nina bargli o‘simliklarda ko‘proq uchraydi (quruq massasidan 10-11%). Ilmiy adabiyotlarda mannanlarga o‘xshagan eruvchan polimer ajratuvchi achitqi zamburug‘lari ma’lum.

Inulin – D-fruktoza qoldiqlaridan tashkil topgan polimer, oziqa birligi bo‘yicha kraxmaldan kam emas, ovqat bilan birga tez parchalanadi. U yer noki (tapinambur) da ko‘proq uchraydi. Bakteriyalar va zamburug‘lar inulinni parchalovchi ferment sintez qiladilar. Inulin oziq-ovqat sanoatida, tibbiyotda (qand kasalligining oldini olishda) keng qo‘llanilib kelinmoqda.

*Agar* – ikki komponentdan agaroza va agarpektindan tashkil topgan. Agaroza – ketma-ket bog‘langan D-galaktoza va 3,6-angidrogalaktozadan tashkil topgan polimerdir. Agaropektin - murakkabroq tarkibga ega. Yuqorida qayd etilgan birikmalardan tashqari, unda uran kislotasi va sulfat bor. Agar katta miqdor Qizil suv o‘tlarda saqlanadi. Sanoat sharoitida agar mana shu suvo‘tlardan olinadi. Agar

ma’lum guruhga mansub bo‘lgan bakteriyalar tomonidan parchalanadi: *Cytophaga, Flavobacterium, Bacillus, Pseudomonas*. Agar oziq-ovqat va mikrobiologiya sanoatida keng ishlatiladi.

*Xitin* – N-atsetil-glyukozaminning to‘g‘ri chiziqli polimeridir. Xitinni biopolimer sifatida har xil fizik va kimyoviy ta’sirga chidamliligi N-atsetilli guruh hosil qiluvchi qo‘shimcha vodorod bog‘larining ko‘pligi bilan tushintiriladi. Xitin o‘simlik va hayvonot dunyosida struktura polimeri sifatida keng tarqalgan polimerdir. Xitin tuproqda katta miqdorda uchraydi, u ko‘pincha mitselial zamburug‘larning hujayra qobig‘ining asosiy komponentidir. Qisqichbaqasimon plaktonlar har yili o‘nlab, million tonnalab xitin ishlab chiqaradilar. Xitinni parchalovchi tuproq va suv bakteriyalari ma’lum.

Xitinning gidrolizlari uglerod va azot manbayi sifatida mikrobiologiya sanoatida keng qo‘llaniladi. Xitin parchalovchi eng faol mikroskopik zamburug‘lar *Aspergillus* – avlodiga mansubdir. Shuningdek, xitinni aktinomitsetlar ham parchalay oladilar. Bu jarayonda xitinaza va xitobiaza fermentlari ishtirok etadilar. Uzoq muddat ta’sir ettirilganda bu fermentlar xitindan monomerlar – N-atsetilglyukozaminlar, dimerlar va trimerlar hosil qiladilar.

**Nafas olish.** Hujayra metabolizmi. Metabolizmning ikki yo‘nalishi – katabolizm (parchalanish, dissimilyatsiya) va anabolizm (qurilish, yaratilishi) bir – biriga uzviy bog‘liq va qarama qarshi jarayonlar yig‘indilari hujayrada bir vaqtda, turli komponentlarda kechadi. Katabolik - reaksiyalar natijasida hujayraga kirgan yog‘, uglevod va oqsillarni gidrolitik parchalanish mahsulotlari glyukoza, yog‘ kislotalar, glitserin, aminokislotalar endi chuqur o‘zgarishlarga uchraydi, ular oksidlanish va qaytarilish, dezaminlash va dekarboksillanish reaksiyalari uchun substrat bo‘lib, birin–ketin keladigan reaksiyalar natijasida moddalar almashinuvining oxirgi mahsulotlari $CO_2$, $H_2O$, $NH_3$ va boshqa kichik molekulalarga aylanadilar. Katabolizm murakkab organik birikmalarning parchalanishida erkin energiyaning ajralib chiqishi bilan kuzatiladi. Uning ko‘p qismi katabolik yo‘nalishlarning ayrim bosqichlarida ularga ulangan fermentativ reaksiyalar vositasida energiyaga boy (makroergik) fosfat bog‘lar, asosan adenozinuchfosfat (ATF) shaklida saqlanadi. ATF hujayrada energiya almashinuvining markaziy sub’ektidir. Energiya, uning molekulasida ikkita pirofosfat (bog‘lar shaklida kichik ulushlarda saqlanadi, energiya talab qilinadigan jarayonlarda anabolik reaksiyalariga yetkaziladi va sarflanadi. Energiya saqlanishining ikkinchi muhim oqimi nikotinamidadenindi- nukleotidfosfatning oksidlangan shakli NADF ni, uning qaytarilgan shakli NADF $H_2$ ga o‘tishi bilan bog‘liq. Mana bu kofaktordagi vodorod hujayraning nafas olish jarayonida oksidlanib, ATF molekulalarining sintezlanishini ta’minlaydi.

Anabolizm jarayonlari kichik molekulalardan hujayra strukturalarini tashkil qiladigan oqsil, nuklein kislotalar va boshqa makromolekulalarning hosil bo‘lish reaksiyalari yig‘indisidir. Bu jarayonlarda molekula murakkablashadi, kattalashadi va organellalar yaratiladi. Struktura tekisligining balandroq darajaga ko‘tarilishi bilan bog‘liq bunday hodisalar energiyaning yutilishi bilan kuzatiladi. Zarur energiyani, asosan ATF yetkazib turadi. Reaksiya jarayonida u ADF va anorganik fosfatga

aylanadi. Anabolik jarayonlar uchun hujayrada substrat sifatida katabolik reaksiyalarda hosil bo‘lgan oraliq mahsulotlar-metabolitlar xizmat qiladi. Lekin tirik organizmlarni tashkil qiladigan barcha molekulalar va energiya bilan ta’min qiladigan murakkab birikmalar quyosh energiyasining yutilishi bilan kechadigan fotosintez jarayoninig mahsulotlaridir. Bu olamshumul jarayon, yer yuzida hayotning birdan-bir manbayi, hayotning paydo bo‘lishidan tortib, doimo uni substrat va energiya bilan ta’minlab turadi. Yuqorida ta’kidlab o‘tilgandek, organizmning o‘zi ham ularga metabolik jarayonlar ham quyosh energiyasining akkumulyatsiya qilinishidan kelib chiqqan va fotosintez tufayli kechib turadi. Shunday qilib, hujayra metabolizmi anabolik va katabolik jarayonlarning yig‘indisidir. Bu jarayonlarning birgalikda sodir bo‘lishi, hujayraning parchalanish va sintez qilish jarayonlarini belgilab beradi. Ammo, hujayra metabolizmini hujayrada sodir bo‘ladigan o‘zgarishlarning arifmetik yig‘indisi deb qarash kerak emas. Zamonaviy nuqtai nazardan, metabolizm bu genetik belgilangan ketma-ket kechadigan jarayonlarning yig‘indisi bo‘lib, unda bir vaqtda o‘tadigan reaksiyalarning soni, xilma-xilligi va ko‘p sonliligi va yuqori tezligi, energiya to‘planishining mexanizmi va jarayonlarini boshqarish bo‘yicha o‘xshashi yo‘qdir. Metabolik jarayonlarning o‘ziga xos bo‘lgan belgisi, tashqi energiya to‘planishining o‘zgacha shakldaligi va uglerodli birikmalarning aylanishidan hosil bo‘lgan energiya hisobidan, hujayra strukturalarini, makromolekulalarni alohida to‘plamlarining hosil bo‘lishi hisoblanadi. Mana shu o‘xshashi yo‘q sifatlar uchun ham, hujayra potensialini zamonaviy biotexnologiya sifatida amaliyotda foydalanish eng muhim vazifalardan hisoblanadi va undan keng miqyosda foydalanilganda, eng yuqori maqsadlarga muvofiq bo‘lgan texnologiyalar yaratish imkoniyati mavjud bo‘lar edi. Aerob sharoitda hujayralar energiyani asosan nafas olish orqali oladilar. Nafas olishni hayotiy jarayonlarning eng muhimlaridan biri sifatida qarash mumkin. Uni ba’zan gaz almashinuv jarayoni deb ham aytiladi, chunki bunda to‘qimalar va alohida organlar kislorod yutib, uglerod dioksidi chiqaradilar. Keng ma’noda, nafas olish deganda modda almashinuvi natijasida sintez uchun zarur bo‘lgan kimyoviy energiyaning to‘planishi bilan bog‘liq bo‘ladigan har qanday katabolik ekzotermik jarayon tushiniladi. Shunday qilib, nafas olish jarayoni o‘ziga xos va ma’lum ma’noda boshqarilib turiladigan, ko‘p bosqichli oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarining ketma-ketligi bo‘lib, u anaerob va aerob o‘zgarishlarning fazalari bilan tavsiflanadi. Aerob fazaning an’anaviy yo‘li – glikoliz-bijg‘ishni asosi hisoblanadi. Uning kimyoviy tomonlari ushbu kitobning bijg‘ishga bag‘ishlangan qismida keltirilgan. Quyida katabolizmning to‘g‘ridan-to‘g‘ri aerob nafas olish bosqichi uchun xarakterli bo‘lgan asosiy prinsiplarini o‘rganishga harakat qilamiz. Odatda uni hujayraning nafas olishi deyiladi. Nafas olish jarayonida elektronlar organik moddalardan molekulyar kislorodga ko‘chib o‘tadilar. Bu holatda organik birikmalar hujayra yoqilg‘isi vazifasini o‘taydi. Agar aerob nafas olishni bijg‘ish bilan taqqoslaydigan bo‘lsak, har ikkala jarayonda ham bitta birikmadan, ya’ni glyukozadan har xil moddalar hosil bo‘lishini kuzatamiz.

Nafas olish jarayoni murakkabroq va ko‘p bosqichlidir. Nafas olishda bijg‘ishga nisbatan substrat chuqurroq oksidlanadi va o‘zgaradi. Bu eng muhim biologik jarayonlarning bir–birlaridan farqini bilish uchun bakteriyalar yordamida

kechadigan sut kislotali bijg‘ish (achish) jarayoni shu substratning (glyukozani) aerob sharoitda oksidlanish energetikasini (ozod energiyaning o‘zgarishini) taqqoslab chiqish kifoya:

Bijg‘ish: Glyukoza ⟶ 2laktat (-47 kkal)

Nafas olish: Glyukoza + $6O_2$ ⟶ $6CO_2$ + $6H_2O$ (-686kkal)

Ko‘rinib turibdiki, nafas olish, bijg‘ishga nisbatan afzalroq jarayon. Aerob sharoitida glyukozadagi barcha uglerod atomlari uglerod dioksidi hosil bo‘lishiga qatnashadilar. Ushbu nafas olish jarayonida glyukoza molekulasi ichki bog‘larining energiyasi maksimal darajada ajralib chiqadi deganidir. Glyukozaning anaerob sharoitda o‘zgarishida esa, har qanday tipdagi bijg‘ish jarayoni bo‘lmasin, baribir oxirgi mahsulot sifatida etanol, propanol, butanol, propionat, suksinat, laktat yoki glyukozaning to‘liq oksidlanmagan, qandaydir mahsuloti paydo bo‘ladi. Bu birikmalarning har qaysining ichki molekulyar energiyasi $CO_2$ nikiga nisbatan juda ham baland bo‘ladi. Yuqorida keltirib o‘tilgan moddalarda uglerod va vodorodning o‘zaro nisbati xuddi glyukozadagidek ekanligi ham mana shuni ko‘rsatadi. Shunday qilib, biokimyo nuqtai nazaridan har qanday tipdagi bijg‘ishni energetik to‘liq amalga oshmagan jarayon sifatda qarash mumkin. Bu holat aerob va anaerob jarayonlar orasidagi energetik disbalansning yagona sababi emas. Ma’lumki, elektronlarni molekulyar kislorodga ko‘chirib o‘tkazishda, organik akseptorlarga o‘tkazishga nisbatan ko‘proq energiya ajraladi. Anaerob oksidlanishda molekulyar kislorod ishtirok etmasligini hisobga olinsa, elektronlar akseptorlari bo‘lib, faqat organik birikmalar xizmat qilishi aniq bo‘ladi. Anaerob o‘zgarishlar natijasida hosil bo‘lgan atsetil guruhlar katabolizmning atamal bosqichiga kiradi. Oksidlanishning bu bosqichi uchkarbon kislotalari halqasi, limon kislotasi halqasi yoki Krebs halqasi deb ataladi. Bunda ishtirok etadigan organik birikmalarning oksidlanishi tugaydi: atsetil guruhlar uglerod dioksidi va vodorodga parchalanadi.

*Uch karbon kislotalar halqasi (Krebs halqasi).* Glyukozaning parchalanishidan hosil bo‘lgan pirouzum kislotasi aerob sharoitda $CO_2$ va $H_2O$ oksidlanishi tufayli hujayra metabolizmida markaziy o‘rinni egallaydi hamda bu holat biokimyoda hujayraning nafas olishi deb yuritiladi. Bu jarayonda piruvatdan tashqari yog‘ kislotalari va qator aminokislotalar ham to‘la oksidlanadilar. Bu jarayon uch bosqichga bo‘linadi:

Birinchi bosqichda - hujayrada yoqilg‘i rolini o‘ynaydigan organik birikmalar, ya’ni uglevodlar, yog‘lar va aminokislotalar atsetil-ko A tarkibiga kiradigan ikki uglerodli fragment – atsetil-$CH_3CO$ gacha oksidlanadilar.

Ikkinchi bosqichda - atsetil guruhlar limon kislota halqasiga kiradi va parchalanib, yuksak energiyali vodorod atomlari va organik yoqilg‘ining oxirgi mahsuloti bo‘lgan $CO_2$ ni hosil qiladi.

Uchinchi bosqichda - vodorod atomlari protonlar va elektronlarga ajraladilar. So‘ngra energiyaga boy bo‘lgan elektronlar mitoxondriyalarning ichki membranalarida joylashgan elektron tashuvchilar yoki nafas zanjiri orqali molekulyar kislorodga uzatiladi va $H_2O$ hosil qilib, qaytariladi.

Elektron tashilish oksidlanuvchi fosforlanish deb ataladigan jarayonda energiyaga juda ham boy bo‘lgan ATF molekulalarining to‘planishi bilan birga

o‘tadi. Yuqorida ta’kidlanganidek, glyukoza molekulasi to‘la oksidlanib $CO_2$ va $H_2O$ ga aylanganda, glikolizga qaraganda ancha ko‘p energiya ajraladi ($\Delta G^o$= -686 kkal/mol, glikolizda esa bor-yo‘g‘i $\Delta G^o$= - 47 kkal/mol).

Hujayrada $CO_2$ va $H_2O$ gacha oksidlanadigan yoqilg‘i Krebs halqasiga asosan atsetil-KoA shakliga kiradi. Pirouzum kislota ham, avvalo, oksidlanish va dekarboksillanish reaksiyalari orqali atsetil-KoA ga o‘tadi. Bu murakkab reaksiya, eukariotik hujayra mitoxondriyalarida joylashgan piruvat degidrogenaza kompleksi deb atalgan multienzim tizim tomonidan katalizlanadi.

$$\text{Piruvat} + NAD^+ + KoA - SH$$
$$\text{Atsetil} - KoA + NADN + CO_2$$
$$\Delta G^o = -8{,}0 \text{ kkal/mol.}$$

Oksidlanish bilan boradigan dekarboksillanish deb ataladigan bu reaksiyada piruvat degidratlanib, undan $CO_2$ ajraladi, uning atsil guruhi KoA ga ulanadi. Piruvatdan ajralgan vodorod atomlaridan biri NADH tarkibida, ikkinchisi $N^+$ shaklida topiladi. Piruvatning birga mujassamlangan oksidlanish va dekarboksillanishi jarayonida uch xil fermentlar:

- piruvatdegidrogenaza ($E_1$),
- degidrolipoil-atsetiltransferaza ($E_2$)
- degidrolipoil-degidrogenaza ($E_3$),

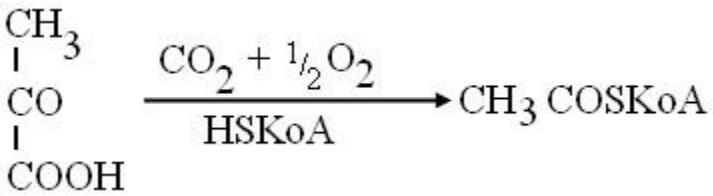
beshta kofermentlar yoki prostetik guruhlar:

- tiamin pirofosfat (TFF),
- flavinadenindinukleotid (FAD),
- koferment A (KoA),
- nikotinamid-adenindinukleotid ($NAD^+$)
- lipoat kislota qatnashadi.

Bu ferment va kofermentlar yig‘indisidan tashkil topgan multiferment tizimni Lester Rid hamda uning shogirdlari ajratib olib, mukammal o‘rgangan. Organizm muhtoj bo‘lgan vitaminlardan to‘rttasi – tiamin (TFFZ da), riboflavin (FAD da), pantoten kislotasi (KoA da) va nikotinamid ($NAD^+$ da) aynan shu tizimning majburiy, tarkibiy qismidir. Yana bu tizimga lipoat kislota kiradi. *E.coli* dan ajratib olingan bu yirik multiferment tizimning molekulyar massasi $6x10^6$ dan ortiqdir. Limon kislota halqasi yopiq xalqali rejimda kechadigan jarayondir. Halqa ikki uglerod atomi atsetil-KoA ning to‘rt uglerodli oksalatsetat bilan birikib, olti uglerodli birikma – sitrat hosil qilishidan boshlanadi.

Xalqada kechadigan qator bosqichlarda yana olti uglerodli izotsitrat, uning degidroblanishidan va dekarboksillanishidan besh uglerodli α-ketoglutarat, undan to‘rt uglerodli suksinat hosil bo‘ladi. Suksinatning uch bosqichda o‘tadigan almashinuv reaksiyalari natijasida halqaning boshidagi to‘rt uglerodli oksalatsetat qaytadan hosil bo‘ladi. Demak, halqaning bir aylanishida unga atsetil–KoA shaklida kirgan ikkita uglerod, ikkita $CO_2$ shaklida ajralib chiqadi. Ikki uglerodli atsil guruhi $CO_2$ gacha parchalanishi olti uglerodli sitrat kislota orqali o‘tishi taajublidir. U ortiqcha, murakkab bo‘lib, tirik hujayraning biokimyoviy holatiga to‘g‘ri kelmaydigan ko‘rinishda bo‘lishi mumkin. Lekin bu halqaning kashf etilishi va uning hujayra metabolizmining turli tarmoqlari bilan bog‘lanishini har tomonlama

o‘rganish bu yo‘lning o‘ta samarali hamda yagona to‘g‘ri yo‘l ekanligini ko‘rsatdi. Hujayra metabolizmida bunday xalqaning mavjud ekanligini birinchi marta 1937-yilda Gans Krebs tomonidan faraz qilingan. Bunday g‘oya piruvatning oksidlanishiga turli organik kislotalar ta’sirini o‘rganish jarayonida tug‘ilgan edi. Krebs tadqiqotlaridan biroz oldinroq, Vengriyada Albert Ssent Dcherdi kabutarning ko‘krak muskullari qiymasidan tayyorlagan ekstraktlarda to‘rt uglerodli dikarbon kislotalarining oksidlanishini tekshirish davomida muhim natijalar olgan edi. Qushlarni ko‘krak muskullari juda ham tez nafas olishlari sababli, to‘qimaning oksidlanishi faolligini o‘rganish uchun qulay manba bo‘lib chiqadi. Sent Dcherdi o‘z tajribalarida kabutarni ko‘krak muskullari to‘qimalarida vaqt o‘tishi bilan kislorodning yutilishi sekin–asta pasayib borishini kuzatgan edi. Agar shu tizimga kam miqdorda quyidagi to‘rtta dikarbon kislota: suksinat, fumarat, olma va oksalatsetatdan biri qo‘shilsa, nafas olish tezligi dastlabki ko‘rsatkichga ko‘tarilganligi kuzatilgan. Muskullarda bu kislotalarni degidratlaydigan fermentlarning borligi, bulardan eng muhimi suksinatdegidrogenazaning sitoxrom tizimga bog‘liqligi Tenberg va Keylinning ilmiy ishlaridan ham ma’lum edi. Ssent-Dcherli tajribalari mana shu fermentlar muskul to‘qimasining aerob oksidlanishiga katalitik ta’sir ko‘rsatishini aniqladi. Aerob oksidlanish yo‘lini aniqlashda hal qiluvchi kashfiyot Krebs tadqiqotlariga bog‘liq. U sitrat kislota va α-ketoglutrat kislota ham qiymalangan muskullarga katalitik ta’sir ko‘rsatishini aniqladi. Bu tajribalar asosida Krebs 6 va 5 uglerodli komponentlar ham bu jarayonda ishtirok etishini va oksidlanish yo‘lida dastlabki qadam pirouzum kislota (uch uglerodli) ning oksalatsetat kislota (to‘rt uglerodli) bilan birikib, 7 uglerodli komponent hosil qilishidan iborat degan fikrga keldi. Bu oraliq modda so‘ngra sitrat kislota, α-ketaglutarat kislota va turli (to‘rt uglerodli) karbon kislotalarga aylanadi. Haqiqatdan ham Krebs pirouzum kislota va oksalatsetat kislota qiymalangan muskul bilan inkubatsiya qilinganda sitrat kislota ajratib olinishi mumkinligini ko‘rsatdi. Ammo gipotetik (etti uglerodli) komponent hosil bo‘lishi aniqlanmaydi. Lipmanning tadqiqotlaridan pirouzum kislota (uch uglerodli) avval oksidlovchi dekarboksillanish yo‘li bilan atsetil koenzim A ga aylanishi ma’lum bo‘ldi:



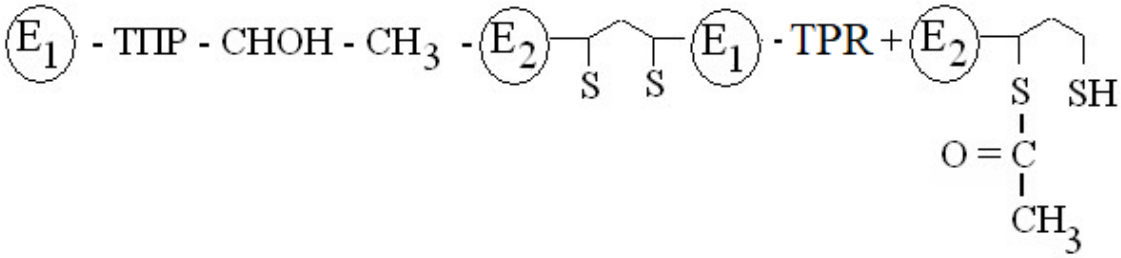

Hosil bo‘lgan faol atsetat endi oksalatsetat bilan qo‘shilib olti uglerodli komponent (sitrat kislota) hosil qiladi. Krebs halqasi, sitrat kislotasi halqasi, ko‘proq uch karbonli kislotalar halqasi deb yuritiladi va u pirouzum kislotaning oksidlanish jarayoni birin-ketin keladigan qator reaksiyalardan iboratdir. Halqa boshlanishidan avval pirouzum kislota parchalanib, faol atsetatga aylanadi. Pirouzum kislotaning oksidlanishi bir nechta enzimatik bosqichlardan iborat murakkab jarayon bo‘lib, hayvon hujayralari va mikroorganizmlarda NAD, tiaminpirofosfat (TPR), lipoat kislotaning amidi va koenzim A (KoA) ishtirokida o‘tadi. Reaksiya quyidagi umumiy tenglama bilan ifodalanadi:

$$CH_3COCOOH + NAD + HSKoA \longrightarrow CH_3CO \sim SKoA + CO_2 + NADH + H^+$$

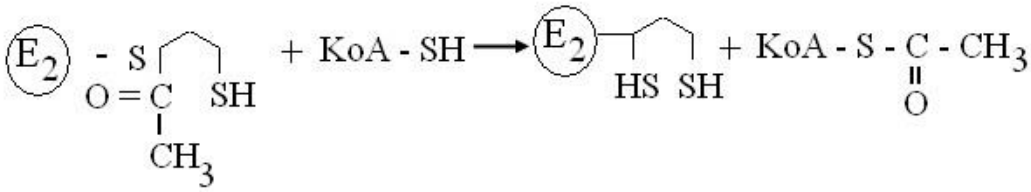
Hosil bo‘lgan atsetil-KoA makroergik birikma bo‘lib, uning tarkibida atsil qoldig‘i (atsetil) koenzim A, H guruhidagi vodorodning o‘rniga kirgan. Atsetil koenzim A energiyaga boy $-\overset{\overset{O}{\|}}{C}\sim S-H$ bog‘ga ega bo‘lganligidan, u atsetat kislotaning faollangan shakli sifatida turli sintetik reaksiyalar uchun osonlik bilan iste’mol qilinadi. Yuqorida keltirilgan pirouzum kislotaning oksidlanishi – piruvatdegidrogenaza deb ataladigan fermentlar kompleksi bilan amalga oshiriladi. Reaksiyaning birinchi bosqichida piruvat piruvatdegidrogenazaga bog‘langan tiaminpirofosfat (E1) bilan reaksiyaga kirishib, dekarboksillanadi. Reaksiya natijasida tiozol xalqasidagi gidroksietil unumi hosil bo‘ladi:

$$CH_3 - C - COOH + H^+ + E_1 + TPR \longrightarrow E_1 - COOH - CH_3$$

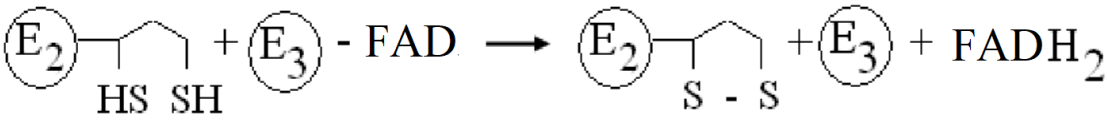
Ikkinchi bosqichda, gidrooksietilpirofosfatdan vodorod va atsetil gruppa kompleksining markaziy fermenti degidrolipoilatsetattransferaza fermentining ($E_2$) lipoillizilli prostetik gruppasining oksidlangan shakliga qaytariladi. Natijada lipoamidning disulfid bog‘i uziladi va u degidradlanish natijasida hosil bo‘lgan atsetat qoldig‘i bilan qo‘shiladi:



Uchinchi bosqichda atsetil qoldig‘i koenzim A ga ko‘chirilib, lipoil gruppaning to‘liq qaytarilgan shakliga tiklanadi:

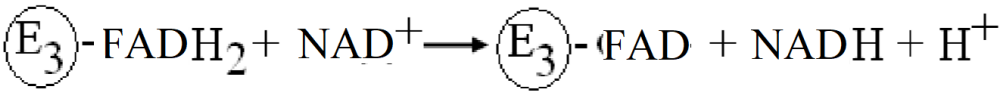


To‘rtinchi bosqichda, degidrolipoilatsetiltranferazaning qaytarilgan shakli vodorod atomlarini shu ferment sistemasining o‘zida FAD ga uzatib, oksidlangan shakliga qaytadi:



Bu reaksiyaning prostetik gruppasi flavinadenindinukleotid (FAD) bo‘lgan – lipoamiddegidrogenaza fermenti kataliz qiladi.

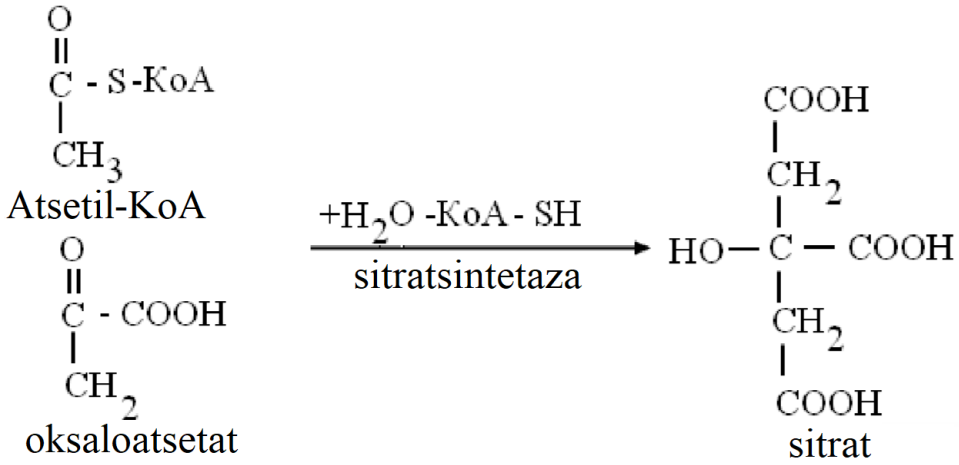
Beshinchi bosqichda degidrolipoildegidrogenazaning qaytarilgan FAD gruppasi vodorodni $NAD^+$ ga uzatib NADN ni hosil qiladi:



Bu reaksiyalarning balans tenglamalariga lipoamid kirmaydi, u reaksiya davomida vaqtincha qaytarilib, so‘ngra avvalgi oksidlangan shakliga qaytadi. Pirouzum kislotasini oksidlovchi dekarboksillanishi natijasida qaytarilgan NAD uglerod (IV)-oksid va atsetil KoA hosil bo‘ladi.

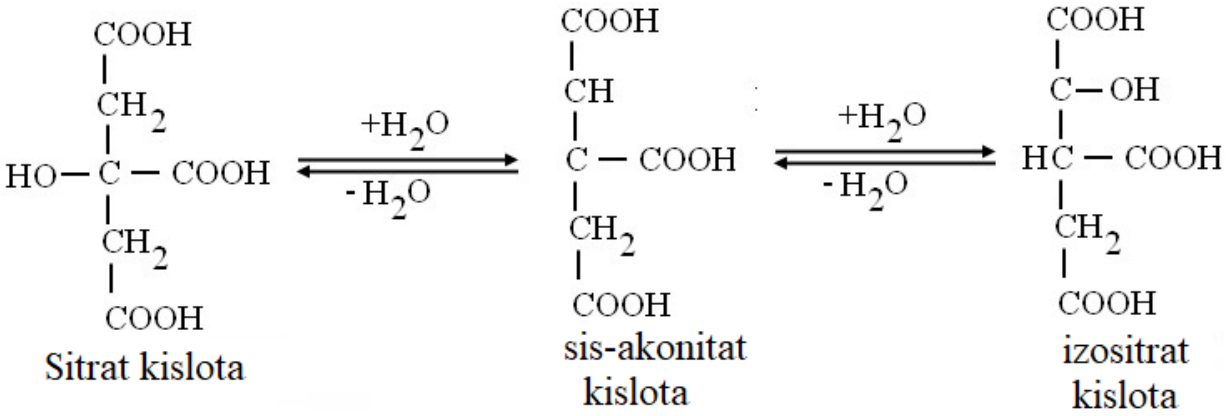
Krebs halqasi reaksiyalari - quyidagi sakkiz bosqichli reaksiyalardan iborat:

Birinchi bosqichda – oksalatsetat kislota bilan atsetil koenzim A birlashib, sitrat kislota hosil bo‘ladi. Bu reaksiya sitratsintetaza fermenti ishtirokida amalga oshadi.

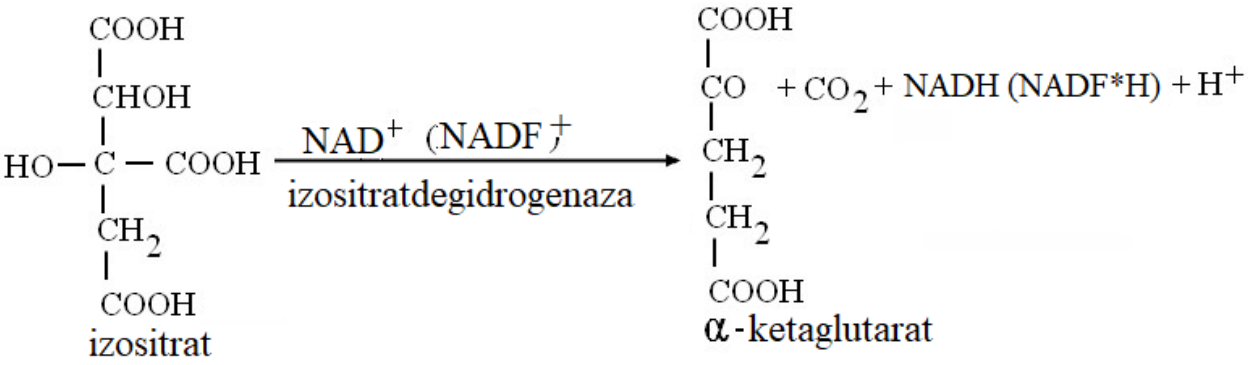



Bu reaksiya oksalatsetat va faol atsetatdan boshlanadigan bir qator bosqichlar orqali o‘tib, qaytadan oksalatsetat hosil bo‘lishi bilan tugaydi. Atsetat esa xalqada dekarboksillanadi va oksidlanib, to‘liq parchalanadi.

Ikkinchi bosqichda - sitrat kislotaning sis-akonitat kislota orqali izomerlanib izotsitrat kislotaga aylanishi okanitatgidrotaza fermenti tomonidan katalizlanadi:



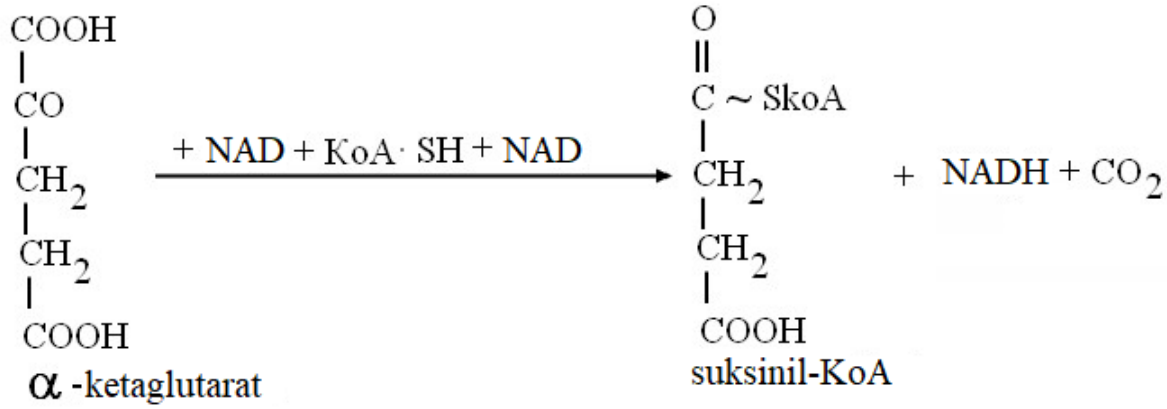

Uchinchi bosqichda – izotsitrat izotsitratdegidrogenaza fermenti ta’sirida □-ketoglutarat va $CO_2$ hosil qilib parchalanadi. Izotsitratdegidrogenazaning ikki xil tipi mavjud, biri akseptor sifatida $NAD^+$ ni, ikkinchisi $NADF^+$ ni ist’emol qiladi. Ammo har ikki ferment ishtirokida ham reaksiya bir xil boradi.



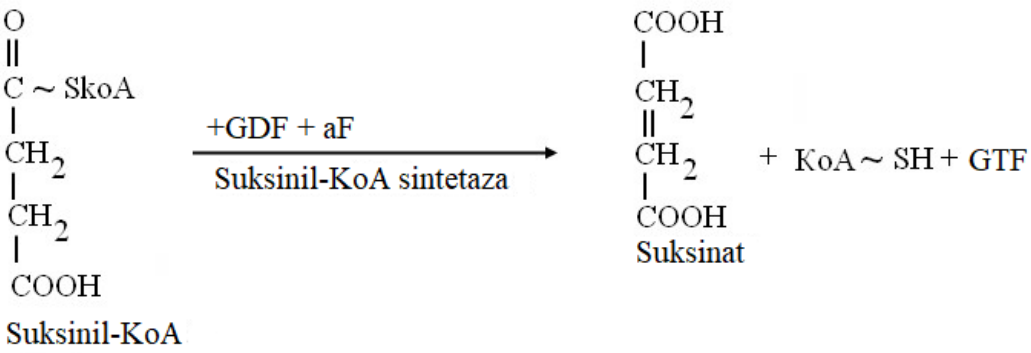

Hosil bo‘lgan α-ketoglutarat kislota, xuddi pirouzum kislotaga o‘xshash oksidlovchi, dekarboksillanish yo‘li bilan parchalanadi. Bu bosqich ham murakkab bo‘lib, α-ketaglutaratdegidrogenaza fermenti tomonidan $NAD^+$, FAD, TPF, KoA va lipoamid ishtirokida bajariladi. Ferment arsenit ta’sirida ingibirlanadi. Reaksiya quyidagi tarzda ifodalanadi:

α-ketaglutarat+$NAD^+$+KoA = suksinil–KoA+CO2+NADH

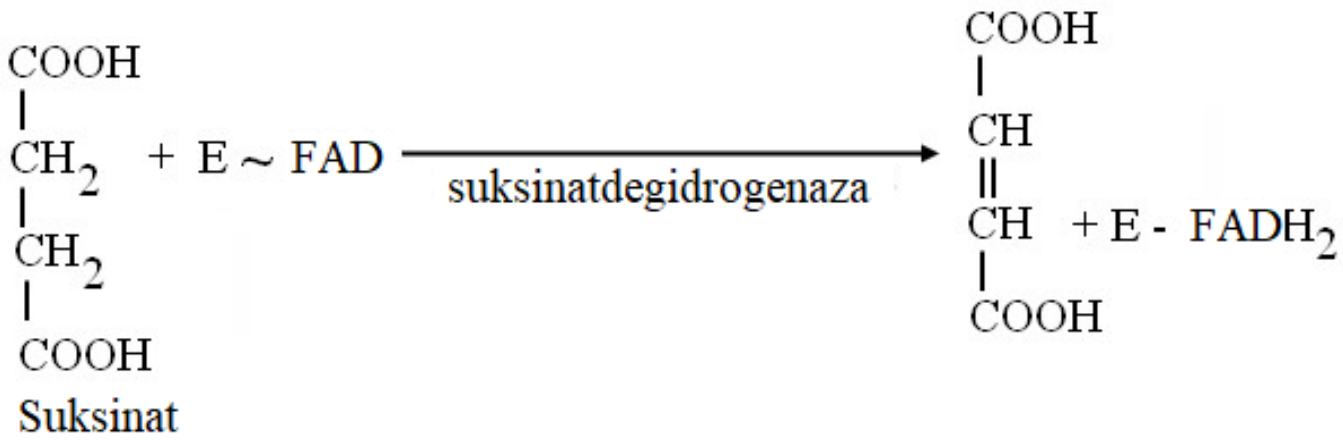
Reaksiya mexanizmi xuddi piruvatning oksidlanish mexanizmiga o‘xshab ketadi, bu reaksiyada atsetil koenzim A o‘rniga, shunga o‘xshagan mikroergik bog‘ga ega bo‘lgan suksinat (yantar, qahrabo) kislotaning hosilasi suksinil koenzim A hosil bo‘ladi:




Suksinil–KoA dagi energiyaga boy bog‘ anorganik fosfatli makroergik fosfat bog‘i shaklida biriktirish uchun sarf bo‘ladi bu reaksiya guanazindifosfat (GDF) maxsus ferment tomonidan katalizlanadi va oqibatda guanazintrifosfat (GTF) hosil bo‘ladi:



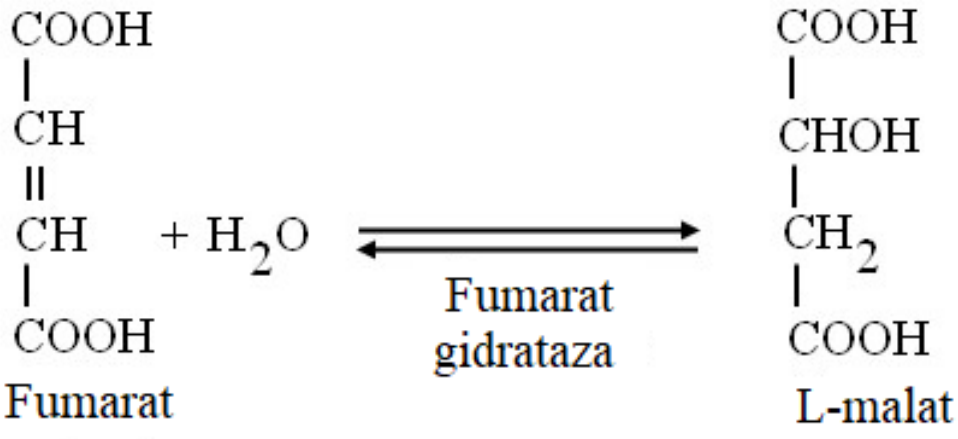
Suksinat kislota suksinatdegidrogenaza fermenti ta’sirida degidridlanib fumarat kislotaga aylanadi:




Suksinat

Suksinat degidrogenaza fermenti mitoxondriyaning suvda erimaydigan strukturalarida lokalizatsiya qilingan, shuning uchun ham uni toza holda ajratish ancha qiyin kechib, yaqindagina amalga oshirildi. Suksinatdegidrogenaza boshqa degidrogenazalardan farqli ravishda substratdan ajralgan vodorodni kofermentlar orqali emas, balki to‘g‘ridan to‘g‘ri ko‘chira oladi. Ferment o‘zaro kovalent bog‘langan flovinadenindinukleotidni saqlaydi. Bu prostetik gruppa qaytarilish qobiliyatlariga ega, vodorod akseptori vazifasini bajaradi. Bu ferment mitoxondriyalarda degidridlanish jarayonida paydo bo‘lgan vodorodni oksidlovchi enzim sistemasi bilan bog‘liq. Mitoxondriya parchalaridan iborat bo‘lgan barcha enzim sistemasi suksinatoksidaza deb yuritiladi.

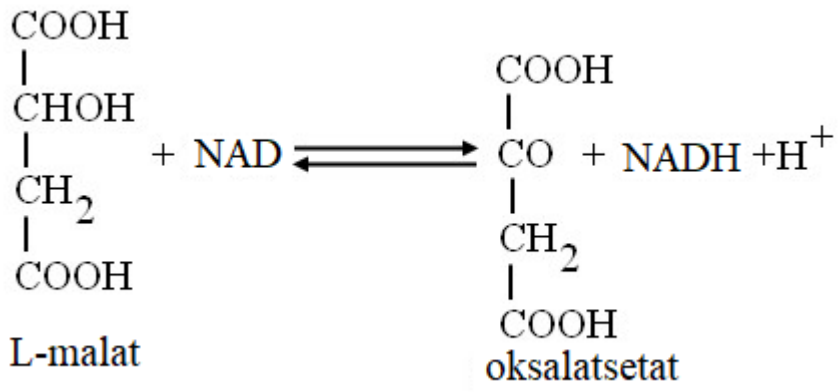
Suksinatning degidridlanishidan kelib chiqqan fumarat suv biriktirishi natijasida olma kislotaga (malat) aylanadi. Bu qaytalama reaksiyani fumarat degidrogenaza fermenti kataliz qiladi.




Fumarat L-malat

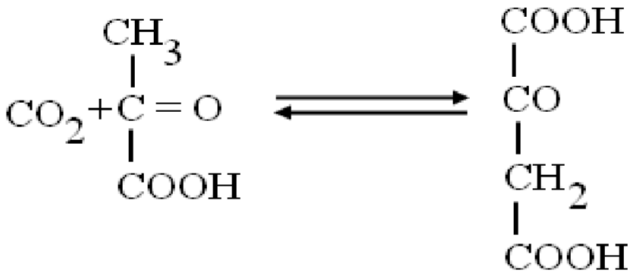
Olma kislota malatdegidrogenaza fermenti ta’sirida degidratlanib, halqaning boshlanishidagi ishtirokchisi oksalatsetat kislotaga aylanadi va shuning bilan xalqa (halqa) yopiladi.

Bu reaksiya NAD ta’sirida boradi:




Shunday qilib, ozgina oksalatsetat kislota mavjud bo‘lganda halqaning har bir aylanishida bir molekula pirouzum kislota parchalanib, $CO_2$ va $H_2O$ ga aylanadi va reksiyaning boshlanishida qatnashadigan oksilatsetat yangidan tiklanib turadi.

Oksilatsetat kislota ancha beqaror bo‘lib, tiamin pirofosfat ishtirokida faol β-dekarboksilaza fermenti ta’sirida osonlik bilan dekarboksillanadi va pirouzum kislotaga aylanadi. Oksilatsetatning piruvat hosil qilib, parchalanishi erkin $CO_2$ ning ketakislotalarga birikish reaksiyasining teskarisidir:

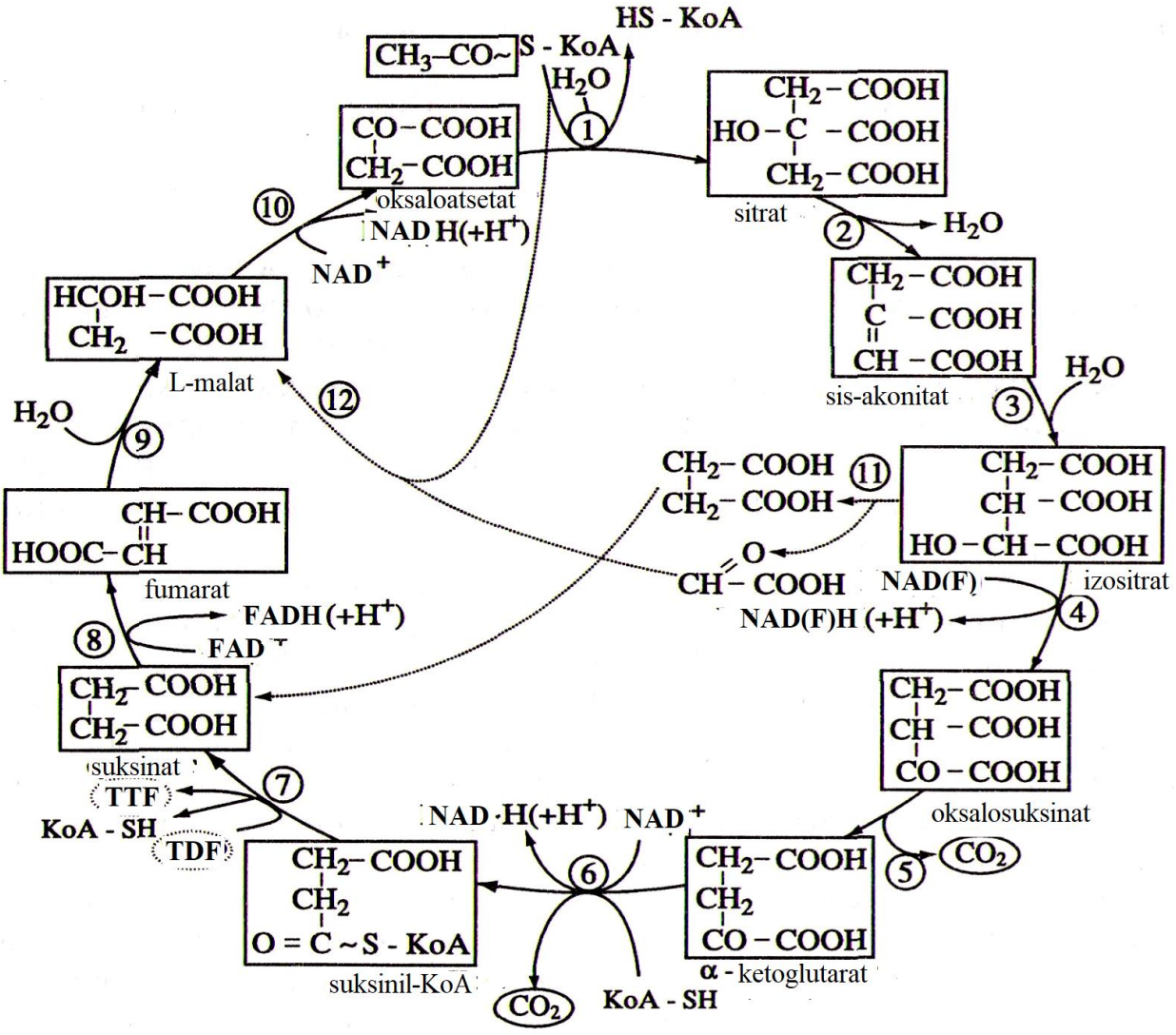



Bu reaksiya eng avvalo mikroorganizmlarda Vud va Verxman tomonidan topilgan. Shuning uchun ham shu olimlar tomonidan yuritiladi va keyinchalik, bu reaksiya o‘simlik va hayvonlar to‘qimalariga ham xos ekanligi aniqlangan. Ammo, fiziologik sharoitda oksalatsetat kislota kam konsentratsiyada va doimo aylanishda bo‘lganidan uning pirouzum kislota hosil qilib, parchalanishi ham unchalik muhim ahamiyat kasb etmaydi. β-dekarboksilaza fermenti jigar to‘qimalarida topilgan, ammo muskullarda hozircha topilgani yo‘q.

Krebs halqasi hujayra metabolizmining markazida bo‘lib, uning ayrim komponentlari yog‘ kislotlar va ayrim aminokislotalarning almashinuviga bog‘liq. Masalan, uglevod almashinuvining ayrim mahsuloti – pirouzum kislota, alanin va oksalatsetat kislotalar bilan qaytalama bog‘liqdir. Uning oksidlanuvchi dekarboksillanish mahsuloti – faol atsetat kislota va yog‘ kislotalarining parchalanishidan ham hosil bo‘ladi. Shuningdek, oksalatsetat kislota aspartat kislotaning, β-ketaglutarat kislota esa glutamat kislotaning dezaminlanish mahsuloti bo‘lib, ular bir-biriga o‘ta oladilar. Mana shu yo‘l bilan uch karbon kislotalar halqasi orqali hujayrada asosiy birikmalar sinfining almashinuvi bir butun bog‘langan to‘rga aylanadi va integratsiya qilinadi. Uch karbon kislotalar halqasining bir aylanishida bitta atsetil radikal oksidlanib, 2 molekula $CO_2$ ajraladi. Oraliq mahsulotlar oksidlanganda 2NAD, 1NADF va suksinat degidrogenazaning flavini qaytariladi. $CO_2$ molekulalari izotsitrat kislota va β-ketoglutarat kislota oksidlanish yo‘li bilan

dekarboksillanganda va olma kislotasi oksidlanganda, $NADFH_2$ esa izotsitrat kislota oksidlanganda hosil bo‘ladi. Qaytarilgan koenzimlar va flavin oksidlanganda ajraladigan deyarli barcha energiyani saqlaydi va kelgusida hujayraning nafas olishi jarayonida molekulyar kislorod bilan birikib, ko‘p miqdorda makroergik fosfat bog‘larni hosil qiladi.

Shuni ham alohida ta’kidlash lozimki, halqadagi barcha reaksiyalar bir yo‘nalishda va bir-birlari bilan kelishilgan holda kechadi. Shunday reaksiyalardan biri – atsetil – KoA va oksalatsetatdan sitratni sintez bo‘lishi, ikkinchisi – izotsitratni dekarboksillanib, α-ketoglutaratga aylanishi, uchinchisi - α-ketaglutaratdan suksinil-KoA ning hosil bo‘lishidir.




**69-rasm**. Krebs halqasi (bunda, halqalarda ishtirok etuvchi fermentlar: 1-sitratsintetaza; 2-va 3-akonitaza; 4-va 5-izotsitratdegidrogenaza; 6-α-ketoglutarat suksinaza; 7-suksinil-KoA-sintetaza; 8-suksinatdegidrogenaza; 9-fumaraza; 10malatdegidrogenaza; 11-izotsitratliaza; 12-malatsintaza).

Bu reaksiyalarning majmuasi halqani bir yo‘nalishda ishlashiga olib keladi. Bu fenomen, hattoki, malatdegidrogenaza fermenti kataliz qiluvchi reaksiyaning tengligi teskari tomonga siljiganda ham, o‘zgarmaydi. Butun halqa reaksiyalarini

ozod energiyaninng umumiy kattaligining o‘zgarishi salbiyligi reaksiyalarni faqat bir tomonga yo‘nalishini belgilab beradi. Krebs halqasi bilan bir vaqtda ta’sir etib turuvchi glioksilat halqasi anaplerotik vazifasini bajaradi. Krebs halqasidan farqli o‘laroq (ma’lumki, unda sirka kislotasini oksidlanishi sodir bo‘ladi), glioksilat halqasida sirka kislota sintezga ketadi. Bu halqaning faoliyat ko‘rsatishi uchun ikki ferment: izotsitratliaza – izolimon kislotasini yantar va gloksil kislotalariga parchalab beruvchi ferment, va malatsintetaza-glioksil kislotasini atsetil KoA ga qo‘shilib, olma kislotasini sintez qilish reaksiyasini kataliz qiluvchi ferment.

Glioksilat halqasining har bir aylanishida halqaga ikki molekula atsetil KoA qo‘shiladi. Chizmada ko‘rsatilgan reaksiyalarning umumiy natijasi, mana shu ikki molekula atsetatni shavel sirka kislotasiga aylantirib berishdan iboratdir. Shuning bilan bir vaqtda bir molekula yantar kislotasi ham hosil bo‘ladi. Bu kislota biosintez uchun sarflanadi, vodorod atomining bir jufti olma kislotasidan nafas olish zanjiri orqali kislorodga ko‘chib o‘tadi. Bu esa ADF ni oksidlanib fosforillanishi tomonidan boshqarilib turiladi. Shunday qilib, glioksilat halqasi biosintezning har xil jarayonlariga ham energiya ham to‘rt uglerodli oraliq mahsulotlari yetkazib berib turadi.

*Krebs halqasi fermentlar faolligini boshqarish*. Uchkarbon kislotalari halqasining hujayra faoliyatidan markaziy, mujassamlovchi mexanizm ekanligi va uning biosintez mexanizmlaridagi roli, bu halqada ishtirok etuvchi fermentlarni boshqarishni biokimyoviy mexanizmlariga alohida e’tibor bilan qarashga majbur etadi. Bu mexanizmlar faqatgina halqadagi reaksiyalarni emas, balki modda almashinuvining keng davrali bo‘limlarini, ya’ni nafas olish zanjiri, tutash energiyalar tizimi biosintetik reaksiyalarni ham qamrab oladi. Muammoning murakkabligi, fermentlarni faolligina emas, balki, ularni biosintez bo‘lish mexanizmlariga ta’siri borligi bilan ham yanada chuqurlashib boradi. Halqaga atsetil-KoA ni kirituvchi birinchi reaksiya piruvatni oksidlanib, dekarboksillanishi hisoblanadi va bu reaksiya piruvatdegidrogenaza kompleksi ishtirokida katalizlanadi.

Bu fermentning faolligini boshqarish katta ahamiyatga ega, chunki u piruvatni almashinuvining yo‘nalishini belgilaydi. Ferment o‘z reaksiyasining metabolitlari - $NADH^+$ va atsetil–KoA bilan faollanishi yoki raqobatli susayishi (ingibirlanishi) mumkin. Masalan, $NADH/NAD^+$ nisbatini 1 dan 3 gacha ko‘payishi 90% gacha reaksiya tezligining pasayishiga va (atsetil-KoA) / KoA nisbatining ko‘payishiga olib keladi. Boshqacha qilib aytganda, agar atsetil-KoA va NADH miqdori ko‘proq bo‘lsa, ularni piruvatdegidrogenaza fermenti yordamida hosil bo‘lishi to‘xtashi va buni teskarisi KoA va NAD miqdori yuqori bo‘lganda, ferment faol ishlab, atsetil-KoA va NADH sintezi tezlashishi lozim. Yog‘ kislotalarini oksidlanishi sodir bo‘layotganda, piruvatdegidrogenaza sezilarli darajada ingibirlanadi. Bu hodisa oksidlanish jarayoniga hamrohlik qiladigan ATF, atsetil-KoA va NADH miqdorini balandligi bilan tushintiriladi. Piruvat faqatgina piruvatdekarboksilaza kompleksi fermentlari uchun substrat bo‘lib qolmasdan, u boshqa muhim reaksiyani olib boruvchi ferment piruvatkarboksilaza uchun ham substratdir. Ma’lumki, bu ferment pirouzum kislotasini ATF ishtirokida karboksillab, shavel sirka kislotasini hosil qiladi va uni halqaga yetkazib beradi. Achitqi zamburug‘larining piruvatkarboksilazasi

uchun asosiy boshqaruvchilar bo‘lib, fosforillanish darajasi, atsetil-KoA va aspartat hisoblanadi. Atsetil-KoA shuningdek, biotin saqlovchi ferment bilan $CO_2$ kompleksini hosil bo‘lishida ishtirok etib, piruvatkarboksilaza fermentini faolligini oshiradi va reaksiya mahsuloti sifatida piruvatdekarboksilaza fermenti faolligini pasaytiradi. Piruvatkarboksilaza fermenti uchun spetsifik ingibitor bo‘lib, Lasparagin kislotasi hisoblanadi. Bu kislota shavel sirka kislotasini pereaminlanishi natijasida hosil bo‘ladi. Krebs xalqasining birinchi reaksiyasi atsetil-KoA ni shavel sirka kislotasi bilan kondensatsiyasi hisoblanadi va u sitratsintetaza fermenti bilan katalizlanadi. Mana shu sitratsintetaza fermentining faolligi halqaga kiruvchi oqimni tezligini belgilab beruvchi bosh me’zon hisoblanadi.

Achitqi zamburug‘larida (balki, ko‘pgina eukariotlarga ham xosdir) sitratsintetaza reaksiyasining tezligi eng avvalo shavel sirka kislotasi va atsetil-KoA ning mitoxondriyadagi miqdoriga bog‘liq. Sitratsintetaza reaksiyasi nafaqat Krebs halqasini boshqaruvchi zveno, balki uning bilan aloqador bo‘lgan hujayrada moddalar almashinuvini belgilovchi boshqa reaksiyalar uchun ham ahamiyatlidir. Yog‘larning sitezini birinchi bosqichi ham sitrat bilan bog‘liq, chunki mitoxondriyada hosil bo‘lgan atsetil-KoA, mitoxondriya membranalari orqali sitrat bir shaklsida sitoplazmaga tushadi. Sitoplazmada u yana atsetil-KoA ga aylanadi. Bu jarayon ATF ga bog‘liq bo‘lgan sitratliaza fermenti ishtirokida amalga oshadi. Achitqi zamburug‘lari hujayralarida sitrat Paster effektini hosil bo‘lishida, ya’ni nafas olish orqali bijg‘ish faolligini to‘xtalishida muhim rol o‘ynaydi. Bu jarayonda sitrat fosfatruktokinaza fermenti uchun allosterik ingibitor rolini o‘ynaydi. Sitratning sintezi – limon kislotasi halqasining tezligini cheklab qo‘yuvchi bosqichdir. NADH va suksinil-KoA sitratsintetazaga ingibitorlik qiladilar. Sitratsintetazaning reaksiyasi natijasida hosil bo‘ladigan sitrat keyinchalik akonitaza fermenti ishtirokida o‘zgarishga uchraydi. Akonitaza sitratni sis-akonat va izotsitratga aylantirish reaksiyasini kataliz qiluvchi ferment. Bu reaksiya esa qaytar reaksiyadir.

Uch karbon kislotalarining eng muhim nazorat mexanizmlaridan biri izotsitratdegidrogenaza reaksiyasi hisoblanadi. Achitqi zamburug‘lari bir-birlaridan koenzim spetsifikligi, fizik-kimyoviy va kinetik xususiyatlari bilan farq qiluvchi izotsitratdegidrogenazaning ikki shaklsini saqlaydilar. Ulardan biri, NAD-ga bog‘liq, mitoxondriyada lokalizatsiya bo‘lgan, ikkinchisi esa, NADF – ga bog‘liq mitoxondriyada hamda sitozolda uchraydi. NAD-ga bog‘liq izotsitratdegidrogenazaning allosterik faollashtiruvchi (aktivator) bo‘lib, AMF xizmat qiladi. Uch karbon kislotalarining reaksiyalarini boshqarishda energetik zaryadning ham muhim ulushi bor. Ilmiy nazariyalarga asosan, allosterik fermentlar kataliz qiladigan reaksiyalarning yo‘nalishi achitqi zamburug‘larida ATF/AMF ga nisbati bilan nazorat qilinadi. ATF/AMF ni kamayishiga olib keladigan har qanday funksional faollik uch karbon kislotalar halqasining faollashuviga olib keladi. Bu effekt sitratsintetaza va izotsitratdegidrogenazalarni faolligining oshishi hisobidan amalga oshadi. Nafas olish zanjiriga qaytaruvchi ekvivalentlarni kirishini kuchayishi, ATF/AMF ko‘payishiga olib keladi. Bu esa o‘z navbatida uch karbonli kislotalar halqasini susayishiga olib keladi va atsetil-KoA ni yog‘lar sintezi tomonga yo‘naltiradi yoki glyukoplogenezni faollashuviga olib keladi. Shuningdek, atsetil-KoA dan sintezi boshlanadigan boshqa mahsulotlar ham bo‘lishi mumkin.

Yuqorida ko‘rsatib o‘tilganidek, mikroorganizmlarda izotsitrat yoki izotsitratdegidrogenaza orqali yoki glioksilat yo‘lida izotsitratliaza orqali o‘zgarishga uchraydi. Ko‘pgina mikroorganizlarda glioksilat yo‘li, ularni asosiy uglerod manbayi sifatida atsetat, etanol yoki alkanlar saqlagan muhitda o‘stirilganda, kuzatiladi. Masalan, *Saccharomyces cerevisiae* hujayralarini 1,5% li glyukoza saqlagan muhitdan (glioksilat halqasi fermentlarini butunlay repressiya qilib qo‘yilganda) atsetatli muhitga ko‘chirib o‘tkazilganda, aerob sharoitda glioksilat halqasi fermentlari – izotsitratliaza va malatsintaza fermentlarini solishtirma faolligi ancha ko‘payadi.

*Candida tropicalis* hujayralarini glyukozali muhitdan geksadekan saqlagan muhitga o‘tkazilganda ham yuqorida keltirilgan fermentlarni faolligi oshganligi kuzatilgan. “Geksadekan” li achitqilar “glyukoza”li variantlariga nisbatan yuqori faollikka ega bo‘lgan sitratsintaza va akonitazalari bilan farqlanadi.

α-ketoglutaratdegidrogenazalarga ATF ijobiy ta’sir ko‘rsatadi. Fermentga AMF ni bog‘lanishi α-ketaglutarat uchun Mixaelis konstantasini 10 martaga kamaytiradi. Suksinil-KoA va NADH fiziologik konsentratsiyada ingibitorli ta’sir ko‘rsatadi, bunda suksinil-KoA ni konsentratsiyasi jarayon tezligini boshqaruvchi bosh omil sifatida taxmin qilinadi. Suksinatdegidrogenaza va izotsitratdegidrogenazalarning substratlari ijobiy allosterik effekt vazifasini bajaradi.

Boshqarish nuqtai nazaridan uch karbon kislotalari halqasining muhim fermentlaridan biri malatdegidrogenaza hisoblanadi. AMF sitoplazmatik malatdegidrogenazani ingibirlaydi, mitoxondrial shakldagi malatdegidrogenazani esa faollashtiradi. Bunga teskari ravishda, ATF malatdegidrogenazani mitoxondrial shaklsini ingibirlaydi. Uch karbon kislotalari halqasi bilan faqatgina mitoxondrial fermentlar aloqadordir. U, konstitutiv ferment hisoblanadi. Malatdegidrogenazaning sitoplazmatik shaklsi shavel sirka kislotasini – olma kislotasiga o‘tkazishga munosabat ko‘rsatadi.

Krebs halqasida to‘rtta degidrogenaza fermentlarining ishtirok etishi, halqani bir me’yorda ishlashiga sharoit yaratadi, chunki halqaning uzluksiz ishlab turishi qaytaruvchi ekvivalentlarning albatta qaytadan oksidlanishini talab qiladi. Halqaning yuqori tezlikda ishlashi kerakli miqdorda kislorodni talab qiladi, ya’ni halqa aerob sharoitda yaxshi ishlaydi.

Krebs halqasida fermentlarni faolligini allosterik tarzda boshqarish elektronlarni ko‘chishi zanjirida ham amalga oshadi. Mitoxondriyada joylashgan bu tizimlarda asosiy boshqarish mexanizmlari NAD va ADF ni konsentratsiyasini o‘zgarishi bilan bog‘liq. Agar NAD ni katta qismi qaytarilgan holatda bo‘lsa, halqada degidrogenazalarni faolligi pasayadi. Elektronlarni ko‘chirib o‘tkazish zanjirida oksidlanishga ulgurmay qolganda NADH ni konsentratsiyasi ko‘payadi. Bunday holat kislorod yetishmaganda kuzatiladi. Xuddi shunga o‘xshab, ADF/ATF ni kichik molyar nisbatida energetik bog‘liqlik sababli mitoxondrial zanjir bo‘yicha elektronlarning ko‘chishi sekinlashadi.

Mikroorganizmlarda halqani ketma-ket keladigan bosqichlarini e’tibor bilan kuzatish, Krebs halqasi oziqa moddalarning oksidlanishi va hujayra metabolitlarining sintezi uchun universal mexanizm ekanligini ko‘rsatadi.

Uch karbon kislotalari halqasini komponentlarini oksidlay olmaydigan zamburug‘ yoki bakteriyalarning mutantlari hujayralari tashqarisida alohida

reaksiyalarda o‘zgarish (buzilish) bo‘lganligi sababli, ularning ATF miqdori past bo‘ladi. Energetik va biosintetik funksiyadan tashqari halqani boshqaruvchanlik ahamiyati ham bor. Chunki, halqa muhim metabolik yo‘llarni chorrahalarida turgan birikmalar orasida bog‘ tashkil qiladi.

*Nafas olish zanjiri va oksidlanishli fosforlanish*. Barcha tirik organizmlarning hayot kechirishi uchun zarur bo‘lgan energiya ularning tanalarida murakkab birikmalar kimyoviy bog‘larining uzilishi natijasida hosil bo‘ladi. Energiya ajratish bilan boradigan bu reaksiya biologik tizimlarning yuksak shakllarida, asosan to‘qima va hujayralarda kechadigan oksidlanish natijasidir. Murakkab birikmalarning organizmda kislorod biriktirib parchalanishi natijasida hosil bo‘ladigan oxirgi mahsulotlar, tashqi muhitda yonish jarayonida kelib chiqadigan $H_2O$ va $CO_2$ ning o‘zi ekanligi aniqlangan. Ko‘pgina mikroorganizmlar energiyani molekulyar kislorod ishtirokisiz o‘tadigan kimyoviy reaksiyalar orqali olishi mumkin, hayvon organizmi hujayralari ham kislorod yetishmaganda murakkab birikmalarning anaerob parchalanishi jarayonida energiya manbayi sifatida foydalanadilar. Ammo, aerob prokariotlarda va eukariotlarda kimyoviy energiyaning asosiy qismi oziqa moddalarning molekulyar kislorod bilan oksidlanishi natijasida kelib chiqadi. Bu jarayonlar hujayra va to‘qimalarda kechadigan organizmlardagi biologik oksidlanish hodisasi to‘qimaning yoki hujayraning nafas olishi deb ataladi.

Biologik oksidlanish XIX- asrning oxirlarida oksidaza fermenti ishtirokida bajarilishi aniqlangan edi. Ammo bu jarayonning mexanizmini aniqlash uchun yana ko‘proq vaqt talab qilindi. Ko‘plab tajribalar molekulyar kislorodning o‘zi metabolitlarni oksidlay olmasligini ko‘rsatdi. Bu jarayon sodir bo‘lishi uchun kislorod faollanishi lozimligi va faqatgina o‘shanda oksidlanish reaksiyasini hujayra ichidagi fermentlar amalga oshirishlari hamda bu jarayonda metalli komponentlar muhim rol o‘ynashi ko‘p sonli tajribalar asosida tasdiqlangan. “Kislorodning faollanishi” g‘oyasini rivojlanishi rus olimi A.N.Baxning (1857-1946) peroksid nazariyasi katta o‘rin tutadi. Bu nazariya bo‘yicha kislorodning faollanishi oksigenaza fermentini molekulyar kislorodni biriktirib, peroksid hosil qilishiga bog‘liq. Bu mexanizm o‘simliklarda bir qator moddalarni oksidlanishini yetarli darajada tushuntira olsa ham, ammo umumiy hujayraning nafas olishidagi asosiy metabolitlarning oksidlanishiga aloqasi yo‘q ekanligi aniqlandi. Shu tufayli tajribalar yana davom ettirilaverdi. Hujayraning nafas olishida kislorodning faollanish nazariyasi bilan bir qatorda, biologik oksidlanishi substratdan vodorodning chetlatilishi (degidridlanish) bilan bog‘liq ekanligini tasdiqlaydigan tajribalarning natijalari ham to‘plana bordi. Bu g‘oya ham mashhur rus olimi, fiziolog va biokimyogar V.I.Palladin (1859-1922) tomonidan 1908-yilda o‘rtaga tashlangan edi. Undan keyin degidrogenlanish vodorodning faollanish ma’nosida Tumberg va Viland tajribalarida yanada rivojlantirildi. V.I.Palladinni fikricha, nafas olish jarayonida kislorodning roli o‘simliklarda keng tarqalgan, rangsiz ammo, kislorod ta’sirida osonlik bilan oksidlanib pigmentga aylanadigan nafas xromogenlari nomli moddalarning oksidlanishidan iborat. Oksidlanish natijasida hosil bo‘lgan rangli modda turli substratdan ajraladigan vodorodni qabul qilib, rangsiz xromogenga aylanadi. Bu jarayon takrorlanib turishi tufayli substrat vodorod ajratish bilan oksidlanadi. Shunday qilib, organizmlar oksidlanadigan moddalar – oqsillar,

uglevodlar, yog‘lar vodorod donorlari (beruvchilari), molekulyar kislorod esa uning akseptorlari (qabul qiluvchilari) sifatida nafas olish jarayonida qatnashadi.

Oksidlanish va qaytarilish hodisasi – dastlab moddaga kislorodning birikishi yoki birikmadan kislorodning ajralishi bilan yuz beradigan reaksiyalarni ifoda qiladi. Umumiy kimyoning nazariy asoslarini yaratish jarayonida bu ta’rifning to‘liq emasligi ma’lum bo‘ladi. Birinchidan, oksidlanish jarayoni davomida oksidlanayotgan modda atomining qanday bo‘lmasin musbat valentligini orttirishi va aksincha, qaytarilayotgan atom valentliginining kamayishi aniqlanadi. Atom tuzilishi haqidagi hozirgi zamon tushunchalariga binoan, elementning valentligi uning tashqi arbitasidagi elektronlar soniga bog‘liq bo‘lib, undan elektron (e) ajratilganda elementning valentligi ortadi, elektron biriktirilganda esa kamayadi. Masalan: $Fe^{++}$ - 1e ⟶ $Fe^{+++}$. Organik birikmalarning oksidlanishi, ko‘pincha ulardan vodorodning ajralishi bilan, qaytarilishi esa vodorod biriktirish bilan boradi. Shunday qilib, oksidlanish deganda, birikmaga kislorodning birikishini, undan vodorod hamda elektronning yo‘qotilishini tushunamiz. Qaytarilish esa kislorodning yo‘qotilishi, vodorodning biriktirilishi yoki elektron qo‘shilishidan iboratdir. Bir moddaning oksidlanishi hamma vaqt ikkinchi moddaning qaytarilishi bilan birga kechadi. Shuning uchun oksidlanish – qaytarilish jarayoni bilan doimo bir vaqtda to‘qnashamiz.

Hujayraning nafas olishi – deb ataladigan jarayon uglevod, yog‘ va oqsillar almashinuvida kelib chiqadigan metabolitlarning kislorod bilan birikib, oxirgi mahsulotni hosil qilishidan iborat. Bu jarayon uchun zarur bo‘lgan molekulyar kislorod atmosferadan o‘pkaga, qizil qon tanachalaridagi gemoglobin orqali to‘qimalarga yetkaziladi. Bu yerda kislorodning parsial bosimi kamayishi tufayli kislorod erkin holda ajraladi va kimyoviy reaksiya davomida hujayra tomonidan yutiladi. Metabolitlarning oksidlanishi kimyoviy bog‘larning uzilishi va energiyaning ajratilishi bilan sodir bo‘ladigan kompleks reaksiyalaridan iborat. Bu jarayonda ko‘pchilik biologik oksidlanish reaksiyalarining birinchi bosqichi metabolitlarning degidridlanishi bilan bog‘liq. Bundan keyin keladigan bosqichlar vodorodni yoki elektronni bir qator bosqichlar orqali ko‘chirib, oxirida kislorodga uzatish va ulardagi kimyoviy energiyani hujayradagi jarayonlarda foydalanish uchun yaroqli shaklda ajratib berishni o‘z ichiga oladi. Mana shu asosda vodorod va kislorod yumshoq sharoitda issiqlikni tashqariga behuda sarf qilmay birikadi. Oksidlanish jarayonida ajraladigan energiya birdan ko‘p miqdorda tarqalmay, kichik ulushlarda kirish moddaning funksiyasi uchun sarflanadigan energiyaga boy kimyoviy bog‘larda to‘planadi.

Tirik hujayralar metabolitlarni oksidlovchi katalizatorlarga ega bo‘lishi kerak degan g‘oya Otto Varburg tomonidan ilgari surilgan edi. U organik komponentlarni oksidlanish metall ionlari, xususan, temir ionlari tomonidan katalizlanishiga diqqatni jalb etdi. 1927-yili u to‘qimada nafas olish fermentining borligi va uning tarkibiga gemprotein shaklida organik bog‘langan temirning kirishi haqida xabar berdi. Bu ferment tarkibidagi uch valentli $Fe^{+++}$ metabolitdan elektron olib qaytariladi, ya’ni $Fe^{++}$ shakliga o‘tadi:

Qaytarilgan ferment molekulyar kislorod bilan reaksiyaga kirishishi orqali qayta oksidlanadi:

$$\text{metabolit}+\text{ferment-}Fe^{+++} \longrightarrow \text{oksidlangan metabolit}+\text{ferment}–Fe^{++}+H^{+}$$

$$\text{ferment} - Fe^{++} + O_2 \longrightarrow \text{ferment} - Fe^{++}O_2$$
(faollashgan kompleks)
$$\text{ferment}–Fe^{++} + O_2 + H_2^{+} \longrightarrow \text{ferment}–Fe^{+++} + H_2O \text{ yoki } (H_2O_2)$$

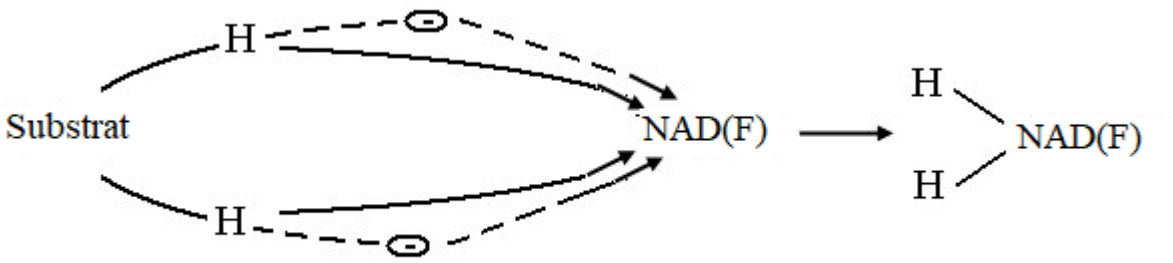
Oksidlangan ferment endi qaytadan metabolit bilan reaksiyaga kirishadi. Bu nazariyaga ko‘ra, faollangan kompleksning hosil bo‘lishi kislorodni faollanishini mujassamlashtiradi. Hujayraning oksidlanishi degidridlanish deb qabul qiluvchi Palladin va Viland nazariyasi substratdagi bog‘langan vodorodni faollanishini ko‘zda tutadi. Substratdan ajraladigan vodorod katalitik reaksiyada vodorod akseptori deb ataladigan komponent tomonidan qabul qilinadi. Biologik oksidlanishida akseptorlik rolini qayta oksidlanib – qaytarilib turadigan, kofermentlar NAD, NADF, FMN yoki FAD bajaradi. Shuni ham e’tiborga olish lozimki, reaksiyaning davom etishi uchun akseptor vaqtincha biriktirib olgan vodorod atomlarini boshqa akseptorga uzatib, o‘zi substratning yangi molekulalarini qaytadan oksidlash uchun tayyor bo‘lishi kerak. Bu jarayonda vodorodning eng so‘nggi (atamaal) akseptori sifatida molekulyar kislorod qatnashadi. Shuni ham ta’kidlab o‘tish kerakki, biologik oksidlanish ta’limotining yaratilishi davomida Viland vodorodni qabul qiladigan oraliq tashuvchilarga diqqatni jalb etib, kislorod faqat shu tashuvchilarning qayta oksidlanishi uchun zarur ekanligiga e’tibor bergan edi.

Varburg esa metall ionlarining ishtirok etishiga va molekulyar kislorodning bevosita ta’siriga e’tibor bergan. Keyingi vaqtlarda biologik oksidlanish ta’limotining rivojlanishi hujayraning nafas olishi qator reaksiyalar zanjiridan tashkil topganligini va u Vilandning degidridlanish jarayonidan boshlanib, akseptor qabul qilgan vodorod bir nechta vodorod tashuvchilar orqali o‘tgandan so‘ng metall ion tashuvchi komplekslar ishtirokida faollashib, molekulyar kislorodga qo‘shilishi bilan tugallanishi tasdiqlandi. Bu jarayonda qatnashuvchi, tarkibida metall ioni saqlaydigan oksidazalar molekulyar kislorod bilan bevosita birikish reaksiyalarini ham o‘z ichiga oladi.

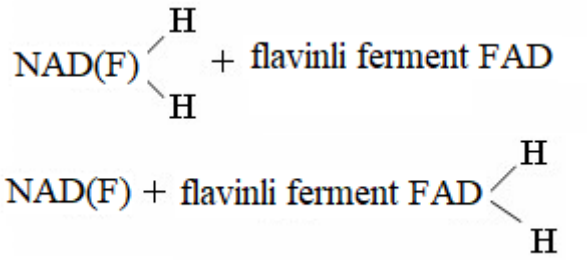
Varburgning nafas fermenti temir atomi saqlaydigan sitoxromoksidaza deb ataladigan ferment bilan bir xil bo‘lib chiqdi. Vodorodni faollanishida ham undan elektronlarni qabul qilib, kislorodga uzatadigan, tarkibida temir saqlaydigan bir nechta gemproteinlar – sitoxromlar qatnashadi. Binobarin nafas olish sistemasi murakkab tuzilma bo‘lib, u vodorod donori metabolit, degidrogenaza fermenti vodorodning oraliq tashuvchilar (NAD, NADF), prostetik gruppasi Fe va FAD bo‘lgan flavoproteidlar, koenzim Q sitoxromlar va molekulyar kisloroddan tashkil topadi.

To‘qima nafas olish fermentlari – nafas olish katalizatorlarining komponentlari asosoan mitoxondriyalar bilan bog‘langan. NAD li kofermentlar va uch karbon kislotlar xalqasining ba’zi fermentlari mitoxondriyalar matriksida joylashgan sitoxromlar, utixinon va metalloflavoproteinlar esa ichki membrananing lipid fraksiyalari bilan aralashgan (bog‘langan). Substrat bevosita kislorod bilan reaksiyaga kirishmay qator oraliq tashuvchilar orqali undan ajratilgan. Hujayraning nafas olishidagi birinchi reaksiyada substarat spetsifik degidrogenaza ta’sirida degidridlanadi. Bu jarayonda ajraladigan vodorod atomi (proton va elektron) degidrogenaza fermentining yuzasida NAD yoki NAAF tomonidan qabul qilinadi.

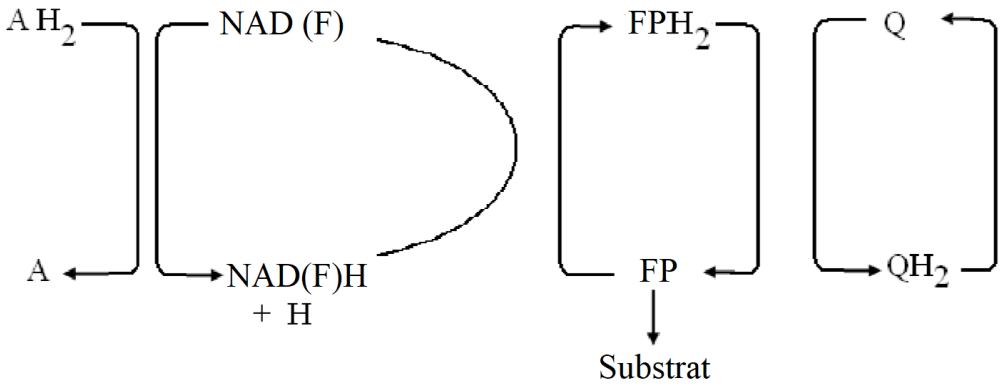
Natijada NAD ni qaytarilgan shakli paydo bo‘ladi:




Qaytarilgan NAD dan vodorodni flavin fermentlar qabul qilib oladi. Natijada $NADFH_2$ oksidlanib, qaytadan substrat bilan munosabatga kira oladigan (vodorod akseptori) holatiga keladi. Flavinli ferment endi qaytarilgan shaklga o‘tadi:




Flavinli fermentlarning ba’zilari faqat qaytarilgan NAD va NADF dangina vodorodni qabul qilib oladi, boshqalari esa oksidlanishning asosiy substrati bilan bevosita reaksiyaga kirishadi, ya’ni regidrogenaza yoki oksidaza sifatida qatnashadi. Hozirda ma’lum bo‘lgan flavoproteidlarning soni qirqga yaqin bo‘lib, ularning taxminan yarmining tarkibida metall atomlari (Fe, Cu, Mo, Zn) dan birining borligi tasdiqlangan. Metall flavoproteidlarning bir guruppasidagi metall atomlari elektronni biriktirib olishi, yoki yo‘qotishi tufayli valentligini osongina o‘zgartirib turadi va shu yo‘l bilan flavoproteinlarning qaytarilgan shaklidan sitoxrom sistemaga elektronni uzatadi. Flavinli fermentlar orasida suksinat, butilin, butinil-KoA, laktatni vodorodsizlaydigan bir qator muhim degidrogenazalar ham bor. Flavinli fermentlarning oksidazalar qatoriga kiradigan vakillari, masalan, L-aminokislota va D-aminokislota oksidazalari, glyukozaoksidaza, aldegidoksidaza va ksantinoksidaza vodorodni substratdan bevosita molekulyar kislorodga uzatadi. $NAD \cdot H_2$ vodorodga va suksinat kislotani degidridlovchi flavoproteidlarning yagona umumiy vodorod atomlarini Q-enzimga beradi, binobarin, $NAD \cdot H_2$ oksidlaydigan ferment $NAD \cdot 2H$ – koenzim Q-reduktaza, suksinat digidrogenaza esa, suksinat koenzim Q-reduktazadir, demak, nafas olish zanjirining substratdan vodorodni ajratib, oraliq tashuvchilarga uzatuvchi bu bo‘limini quyidagicha tasvirlash mumkin:



Nafas olish zanjirining keyingi qismi elektron tashuvchi sitoxromlar tizimi bilan bog‘liq. $QH_2$-sitoxrom S-reduktaza nomli ferment qaytarilgan koenzim Q-bilan sitoxromni bog‘lovchi zvenodir.

Sitoxrom B bu fermentning tarkibiy qismi bo‘lishi mumkin. Mana shu vositachi ishtirokida qaytarilgan koenzim Q ga bog‘langan vodorod atomlarining elektronlari sitoxrom C tarkibidagi uch valentli temirni qaytaradi, elektron ajralgandan so‘ng vodorod atomidan qolgan proton muhit tarkibida bo‘ladi. Qaytarilgan sitoxrom C dan elektronlar sitoxrom a ($a_3$) ishtirokida molekulyar kislorodga o‘tkaziladi. Elektronlar bilan birga kislorodga muhitdagi proton ham qo‘shilib, suv yoki gidroperoksid ($H_2O_2$) hosil bo‘ladi. Bu jarayonda har bir kislorod molekulasiga sitoxromlardan to‘rt elektron, muhitdan to‘rt proton ko‘chiriladi.

Shunday qilib, elektronni qaytarilgan flavin fermentlardan koenzim Q-(sitoxrom B kompleksi) ishtirokida molekulyar kislorodga ko‘chirishida bir nechta sitoxromdan iborat tizim: sitoxrom B (koenzim Q-reduktaza kompleksida), sitoxrom C (ko‘pincha, aerob tizim B va a sitoxromlar orasida) oraliq tashuvchi sifatida tarkibida sitoxrom $C_1$ ham saqlaydi, sitoxrom a (va $a_3$) ishtirok etadi. Ularning elektron tashish zanjiriga birin ketin qo‘shilishi oksidlanish va qaytarilish potensialiga bog‘liq. Asosiy sitoxromlar a, b, c uchun bu ko‘rsatkichlar quyidagicha qiymatga ega:

sitoxrom a ..... + 0,29
sitoxrom B..... – 0,04
sitoxrom C..... + 0,26

Hujayraning nafas olish kulminatsiyasi elektronlarni tashilishi va oksidlanish bilan boruvchi fosforlanish jarayonida oksidlanish reaksiyasi energiyasining energiyaga boy bog‘lar shaklida to‘planishidir. Nafas olish zanjirida reaksiyaning hamma energiyasi birdaniga emas, balki kichik ulushlar bilan ajralib chiqadi va zanjirning ma’lum nuqtalarida anorganik fosfat molekulasining efirlanishini ta’minlab, bittadan makroergik fosfat bog‘i hosil qiladi. Nafas olishda qatnashuvchi katalizatorlar zanjiri orqali vodorod $NADN_2$ dan molekulyar kislorodga ko‘chirilganda, uch molekula anorganik fosfatning bog‘lanishi va bu jarayonda bir atom kislorodning sarf bo‘lishi aniqlangan.

Hujayraning nafas olish jarayonida anorganik fosfatning mikroergik bog‘lar orqali birikkan fosfat efirlariga aylanishi, ya’ni elektronlar transporti bilan ulangan holda NADF va ADF dan ATF hosil bo‘lishi oksidlanishli fosforlanish deb ataladi. Uning hosilasi yoki samarasi bog‘langan fosfor atomlarining yutilgan kislorod atomlari soniga nisbati (P:O) bilan belgilanadi. Energiyaga boy bog‘larning sintezlanishi nafas olish jadalligiga bog‘liq. Qulay sharoitda har bir kislorod atomiga uch makroergik fosfat bog‘i – 3ATF molekulasi hosil bo‘ladi, ya’ni oksidlanishli fosforlanishning samarasi uchga teng bo‘ladi. Oksidlanishli – fosforlanish deganda, hujayrada kechadigan ikki jarayon tushuniladi:

Birinchi – NADH va FADH ga o‘xshagan qaytarilgan molekulalarni elektronlar transportining birinchi reaksiyalari natijasida, ekzoergonik oksidlanishi;

Ikkinchi – ADF ni endergonik fosforlanishi bilan ATF hosil bo‘lishi.

Jarayonlarni alohida bo‘lganliklariga qaramasdan, ular energetika bo‘yicha o‘zaro aloqadorlar, chunki, elektronlarni tashishda hosil bo‘ladigan energiya ATF ni sintezi uchun sarflanadi. Bundan tashqari bu jarayonlarda ishtirok etuvchi

molekulalar bir kompartmentda joylashgan. Jarayonda tegishli substratlardan qaytaruvchi ekvivalentlar (protonlar va elektronlar) plazmatik membranaga yoki mitaxondriyalarning ichki membranasiga ko‘chib o‘tadi. Membranalarni ichki va tashqi tomonida elektrokimyoviy gradient (musbat potensial tashqarida, manfiy potensial ichkarida) hosil bo‘ladi va shu tufayli membranalar orqali ko‘chib o‘tish (transpartirovka) ga sharoit tug‘iladi. Zaryadlarni bunday o‘zgarishiga nafas olish zanjiri komponentlarining membranada ma’lum darajada joylashuvi sabab bo‘ladi. Bu komponentlarni ba’zilari elektronlarni boshqalari esa vodorod tashib o‘tadilar. Tashib o‘tuvchi komponentlarni membranada o‘zaro joylashuvlari shundayki, elektronlarni substratdan kislorodga tashib o‘tayotganda protonlar (H) membranani ichki tomonidan, ajralib chiqadiganlari esa membrananing tashqarisida bog‘lanadilar.

ADF va noorganik fosfordan ATF ni ATF–sintetaza fermenti hosil bo‘ladi. Ferment zamburug‘simon shaklga ega bo‘lib, membranani ichki tomonidan matritsaga qarab chiqib turadi. Yuqorida aks ettirilgan ATF ni sintez mexanizmi organizmda ATF ni qayta tiklanib turishi uchun eng muhimdir.

Elektronlarni tashilishini tajribalar asosida o‘rganmoqchi bo‘lgan izlanuvchilarga, mana shu jarayonni ma’lum bosqichlarini to‘sa oladigan maxsus ingibitorlardan foydalanish tavsiya qilinadi. Bunday ingibitorlardan eng ko‘p ishlatiladigan rotenon – NADH dan ubixinonga (koferment Q ga) elektronlarni tashish qismsini to‘sish xususiyatiga ega, antimitsin A antibiotigi esa – elektronlarni ubixinondan sitoxrom C ga ko‘chirilishini to‘sadi;

Sianid–sitoxrom $a \cdot a_3$ kataliz qiladigan kislorodning qaytarilishini to‘sadigan kuchli ingibitor va zahardir.

Sitoxrom $a \cdot a_3$ ni bo‘g‘adigan yana bir kuchli ingibitor uglerod ikki oksididir (SO). Zanjirda, bo‘g‘ilgan bosqichdan bevosita oldinda turgan elektron tashuvchilar kuchliroq qaytarilgan, bu bosqichdan keyinda turganlari kuchliroq oksidlangan bo‘ladilar. Komponentlarning bu shakllarini spektrofotometr yordamida osongina aniqlash mumkin. Yuqorida ta’kidlanganiday, mitoxondriyaning ichki membranasidan ATF–sintezlovchi ferment–ATF–sintetaza ajratib olingan. Bu ferment ikki oqsil komponentlari $F_o$ va $F_1$ omillaridan iborat ekanligi aniqlangan. Xususan, bu jarayonni har–bir bosqichi, uning komponentlarining birin–ketin kelishi va fosforlanish o‘rnini aniqlashda zanjirning ayrim zvenolarini va ma’lum reaksiyani kataliz qiluvchi fermentlarni sof holda ajratib olish va ularni batafsil tekshirish, nafas olishni zaharlovchi turli ingibitorlardan foydalanib, reaksiyalar tezligini o‘zgarishini o‘rganish ishlari olib borilmoqda. Natijada ba’zi–bir gipotezalar ham taklif etilgan.

Ulardan biri Lenindjer oldinga surgan kimyoviy ulanish gipotezasidir. Bu gipotezaga ko‘ra nafas olish zanjirini fosforlovchi har uch nuqtasidan elektron ko‘chirilishi energiyaga boy bog‘ni hosil qilish bilan birga o‘tganda, elektron tashuvchi fosfat yoki qandaydir boshqa komponent –(x) bilan ulanadi. Bu oraliq mahsulot so‘ngra o‘zida hosil bo‘lgan fosfor (F) bog‘ini ADF ga uzatib, ATF ni hosil qiladi:

birinchi bosqich: tashuvchi + x ⟶ tashuvchi ~x.

ikkinchi bosqich: tashuvchi ~ x + anorganik F (fosfat)⟶tashuvchi +F~ x.

uchinchi bosqich: F ~ x + ADF ⟶ x + ATF.

Bu fikr mitoxondriyalarda elektron tashish tamomila to‘xtaganda ham ATF ning oxirgi fosfati molekulada ikki reaksiya orqali hosil bo‘lishi bilan tasdiqlanadi.

Bu reaksiyalarning biri nishonlangan $P^{32}$ bilan ATF orasida o‘tadigan almashinuv reaksiyasi bo‘lib, bunda $P^{32}$ tez vaqtda va bevosita ATF ni oxirgi fosfatini o‘rnida paydo bo‘lganligi bilan isbotlangan. Ikkinchi reaksiyada esa $P^{32}$ yoki $C^{14}$ bilan nishonlangan ADF dan ATF sintez bo‘lganligi bilan isbotlangan. Har ikkala reaksiyaning ham oksidlanish bilan boruvchi fosforlanishga bevosita aloqasi borligi, bu jarayonni kataliz qiluvchi fermentni ingibirlovchi dinitrofenol bilan zaharlanishi asosida tasdiqlangan bo‘lsada, bu gipoteza to‘la eksperimental tasdiq topmadi. Ko‘p yillar mobaynida astoydil o‘tkazilgan izlanishlarga qaramay hujayrada elektronlarning tashilishini ATF sintezi bilan bog‘lovchi (faraz qilingandek) yuksak energiyali oraliq mahsulotni topishga erishilmadi. Oksidlanuvchi fosforlanish mexanizmini tushuntiruvchi eng zamonaviy faraz ingliz biokimyogari Piter Mitchell tomonidan taklif etilgan. Bu gipoteza xemiosmatik gipoteza deb ham yuritiladi va unga asosan mitoxondriyalarning ichki membranasida elektronlarni tashish funksiyasi mitoxondriya matriksidan $H^+$ ionlarini tashqi muhitga ko‘chirish va shu yo‘l bilan membranani ajratib turadigan ikki suv fazasida $H^+$ ionlari konsentratsiyasi gradientini yaratilishi bilan tushuntiriladi. $H^+$ ionlari konsentratsiyasi mitoxondriyalar ichidagidan baland bo‘lgan bunday gradient potensial energiyaga ega. Xemiosmatik nazariyaga binoan elektronlarni tashish energiyasi hisobiga tashqariga chiqarilgan $H^+$ ionlari qaytadan bu ionlar uchun $F_o$–$F_1$+ATFaza molekulalaridagi maxsus kanallar yoki “g‘ovaklar” orqali ichkariga kirishga intiladilar. Mana shunday holda ular konsentratsiya gradienti bo‘yicha siljiydilar va ATFaza molekulalari orqali o‘tishida erkin energiya ajraladi. Xuddi mana shu energiya ADF va F dan ulangan ATF sintezi uchun harakat kuchi bo‘lib xizmat qiladi. Bundan kelib chiqadiki, xemostatik faraz hech qanday yuksak energiyali kimyoviy omilga muhtojlik sezmaydi. Ammo, bu mexanizmi amalga oshishi uchun membrana butun, ya’ni intakt mitoxondriyalarda u batamom yopiq bo‘lishi zarur. O‘z-o‘zidan ma’lumki, membrana butun bo‘lmasa, uning har ikki tomoni orasida $H^+$ ionlari konsentratsiya gradienti tug‘ilishi mumkin emas. Shuningdek, turli ajratuvchi agentlar ishtirokida “$H^+$ ionlari oqib chiqib ketsa” gradient pasayadi, energetik ulanish bo‘shashadi. Lekin xemostatik gipoteza ham oksidlanuvchi fosforlanish mexanizmining hamma masalalarini oxirigacha hal qilib bergani yo‘q. Masalan, elektronlar tashish zanjiri qanday qilib $H^+$ ionlarini matriksdan tashqariga itarib chiqaradi degan savolga hozircha javob yo‘q.

*Mikrosomalardagi oksidlanish*. Mikrosomalar deb to‘qima parchalanish jarayonida (gomogenlashtirilganda) endoplazmatik to‘r membranalaridan hosil bo‘ladigan yopiq pufakchalarga aytiladi. Mikrosomal oksidlanish asosan jigar va buyrak fraksiyalarida kuzatilib, mitoxondriyadagi oksidlanishdan farq qiladi. Mitoxondrial oksidlanish asosan degidridlanish mexanizmi orqali o‘tib, bu jarayonda kislorod elektronlarning oxirgi akseptori rolini o‘ynasa, mikrosomalarda kechadigan oksidlanishda kislorod bevosita oksidlanuvchi molekulaga kiradi. Bundan tashqari mitoxondrial oksidlanishda kislorod bioenergetik jarayonlarga sarf bo‘lsa, mikrosomal oksidlanishda u “plastik” maqsadlar uchun “iste’mol” qilinadi. Mikrosomalarda joylashgan fermentlar oksigenazalar gruppasiga kirib, ular yo molekulyar kislorodni organik birikmaga to‘la biriktiradilar (dioksigenazalar) $R+O_2 \longrightarrow RO_2$, yoki gidroksil gruppa hosil qilib, bitta atomini bog‘laydilar

(monooksigenazalar, gidroksilazalar); ikkinchi kislorod atomini qaytarilishi uchun vodorodni asosan $NADFH_2$ yoki $NADH_2$ yetkazadi:

$$RH + O_2 + NADFH_2 \longrightarrow R - OH + HO_2NADF^+$$

Hujayrada gidrooksillash reaksiyasi bir qator muhim jarayonlarda, masalan, xolesterin va steroid gormonlarni oksidlanish yo‘li bilan modifikatsiyalanishida, prostoglandinlar sintezida, balki to‘yinmagan yog‘ kislotalarni oksidlanishida ishtirok etadi. Mikrosomal oksidlanish juda ko‘p ekzogen zaharli birikmalar, dori-moddalarning almashinuvida hal qiluvchi ahamiyatga ega. Gidrooksillanishni ta’min qiladigan mikrosomal fermentlar zanjiri – quyidagi komponentlardan tashkil topgan sitoxrom P 450 ni qaytarilgan shaklini CO bilan mustahkam kompleksi, kofermenti FAD bo‘lgan flavoprotein, gemin bo‘lmagan temir saqlovchi oqsil.

*To‘liq bo‘lmagan oksidlanish*. “Chala oksidlanish” iborasi nisbatan yaqinda ishlatiladigan bo‘ldi. Ilgari bu jarayon bijg‘ishga hech aloqasi bo‘lmasa ham oksidlovchi bijg‘ish deb yuritilar edi. G.Shlegel bu jarayonga quyidagicha izoh bergan: “ko‘pchilik aerob mikroorganizmlar nafas olish jarayonida organik moddalarni $CO_2$ va suvgacha oksidlaydilar. $CO_2$ molekulasidagi uglerod eng yuqori darajada oksidlanganligi uchun, nafas olishning bu xili (tip) ni to‘liq oksidlanish deb ataydilar, nafas olishning bundan farq qiladigan boshqa tipi ham borki, unda modda almashinuvi maxsuli sifatida chala oksidlangan organik birikmalar hosil bo‘ladi”. Chala oksidlanishni oxirgi mahsuloti sifatida sirka kislotasi, glyukon, fumar, limon, sut kislotalari va qator boshqa birikmalar bo‘lishlari mumkin. Chala oksidlanish jarayonining eng ko‘p tarqalgan mahsuloti sifatida limon kislotasini ko‘rsatish mumkin. Bu kislotaning ishlatilish doirasi juda ham keng. U metallarni korroziyadan (zanglardan) tozalash uchun, detergent sifatida, gaz quvurlarini oltingugurt dioksididan tozalash, neft quvurlariga ishlov berish (betonni qotishini uzaytirish maqsadida), yengil sanoat, oziq-ovqat, farmatsevtika sanoatlarida va parfyumeriyada keng ishlatiladi. Limon kislotasini mikrobiologik yo‘l bilan olish, avvalgi texnologiyani ya’ni sitrus o‘simliklari mevalaridan ajratib olishni butunlay to‘xtatib qo‘ydi. Limon kislotasi sintez qiluvchi asosiy produsent bu *Aspergillus niger*. Yuqorida ta’kidlanganlaridan ma’lumki, limon kislota, uch karbon kislotalari halqasiga kiruvchi birikmalardan biri. Limon kislotaga aylanuvchi uglevodlar uch bosqichdan o‘tadilar:

Birinchi bosqich: glyukoliz natijasida geksozalardan piruvat va atsetil-KoA larni hosil bo‘lishi;

Ikkinchi bosqich: piruvat va $CO_2$ dan oksalatsetatni hosil bo‘lishi (“anaplerotik” hosil bo‘lish);

Uchinchi bosqich: limon kislotasini to‘planishi.

Limon kislotaning produsenti glyukozani glikoliz (Embden Mayergof-Parnas) yo‘li bilan yoki pentoza fosfat yo‘li bilan assimilyatsiya qilishi mumkin. Maxsus qo‘yilgan tajribalar asosida, oziqa muhitiga solingan glyukozaning 80% dan ko‘prog‘i glyukoliz yo‘li bilan o‘zgarishlarga uchrashi isbotlangan. Katabolizmga kirgan glyukozaning yarmi piruvatga, ikkinchi yarmi esa – atsetil-KoA ga aylanadi. Ajralib chiqqan $CO_2$ oksalatsetat hosil qiluvchi reaksiyaga kirishadi. Limon kislotasini sintezi $CO_2$ ni yutilish darajasiga bog‘liq ekanligi isbotlangan. Bu jarayon

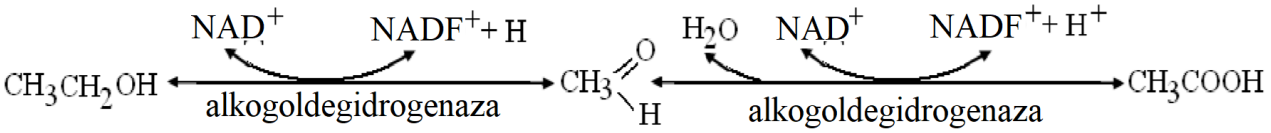
uchun javob beradigan ferment piruvatkarboksilaza hisoblanadi. Produsentning bu fermentni sitez qilishi oziqa muhiti tarkibidagi glyukoza yoki boshqa shakarning miqdoriga to‘g‘ri proporsional bo‘lishi ham aniqlangan. Limon kislotasini yuqori miqdorda hosil bo‘lishiga asosiy sabablardan yana biri hujayra ichidagi fruktoza – 2,6-bisfosfatni miqdoridir. Bu modda glikoliz jarayonini jadallashtiradi. Ba’zi-bir metallarning ionlari limon kislota hosil bo‘lishida salbiy rol o‘ynaydilar. Chunki, ular limon kislotasi metabolizmida ishtirok etuvchi fermentlarning faolligini bo‘g‘ib qo‘yadilar. Masalan, muhit tarkibida temir va marganets ionlari tanqis bo‘lsa, akonitaza va izotsitratdegidrogenaza fermentlarining faolligi birdaniga to‘xtaydi. Marganets ionlarini ta’sirini oqsil sintezi jarayonlari bilan bog‘lashadi. Ba’zi bir olimlarning fikrlaricha, marganets ionlari hujayra ichidagi oqsillarni gidrolizini kuchaytiradi va bu jarayonda yuqori miqdorda hosil bo‘lgan ammoniy ionlari sitratni fosfofruktokinaza fermentini bo‘g‘ib qo‘yishlari mumkin. Izotsitratdegidrogenaza fermentini faolligini kaliy ferrotsianid va limon kislotasining yuqori konsentratsiyasi ham bo‘g‘ib qo‘yadilar. Metallarning roli haqidagi yuqorida ko‘rsatib o‘tilganlarga bog‘liq ravishda, uglevodlarni manbayi ham katta ahamiyatga ega. Ko‘pchilik mikrobiologik texnologiyalarda keng ishlatiladigan modda-massasining tarkibida metall ionlari va limon kislotaning sintezini to‘sib qo‘yish qobiliyatiga ega bo‘lgan boshqa moddalar ham ko‘p uchraydi. Shuning uchun ham limon kislotasini sanoatda ishlab chiqarish uchun saxaroza ishlatiladi. Agar oldindan gidroliz qilinmagan bo‘lsa, polisaxaridlar ham ishlatilmaydi. Bunga sabab, ularni nordon muhitda juda ham sekin gidrolizga uchrashi bilan bog‘liq. Azot manbayi sifatida ammoniyning nitratli yoki sulfat tuzlari ishlatiladi. Ammoniy tuzlarining assimiliyatsiyasi va produsentni o‘sish davrida muhitning pH ko‘rsatkichi nordonlashib boradi va limon kislota to‘planadigan davrga kelib, 2,0 ga teng bo‘ladi. Agar pH undan baland bo‘lsa *Aspergillus niger* glyukooksidaza fermenti baland bo‘lganligi hisobidan glyukon kislotasi hosil qiladi. Kultural suyuqlikda limon kislotasidan tashqari poliollar – mannit, arabit, eritrit, glitserin, shuningdek, organik kislotalar – malan, yantar, olma, qaxrabo va fumar kislotalari ham uchraydilar. Kultural suyuqlikdan dastlab qaxrabo kislotasini olib tashlaydilar va keyin limon kislotasini kalsiy tuzi ko‘rinishida cho‘ktirib oladilar. Oxirgi yillarda limon kislotasini uglevodorodli muhitda o‘stirilgan mikromitsetlar va achitqi zamburug‘lardan ajratish texnologiyalari ham ishlab chiqilgan. Limon kislotasi ajratishning biokimyoviy asoslari uglevodlarda o‘strilgan mikroorganizmlardan olishdan farq qilmaydi. Uglevodorodlar, yog‘ kislotalariga aylanib, β-oksidlanishga uchraydilar va Krebs halqasiga qo‘shilib ketadilar. Limon kislotasini yuqori miqdorda sintez qilishning asosiy fiziologik sharti–oziqa muhitida azotning tanqisligidir. Mikroorganizm hujayralarida limon kislotasi bilan bir vaqtda izolimon kislotasi ham to‘planadi. Agar muhitda tiamin tanqis bo‘lsa, α-ketaglutar kislotasi ko‘p miqdorda sintez bo‘ladi. Ma’lumki, tiamin – piruvatdegidrogenaza va α-ketaglutaratdegidrogenaza fermentlarining asosiy tarkibiy qismi hisoblanadi. Mana shuning uchun ham uning tanqisligi α-ketaglutar kislotasining to‘planishiga olib keladi, chunki, yog‘ kislotalarini β-oksidlanishida pirouzum kislotasi hosil bo‘lmaydi. Bu kislota uglevodorodlarning bevosita oksidlanganda ham hosil bo‘lmaydi. Substratlarning chala oksidlanishiga yana bir misol qilib sirka kislotasining hosil bo‘lishini ko‘rsatish mumkin. Sirka tayyorlash eng qadimiy jarayonlardan

hisoblanadi. Sirka tayyorlash uchun manba sifatida muayyan sharoitga xos bo‘lgan mahsulotlardan foydalaniladi. Sirka sifatli bo‘lishi uchun uglevodlardan tashqari xushbo‘y hid beruvchi moddalar saqlaydigan mahsulotlardan ko‘proq foydalaniladi. Masalan, olma, uzum, shaftoli. Sirka tayyorlash uchun ikki xil mikrobiologik jarayonlardan foydalaniladi.

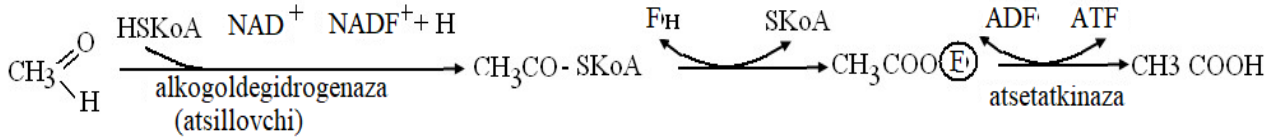
Birinchi – mahsulot dastlab spirtli bijg‘itiladi, hosil bo‘lgan spirt keyin sirka kislotasigacha oksidlantiriladi. Spirtli bijg‘ish an’anaviy usulda olib boriladi. Tayyor bo‘lgan mahsulotda, dastlabki substratga xos bo‘lgan kislotalar, efirlar, uglevodlar, pigmentlar bo‘lishi mumkin.

Ikkinchi – ko‘proq ishlatiladigan yo‘l bo‘lib, tayyor etanolni to‘g‘ridan-to‘g‘ri Acetobacter va boshqa qator bakteriyalar yordamida oksidlash yo‘lidir.

Har ikki yo‘lda ham etanoldan sirka kislotasini hosil bo‘lishi quyidagicha kechadi:




Qator bakteriyalarda boshqa yo‘l ham ma’lum:




Bijg‘igan mahsulot qo‘llansa hid va ta’mga ega. Odatda uni maxsus idishlarda saqlab qo‘yiladi. Bunda mahsulotni sifatini yaxshilovchi qator qo‘shimcha reaksiyalar sodir bo‘ladi. Shunday reaksiyalardan biri efirlanish atseto-etil efiri hosil bo‘lish reaksiyasidir.

## 17§. OZIQ-OVQAT VA OZIQA MAHSULOTLARI ISHLAB CHIQARISHDA BIOTEXNOLOGIYA

Fanning har xil tarmoqlari rivojlanib borishi bilan, inson salomatligi va u oziqlanayotgan mahsulotlar orasida uzviy bog‘liqlik borligi tobora yorqinroq o‘z aksini topib bormoqda. Hozirgi davrga kelib, oziqa mahsulotlari yoki ularning tarkibiga kiruvchi alohida komponentlari ko‘plab xastaliklarga sabab bo‘lishi aniqlangan. Oziqa mahsulotlarini ishlab chiqarishda qo‘llaniladigan yangi texnologik jarayonlar yoki yangi ishlanmalar sog‘lom, yuqori sifatli oziqa tayyorlash imkoniyatlarini yaratadi. Sog‘lomlik bilan oziqa mahsulotlari orasida mavjud bo‘lgan o‘zaro aloqa oziqa tayyorlashning butunlay yangi yo‘nalishi – “Funksional oziqa” tayyorlash va uni ishlab chiqarish uchun turtki bo‘ldi. Sog‘lom oziqa iste’mol qilish g‘oyasi yangi bo‘lmasdan, u o‘tgan asrning 50-yillarida oziqa mahsulotlarini tarkibini qayta ko‘rib chiqish zarurligi haqidagi fikrlarning paydo bo‘lishiga olib kelgan edi. Oradan ko‘p o‘tmay, 1960-yillarda “tabiatga qaytish” degan i shiorlar paydo bo‘lgan edi. Shundan keyin oziqa mahsulotlari tarkibiga kiruvchi xolesterin, yog‘lar, shakar va tuzlarning miqdorini kamaytirish zarurligi isbotlab berildi. Bu esa oziqa mahsulotlarini kaloriya miqdorini pasayishiga olib kelgan hamda oziqa mahsulotlarini tayyorlashga ixtisoslashgan tashkilotlar mana shu ko‘rsatmalarga rioya qilishga majbur bo‘lgan edil. Ayni paytda, oziqa mahsulotlariga bo‘lgan talab biroz

bo‘lsada yana o‘zgardi. Zamonaviy talablarga ko‘ra, oziqa nafaqat sog‘lom, balki u funksional bo‘lishi, ya’ni organizmga maqsadga yo‘naltirilgan holda ta’sir ko‘rsatishi zarur. Jahonda bunday maqsadga yo‘naltirilgan, funksional oziqa tayyorlash bo‘yicha Yaponiya mamlakati karvonboshilik qilib kelmoqda. Bu mamlakatda, oziqa mahsulotlari tayyorlash bilan yuzdan ko‘proq yirik kompaniyalar shug‘ullanishiga qaramasdan ularning faoliyati, ular ishlab chiqarayotgan mahsulotlarninng sifati qattiq nazorat ostiga olingan. Keyingi 10-15 yilda ishlab chiqarilishi yo‘lga qo‘yilgan eng katta ahamiyatga molik bo‘lgan “Funksional oziqa mahsulotlari” sifatida baliq moyi va o‘simliklardan olinadigan antioksidantlarni ko‘rsatish mumkin. Bu mahsulotlar aterosklerotik hamda qon tomirining boshqa kasalliklarini oldini olish xususiyatiga egadir.

Zamonaviy nuqtai-nazarga ko‘ra oziqa mahsulotlari tarkibida β-karotinni ishlatilishi har xil shish kasalliklarini sodir bo‘lishini pasaytirsa, kalsiy tuzlari – osteoporoz xastaligini, maxsus yog‘lar esa – yurak-qon tomir xastaliklarini oldini oladi. Organizmga tushgan sellyuloza tolalari inson organizmini yurak qon-tomir xastaliklardan va shish paydo bo‘lishidan saqlashi aniqlangan. Sink organizmning har xil yuqumli kasalliklarga chidamliligini oshiradi. Magniy yurakning ishemik kasalliklari va o‘tkir yurak xastaliklarini kelib chiqishini oldini oladi. Funksional oziqalarni asosiy komponentlari bo‘lib, parhez tola, oligo- va polisaxaridlar, sut bijg‘ituvchi bakteriyalar, organik kislotalar, aminokislotalar, peptidlar, oqsillar, glyukoza, etil spirti, izoprenoidlar, vitaminlar, to‘yinmagan yog‘ kislotalari (ayniqsa antioksidantlik xususiyatiga ega bo‘lgan birikmalar) xizmat qiladi. Funksional oziqadan foydalanish asosan ikki maqsadga xizmat qiladi: organizmga yetarli (kerakli) miqdorda metabolik zarur bo‘lgan oziqa komponentlari yetkazib berish va uni (organizmni) har xil kasalliklardan himoya qilish. Yangi oziqa mahsulotlarini tayyorlash uchun yuqumli bo‘lmagan, toksin saqlamagan tabiiy komponentlar ishlatilishini e’tiborga olgan holda, bunday mahsulotlarni keng miqyosda ishlab chiqarish uchun tegishli komponentlarni ko‘proq tayyorlash yoki to‘plash eng dolzarb masalaga aylanib qolishini hisobga olish zarur bo‘ladi.

Biotexnologiyaning asosiy vazifasi esa ekologik toza funksional oziqani keng miqdorda ishlab chiqarishdan iboratdir. Biotexnologiya yordamida (fermentativ kataliz, mikroorganizmlarni o‘stirish, hayvon va o‘simlik hujayralarini ko‘paytirish) oziqa mahsulotlarini keng miqdorda tayyorlash imkoniyati yaratiladi. Oziqa mahsulotlarini ishlab chiqarishning biologik bosqichlarini, qator o‘tadigan kimyoviy reaksiyalarni birin-ketinligiga taqqoslash mumkin. Katalizator (ferment) ishtirokida substratni o‘zgarishi tez amalga oshishini e’tiborga olsak, boshqa shunga o‘xshagan reaksiyalardan afzalroq o‘tishini kuzatish unchalik qiyinchilik tug‘dirmaydi. Ko‘p asrlar davomida olib borilgan kuzatishlar, mikroblar yordamida (ishtirokida) amalga oshiriladigan o‘zgarishlar, o‘zlarining tezligi va energiyaga bo‘lgan muhtojliklari bo‘yicha nafaqat kimyoviy reaksiyalardan, balki, boshqa biologik manbalarga nisbatan ham qator ustunliklarga ega ekanliklarini namoyish etgan. Bizdan avval o‘tib ketgan avlod-ajdodlarimiz hali mikroorganizm degan tiriklik borligidan xabarsiz bo‘lgan davrlarda ham ular yordamida xilma-xil oziqa va ichimlik mahsulotlari tayyorlab iste’mol qilishganlar. O‘sha davrlarda qandaydir “aniq bo‘lmagan kuch” borki, u nafaqat mahsulotni tayyorlash jarayonlarida, balki uning buzilib, aynib qolishida ham ishtirok etishi ma’lum bo‘lgan. Insonlar biologik mohiyatini

tushunmasdan, uni bilmasdan turib, mikroorganizmlarni saqlash va ulardan ba’zi bir texnologik jarayonlarda foydalanish yo‘llarini bilganlar.

Mikroorganizmlardan ajralgan fermentlar yordamida tayyorlangan dastlabki mahsulotlar pivo va pishloq (pishloq) bo‘lsa ajab emas. Hozirga kelib, fermentlar yoki mikroorganizmlarni o‘zlari asosida yaratilgan texnologiyalar zamonaviy oziq-ovqat sanoatida yetakchi o‘rinlarda turadilar. Bugungi kunda oziqa mahsulotlari ishlab-chiqarish sanoatning eng keng tarqalgan sohasi bo‘lib, haqiqatda mamlakatning byudjet aylanmasining 20-25% ini tashkil etadi. Oziq-ovqat sanoati birlamchi ishlab chiqarishdan tashqari keng tarqalgan tarmoqlarga ega bo‘lib, ular xilma-xil tipga ega bo‘lgan transport sohasi, tijorat idoralari, idishlar ishlab chiqaruvchi zavodlar, savdo-sotiq tarmoqlari, har-xil izlanish sohalari va boshqalarni o‘z ichiga oladi. Iqtisodiy rivojlangan mamlakatlarda muammolarni tezkorlik bilan hal qilish maqsadida oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqaruvchi kompaniyalar birlashib, yirik multi-milliy kompaniyalarni tashkil etadilar. Yuqori sifatli mahsulotlar ishlab chiqarish ko‘p faktorlarga bog‘liq bo‘lib, ulardan eng muhimlari, urug‘ni sifati, hayvonlarni zoti, seleksiya qilib, tanlab olingan, ko‘p yillik o‘simliklarni sifat belgilari hisoblanadi. Qishloq xo‘jaligi bilan iste’molchilar orasidagi bog‘liqlik odatda oziq-ovqat sanoati orqali amalga oshiriladi.

Oziq-ovqat sanoatining asosiy vazifalaridan biri yuqori sifatli oziqa mahsulotlardan ko‘zga yoqimli, xushbo‘y hidli va ta’mli mahsulot yetishtirishdan iboratdir. Oziq-ovqat sanoati biotexnologiyasining eng muhim, asosiy vazifasi esa zamonaviy biologiya fanlari hamda biomuhandislik fani erishgan yutuqlarni oziqa mahsulotlarining an’anaviy qayta ishlash jarayonlari bilan birga bog‘lab, yangi, zamon talablariga javob beraoladigan, ekologik toza oziqa yetishtirishdan iboratdir. Bu maqsadga faqatgina oziqa mahsulotlarini ishlab chiqarish jarayonlarida biologiya va texnologiya fanlarining eng zamonaviy yutuqlarini joriy qilish orqali erishish mumkin xolos. Zamonaviy biotexnologiyani oziq-ovqat sanoatiga aralashishi uni infratuzulmalarini tubdan o‘zgartirib yubormaydi.

Bunga asosiy sabab taraqqiyotni hozirgi bosqichida, iste’molchi nuqtai nazaridan oziqa mahsulotlari yetishtirishda ko‘proq oziqa mahsulotlarining sifati va kimyoviy tarkibining ilmiy asoslangan ko‘rinishiga nisbatan ularni an’anaviy ko‘rinishda bo‘lishi maqulroq ko‘rinadi. Mutaxassislarni baholashlaricha (shu jumladan patentlar ham), yangi oziqa mahsulotlari tayyorlash bilan bog‘liq bo‘lgan ilmiy izlanishlar tayyor mahsulotni tan narxini 2% dan oshmaydi. Ko‘pincha mahsulot katta miqdorda ishlab chiqariladi va iste’molchini qiziqishini e’tiborga olgan holda imkoniyat boricha pastroq baholanadi. Biotexnologiyaning zamonaviy usullari oziqa tarkibiga kiruvchi alohida komponentlarni katta hajmda va ko‘plab ishlab chiqarish imkoniyatini yaratadi. Masalan, oziq-ovqat sanoatida ishlatish uchun zarur bo‘lgan organik kislotalar, aminokislotalar. Bu mahsulotlar odatda o‘rtacha baholanadi. Kam miqdorda ishlab chiqariladigan, qimmatbaho mahsulotlar sirasiga, yuqori tozalikga ega bo‘lgan oqsil moddalar, shakar o‘rnini bosadigan moddalar kiradi.

Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqaruvchi korxonalar, sanoatni boshqa tarmoqlarining korxonalariga nisbatan o‘ziga xoslikga ega. Ishlab chiqariladigan mahsulotlarni ko‘p sonliligidan tashqari, ular muayyan sharoitdagi iste’molchini talablaridan kelib chiqqan holda har xil hajmda ishlab chiqariladi. Ular orasida

minglab ishchilarni ish bilan ta’minlaydiganlaridan boshlab atigi 2-3 kishi bilan chegaralanadigan kichik sexlargacha bor. Bu korxonalar har xil texnologik jarayonlardan foydalanadilar. Masalan, mexanik operatsiyalar (maydalash, elash, kesish, ekstraksiya qilish, ezish, aralashtirish, filtrlash), biologik jarayonlar, jumladan fermentativ reaksiyalar va mikrobiologik jarayonlar (aerob, anaerob); kimyoviy o‘zgarishlar (gidroliz, sintez va boshqalar); fizik ta’sir (cho‘kmaga ajralish, harorat ta’siri, bosim, quyosh nuri bilan ishlov berish). Yaqin kelajakda oziq-ovqat sanoati, o‘simliklarni hosildorligini oshishi, mikroorganizmlar va hayvonlarni masuldorligini ko‘payishi hisobidan yanada rivojlanib ketadi deb taxmin qilinmoqda. Bu maqsadga erishish uchun har xil usullardan, masalan, seleksiya, mutagenez, hujayra va gen muhandisligi usullaridan foydalaniladi. Oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish texnologiyalariga gen muhandisligini kiritish hisobidan anchagina o‘zgarishlarga erishish kutilmoqda. Serhosil, har xil kasalliklarga chidamli bo‘lgan, tez rivojlanuvchi transgen mikroorganizmlar, o‘simliklar va hayvonlardan foydalanish bu tarmoqni rivojlanishiga yangi turtki bo‘lishi mumkin. Zamonaviy biotexnologiya oziq-ovqat sanoatini barcha tarmoqlari bilan, (shu jarayonda ishlatiladigan organizmlarni sifatini yaxshilashdan boshlab, oziqa mahsulotlarini sifatini tuzatishgacha) chambarchas bog‘liqdir.

40-jadval

**Oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish jarayonlarida ishlatiladigan fermentlar**

| Jarayon | Ferment |
|---|---|
| Kraxmal gidrolizi | α-amilaza, β-amilaza, glyukoamilaza |
| Fruktoza-glyukoza sharbati ishlab chiqarish | Pullulanazalar, ksilozoizomeraza, sellyulaza, ksilanaza. |
| Sut mahsulotlarini qayta ishlash | Renin, laktoza, lipaza. |
| Pivo ishlab chiqarish | α -amilaza, β - amilaza, poligalakturanaza, pektinliaza, ksilanaza. |
| Nonvoychilik | α - amilaza, proteaza, lipoksigenaza, fosfolipaza A, fosfolipaza D. |

Biotexnologiyani achish-bijg‘ish jarayonlarida yanada faolroq ishtirok etishi kutilmoqda. Oziqa mahsulotlari (non, pishloq, qatiq, kefir, yogurt), ichimliklar (vino, pivo, konyak, viski, sake, vodka), sabzavotlarni tuzlanganlari (fermentativ yo‘l bilan olinganlari), - ko‘psonli biokimyoviy reaksiyalar oqibatida yengil hazm bo‘luvchi, sifatli, yoqimli mazali oziqa mahsulotlariga aylanib boradilar. Buni ustiga zamonaviy biotexnologiyani yangi imkoniyatlarini masalan, mikroorganizmlarni yirik (1000-3000 $m^3$) reaktorlarda o‘stirish, membranalar orqali filtrlash, separatsiya qilish (ajratish) hisobga olinganda oziq-ovqat mahsulotlarini yangi, sifatli, hamda ularni ko‘p miqdorda ishlab chiqarishda biotexnologiyani roli beqiyos ekanligi yanada yorqin namoyon bo‘ladi. Oziqa mahsulotlari ishlab chiqarish jarayonida namoyon bo‘ladigan o‘zgarishlar, o‘z o‘zidan, tabiiy biologik jarayon bo‘lib, ular shu mahsulotlar tarkibida bo‘lgan fermentlar yordamida amalga oshadilar. Ikkinchi

tomondan esa texnologik jarayonlarni jadallashtirish va ularni sifatini yaxshilash maqsadida reaksiya muhitiga tashqaridan qo‘shimcha kerakli ferment preparatlari kiritiladi.

**Sabzavotlarni fermentatsiya qilish**. Sabzavotlarni konservatsiya qilishni eng qadimiy usullaridan biri, bu sho‘r suvdan foydalanishdir. Bu jarayonda sut achituvchi bakteriyalar ishtirok etadilar. Bunda konservant rolini osh tuzi va sut kislotasi bajaradilar. Ko‘pgina mamlakatlarda bu usuldan sanoat miqyosida foydalaniladi. Karam, bodring va boshqa sabzavotlar tuzli suvda bijg‘itish yordamida konservatsiya qilinadi. Ba’zi hollarda ba’zi-bir sabzavotlar yoki mevalar oldindan ishlov berishni talab qiladi. Masalan, maslinani 18% li sho‘r suvga solishdan oldin uni sathida joylashgan oleorupein – nomli glikozid moddasi chaqiradigan qo‘lansa hidni yo‘qotish maqsadida natriy gidrooksidini eritmasi bilan ishlov beriladi.

Sabzavotlar sho‘r suvda birin-ketin mikroorganizmlar ta’siriga uchraydilar. Dastlab, kislorod bo‘lganligi sababli sho‘r suvda aerob mikroblar rivojlanadilar. Shunga qaramasdan, tezkorlik bilan sut achituvchi bakteriyalar va achitqichlar (*Saccharomyces, Torulopsis*) rivojlana boshlaydi, oqibatda sut kislotasi va sirka kislotasi hosil bo‘ladi. Bijg‘ishni oxirgi bosqichida achitqichlarni rivojlanishlari uchun yaxshiroq sharoit tug‘iladi. Achishi mumkin bo‘lgan uglevodlar tugashi bilan bijg‘ish jarayoni to‘xtaydi. Bijg‘ish jarayonini boshqarish maqsadida, o‘z-o‘zidan hosil bo‘ladigan mikroflora o‘rniga kerakli bo‘lgan bakteriyalarni toza shtammlaridan foydalanilmoqda. Bunday sharoitda haroratni (7,5$^{o}$C) va tuzni konsentratsiyasini (2,3%) aniq ushlab turish hisobidan yuqori sifatli tuzlangan sabzavot mahsulotlari tayyorlanishiga erishiladi. Bijg‘ish jarayonida sabzavot mahsulotlari mikroorganizmlarni xushbo‘y hid va o‘ziga xos maza beruvchi metabolitlari bilan to‘yinadilar. Bundan tashqari ular oqsil moddalari bilan ham to‘yinadilar. Sut kislotali bijg‘ish orqali mahsulot tayyorlash geografiyasi ko‘proq Sharq mamlakatlariga xosdir. Masalan, tuzlangan baliq – bu sharq taomidir.

Soya o‘simligi urug‘ini sut kislotali bijg‘itish orqali olinadigan oziqa mahsulotlari ham Sharq mamlakatlariga xosdir. Ma’lumki, soya urug‘idan juda ham xilma-xil mahsulotlar tayyorlanadi. Xitoy, Yaponiya, Koreya, Malayziya, Indoneziya mamlakatlarida soya urug‘ini mikroorganizmlar yordamida ishlov berish orqali ko‘p sonli mahsulotlar tayyorlanadi. Masalan, Indoneziyada tayyorlanib, butun jahonda noyob (delikates) hisoblangan «Tempe nedele» nomli taom soya urug‘idan fermentatsiya qilish orqali tayyorlanadi. Soyadan tayyorlangan ovqatga xushbo‘y hid beruvchi va uni oqsil moddalari bilan boyituvchi Koreya va Xitoy taomlari ham butun dunyoga ma’lum.

Xitoyning an’anaviy ovqati – “Sufu” - soyani *Mucor* zamburug‘i bilan boyitish orqali tayyorlanadi. Yaponiya delikatesi – “Natto” soyani *Aspergillus oryzae* zamburug‘i bilan qayta ishlash orqali tayyorlanadi. Ko‘pchilik hollarda soya o‘simligini yuvib, tozalab unga zamburug‘ ekiladi. Zamburug‘ (*Rhizopus, Mucor, Aspergillus*) sekin o‘sib, rivojlanib, o‘simlik to‘qimalarini oralariga, ichiga kirib ketadi va o‘zidan nafaqat serkaloriyali oqsil moddalari, balki xushbo‘y hid hamda o‘ziga xos bo‘lgan maza beradigan biologik moddalar chiqaradi. Sharq taomlarini delikatesligi ham ana shunda. Shu o‘rinda, qadimiy Xitoy ovqati bo‘lib kelgan, endilikda Yaponiya va boshqa mamlakatlarida ham keng iste’mol qilib kelinayotgan sousni texnologiyasini keltirishni lozim topdik. Bu sousni tayyorlash uchun dastlab

tuzlangan soya urug‘ini *Aspergillus oryzae* zamburug‘i bilan fermentatsiya qilinadi. Hosil bo‘lgan eritmaga tuzli suv qo‘shiladi va 8-12 oy mobaynida big‘jishga qo‘yiladi. Aralashma tipidagi bu bijg‘ish asosan *Pediococcus Soyae* bakteriyasi va *Saccharomyces rouxii* va *Torulopsis* achitqi zamburug‘lari tomonidan amalga oshiriladi. Bunday murakkab bijg‘ish oqibatida, mahsulot to‘lig‘icha mikroorganizmlar metabolitlari – sut kislotasi va boshqa oziqa kislotalari hamda etil spirtidan iborat mahsulotga aylanadi. Bijg‘ish jarayoni tugagach, tayyor mahsulot siqiladi va idishlarga quyiladi. Bunday mahsulotni “Moromom” deb yuritiladi.

**Choy va kofe tayyorlash**. Sharq mamlakatlarida choy ichimligi qadim-qadimlardan buyon darmon beruvchi ichimlik sifatida iste’mol qilinib kelingan bo‘lsada, choy tayyorlash texnologiyasi XX-asrlarda yaratilgan, xolos. Choy mahsulotlarini xilma-xilligi o‘simlikni turiga va choy bargiga ishlov berish texnologiyasiga bog‘liq. Choy tayyorlashni uch xil texnologiyasi ma’lum: - qora, ko‘k va dubil moddalarini oksidlanganlik darajasi har ikkalasini orasida bo‘lgan uchinchi xil choy. Tayyor choy fermentatsiya darajasiga qarab quyidagi kategoriyalarga bo‘linadi:

- fermentlanmagan choy, - bunda dubil moddalarning (katexinlarni) oksidlanish darajasi 12% dan oshmaydi;
- kam fermentatsiyalangan choy – dubil moddalarning oksidlanish darajasi 12-30%;
- fermentatsiyalangan choy – dubil moddalarning oksidlanish darajasi 35-40%.

Har bir kategoriyaga kiruvchi mahsulotlar oksidlanish darajasiga qarab, o‘z navbatida yana bir necha kichik guruhlarga bo‘linadi. Fermentlanmagan choy – bu ko‘k choy. Oksidlovchi fermentlarni faolligini yo‘qotish uchun mahsulot suv bug‘i yoki issiq, nam havo bilan ishlov berilgan. Oqibatda ishlov berishni keyingi bosqichlarida choy bargida fermentativ oksidlanish o‘tmaydi.

Ikkinchi kategoriyali choy – kamfermentatsiyalangan, qisman fermentatsiya qilinadi; bunday choyga sariq, olrang (qizil) va qora choylar kiradilar.

Agar ko‘k choy tayyorlashda asosiy maqsad katexinlarni sof holda saqlab qolish bo‘lsa, fermentatsiya qilingan, qora choyda choy bargidagi katexinlarni barchasini imkoni boricha to‘liq oksidlash turadi. Bu texnologiya asosida tayyorlangan qora choy o‘ziga xos xushbo‘y hidga ega bo‘lib, yaxshi damlanadi.

Qora choy tayyorlash uchun yangi terilgan choy barglariga quyidagicha ishlov beriladi: so‘ldiriladi, buraladi, fermentatsiya qilinadi va quritiladi. So‘ldirish muhim texnologik bosqich hisoblanadi, chunki bunda choy bargida asosiy biokimyoviy o‘zgarishlar sodir bo‘ladi, choyni ta’mini belgilovchi xushbo‘y birikmalar buralish va fermentatsiya bosqichida paydo bo‘ladi. So‘ldirish bosqichida asosan peroksidaza va polifenoloksidaza (piragalol yadrosi saqlagan katexinlarni oksidlanishi) fermentlarini ta’siriga muhim e’tibor beriladi. Buralish davrida choy bargini strukturasiga shikast yetadi va hujayralar buziladi, oqibatda oksidlovchi fermentlarni o‘zlarini substratlari bilan uchrashuviga imkon yaratiladi. Choy bargida fermentatsiya endogen fermentlar hisobidan amalga oshiriladi. Xuddi mana shu xususiyati bilan choy tayyorlash texnologiyasi oziq-ovqat sanoatini boshqa texnologiyalaridan farq qiladi. Chunki ko‘pchilik texnologiyalarda ferment preparatlari jarayonni tezlashtirish maqsadida tashqaridan qo‘shiladi. Choy tayyorlash texnologiyasida fermentatsiya asosiy jarayon

hisoblanadi va tayyor mahsulotni sifatini belgilaydi. Buralish davrida, hujayra strukturasi buzilib katexinlarni polifenoloksidaza fermenti ishtirokida jadal oksidlanadilar va natijada xinoinlar hosil bo‘ladi. Keyin xinoinlar kondensatsiyaga uchrab, qo‘ng‘ir rangli moddaga aylanadilar. Bu jarayonni quyidagicha izohlash mumkin:

$$\text{Katexin} + O_2 \rightarrow \text{O–xinon} + H_2O \; n(\text{O–xinon}) \rightarrow \text{rangli polimer mahsulotlari}$$

Shunday qilib, choy bargining fermentatsiyaga uchrash jarayonida katexinlar oksidlanib kondensatsiyaga uchraydilar, natijada ishlov berilgan choy barglarida katexinni oksidlangan mahsulotlari- teoflavinlar va tearubiginlar to‘planadi. Bu moddalar choyni mazasini, ta’mini va xushbo‘y hidini belgilaydi. Shubhasiz, choy tayyorlashni asosini tashkil qiluvchi fermentativ oksidlanish jarayonida biotexnologiyani roli eng muhimdir. Masalan, bu ma’lum shakldagi katexinlarni miqdoriy o‘zgarishi yoki oksidlanish jarayonida to‘g‘risidan-to‘g‘ri ishtirok etuvchi fermentlarni genlarini faollashuvi bilan bog‘liq bo‘lgan jarayonlardir.

Eruvchan kofe tayyorlash texnologiyasi to‘g‘risida fikr yuritiladigan bo‘lsa, bu masala juda ham kam o‘rganilgan. Kofe tayyorlash texnologiyasi quyidagicha: kofe mevasi suvda ekstraksiya qilinadi, erimasdan qolgan cho‘kma, eritmadan ajratiladi va uni tabiiy fermentatsiyasi amalga oshadi. Bu jarayonda bakteriyalar va achitqi zamburug‘lari ishtirok etadilar. Xuddi mana shu jarayon kofega hid va ta’m berishda muhim ahamiyat kasb etadi. Umuman olganda kofe tayyorlash texnologiyasi chuqur ilmiy asosga ega emas. Shunga qaramasdan kofening sifati ko‘pchilik hollarda (deyarli hamma vaqt) kommersiya talablariga to‘liq javob beraoladi. Kofe iste’mol qilish butun dunyoda tobora oshib bormoqda. Hozir Lotin Amerikasi mamlakatlari va AQShda kofe tayyorlashni ilmiy asoslari chuqur tahlil qilinmoqda.

**Pishloq tayyorlash**. Sut mikroblar yordamida tabiiy yo‘l bilan qayta ishlangan birinchi mahsulot hisoblanadi. Chunki sut tarkibida mikroorganizmlar oziqlanib, ko‘payishlari uchun zarur bo‘lgan deyarli barcha komponentlar mavjud bo‘lib, shuning uchun ham u tez achib qoladi. Bu jarayonni asosini sut shakari – laktozani sut kislotasiga aylanishi tashkil etadi. Ming yillar davomida sutni o‘zidan-o‘zi achib qolish sabablari o‘rganilib kelingan va oqibatda sutdan achib qolish sabablari o‘rganilib, sutdan achitish orqali pishloq va boshqa mahsulotlar tayyorlash texnologiyalari yaratilgan. Pishloq tayyorlash uchun sutga ma’lum avlodga mansub bo‘lgan bakteriya solinadi. Tayyorlanadigan mahsulotni sifati, xushbo‘yligi, va boshqa qator xususiyatlari mana shu bakteriyalarni avlodi va turiga bog‘liqdir. Sutning achishi davomida sut achituvchi bakteriyalarni ko‘payishi muhim texnologik jarayon hisoblanadi, chunki ko‘payishga moyil bo‘lgan bakteriyalar boshqa avlodga yoki turga mansub bo‘lgan bakteriyalarni o‘sib, ko‘payishiga yo‘l qo‘ymaydi va shu tufayli mahsulotga o‘ziga xos sifat, ya’ni hid va ta’m beradi. Sut achituvchi bakteriyalar oshqozon-ichak mikroflorasiga ijobiy ta’sir qiladilar. Sutga bakteriya solingandan keyin, u ma’lum haroratda ushlab turiladi, bu esa sutni achishiga olib keladi. Bu jarayonni chuqurroq o‘tkazish maqsadida, ya’ni sut tarkibidagi oqsil moddalarni parchalash uchun unga qo‘shimcha proteolitik fermentlar solinadi. Bunday fermentlar qo‘zichoqni yoki buzoqchani oshqozonidan olinib, u sichuj fermenti yoki renin deb ataladi. Renin sut emgan buzoqcha yoki qo‘zichoq –

oshqozonini to‘rtinchi bo‘limida hosil bo‘ladi. Hayvonning yoshiga qarab sichuj fermenti o‘rniga boshqa proteolitik fermentlar hosil bo‘la boradilar va ular pishloq hosil qilaolmaydilar.

Har yili butun dunyoda 25 mln. litrga yaqin sichuj fermenti ishlab chiqariladi. Shunga qaramasdan bu fermentga bo‘lgan ehtiyoj to‘lig‘icha yetarli emas. Chuqur ilmiy izlanishlar natijasida sichuj fermentiga o‘xshagan spetsifiklikga ega bo‘lgan mikrob fermenti topilgan va u qisman bo‘lsada bu fermentni o‘rnini bosish uchun pishloq tayyorlash texnologiyalar reglamentiga kiritilgan.

Yana bir biotexnologik jarayon – bu renin sintez qiladigan genni ajratib olinib, u mitselial zamburug‘lar genomiga kiritilgan va shu yo‘l orqali sыchug fermentini juda ham o‘xshash muqobili yaratilgan. Shunday qilib, sыchug fermenti sanoat sharoitida hayvonlar oshqozonidan (buzoqcha, qo‘zichoq, cho‘chqa bolasi) va zamburug‘lardan olinadi.

1998-yilning ma’lumotiga qaraganda, zamburug‘lardan ajratiladigan renin fermentining muqobili, bu fermentga bo‘lgan talabni uchdan bir qismini qoplay olgan. Mikrob fermentlari pishloq ishlab chiqarish an’anaviy katta bo‘lgan mamlakatlar – AQSh va Fransiyada ko‘proq ishlatiladi.

Sutga ferment solinganidan ko‘p o‘tmasdan sutdagi kazein oqsili qisman parchalanadi. Koagulyatsiyaga uchragan kazein gelsimon massani hosil qiladi va yog‘ bilan yopishadi, shundan keyin ajralgan zardobi filtrlab ajratib olinadi, quyuq massa siqilib, qolgan suyuqlik iloji boricha ajratib tashlanadi va surpga yoki boshqa materialga o‘rab quritiladi. Keyingi bosqich – pishloqni pishirish (yetiltirish). Sutdan pishloq tayyorlash – degidratatsion jarayon bo‘lib, unda kazein hamda sut tarkibidagi yog‘ moddalari 6-12 marotaba quyuqlanadi.

Ba’zi-bir pishloqlarni yetiltirish jarayonida unga tashqaridan mikroorganizmlar (bakteriyalar va zamburug‘lar) solinadi, bu esa pishloqqa xushbo‘y hid, o‘ziga xos ta’m beradi. Tabiatda bakteriyalar avlodi va turlari o‘ta ko‘p bo‘lgani uchun ham pishloqni turlari yildan yilga kengayib bormoqda.

Pishloqni ta’mi, xushbo‘yligi va sifati sutni turi (echki, qo‘y, sigir suti) pishloq tayyorlash harorati, ikkilamchi mikroflorani ishtiroki kabi omillarga bog‘liq.

Quyida tijorat uchun ishlab chiqariladigan pishloqlardan ba’zi-birlarini keltirib o‘tamiz:

- pishib yetilmagan pishloq;
- kam miqdorda yog‘ saqlagan tvorog;
- yuqori miqdorda yog‘ saqlagan kremsimon pishloq;
- pishib yetilgan pishloq;
- qattiq pishloq;
- “Guda” - qo‘y sutidan tayyorlangan pishloq;
- “Cherder” yoki “Shvetsariya” pishlog‘i (bakteriyalar ta’sirida pishiriladi);
- “Rokfor” yoki boshqa ko‘k rangli pishloq (maxsus avlodga mansub mikroskopik zamburug‘ ta’sirida pishiriladi);
- Yumshoq pishloq;
- “Suluguni”;
- “Limburger” (bakteriyalar ta’sirida pishiriladi);

- “Kamamber” (bakteriyalar va zamburug‘lar ta’sirida pishiriladi).

41-jadval

**Har xil turdagi pishloqlarning yetilishida ishtirok etuvchi mikroorganizmlar**

| Pishloq turi | Sut achituvchi bakteriyalar | Ikkilamchi mikroflora |
|---|---|---|
| **Yumshoq pishib yetilmagan pishloqlar** | | |
| Kottedj | *Streptococcus lactis* | *Lenconostoc citrovorum* |
| Nevshatel | *Streptococcus sremoris, Streptococcus diacetilactis* | |
| **Yumshoq yetilgan pishloqlar** | | |
| Bri | *Streptococcus lactis* | *Penicillium camemberi* |
| Kamamber | *Streptococcus cremoris* | *Penicillium canoliolum* |
| **Yarimyumshoq pishib yetilmagan pishloqlar** | | |
| Rokfor | *Streptococcus lactis* | *Penicillium rogueforti* |
| Azyago | *Streptococcus cremoris* | *Penicillium claucum* |
| Brik | *Streptococcus thermophilus* | *Brevibacterium linens* |
| Gorgonzola | *Streptococcus sp* | |
| Monter | *Streptococcus sp* | |
| Suluguni | *Streptococcus sp* | |
| **Qattiq yetilgan pishloqlar** | | |
| Chedder | *Streptococcus lactis* | *Penicillium rogueforti* |
| Shveysarskiy | *Streptococcus cremoris* | *Penicillium glaucum* |
| Stilton | *Streptococcus durans* | *Lactobacillus casci* |
| Kolbi | *Streptococcus thermophilus* | *Lactobacillus helvericus* |
| Gruer | *Streptococcus sp* | |
| **Juda qattiq yetilgan pishloqlar** | | |
| Parmidjano | *Streptococcus lactis* | |
| Romano | *Streptococcus cremoris* | |
| Guda | *Streptococcus bulgaricus* | |
| **Pastasimon (erigan) pishloqlar** | | |
| Mozarella | *Streptococcus lactis* | *Lactobacillus bulgaricus* |
| Provolone | *Streptococcus thermophilus Lactobacillus bulgaricus* | |

Yumshoq pishloqni ikki xili sotuvga qo‘yilgan (50-80% namlikga ega) – pishib yetilgan va pishib yetilmagan. Pishib yetilmagan yumshoq pishloq, misol uchun tvorog, texnologik halqa tugagandanoq tayyor mahsulot sifatida savdoga qo‘yiladi. “Kamambera” yoki “Bri” nomli yumshoq pishloq tayyorlash uchun maxsus achitqi zamburug‘lari yoki *Penicillium* zamburug‘uning maxsus shtammlari ishlatiladi. Yumshoq pishloqlarni ba’zi navlari tvorog ta’mini beradi. «Limburger» tipidagi pishloqqa tuzlik suv bilan ishlov beriladi, bu esa sut achituvchi bakteriyalar, achitqi zamburug‘lari va bakteriyalar ko‘payishini tezlatadi.

Yarimqattiq pishloq tayyorlash uchun yetilgan massani namligini pasaytirish maqsadida yuqori haroratda ushlab turiladi.

Bunday pishloqlarni o‘rtacha namligi 40-45% dan oshmasligi kerak.

“Cherder” tipidagi qattiq pishloq 40% gacha namlik saqlaydi. Qattiq pishloq tayyorlash uchun tayyor massaga *Penicillium rogueforti* zamburug‘ining sporalari aralashtiriladi va g‘ovakchalar paydo qilish uchun massaga havo yuboriladi. Zamburug‘larni paydo bo‘lishi pishloqga o‘ziga xos bo‘lgan xushbo‘y hid va ta’m beradi. Bunday pishloqlar Yevropa mamlakatlarida sevib iste’mol qilinadi. Bu tipdagi pishloqlarga “Rokfor”, “Stilton”, “Gorgonzola”, “Daniya ko‘ki” kabilar kiradi. “Gruer” pishlog‘i qattiq pishloqlarni maxsus sinfiga kiradi. Bu tipdagi pishloqlarni tayyorlash davrida an’anaviy usullar bilan birgalikda massaga propion achituvchi bakteriyalar (*Propionbacterium shermanii*) aralashtiriladi. Bunday bakteriyalar o‘zlaridan karbonat angidridi chiqaradi – bu esa mahsulotga o‘ziga xos xushbo‘y hid beradi.

Sutdan boshqa mahsulotlar ham tayyorlash mumkin. Ulardan ajralib turadiganlari nordon mahsulotlardir. Masalan, ko‘pchilik mamlakatlarda yogurt tayyorlanadi. Gruziyada uning muqobili matsoni tayyorlanadi. Odatda yogurt sutga *Lactobacillus bulgaricus* va *Streptococcus thermophilus* o‘stirish orqali tayyorlanadi. Bu jarayonda *L.bulgaricus* atsetaldegid hosil qiladi, atsetaldegid hosil qiladi, *Streptococcus thermophilus* sintez qiladigan fermentlar yordamida sut shakari laktoza sut kislotasiga aylanadi va shu tufayli yogurtga xos bo‘lgan nordon ta’m paydo bo‘ladi.

Smetana (qaymoq), qimiz, kefir, vilya (Finlyandiyada keng iste’mol qilinadigan ichimlik) va boshqa mahsulotlar sut achituvchi bakteriyalar bilan ishlov berilgan sutni pasterizatsiya qilish orqali tayyorlanadi.

**Alkogolli ichimliklar tayyorlash**. Xilma-xil ichimliklar tayyorlashda biotexnologik usullardan foydalanish tobora oshib bormoqda. Alkogolli ichimliklar o‘zlarini belgilariga, ko‘rsatkichlariga qarab har xil guruhlarga bo‘linishi mumkin. Shunday bo‘lsada, ularni texnologik ko‘rsatkichlariga qarab, fermentlangan va fermentlanmagan guruhlarga bo‘lish maqsadga muvofiq bo‘lur edi. Ichimlik tarkibidagi alkogolni miqdoriga qarab esa – konsentrlangan, distillangan va konsentrlanmagan guruhlarga bo‘lish mumkin. Fermentatsiya jarayoni (bijg‘ish) nafaqat spirt hosil bo‘lishni o‘z ichiga oladi. Bu jarayonda achitqi zamburug‘larni metabolik imkoniyatlaridan kelib chiqqan holda achiyotgan muhitda qator birikmalarni ketma-ket o‘zgarib turishlarini kuzatish mumkin.

Zamonaviy biotexnologik usullar orqali mana shu bijg‘ish jarayonida ishtirok etadigan organizmlarning metabolik imkoniyatlarini yanada kengaytirish

imkoniyatlari yaratiladi. Bu esa alkogolli ichimliklar tayyorlashda biotexnologiyani rolini aniqlab beradi.

Ko‘pchilik alkogolli ichimliklar boshoqli o‘simliklarni urug‘ini yoki boshqa kraxmal saqlovchi mahsulotlarni qayta ishlash orqali tayyorlanadi. Rossiya, Gollandiya, Olmoniya, Polsha, Skandinaviya mamlakatlari va boshqa ko‘pgina mamlakatlarda pivo va boshqa baquvvat ichimliklarni boshoqlardan tayyorlash an’anaga aylangan. Yevropaning janubiy mamlakatlari Ispaniya, Italiya, Fransiya, Gretsiya, Yugoslaviya, Gruziya, Armanistan, Moldovada bunday ichimliklarni asosan uzumdan tayyorlashadi. Har xil quvvatga ega bo‘lgan ichimliklarni har xil mevalar (olma, olxo‘ri, tut mevasi, shaftoli, tropik va subtropik o‘simliklarni mevalari) va asaldan tayyorlash ham an’anaga aylanib bormoqda. Alkogolli ichimliklarni odatdan tashqari ko‘p xilda chiqarilishini bir necha sabablari bor. Bunday sabablardan asosiysi – ichimlik chiqarayotgan mamlakatni iqlim sharoiti bilan bog‘liq. Osiyo mamlakatlarida alkogolli ichimliklar tayyorlash bo‘yicha katta tajribalar yo‘q. Odatda, qadimda sharob tayyorlangan (bu ham iqlim bilan bog‘liq bo‘lsa ajab emas). Hozirda ishlab chiqariladigan ichimliklar tashqaridan keltirilgan texnologiyalar asosida tayyorlanadi, shuning uchun bo‘lsa kerak sifati bo‘yicha boshqa mamlakatlarda chiqariladiganlaridan ancha farq qiladi.

Alkogolli ichimliklarni ishlab chiqarish va sotish, o‘rta asrlardanoq mustahkam biznesga aylangan. Mana shuning uchun ham bunday ichimliklarni (vino, konyak, viski, aroq) tayyorlash jarayonlariga biror-bir yangilik kiritish katta qarshiliklarga uchraydi. Shuni alohida ta’kidlash lozimki, “qo‘l bola” ichimliklar tayyorlash muammosi butun dunyoda keng tarqalgandir. Afsuski, alkogolli ichimliklar tayyorlashda yagona xalqaro nazorat tizimini tashkil qilish imkoniyati yaratilganicha yo‘q.

Alkogolli ichimliklar tayyorlash uchun o‘simlik substratlaridan – mono-, di-, oligosaxaridlar va polisaxaridlardan (kraxmal, sellyuloza, ba’zida gemitsellyuloza) foydalaniladi. Polisaxaridlarni oldindan parchalashga (gidroliz) to‘g‘ri keladi. Bu jarayon esa, tegishli fermentlar yordamida (kraxmal – amilazalar; sellyuloza va gemitsellyuloza esa sellyulolitik fermentlar), kamdan kam hollarda konsentrlangan noorganik kislotalar (sulfat yoki xlorid kislotalari) ishtirokida amalga oshiriladi. Polimerlarni kislotalar yordamida parchalash odatda texnik maqsadlar uchun ishlatiladi.

Sellyuloza va gemitsellyuloza saqlovchi mahsulotlar oziqa spirti tayyorlash uchun odatda yaroqsiz hisoblanadi va shuning uchun ham ular faqatgina texnik maqsadlar uchun spirt olishga ishlatiladi. Substratlarga tegishli ishlov berilgandan keyin (polisaxaridlar parchalangandan so‘ng), shakar eritmasiga achitqi zamburug‘i solinadi. Odatda bu maqsadda saxaromitsetlar (*Sacharomyces sp*.) ishlatiladi. Kamdan-kam hollarda bakteriyalardan – *Zymomonas mobilis*dan foydalaniladi. Bunday usul ko‘proq Markaziy Amerika mamlakatlarida ko‘proq ishlatiladi. Saxaromitsetlar har xil monosaxaridlarni – glyukoza, fruktoza, galaktoza; va disaxaridlarni – saxaroza, maltozani etil spirtigacha bijg‘itib beradilar. Saxaromitsetlarni boshqa avlodga mansub bo‘lgan achitqi zamburug‘lariga nisbatan etil spirtiga chidamli ekanligi aniqlangan.

42-jadval

**Fermentlangan, distillanmagan alkogolli va alkogolsiz ichimliklar**

| Substrat | Ichimlik | Ishlab chiqaradigan mamlakatlar |
|---|---|---|
| Boshoqlilar, arpa (kraxmal) | Pivo<br>El | Markaziy Yevropa<br>Belgiya, Germaniya, Kanada |
| Arpa, sholi, javdar, shakar lavlagi | Kvas | Rossiya, Ukraina, Germaniya |
| Proso | Bouza<br>Tumba | Ukraina<br>Indiya |
| Sholi, mevalar, uzum, chiqindilari (grapagacha) | aroq<br>Sake<br>Sont | Yaqin sharq, Xindiston, Rossiya, Italiya, Gruziya<br>Yaponiya<br>Hindiston |
| Sholi | Gang-chu | Xitoy |
| Uzum | Vino | Yaqin sharq. Yevropa, Xitoy, Avstraliya, Janubiy Amerika, AQSh, Markaziy Osiyo. |
| Olma | Sidr | Buyuk Britaniya, Fransiya. |
| Asal | | Buyuk Britaniya, Rossiya. |

43-jadval

**Fermentlangan, quvvatli ichimliklar**

| Substrat | Mahsulot |
|---|---|
| Melassa | Rom |
| Agava | Tekila |
| Olxo‘ri | Slivovitsa |
| Olcha | Kirgi |
| Uzum | Konyak (brendi) |
| Makkajo‘xori, roj | Burbon, viski |
| Kartoshka, bug‘doy, roj | Aroq |
| Arpa | Viski |
| Arpa, kartoshka | Akvatit |
| Nok | Nok brendisi |
| Sholi | Xitoy brendisi |

Bijg‘ish jarayoni tugaganda aralashmada 14-16% gacha etil spirti to‘planadi. Bijg‘ib turgan muhitda etil spirtini bu miqdori achitqi zamburug‘ini o‘sishini to‘xtatadi, bu vaqtga kelib muhitni nordonligi ko‘tarilib boradi. Bunga sabab, saxaromitsetlar tomonidan sintez bo‘ladigan organik kislotalarni miqdorini oshishidir. Bijg‘ish jarayonida hosil bo‘lgan spirt eritmasini biologik xususiyati, to‘g‘ridanto‘g‘ri suyultirilgan spirt eritmasidan mana shu bilan farq qiladi. Texnologik halqani keyingi bosqichi – bu distillyatsiyadir. Bu jarayon va unda ishlatiladigan asbob uskunalar ilmiy va texnikaviy adabiyotlarda keng yoritilgan. Distillyatsiya – bu etil spirtni konsentratsiya qilish va uni toza fraksiyasini ajratishdir. Mana shu bosqich keng ma’noda alkogolli ichimliklarni sifatini belgilab beradi. Ba’zi bir hollarda tayyor mahsulotni organoleptik sifatlarini tuzatish maqsadida, etil spirtni o‘ziga xos hid va xushbo‘ylik beradigan moddalarda tindirib ham qo‘yiladi. Odatda quvvatli ichimliklarda etil spirtini miqdori 20-50% orasida bo‘ladi. Quvvatga soladigan ichimliklar va likyorlar tayyorlanganida har xil o‘simliklarni gullaridan, barglaridan va mevalardan ajratib olingan xushbo‘y moddalardan foydalaniladi. Bu maqsadda sintetik moddalardan ham foydalanish yo‘lga qo‘yilgan.

*Vino*. Bir ko‘rinishda ajablanarli tuyulsada, vino tayyorlash texnologiyasi pivo tayyorlashga nisbatan oddiyroq hisoblanadi. Bu jarayon 5000 yillar mobaynida deyarli o‘zgarmadi. Taxmin qilishlaricha, vino yaqin Sharq va Yevropa mamlakatlarini ichimligi hisoblanadi, bu hududlarda tokni (*Vitis vinifera*) har xil navlari o‘stiriladi. Bugungi kungacha vinochilik Fransiya, Italiya, Ispaniya, Germaniya, Gretsiya, Vengriya, Moldova, Rossiya, Ukraina, Kavkaz orti mamlakatlari, hattoki Markaziy Osiyo mamlakatlari, Xitoy va boshqa mamlakatlarda ham keng rivojlangan. Bu mamlakatlarda tokni endemli navlari ko‘proq tarqalgan. Keyingi vaqtlarda vino tayyorlaydigan mamlakatlarni geografiyasi tobora kengayib bormoqda, ularga Avstraliya, AQSh, Chili, Argentina, Isroil, Janubiy Afrika Respublikasi va boshqa mamlakatlar qo‘shildilar. Bu mamlakatlarni tuproq va iqlim sharoiti tok o‘stirishga mos keladi. Bir necha yuz yillar mobaynida tokni oq va qizil uzum beruvchi, seleksiya yo‘llari bilan tanlangan navlaridan tarkibida 15-25% shakar saqlagan sharbat siqib olinadi va undan vino tayyorlash uchun foydalaniladi. Qizil vino qora uzumni siqish va butun massani fermentatsiya qilish orqali olinadi. Binafsha vino – oq uzumni sharbatiga qora uzumni po‘stlog‘ini (sharbatini siqib olgandan keyin qolgan massani) aralashtirish yo‘li bilan tayyorlanadi.

Yaqinlargacha uzum sharbati tabiiy mikroflora yordamida o‘z-o‘zidan bijg‘itilar edi. Endilikda spirtli bijg‘ish jarayoniga bo‘lgan e’tibor tubdan o‘zgargan. Yuqori sifatli vino tayyorlash uchun mahalliy sharoitga moslashtirilgan seleksiya yo‘li bilan tanlab olingan achitqi zamburug‘ining toza kulturasidan foydalaniladi, bu esa mu’tadil ravishda bir xil sifatli vino tayyorlash imkonini beradi. Avval aytib o‘tilganidek, bu maqsad uchun *Saccharomyces* avlodiga mansub bo‘lgan achitqi zamburug‘ining mahalliy sharoitga moslashgan shtammlaridan foydalaniladi. Bijg‘ish ma’lum sharoitda amalga oshiriladi: katta hajmli maxsus idishlarda 7-14$^{o}$C da olib borilgan bijg‘ish jarayoni maqsadga muvofiq natijalar beradi. Bijg‘ishni tugaganligini har xil ko‘rsatkichlardan sezish mumkin. Ular orasida eng muhimlari quyidagilar: etil spirtining miqdori, shakar qoldig‘i, glitserin, uchuvchan kislotalar miqdori.

Bijg‘ish tamom bo‘lganida vino tarkibidagi spirt miqdori 10-14% bo‘lishi kerak. Bundan tashqari bijg‘ish jarayonida ko‘pincha parallel ravishda bakterial (*Leuconostos sp*.) bijg‘ish ham amalga oshadi va unda olma kislotasi, sut kislotasiga aylanadi. Bijg‘ish tugagandan keyin yangi yosh vino eskirishi uchun kattaroq hajmdagi idishlarga quyiladi. Bunday vaqtda dubdan tayyorlangan idishlardan foydalanish yaxshi natijalar beradi. Vinoni saqlash jarayonida uni harorati pasayadi va cho‘kma hosil bo‘ladi. Odatda bu jarayon bijg‘iydigan massada kimyoviy o‘zgarishlar sodir bo‘lishi bilan bir vaqtda o‘tadi.

Yuqorida aytib o‘tilganidek vino ishlab chiqarish oziq-ovqat sanoatining eng qadimiy texnologiyalaridan hisoblanadi. Shunga qaramasdan ba’zi-bir mamlakatlarda vinoni katta hajmda tayyorlash maqsadida, doimiy o‘stirish usulidan foydalaniladi. Bu texnologiyaga asosan bijg‘ish ketayotgan idishga doimiy ravishda uzum sharbati quyib turiladi va undan xuddi shu hajmda yosh vino quyib olinadi. Shuni alohida ta’kidlash kerakki, ma’lum ustuvorlikga ega bo‘lishga qaramasdan, bu usul keng miqyosda qo‘llanila olmadi.

Yuqorida keltirib o‘tilgan texnologiyalar mevalardan vino tayyorlash uchun ham ishlatiladi. Ba’zi-bir holatlarda, masalan guruchdan ichimlik (sake) tayyorlanayotganda kraxmalni fermentatsiya qilish jarayonida kerakli miqdorda bijg‘iydigan shakar moddalari ajraladi. Sake 20% etil spirti saqlaydi. Quvvatliroq vino tayyorlash uchun tayyor mahsulotga kerakli miqdorda toza etil spirti qo‘shiladi. Ko‘pchilik vinolar 20% gacha etil spirti saqlaydi. Shuning uchun ham ular mikroblar tomonidan ifloslanmaydilar. Bunday vinolarga “Portveyn”, “Vermut”, “Sherri”, “Kagor”, “Muskat”, “Tokay” kabilar misol bo‘ladi.

“Fino” va “Xeres ammotiliyado” (Ispaniyaning Xeres degan hududida tayyorlangan) bundan mustasno. Bu nomli vinolarni tayyorlash uchun vinoni quvvatini oshirib bo‘lgach, uni “qaritish” maqsadida og‘zi ochiq idishlarga quyiladi, ya’ni kislorodli muhit paydo qilinadi, bu esa o‘z navbatida vinoni tozasida mikroflora paydo bo‘lishiga olib keladi. Odatda bu mikroflora tarkibida saxaromitsetlar ham uchraydilar. Mana shu mikroflorani metabolitlari “Xeres” tipidagi vinolarga xushbo‘y hid berib turadi.

Vino tayyorlash bilan shug‘ullanadigan mamlakatlarni bu texnologiyalarga bo‘lgan munosabatlari bir-birlaridan farq qiladi. Bunga sabab vino tayyorlashda ishlatiladigan uzum navlarini har xilligi, achitqi zamburug‘larini shtammlarini xususiyatlaridagi, vinoni baholashdagi farqlar bilan bog‘liqdir. Vinochilikni muayyan mamlakatni iqlimi, shu mamlakat xalqlarini madaniyati va ana’nalaridan ajratilgan holda muhokama qilib bo‘lmaydi, chunki, ayni ana shu omillar vinochilikni imkoniyatlarini yaratadi.

Vinoni foydali xususiyatlari haqida juda ham ko‘p adabiyotlar chop etilgan. Aniqlanishicha, vinoda 700 dan ko‘proq har xil kimyoviy tabiatga ega bo‘lgan metabolitlar topilgan, bular: antioksidantlar, peptidlar, organik kislotalar, alkaloidlar, steroidli gormonlar, har xil tabiatli fenol birikmalari, uglevodlar. Masalan, oxirgi yillarda chop etilgan ilmiy adabiyotlarda ko‘rsatilishicha, fenol birikmalarni organizmga ta’siri har tomonlama ahamiyat kasb etadi. Bu birikmalarni modda almashuvida ishtirok etishi ularni ahamiyatini yanada oshirib yubordi. Vino tarkibidagi fenol birikmalari singa, avitaminoz, plevrit, peritonit, endokardit, nurlanish, glaukoma, gipertoniya, revmatizm, ateroskleroz kabi qator xastaliklarga

davo ekanligi adabiyotlardan ma’lum. Shunday ekan, kam quvvatli uzum vinosi – kam alkogolli shifobaxsh sharbat sifatida, me’yorida iste’mol qilinganda, inson salomatligiga xizmat qilishi mumkin. Adabiyotlarda spirtli bijg‘ish jarayonini olib boruvchi *Saccharomyces cerevisiae* achitqi zamburug‘ini genetik tavsifini o‘rganish haqida ko‘plab ma’lumotlar mavjud. Rekombinantli DNK texnologiyasi yordamida kengroq metabolitik spektrga ega bo‘lgan achitqi zamburug‘i kulturalari yaratilgan. Ulardan ba’zi birlar faqat alohida texnologiyalarda, masalan laktoza, pentozalar va sellobiozalarni bijg‘itish jarayonlarida ishlatilmoqda. Olimlarni fikrlaricha, ekologik toza vino mahsulotlari tayyorlash uchun achitqi zamburug‘larini shunday shtammlarini yaratish lozimki, ular o‘zlarini asosiy vazifalaridan (bijg‘itish) tashqari, tokni agrotexnikasi uchun zarur bo‘lgan kimyoviy moddalarni iste’mol qilib, ularni uzum mevasiga o‘tadigan foydali moddalarga aylantirish xususiyatiga ega bo‘lsin.

*Pivo*. Shakar moddalari erigan suyuqlikda mikroorganizmlar tez rivojlanishi barchaga ma’lum. Xuddi mana shu voqeylik ko‘pgina texnologik jarayonlarni yaratish uchun xizmat qildi desak xato bo‘lmaydi. Yer sharini xilma-xil joylarida olib borilgan arxeologik kuzatishlar asosida olim va mutaxassislar boshoqli o‘simliklardan olingan ekstraktlarni bijg‘itish bundan 6000 yillar avval boshlangan degan fikrga kelishgan. Bundan 20-25 yil avval pivoni asosan iste’mol qiluvchilar Yevropa mamlakatlari, AQSh va Avstraliya xalqlari deb hisoblangan bo‘lsa, bugungi kunga kelib, bu fikr anchagina o‘zgargan. Pivo Xitoy, Hindiston (guruch pivosi) hattoki, arab mamlakatlarida ham, va hatto Markaziy va Janubiy Afrikada ham pivo (Sorgodan tayyorlangan) sevib iste’mol qilinadigan bo‘lib qoldi. Bugungi kunda dunyoning barcha mamlakatlarida pivo iste’mol qilinadi desak xato bo‘lmaydi. Ayniqsa, oxirgi 10-15 yilda bu ichimlikka bo‘lgan ehtiyoj kun sayin oshib bormoqda. Ma’lumotlarga qaraganda, dunyoda pivo tayyorlash yiliga 1 mln. gektolitrdan oshib ketgan. Mutaxassislarni fikrlaricha bunday an’ana yana 20-25 yil davom etishi mumkin. Pivo kraxmal saqlovchi boshoqli o‘simliklardan tayyorlanadi. Pivo tayyorlashni texnologik chizmasi quyidagicha: quruq arpa, to unib chiqqunga qadar suvda ivitib qo‘yiladi. Endigina unib chiqqan arpa doni maysalarida amilaza va proteaza fermentlarini faolligi oshadi. Amilaza fermenti kraxmalni oligodekstrinlargacha parchalaydi, bu esa pivoni yopishqoqligini va ko‘pik hosil qilishini belgilab beradi. Proteaza fermenti urug‘dagi oqsil moddalarni aminokislotalargacha parchalab beradi. Bu moddalar achitqi zamburug‘lari o‘sib, rivojlanishlari va pivoga o‘ziga xos xushbo‘y hid berish uchun eng zarur moddalardir. Unib chiqqan arpa maysalari maydalanadi va suvga (60-65$^{o}$C) solinadi. Bunday sharoitda maysa rivojlanishdan to‘xtaydi (o‘ladi), fermentlar (amilaza, proteaza) esa o‘z faolliklarini saqlab qoladilar. Suvdagi aralashma (solod) katta idishlarga quyilib, bir necha soat ushlab turiladi. Mana shu vaqt mobaynida kraxmal va oqsil moddalarni parchalanishi bilan bog‘liq bo‘lgan asosiy fermentatsion jarayon tugaydi. Suvlik eritma, (uni shuningdek pivo suslosi ham deb yuritiladi) cho‘kmadan ajratilib, xmel aralashtiriladi va qaynatiladi. Xmel pivoga xos xushbo‘y hid beradi va pivoga antiseptik xususiyat beradi. Keyin xmel filtrlash orqali eritmadan ajratib olinadi. Toza eritma bijg‘itish uchun tayyor hisoblanadi.

Fermentatsiya yoki bijg‘itish maxsus idishlarda – bioreaktorlarda achitqi zamburug‘larini maxsus shtammlari ishtirokida amalga oshiriladi. Bu maqsad uchun

odatda *Saccharomyces serevisiae*ning etil spirti sintez qiluvchi maxsus shtammlaridan foydalaniladi. Shuningdek *S.carlsbergensis* ham ishlatiladi.

Bugungi kunda bu shtammlar genetik modifikatsiya ham qilingan (protoplastlar yopishtirilgan, genlar klonlashtirilgan) va achitqi zamburug‘ini yangi, faolroq shakllari yaratilgan. Angliyadan boshqa Yevropa mamlakatlarida pivoni saxaromitsetlar yordamida bijg‘itish jarayoni 10-15$^{o}$Cda olib boriladi. Angliyada esa bu jarayon 28-30$^{o}$C da o‘tkaziladi. Albatta harorat pivoni xususiyatiga ta’sir ko‘rsatadi. Bijg‘ish jarayoni tugagandan keyin pivo bir necha hafta mobaynida chanlarda 0-2$^{o}$C da ushlab turiladi va keyin pasterizatsiya qilinib, butillarga qadoqlanadi. Pivoni uzoq muddat saqlab turilganda, issiqlik yoki yorug‘lik ta’sirida loyqa paydo bo‘ladi, bu esa pivoni tovar ko‘rinishiga salbiy ta’sir ko‘rsatadi.

Pivo loyqalanmasligi uchun AQShda pivo tarkibidagi oqsil moddalarni qisman parchalash usuli yaratilgan. Bu usul proteolitik fermentlarni ta’siriga asoslangan va unda sovuq holatlarda loyqa hosil bo‘lishini deyarli oldi olingan. Bu maqsad uchun papain, pepsin, fitsin, bakterial proteazalardan foydalaniladi. Eng avvalo proteolitik fermentlar pH 4,5 (pivoni pH ko‘rsatkichi) da faol bo‘lishi shart.

Ferment miqdorini shunday belgilash kerakki, undan oqsil qisman parchalansin, aks holda pivo ko‘piklanish xususiyatini yo‘qotib, ta’mini o‘zgartiradi.

***Non tayyorlash***. Nonvoychilik insoniyatning eng qadimiy kasblaridan biridir. Bunga sabab, non inson oziqlanishi uchun fiziologik zarur bo‘lgan komponent hisoblanadi. Non tayyorlash inson sivilizatsiyasini boshlarida boshlangan bo‘lsa ajab emas. Dastlab non suvga aralashtirilgan unning pishirilgani bo‘lgan. O‘shandan boshlab, hozirgi kungacha non tayyorlash doimiy ravishda takomillashib bormoqda.

Bu masalada mamlakatimizda katta tajriba to‘plangan. E’tibor qilsangiz har bir viloyatni non yopishdagi tajribalari ko‘z o‘nggingizda namoyon bo‘ladi. Texnologik nuqtai nazardan non tayyorlashda achitqilardan foydalanish katta ahamiyat kasb etdi. Shu o‘rinda, non tayyorlash jarayonida achitqi dastlab havodan tushgan desak xato bo‘lmas. Ko‘p mamlakatlarda non unga achitqi, tuz, shakar va ozroq yog‘ yoki margarin qo‘shib tayyorlanadi. Bu komponentlar achitqini tez rivojlanishi uchun zarur va oqibatda nonni sifatini yaxshilashga xizmat qiladi. Bugungi kunda milliy urf-odatlar, kalloriyani ko‘tarish, parxez, to‘y-xasham va boshqa ehtiyojlardan kelib chiqqan holda nonga boshqa komponentlar ham qo‘shiladi.

Unni tuzli suvda yaxshilab aralashtirilgandan keyin unga *Saccharomyces serevisiae* achitqi zamburug‘i qo‘shiladi. Boshoqlilar, jumladan bug‘doy kam miqdorda past molekulyar massaga ega bo‘lgan, bijg‘iydigan shakar moddalari saqlaydi. Ikkinchi tomondan 50% dan ko‘proq kraxmal saqlaydi va u achitqi zamburug‘lari tomonidan parchalanmaydi. Shuning uchun ham kraxmalni glyukoza yoki maltozagacha parchalaydigan fermentlardan foydalaniladi.

Ilmiy izlanishlar natijasida un tarkibidagi kraxmal zamburug‘ va bakteriyalardan olingan amilazalar yordamida yaxshi parchalanishi aniqlangan. Kraxmalni gidrolizi xamirga tashqaridan qo‘shiladigan amilolitik fermentlar yordamida amalga oshadi. Amilolitik kompleks bir necha fermentlarni o‘z ichiga olsada, ulardan faqatgina ikkitasi: amilaza va glyukoamilaza nonvoychilikda keng qo‘llaniladi. Amilazani zamburug‘lar (*Aspergillus oryzae, A.niger, A.awamori* va boshqalar) va bakteriyalar (*Bacillus subtilis, B.amyloliqnefaciens, B.mesentericus,*

*B.stearothermophilus*) sintez qiladilar. Glyukoamilaza faqatgina qora aspergillarda (*Aspergillus awamori, A.niger* va boshqalar) ko‘proq sintez bo‘ladi.

Nonvoychilikda ishlatiladigan bakteriya yoki zamburug‘ amilazalari orasida ustuvorlik zamburug‘ fermentlariga beriladi. Bunga asosiy sabab zamburug‘ α-amilazalari bakteriyalarnikiga nisbatan haroratga chidamsizroq, yuqori haroratda tez parchalanib, non mag‘ziga salbiy ta’sir ko‘rsatmasligidir. Zamburug‘ amilazasi qo‘shilgan xamirda shakar miqdori ko‘proq bo‘lib, achish jarayoni to‘laroq o‘tadi, karbonat angidrid gazi ko‘proq chiqadi, melanoidinlar hosil bo‘lishi oshadi va tayyor mahsulotni saqlash vaqti cho‘ziladi. Ferment qo‘shilganda non, keks va non mahsulotlarini ta’mi yaxshilanadi, xushbo‘y hidli, tashqi ko‘rinishi yoqimli bo‘ladi. Zamburug‘lardan olingan α-amilaza tarkibida proteaza ham uchraydi, bu esa xamirdagi oqsillarni, xususan asosiy oqsil – kleykovinani ham parchalanib ketishiga olib keladi. Shuning uchun ham nonvoychilikda proteazani faolligini to‘xtatib qo‘yadigan modda (ingibitor) kaliy bromat ishlatiladi. Bug‘doyni qattiq navlaridan olinadigan unlardagi kleykovinani qisman parchalanishi, ijobiy natija beradi.

Tajribalarda kuzatilganidek, nonvoychilikda glyukoamilazani ishlatilishi ham ijobiy natija beradi. Bu fermentni eplab ishlatilganda, kerakli miqdorda glyukoza hosil bo‘ladi. Yuqorida ta’kidlanganidek, glyukoamilaza kraxmal molekulasidagi ichki bog‘larni gidroliz qilaolmaydi, demak uni molekulyar massasini tez kamaytirib yubora olmaydi. Bu ferment faqatgina kraxmalni qaytarilgan uchidagi glyukozani gidroliz qilishga qodir xolos, shuning uchun ham u biopolimerni umumiy fizikaviy xususiyatlariga juda ham kam ta’sir ko‘rsata oladi xolos. Bu esa juda ham muhim, chunki kraxmal nonga shakl beradi, uni butunlay parchalanib ketishi ma’lum shakldagi non yoki non mahsulotlari tayyorlashni qiyinlashtirib yuboradi. Nonvoychilik tajribasida boshqa fermentlar ham ishlatilgan (sellyulaza, ksilanaza), ammo bunday misollar shunchalik kamki, shuning uchun ham ularni muhokama qilishni zarur deb bilmadik. Non tayyorlanayotganda xamirdagi shakar moddalari achitqi zamburug‘lar tomonidan iste’mol qilinadi va ular tomonidan spirt va karbonat angidrid gaziga aylantiriladi. Non yopish (pishirish) jarayonida spirt uchib ketadi, karbonat angidrid gazi esa xamir orasida tarqalib, unga o‘ziga xos bo‘lgan bo‘shliq saqlagan shakl beradi.

Oxirgi yillarda non tayyorlashda anchagina o‘zgarishlar yuz bermoqda, eng avvalo bu xamir qoradigan va unga ishlov beradigan mashinalarga taaluqlidir. Nonvoychilikni yanada kengayib borishi, bu jarayonni tezlashtiruvchi barcha yangi usullardan foydalanishni taqqazo etadi. Xuddi shu maqsadga erishish uchun xamirga ko‘proq achitqi zamburug‘lari va ferment preparatlari aralashtirilmoqda. Bunday nonni sifati esa avvalgilardan past bo‘lmasligini e’tibordan tashqarida qoldirish mumkin emas.

Zamonaviy biotexnologiya nuqtai nazaridan achitish jarayonida ishlatiladigan *Saccharomyces cerevisiae* achitqi zamburug‘ining genetikasi o‘ta yaxshi o‘rganilgan va u gen – muhandislik tajribalari o‘tkazish uchun muhim manba ekanligi aniqlangan. Bu kulturaga α-amilaza va β-galaktozidaza genlari kiritilgan, bu esa ushbu mikroorganizmni genetik spektrini yanada boyitgan. Yaqin kelajakda non tayyorlashda bug‘doyni yangi navlaridan, hamda texnologik qulay mashina va mexanizmlardan, mikroorganizmlarni yangi, serhosil, maqsadga to‘liq javob

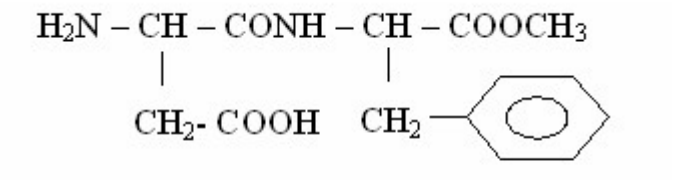
beraoladigan shtammlaridan foydalanish orqali non ishlab chiqarishni yanada yuqori darajaga ko‘tarish mumkinligini muhokama qilinmoqda.

**Shakar o‘rnini bosuvchi moddalar**. Saxaroza yoki boshqa tabiiy shakarlarni hattoki me’yorida iste’mol qilish ham ba’zi hollarda ateroskleroz, diabet, semirib ketish va boshqa potologiyalarga olib keladi. Shuning uchun ham oxirgi vaqtlarda shakar tabiatli bo‘lmagan, ammo shirin ta’m beradigan moddalarni izlab topishga alohida e’tibor berilmoqda. Shirin ta’m beradigan birikmalarni ikki guruhga ajratish mumkin: tabiiy organik birikmalar – oqsillar, dipeptidlar va kimyoviy sintez yo‘li bilan olingan boshqa birikma va moddalar.

Shakarni o‘rnini bosa oladigan moddalarni tanlashda ularni metabolizmga qo‘shilishi, kaloriyasi, inson salomatligiga bezararligi, muayyan moddani ishlab chiqarish texnologiyasini bahosiga alohida e’tibor beriladi. Hozirgi vaqtda ilmiy adabiyotlarda juda ham ko‘p miqdorda shakar o‘rnini bosaoladigan moddalar chop etilgan bo‘lsada, ulardan bir nechasigina hayotga tadbiq etilgan xolos.

Shirin ta’m beruvchi moddalarga monosaxaridlar va kichik molekulalik oligosaxaridlar, kraxmalni parchalash orqali olingan moddalar va ularni qisman izomerizatsiya qilish orqali olingan mahsulotlar (glyukoza va fruktozani aralashmasi), hamda uglevod bo‘lmagan tipdagi birikmalar kiradi.

AQSh va G‘arbiy Yevropa mamlakatlarida saxarozaga nisbatan hisob-kitob qilinganda aholi boshiga bir yilda 55-56 kg shirinlik iste’mol qilinadi. Shakar o‘rnini bosadigan, kimyoviy sintez yo‘li bilan olinadigan modda - saxarin bir necha o‘n yillab konditer sanoatida keng ishlatib kelingan va bugungi kunda yangi, past kaloriyali moddalar bilan almashtirilgan. Shunday moddalardan biri metillangan dipeptid – aspartamdir. Bu modda biotexnologik yo‘l bilan sintez qilinadi. Aspartam (uni savdoga chiqarilgan nomi “Nutrisvit”) dietik ichimliklar tayyorlash uchun keng qo‘llaniladi. Aspartamning sintezida eng muhim modda – bu fenilalanin aminokislotasidir. Bu aminokislota mikrobiologik sintez yo‘li bilan olinadi. Uni kimyoviy formulasi quyidagicha:



L-a-aspartil-L-fenilalanin (Aspartam)

Bu modda to‘lig‘icha toksikologik sinovlardan o‘tkazilib, oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish texnologiyalarida keng ishlatilib kelinmoqda. Shakar o‘rnini bosadigan moddalardan biri sifatida - steviozid diqqatga sazovordir. Bu modda Janubiy Amerikada o‘suvchi *Stevia vebaudiana* o‘simligidan ajratib olingan. Bu o‘simlik qora dengiz qirg‘oqlarida ham o‘sib, yuqori hosil beradi. Bu o‘simlikni barglari juda shirin bo‘lib, atigi 3-4 donasi 1 l suvni shirin qilib yuboradi. Bu o‘simlikni o‘stirish marhum professor Jo‘raqul Tursunov tomonidan mamlakatimizning Surxandaryo viloyatida amalga oshirilgan. Endilikda bu viloyatda steviya o‘simligining bir necha gektarlik plantatsiyasi yaratilgan. Steviya o‘simligi bargidan shakar o‘rnini bosadigan modda ajratish esa professor M.M.Raximov

tomonidan amalga oshirilgan. Steviozidni molekulasi 3 ta glyukoza va 1 ta ta’msiz aglikondan iborat. Bu moddani toza holda ajratib olish murakkab bo‘lganligi sababli, uni oziq-ovqat sanoatida keng qo‘llash imkoniyati yaratilganicha yo‘q. Boshqa tipdagi shakar o‘rnini bosaoladigan moddalardan biri - flavonol-7-glyukoziddir. Bu modda sitrus o‘simliklarida saqlanadi. Bu birikmani uncha murakkab bo‘lmagan modifikatsiyaga uchratilganda – shakardan ham shirin bo‘lgan digidroxalkonlar hosil bo‘ladi. Bu birikmalar orasida e’tiborga loyiqlari – naringenindigidroxalkon, neogesperedindigidroxalkon va gesperedindigidroxalkon-4-β-Dglyukozid hisoblanadilar. Bu birikmalarning oxirgi 2 tasi saxarozadan 300 marotaba shirinroqdir. Naringenindigidroxalkon – saxarozadan 2000 marotaba shirinroq bo‘lsada, kamroq zaharlik xususiyatiga ham egadir. AQShda naringenindigidroxalkon sanoat miqyosida ishlab chiqariladi. Neogesperedindigidroxalkon-4-β-D-glyukozid sitrus o‘simliklari chiqindilaridan (sokini siqib olgandan keyin qolgan chiqindilar) ajratib olinadi. Taumatin – oqsil tabiatli birikmadir. Sanoatda taumatin *Thaumatococcus danielli* o‘simligining mevasidan ekstraksiya qilish orqali ajratib olinadi. Bugungacha aniq bo‘lgan shakar o‘rnini bosaoladigan moddalarning eng shirini taumatin hisoblanadi. Shakar o‘rnini bosadigan moddalar sanoatda har xil ichimliklar (alkogolli va alkogolsiz), djemlar, shinnilar, konfet, saqichlar, pirojniylar va boshqa shirinliklar tayyorlashda ishlatiladi. Shuni alohida ta’kidlash lozimki yaqin 10-15 yilda shakar o‘rnini bosadigan moddalarni iste’mol qilish yanada oshadi. Bunga yildan yilga ularni ishlab chiqarish hajmini 8-9% ga oshib borishi guvohlik beradi.

**Oziq-ovqat sanoati chiqindilari**. Oziq-ovqat sanoati va qishloq xo‘jaligi chiqindilari butun dunyoda ko‘p miqdorda to‘planib borayotganligi uchun ham nafaqat mahalliy balki xalqaro muammolarga sabab bo‘lmoqda. Ayniqsa biologik faol kislorod hosil qiladigan chiqindilarga nisbatan o‘ta qattiq qonunlar yaratilgan.

Organik chiqindilarni utilizatsiya qilishga alohida e’tibor berilmoqda, ular asosida hayvonlar uchun oziqa moddalari, xilma-xil ximikatlar, biogaz va boshqa mahsulotlar tayyorlash texnologiyalari yaratilgan va bunday izlanishlar jadal davom etmoqda.

Chiqindilarni qayta ishlashni ikkinchi yo‘nalishi – ularning tarkibidagi zaharli moddalarni ajratib olish va ularni zararsizlantirish; biologik faol birikmalar yoki ikkilamchi metabolitlar ajratish va ulardan hayvonlarni oziqlantirish va davolash maqsadida foydalanish. Ba’zi mamlakatlarda, masalan AQSh, Angliya, Fransiya, Yaponiyada juda katta chiqindilar bozori tashkil etilgan. Chiqindilar sotib olinib, guruhlanadi va keyin qayta ishlanadi.

**Mikroorganizmlardan olinadigan oziqa komponentlari**. Zamonaviy oziq-ovqat sanoatida mikrobiologik sintez yo‘li bilan olinadigan moddalar, ayniqsa alohida tozalab olinadigan oziqa ingridientlari juda katta ahamiyat kasb etmoqda. Iqtisodiy rivojlangan mamlakatlarda bunday moddalar to‘la sifatli oziqa retsepturasini yaratishda qo‘shimcha, eng muhim moddalar sifatida ishlatib kelinmoqda. Mikrobiologik ingridientlar tayyorlash (ishlab chiqarish) uchun an’anaviy yo‘llar bilan birga, biotexnologiyani eng yangi yutuqlaridan ham foydalanib kelinmoqda.

*Oziq-ovqatda ishlatiladigan organik kislotalar*. Oziq-ovqatda sirka kislotani suvli eritmasi ishlatiladi. Eritmada uning miqdori 4% dan kam bo‘lmasligi kerak. Sirka, odatda vino tarkibidagi etanolni bijg‘itish orqali tayyorlanadi. Bijg‘itish jarayoni *Acetobacter* lar yordamida amalga oshiriladi.

Limon kislotasi oziq-ovqat sanoatida eng ko‘p ishlatiladigan organik kislota hisoblanadi. Limon kislotasi antioksidant va ichimliklar, djem, shinnilar, konfet va boshqa shirinliklar tayyorlashda konservant sifatida, hamda ularga o‘ziga xos nordonlik berish maqsadida ishlatiladi. Oziq-ovqat sanoatida yilga 100000 tonna toza limon kislotasi ishlatiladi. Uni *Aspergillus niger* zamburug‘ini maxsus mutantlarini o‘stirish orqali hamda kimyoviy sintez orqali olinadi. Oxirgi yillarni statistik analizi yildan-yilga mikrobiologik sintez yo‘li bilan olinadigan limon kislotasini miqdori oshib borayotganligidan dalolat beradi. Limon kislotasi ishlab chiqaradigan bir necha mikrobiologik zavodlar qurilib, ishga tushirilgan va faoliyat ko‘rsatib kelmoqda.

Oziq-ovqat sanoati uchun zarur bo‘lgan organik kislotalarni boshqalari ham xuddi shu yo‘l bilan, ya’ni mikrobiologik sintez yo‘li bilan amalga oshirilmoqda. Quyidagi 44-jadvalda mikrobiologik sintez orqali olinadigan, oziq-ovqat sanoati uchun zarur bo‘lgan organik kislotalar keltirilgan.

44-jadval

**Oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan kislotalar va ularni sintez qiluvchi mikroorganizmlar**

| Kislota nomi | Uglerod manbayi | Mikroorganizm -produsent |
|---|---|---|
| Sut kislotasi | Kraxmal, glyukoza | *Laktobacillus delbrueckii, Rhizopus oryzae* |
| Moy (yog‘) kislotasi | Kraxmal, glyukoza | *Clostridium butyricum* |
| Propion kislotasi | Glyukoza | *Propionibacterium shermani* |
| Glyukon kislotasi | Glyukoza | *Aspergillus niger* |
| Vino kislotasi | Glyukoza | *Gluconobacter suboxydans* |
| Sirka kislotasi | Etanol | *Acetobacter aceti* |
| Itakon kislotasi | Glyukoza | *Aspergillus terreus* |
| Yantar kislotasi | Glyukoza | *Bacterium succinicum* |
| Fumar kislotasi | Glyukoza, parafin | *Rhizopus delemar, Candida hydrocarbonfumarica* |
| Olma kislotasi | Glyukoza, parafin | *Candida hydrocarbofumarica, Pichia membranalfaciens* |
| Limon kislotasi | Melassa, saxaroza | *Aspergillus niger* |

*Aminokislotalar*. Dunyoda har yili 700000 tonnadan ko‘proq aminokislotalar ishlab chiqariladi. Bu sohada Yaponiya boshqa mamlakatlardan ko‘ra ko‘proq, ya’ni yiliga 2 mlrd. AQSh dollariga teng bo‘lgan bahoda toza holatdagi aminokislotalar hamda ularni aralashmasini ishlab chiqaradi. Aminokislotalar oziq-ovqat mahsulotlarini ta’mini yaxshilash va ularning oziqa qiymatini oshirish maqsadida keng qo‘llaniladi. Aminokislotalarni biosintezi uchun oziq-ovqat mahsulotlarini har xil taksonomik guruhga mansub bo‘lgan mikroorganizmlardan foydalaniladi. Masalan, lizin va glyutamin kislotasini sintezi uchun *Corunebacterium glutamicum* va *Brevibasterium flavum* bakteriyalari ishlatiladi.

Aminokislotalar sintez qiluvchi mikroorganizmlarning ko‘pchiligi klassik mikrobiologiya usullaridan foydalanib, tanlab olingan, ya’ni, ular mutantlar hisoblanadi. Past molekulyar og‘irlikga ega bo‘lgan birikmalarni superprodusentlarini yaratish strategiyasi unchalik yaxshi yo‘lga qo‘yilmagan bo‘lsada, ba’zi aminokislotalarni produsentlari genmuhandislik usullari yordamida yaratilgan va ulardan ishlab chiqarish miqyosida foydalanib kelinmoqda. Kimyoviy yo‘l bilan, ya’ni sintez qilish orqali olinadigan aminokislotalarni miqdori hozircha ko‘proq. Masalan, keng miqyosda ishlatiladigan aminokislotalardan glitsin va metionin asosan kimyoviy sintez yo‘li bilan ishlab chiqiladi.

*Vitaminlar*. Zamonaviy nuqtai nazarga asosan har xil kimyoviy tuzilishga ega bo‘lgan birikmalar shartli ravishda vitaminlar guruhiga qo‘shib qo‘yilgan. Xususiyat va tuzilishlarini chuqur o‘rganib borgan sari bu guruhga kiruvchi moddalarning tarkibi o‘zgarib turibdi. Xususiyatlarida kofermentlik xossalari yoki faolliklari bo‘lmaganliklari uchun $B_{15}$, P va F vitaminlarini (ilgari shunday yuritilgan) vitaminlar safidan chiqarish tavsiya etilgan.

Vitaminlarga talab oshib borayotganligi uchun, ularni sintez qiluvchi mikroorganizmlarni tanlash, seleksiya qilish, gen-muhandislik yoki hujayra biotexnologiyasi usullaridan foydalanib, serhosil shtammlar yaratishga alohida e’tibor berilmoqda. Bunday qiziqish mikroorganizmlarda vitaminlarni ko‘plab sintez qilish (supersintez) imkoniyatlari topilgandan keyin ayniqsa ortib ketdi. Masalan, riboflavinni zamburug‘lar, bakteriyalar va ayniqsa achitqilar juda ko‘p miqdorda sintez qilishlari aniqlangan. $B_{12}$ vitaminini ko‘p miqdorda sintez qiluvchi bakteriyalarni mutantlari ham yaratilgan. Yuqorida keltirib o‘tilgan vitaminlarni barchalarini ham ishlab chiqarish yildanyilga oshib bormoqda. Birgina C vitamini yiliga 40000 tonna ishlab chiqarilishiga qaramasdan, unga bo‘lgan talab to‘la qondirilmagan. Oziq-ovqat sanoatini vitaminlarga bo‘lgan talabi asosan tabiiy manbalar hisobidan va kimyoviy sintez yo‘li orqali qondiriladi.

Shunday bo‘lsada, vitaminlarni ko‘plab ishlab chiqarishda biotexnologiyaning roli sekin-asta o‘sib bormoqda, masalan riboflavin va β-karotinni mikrobiologik sintezi sanoat miqyosida yo‘lga qo‘yilgan.

*Polisaxaridlar*. Fermentlarga o‘xshab, ba’zi-bir polisaxaridlar ham mikroorganizmlarni hujayradan tashqaridagi metabolitlari hisoblanadi. Oziq-ovqat sanoatida polisaxaridlar mahsulotga shakl berish va ularni quyultirish uchun ko‘proq ishlatiladi. Sharq mamlakatlarida, xususan Yaponiya va Xitoyda qadimlardan quyultiruvchi, ta’m va shakl beruvchi modda sifatida dengiz o‘simliklaridan

foydalanib kelingan. Polisaxaridlarni quyultiruvchi va shakl beruvchi manbalar sifatida ishlatilishini asosiy sababi, ularni neytralligi va biologik hamkorlik xususiyatlaridir. Masalan, Pseudomonas spp. bakteriyasi sintez qiladigan polisaxaridlar quyultiruvchi modda sifatida keng ishlatilib kelinayotgan glyukomannozlar bilan birgalikda bemalol ishlatilaveradilar. Mikroblar sintez qiluvchi polisaxaridlarni yangi manbalarini topish zamonaviy oziq-ovqat sanoatining eng dolzarb masalalaridan biridir.

Biotexnologik usullar bilan olinadigan yangi oziqalarni ijobiy tomonlari bilan birgalikda salbiy tomonlari ham bor. Masala shundaki, oziq-ovqat sanoati – konservativ tarmoq va shuning uchun ham har qanday yangilikni katta qiyinchilik bilan qarshi oladi.

Birinchidan, jamoa an’anaviy oziqalarga o‘rganib qolgan, yangi mahsulotlarni iste’mol qilishga tayyor emas, ayniqsa gen-muhandislik yo‘llari bilan yaratilgan mahsulotlarni iste’mol qilishga qarshilar juda ham ko‘plab topiladi. Shunday qilib, halqning katta qismini an’anaviy bo‘lmagan yangi mahsulotlarga qarashlari salbiy bo‘lib, ular biotexnologiyaning real imkoniyatlariga shubha bilan qaraydilar.

Shunisi qiziqki, zamonaviy biotexnologiya asosan eng rivojlangan mamlakatlarda yaratilgan va yangi mahsulotlarni asosiy ishlab chiqaruvchilari ham ana shu mamlakatlardir. Ammo, bu mahsulotlar asosan oziq-ovqat yetishmayotgan, endi rivojlanayotgan mamlakatlarda sotilmoqda. Bu voqeylik har qanday insonni o‘ylantirib qo‘yishi mumkin, ammo zamonaviy biotexnologiyaning boshlanishi achish-bijg‘ish jarayonlardan, ya’ni mikroorganizmlarni anaerob sharoitdagi faoliyati asosida qurilganligini esdan chiqarmaslik kerak. Yuz yillar mobaynida bijg‘ish mahsulotlari (non, pishloq, pivo, vino) insoniyatni kundalik iste’mol mollariga aylangan va shunday bo‘lib turibdi. Ammo, vaqt, davr o‘z talablarini qo‘yadi va inson tabiatdagi ba’zi-bir organizmlarni maqsadga muvofiq ravishda o‘zgartirib borishga majbur. Bunday mashaqqatli mehnat qanchalik o‘zini oqlaydi? Eng zamonaviy biotexnologiyaning usullari asosida yaratilgan oziqa mahsulotlaridan keng foydalanish, ularni uzoq davr mobaynida iste’mol qilinganda qanday o‘zgarishlarga olib kelishi yoki kelmasligini faqatgina vaqt ko‘rsatadi.

Bugungi kunda gen-muhandisligi usullari yordamida yaratilgan organizmlar asosida oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish jadal davom etmoqda. Iqtisodiyot nuqtai nazaridan bu jarayonni to‘xtatish juda ham murakkabdir. Shuning uchun hozirgi kunda ishlab chiqarilayotgan mahsulotni sifatini baholashga alohida e’tibor berilmoqda. Genmuhandisligi asosida yaratilgan organizmlar yangi avlod texnologiyalariga asos bo‘lib xizmat qilsa ajab emas. Bunday texnologiyalarni an’anaviy texnologiyalardan farqi ikki holat bilan belgilanadi:

- genlarni klonlashni katta aniqlik bilan nazorat qilishi mumkin;
- an’anaviy usullar yordamida bir-birlariga yaqin bo‘lmagan organizmlarga gen o‘tkazish mumkin emas.

Gen muhandisligini ishlatilishi organizmni ishlab chiqarish tavsifini tuzatishga va keraksiz xususiyatlardan ozod etishga olib keladi. Oziq-ovqat sanoatida gen-muhandisligini asosiy vazifasi – mahsulot sifatini va xavfsizligini tuzatish, ishlab chiqadigan mahsulotlarni asortimentini ko‘paytirish va ularning tan narxini pasaytirishdan iboratdir.

Statistik ma’lumotlarga qaraganda oziq-ovqat mahsulotlarini sotishdan tushgan pul aylanmasini 90 foizi ularni oziqa birligi emas balki organoleptik xossalariga qarab sotilgan mablag‘ hisoblanar ekan. Oxirgi 20-25 yillarda sintetik alkogolsiz ichimliklarga, chaynalgik rezinkalarga, har xil shirinliklarga (shakar o‘rnini bosuvchi moddalar asosida tayyorlangan) va shunga o‘xshagan tashqi ko‘rinishi kishi e’tiborini tortadigan, xushbo‘y mahsulotlarga bo‘lgan munosabat, ularni ko‘plab xarid qilinishi yuqoridagi fikrimizni dalilidir. Bugungi kunda bunday mahsulotlarni ishlab chiqarish yiliga 5% ga oshib bormoqda va mu’tadil biznes manbayiga aylangan. Xushbo‘ylik beradigan mahsulotlarni ishlab chiqarish ikki yo‘l bilan olib boriladi:

- o‘simliklardan yoki o‘simliklarni to‘qima kulturalaridan va mikroorganizmlardan ajratish;
- kimyoviy sintez orqali.

Ta’m berishda yog‘ kislotalari, mono- va seskviterpenlar, laktonlar, natriy glutamat, aminokislotalar va boshqa tabiiy birikmalar katta rol o‘ynaydi. Kimyoviy sintezni kompyuterlashtirish yo‘lga qo‘yilgandan keyin bu usul farmakologiya va oziq-ovqat sanoati uchun zarur bo‘lgan, alohida komponentlarni katta miqdorda ishlab chiqarish uchun keng ishlatila boshlandi. Masalan, efir moylarini kimyoviy sintezi, ularni olishni biotexnologik usulidan ko‘ra ko‘proq mahsulot beradi. Ammo biotexnologik usulni jadallik bilan o‘sib borishi yaqin kelajakda uni istiqbollari aniqligini va kimyoviy sintezdan ko‘ra sifatliroq va ko‘proq mahsulot yetkazib berishi mumkinligidan darak bermoqda. 1986-yilda dunyoda 1,5 mlrd. dollarlik ta’m beruvchi mahsulotlar tayyorlangan edi. Bugungi kunda bu mahsulotni ishlab chiqarish ancha ko‘paygan. Bu yo‘nalishda AQSh birinchi o‘rinda turadi va bu mamlakatda butun dunyoda chiqariladigan ta’m beruvchi mahsulotlarni 50% ishlab chiqariladi. Yevropa mamlakatlari – 30%, boshqa mamlakatlar (jumladan Xitoy, Yaponiya va Rossiya ham shularga kiradi) atigi 20% ishlab chiqarishadi, xolos. Mutaxassislarni bergan ma’lumotiga qaraganda, faqat yangi ta’m beruvchi moddalarni iste’mol qilinishini o‘sishi 1997-2020 yillarda 12-15% dan kam bo‘lmasligi kerak. Oxirgi o‘n yillar orasida olib borilgan ilmiy tadqiqotlar bunday mahsulotlar nafaqat o‘simliklar, balki mikroorganzmlar tomonidan sintez bo‘lishini ham ko‘rsatdi va bu dalilga katta e’tibor berilmoqda. Mikrob biomassasidan olingan moddalar aromatik birikmalardan tashqari glutamin kislotasi va ribonukleotidlar saqlashi aniqlangan. Bu moddalar toksinlik xususiyatiga ega emas va tabiiy ta’m berish bilan tavsiflanadi. Bundan tashqari, mikrob biomassasi, oqsil gidrolizatlari (aminokislotalar va uglevodlar) issiqlik bilan ishlov berilganda o‘ziga xos, xushbo‘y hid berishi kuzatilgan. Masalan, AQShda nonvoychilikda achitqi zamburug‘laridan *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis*, *Candida utilis*lardan foydalanishga ruxsat etilgan, faqatgina ularni miqdori unga nisbatan 2% dan oshmasligi kerak.

Shuni ham e’tiborga olish lozimki, ta’m beruvchi mahsulotlar sifatida mikrob biomassasidan foydalanish, bu oziq-ovqat sanoatining yangi yo‘nalishi hisoblanadi va hozirgi davrda bu sohada chuqur izlanishlar olib borilmoqda.

Bugungi kunda ishlatib kelinadigan ta’m beruvchi moddalar quyidagicha klassifikatsiyalangan:

- hayvon, o‘simlik va mikroorganizmlardan olinadigan ta’m beruvchi, tabiiy birikmalar va ularni kompozitsiyalari;
- tabiiy aromatizatorlarga o‘xshash, lekin kimyoviy sintez orqali olinadigan birikmalar;
- tabiatda (muqobili) o‘xshashi bo‘lmagan yoki hozircha topilmagan sintetik birikmalar;
- ta’m sifatini kuchaytirib beradigan tabiiy birikmalar;
- noorganik tuzlar.

Achitqi zamburug‘larini biotexnologiyada roli faqatgina ularni bijg‘itish jarayonini olib borishi va oqsil to‘plashi bilan chegaralanmaydi. Sanoat sharoitida achitqi zamburug‘larini o‘stirish orqali ulardan vitaminlar, fermentlar, karotinoidlar, organik kislotalar va boshqa fiziologik faoliyatga ega bo‘lgan metabolitlar ajratib olish mumkin. Pivo va non mahsulotlari tayyorlashda ishlatiladigan *Saccharomyces* avlodiga mansub achitqi zamburug‘larini quruq biomassasidan avtolizat hamda gidrolizatlar tayyorlash boshqalarga qaraganda iqtisodiy samaraliroq ekanligi aniqlangan.

Yuqorida keltirib o‘tilganidek oziq-ovqat mahsulotlarini ta’mini tuzatish uchun natriy glutamat, nukleotidlar, achitqi zamburug‘larini ekstraktlari, oqsil gidrolizatlari ishlatiladi. Ta’m sifatini yaratishda yog‘ kislotalari, efir moylari, mono-, diterpenlar, aminokislotalar, laktonlar, metilketonlar va boshqalardan foydalaniladi. Ta’m sifatini xilma-xil bo‘lishida ovqat tarkibidagi polimerlarni mono-, dimerlargacha parchalab beruvchi gidrolitik fermentlarni roli ham kattadir. Shu nuqtai-nazardan glutamin kislotasi va nuklein kislotasini ko‘proq sintez qiluvchi achitqi zamburug‘lari va bakteriyalar ancha istiqbolli hisoblanadilar. Ko‘p sonli tajribalar asosida glutamin, inozit va guanilat natriy, 5-dezoksiribonukleotidlar, achitqi ekstraktlari tabiiy taom va xushbo‘y hid beradigan moddalar deb tan olingan. Go‘shtni ta’miga o‘xshash mahsulot katta ahamiyat kasb etadi. Shu maqsadda Yevropada asosan achitqi avtolizatlari ishlatiladi, janubiy Amerikada esa past navli go‘shtni ekstraktlaridan, Osiyo mamlakatlarida soyani qayta ishlash mahsulotlaridan foydalaniladi. Achitqi zamburug‘lari tarkibidagi oqsilni ko‘pligi (30% gacha) bu biomassani glutamin va nuklein kislotaga boyligi, uni oziq-ovqat sanoatida kengroq qo‘llash imkoniyatini yaratib beradi. AQSh, Angliya, Fransiya, Gollandiya, Italiya, Belgiya, Yaponiya va boshqa mamlakatlarda 50 dan ortiq kompaniyalar har xil xushbo‘y mahsulotlarni tayyorlash bilan shug‘ullanadilar.

Ko‘pchilik oziq-ovqat mahsulotlarini uzoq vaqt saqlash va tashish jarayonlarida, ular Listeria, Salmonella, Campulobacter kabi kasal qo‘zg‘atuvchi mikroorganizmlar bilan zaharlanishlari mumkin. Shuning uchun ham oziq-ovqat va qishloq-xo‘jalik mahsulotlarini mikrobiologik nazorat qilib turish talab qilinadi. Bu esa tegishli asbob-uskunalar, maxsus xonalar va sharoitlar, vaqt va mutaxassis talab qiladigan mashaqqatli jarayondir. Zararlangan oziq-ovqat mahsulotlari va agrobiologik manbalarni biotexnologiyaning zamonaviy usullari orqali baholash an’anaviy usullardan birmuncha farq qiladi. Molekulyar biologiya fani yutuqlaridan foydalanib, chunonchi antitelalar deteksiya tizimidan yoki DNK-RNK texnologiyasidan foydalanib, manbani mikrobiologik zararlanganligini aniq va tez kuzatish mumkin. Bu usul shunchalik soddaki, uni hatto o‘rganib olgan oddiy laborantlar ham bajaraoladilar. Oziq-ovqat sanoatiga kirib kelgan yana bir yangi usul

bu immun usulidir. Bu usul yordamida mahsulotlarni sifatini nazorat qilish tobora kengayib bormoqda. Masalan, oziq-ovqat mahsulotlaridan salmonellalar ajratish yoki mikotoksinlarni aniqlash an’anaviy usullar yordamida olib borilganda juda uzoq vaqtni (bir necha kecha-kunduzni) talab qiladi. Xuddi shu analizni affin xromatografiya usulida, tegishli antitelalar va toksin saqlangan kolonkalar yordamida 30 daqiqa mobaynida amalga oshiriladi. Hozirgi vaqtda immun usullar bakterial toksinlar, antitelalar, gormonlarni aniqlashda katta samara bilan ishlatilib kelinmoqda. Bu usulni yana bir ustunlik tomoni u juda ham kam miqdordagi toksinlarni ham aniqlash imkonini beradi.

**Sun’iy ovqat tayyorlashning zamonaviy yo‘nalishlari**. An’anaviy oziq-ovqatga nisbatan, sun’iy ovqat iste’mol qilish qator ustunliklarga ega. Masalan, qand diabeti, ba’zi-bir fermentlar biosintezini pastligi (pankreatit), vitaminlar sintezini buzilishi, kraxmalni organizmda pishloqilmasligi va boshqa qator kasalliklarga duchor bo‘lgan insonlar soni tobora oshib bormoqda. O‘z-o‘zidan ma’lum bo‘ladiki, bunday insonlarni ovqatini tarkibini o‘zgartirilganda ijobiy natijalarga erishish mumkin. Xuddi shunday sun’iy ovqat yoshi kattalarga va yosh bolalarga ham juda zarur.

Yuqori kaloriyali ovqat sportchilarga, shaxtyor, metallurg, geolog, cho‘pon, paxtakorlar uchun ham zarur. Ovqat tarkibidagi ba’zi komponentlarni ko‘paytirish, ba’zilarini (keraksizlarini) butunlay olib tashlash hisobidan uni funksional samarasini ko‘tarish mumkin. Masalan, natriy va kaliy elementlari yetishmaganda nerv impulslari o‘tmaydi, kalsiy yetishmaganda mushaklar qisqaraolmaydi, yod yetmaganda esa qalqonsimon bezni faoliyati ishdan chiqadi. Bunday oziqaga kam miqdorda qo‘shiladigan moddalar ikki kategoriyaga bo‘linadi:

- kalsiy, natriy, kaliyni mineral tuzlari, bularni makroelementlar ham deb yuritiladi;
- mikroelementlar: xrom, kobalt, sink, mis va selen, bular organizmda juda ham kam miqdorda uchraydilar.

Bu elementlarni tanqisligi organizm faoliyatida juda katta o‘zgarishlarga olib keladi. Masalan, marganetsni tanqisligi gipoglikemiya olib kelsa, nikel, yod, xrom yoki rux tanqisligi qalqonsimon bezni ishdan chiqaradi. Funksional muhim birikmalarni ikkinchi kategoriyasi – vitaminlardir. Bular ham organizmda o‘ta kam miqdorda uchraydi va ularni tanqisligi organizm faoliyatini butunlay o‘zgartirib yuboradi. U yoki bu elementlarni tanqisligini, mana shu elementlar saqlaydigan sun’iy ovqat iste’mol qilish orqali osonlik bilan oldini olish mumkin. Albatta, bu moddalarni tabletkalar, kapsulalar va boshqa shakllarda ham iste’mol qilish mumkin. Ammo, bu elementlarni yetishmasligini hamda ularni ichakda so‘rilishi qiyin ketishini e’tiborga olgan holda, ularni ovqat tarkibida iste’mol qilish maqsadga muvofiq natijalarga olib keladi.

Zamonaviy qarashlarga asosan oziq-ovqatni oqsil qismi, shu ovqatning asosini tashkil etadi. Sun’iy tayyorlangan ovqat kerakli (natural) ingridientlarni kompozitsiyasi hisoblanadi. Alohida komponentlardan tayyorlangan ovqat retsepturasi ham ma’lum. Ammo, ko‘proq bitta yoki bir necha komponentlardan iborat bo‘lgan va ovqatga qo‘shib iste’mol qilinadigan qo‘shimchalar ishlab chiqarilmoqda. Bunday qo‘shimchalar ovqatni boyitish hamda organizmda

yetishmaydigan elementlarni o‘rnini to‘ldirish maqsadida ishlatiladi. Sun’iy oziqa tayyorlash uchun ko‘proq polisaxaridlar, oqsil moddalar, nuklein kislotalar, yog‘lar, mahsulotlarni gidrolizatorlari, uglevodorod, har xil vitaminlar, organik va aminokislotalar, xushbo‘y hid beruvchi moddalar, ba’zida esa inert (organizmga foyda yoki zarar keltirmaydigan) moddalar ishlatiladi. Mana shu ingridientlarni miqdorini, ularni sonini o‘zgartirish asosida har xil tarkibli, kaloriyali va xushbo‘ylikga ega bo‘lgan sun’iy oziq-ovqat mahsulotlari tayyorlanadi.

Alohida ingredientlarni ko‘p sonliligi, ular asosida har xil variantga ega bo‘lgan (kaloriyasi, kimyoviy tarkibi, biologik xususiyati) ovqatlarni ko‘plab tayyorlanganligi «Maxsus ovqat» degan atamani paydo bo‘lishiga olib keldi. Bunday “Maxsus ovqat”larga yengil hazm bo‘ladigan, yuqori kaloriyalik, uzoq muddat ta’sir etuvchi, parxez ovqatlar kiradi. Afsuski, ko‘plab mamlakatlarda ushbu yo‘nalishda ilmiy va amaliy ishlar faol olib borilayotganligiga qaramasdan bu sohaga oid adabiyotlar yoki chop etilgan maqolalar soni juda ham kam.

**Qayta ishlash asosida mahsulotlar tayyorlash**. Mikroorganizmlarni hujayralari, xuddi o‘simlik yoki hayvonlarning hujayra va to‘qimalari kabi, oqsil moddalardan tashqari oziq-ovqat uchun kerakli bo‘lgan boshqa komponentlar, chunonchi nuklein kislotalari, karbon suvlar, aminokislotalar, organik kislotalar, fosfolipidlar, vitaminlar va boshqa ingridientlar saqlaydi. Bu birikmalar nafaqat hayvonlarni oziqlantirish uchun, inson uchun oziqovqat tayyorlashda ham qo‘l keladi.

*Mikroorganizmlar biomassasini kompleks qayta ishlash*. Shuning uchun ham mikroorganizmlarni katta hajmda ko‘paytirish manbalarini topish dolzarb masala bo‘lib qolaveradi. Sun’iy tayyorlangan ovqatlarni (ta’m beruvchi, yuqori kaloriyali, hid beruvchi) miqdorini tobora ortib borishi bunday komponentlarni ishlab chiqarishni muayyan texnologiyalarini yaratilishiga olib keldi. Mikroorganizmlar biomassasidan alohida komponentlar ajratish maqsadida, ularni kompleks qayta ishlash mana shunday yangi yaratilgan texnologiyalardan biridir. Bunday yondoshish oqsillarning alohida fraksiyalar (jumladan, fermentlarni ham), lipidlar, nuklein kislotalar va karbonsuvlarni ajratib olishga imkon beradi. Xuddi shuningdek, past molekulyar og‘irlikga ega bo‘lgan moddalardan yuqori molekulaliklarini ajratish va bu moddalarni molekulyar massasi, oziqa birligi hamda boshqa sifatlariga qarab bo‘lib olish imkoniyatini ham beradi. Bugungi kunda hujayralarni, ayniqsa mikrob hujayralarni kompleks qayta ishlash juda ham rivojlanib, yuqori bosqichga ko‘tarilgan.

Bu texnologiyadan yirik kompaniyalar, British Petroleum (Angliya), Chochst-ude (Germaniya), Philips Petroleum, Provest Corporation (AQSh) va boshqalar foydalanadilar. Bunday biotexnologiyalar yordamida deyarli barcha hujayra komponentlari, jumladan oziq-ovqat, meditsina hamda texnik maqsadlar uchun oqsil gidrolizatlari ham ishlab chiqarilmoqda. Mikroorganizmlar biomassasini kompleks qayta ishlash bir necha bosqichdan iborat. Birinchi bosqich – bu ekstraksiya. Bu bosqichda hujayradan ajratib olmoqchi bo‘lgan asosiy moddani xususiyatlariga qarab erituvchi shu moddani to‘la ekstraksiyasini ta’minlab beruvchi pH – ko‘rsatkichi, harorat tanlab olinadi. Ekstraksiya bo‘luvchi birikmalarni fizik-kimyoviy xususiyatlari, ularni qaysi birikmalar sinfiga mansubligidan foydalanib, ekstraksiya jarayoni bosqichma-bosqich olib borilishi ham mumkin. Ekstraksiya vaqtida kerakli

modda fermentativ o‘zgarishlarga uchrab qolmasligiga e’tibor berish kerak, xususan biopolimerlarni parchalanishining (oqsil, polisaxaridlar, lipidlar, nuklein kislotalar) oldini olish kerak.

Komponentlarni qayta ishlash chizmasi, qaysi moddaga ustuvorlik berilishiga qarab chiziladi. Bu maqsadda har xil texnologik usullardan foydalaniladi: cho‘ktirish, har xil erituvchiga o‘tkazish, adsorbsiya, konsentrlashtirish (quyultirish), xromatografiya. Erituvchini to‘g‘ri tanlash ham katta ahamiyatga ega. Kerakli moddani cho‘kmaga tushirish, aksincha cho‘kmani eritib, moddani suyuqlikga o‘tkazish, filtrlash, membranalardan o‘tkazish ham eng muhim texnologik bosqichlardan hisoblanadi. Membranalarni to‘g‘ri tanlash nafaqat moddani ajratib olish, balki uni tozaroq holatda tayyorlash imkoniyatini ham beradi. Biopolimerlarni molekulyar massasiga, ion almashishiga, izoelektrik nuqtasiga, affinligiga (biologik mosligiga) qarab ajratish usullari ham zamonaviy biotexnologik jarayonlarda tobora keng qo‘llanilib bormoqda. Kichik va katta molekulali moddalarni bir-biridan ajratish uchun ko‘proq yuqori molekulali moddalarni organik erituvchilar yordamida cho‘kmaga tushurib olish tavsiya etiladi. Ekstraktlardan kerakli moddalarni ajratib olinishi yana bir yo‘li – bu harorat bilan ishlov berishdir. Ekstrakt yuqori haroratda ushlab turilganda, temperaturaga chidamsiz bo‘lgan moddalar denaturatsiyaga uchrab, cho‘kmaga tushadi. Cho‘kmani esa, maqsad va imkoniyatlardan kelib chiqqan holda yoki filtrlab, yoki membranalardan o‘tkazib, yoki sentrifugalar yordamida ajratib olinadi. Lipidlar va sterinlar organik erituvchilar yordamida ekstraksiya qilib olinadi. Buning uchun xloroform, efir, metanol, etanol va boshqa erituvchilardan foydalanish mumkin. Bu bosqich eng kerakli bo‘lib, boshqa moddalarni ekstraksiyasiga xalaqit qiluvchi lipid, fosfolipid, sterinlarni murakkab efirlari, di-, triglitseridlar, yog‘ kislotalaridan qutilish imkonini beradi. Eritmalarni denukleinizatsiya (nuklein kislotalarni ajratib tashlash) bosqichi ham eng muhimdir. Bu bosqichda polimerli va oligomerli nuklein kislotalari ajratib olinadi. Bu fraksiya suvda eruvchi peptidlar, azotli asoslar, nukleotidlar, oligonukleotidlar, nukleozidlar va boshqa moddalar ham saqlaydi. Hujayra ichidagi past molekulali moddalarni ajratib olish uchun, biomassani avtoliz qilish usulidan keng foydalaniladi.

Avtoliz – bu hujayra biopolimerlarini (oqsil, karbon suv, lipidlar, nuklein kislotalar, polisaxaridlar) tabiiy parchalanishidir. Avtoliz hujayra ichidagi fermentlar yordamida amalga oshib, suvda erimaydigan yuqori molekulali moddalarni, suvda eruvchi monomerlarga aylantirib beradi. Bundan tashqari jarayonni yanada yumshoqroq sharoitda, tezroq o‘tkazish maqsadida tashqaridan ferment eritmalari aralashtiriladi. Muayyan fermentlar ta’sirida tegishli biopolimerlar tez parchalanadi. Bunday yo‘l ko‘pincha hayvonlar va parrandalarning yemiga qo‘shimcha moddalar tayyorlashda ishlatiladi.

*Mikroorganizmlar biomassasidan oziqa oqsili tayyorlash*. Birlashgan Millatlar tashkilotining oziq-ovqat mahsulotlari va qishloq xo‘jaligi bo‘limining bergan ma’lumotlariga ko‘ra oziqa oqsiliga bo‘lgan tanqislik dunyoda yiliga 10 mln. tonnani tashkil etadi. Mana shu yetishmovchilikni to‘ldirish uchun eng istiqbolli yo‘l – mikrobiologik sintez ekanligi ko‘p sonli, ekspertlar tomonidan ko‘rsatib berilgan. Mana shu yo‘l bilan olingan, hayvon va parrandalar uchun oziqa sifatida ishlatiladigan oqsil ma’lum talablarga javob berishi kerak, oziq-ovqatga ishlatilishi mo‘ljallangan oqsil moddalari esa yana qator talablarga javob berishlari shart.

Birinchidan, oziq-ovqatga mo‘ljallangan oqsil fraksiyasi butunlay past molekulali metabolitlardan tozalangan bo‘lishi hamda toksik xususiyatga ega bo‘lgan oqsil moddalarini butunlay saqlamasligi kerak. Shu maqsad uchun har xil taksonomik guruhga mansub bo‘lgan mikroorganizmlardan oziqa oqsili ajratish usullari yaratilgan. Oziqaga mo‘ljallangan oqsil konsentrati, (uni yana izolyat ham deb yuritiladi) maxsus sanitariya-gigiena, iqtisodiy, texnologik va ekologik talablarga javob berishdan tashqari ma’lum oziqa birligiga ega bo‘lishi shart. Sanoatda ishlab chiqariladigan oqsil preparatlari uch kategoriyaga bo‘linadi. Birinchi kategoriya kam miqdorda oqsil saqlovchi – (20-25% gacha) preparatlar. Ikkinchi kategoriya yuqori miqdorda oqsil saqlovchi oqsil konsentratlari (60-70%), va nihoyat uchinchi – 80% dan ko‘proq oqsil saqlovchi oqsil izolyatlari. Oqsil fraksiyalarini ajratib olish va tozalash ularni saqlash muddatini uzaytirishga olib keladi. Bunga sabab, preparat tarkibida bo‘lgan, yengil oksidlanuvchi hujayra komponentlarini olib tashlanganligidir. Bu ko‘proq lipidlarga ta’luqlidir. Ma’lumki, oqsil bilan lipidlarni o‘zaro ta’siri lizin bilan metioninni parchalanishiga olib keladi, bu esa oqsilni oziqalik xususiyatini pasaytiradi. Bundan tashqari lipidlarni oksidlanishi oziqa mahsulotga o‘xshamagan rang beradi. Oziqa uchun tayyorlangan oqsil inson salomatligi uchun zararli bo‘lgan birikmalardan ozod bo‘lishi kerak.

O‘simlik va hayvon oqsillariga bo‘lgan talablar mikrob oqsillari uchun ham saqlanib qoladi, ammo mikrob oqsillariga yana qo‘shimcha sanitariya-gigiena talablari qo‘yiladi. Mana shu talablarga javob bergan mikroblardan olingan oqsillar har xil ko‘rinishda oziq-ovqatga qo‘shimcha sifatida ishlatiladi: butun biomassa (asosan lipidlar va nuklein kislotalardan tozalangan), har xil tozalikga ega bo‘lgan oqsil fraksiyalari shular jumlasidandir. G‘arbiy Yevropada mikrob biomassasidan oziq-ovqat sanoatida foydalanish ancha qiyinchiliklarga duchor bo‘lmoqda. Shunga qaramasdan AQSh va boshqa qator mamlakatlarda achitqi zamburug‘i biomassasining 10 xil turi ovqatga qo‘shimcha sifatida ishlatilib kelinmoqda. Aniq oziqa maqsadlaridan kelib chiqqan holda, biomassani qayta ishlash texnologiyasi bir-biridan farq qiladi. Achitqi zamburug‘ini biomassasani dezintegratsiya (maydalash, buzish) qilishni har xil usullari ma’lum bo‘lib, mexanik (maydalash), kimyoviy (suvsiz ammiak, ishqoriy, kislotali muhit) fizik (ultratovush) va qator boshqa birin-ketin keladigan usullari shular jumlasidandir. Ularni barchalarining maqsadi biomassa tarkibidagi oqsil moddalarini to‘lig‘icha ekstraksiya qilib olishdir. Deyarli barcha holatlarda oqsillar biomassasidan ishqoriy muhitda (pH 9,0-14,0 gacha) ma’lum haroratda (40-90$^{o}$C) yaxshi ajraladi.

Bu usulni ham har xil modifikatsiyasi ma’lum. Ulardan ko‘proq ishlatiladigani ikki bosqichli ekstraksiyadir. Mikrob biomassasidan oqsil moddalarni nordon (pH 1,0-3,0) muhitda ham ekstraksiya qilsa bo‘ladi. Izolyatda oqsil miqdori ko‘p bo‘lsada, ularni tarkibida oltingugurt saqlovchi aminokislotalar miqdori juda kam bo‘ladi. Ishqoriy sharoitda oqsilni ekstraksiya qilinganda eritmaga nuklein kislotalar ko‘proq chiqadi, shuning uchun ham keyingi bosqichda ularni olib tashlashga to‘g‘ri keladi. Oqsildan nuklein kislotasini ajratishni eng oddiy yo‘li – bu 50-70$^{o}$C da 1-4 soat mobaynida ishlov berishdir. Ba’zi hollarda eritmalarga endo- va ekzonukleazalar bilan ishlov beriladi, bunda nuklein kislotalar past molekulali asoslargacha pachalanadi va oqsildan oson ajraladi. Lipidlarni olib tashlash uchun sanoatda

ishlatiladigan bir necha yo‘llar ma’lum. Shulardan biri lipidlarni izopropanol va etanol bilan ikki bosqichli ekstraksiya qilish. Shuningdek, biomassadan lipidlarni metanol yordamida ham ekstraksiya qilib olinadi, bunda ajratib olinadigan lipidlarning miqdori 2% ga kamayishi kuzatilgan. Umumiy qabul qilingan usullardan tashqari, kamroq tarqalgan texnologik yondoshishlar ham ma’lum. Xullas har-bir manba uchun qo‘yilgan vazifalarga va chiqariladigan mahsulotni sifati va unga qo‘yilgan talablarga qarab tozalash usullari tanlansa maqsadga muvofiq bo‘ladi.

# VIII bob. BIOLOGIK FAOL VA DORIVOR MODDALAR BIOTEXNOLOGIYASI

## 18§. AMINOKISLOTALAR ISHLAB CHIQARISH

Hozirgi paytda butun dunyoda aminokislotalarni sanoat miqyosida ishlab chiqarishga alohida e'tibor berilmoqda. Aminokislotalarni yetarli miqdorda ishlab chiqarish ular asosida hayvonlar uchun yem-oziqa va insoniyat uchun oziq-ovqat mahsulotlari tayyorlashning cheksiz imkoniyatlari paydo bo'ldi. Ratsion tarkibida u yoki bu aminokislotaning, ayniqsa almashinmaydigan aminokislotalarning yetishmasligi yoki umuman bo'lmasligi organizmning o'sishi va rivojlanishiga o'ta salbiy ta'sir ko'rsatadi. Almashinmaydigan aminokislotalar jumlasiga: arginin, gistidin, lizin, leysin, izoleysin, serin, treonin, metionin, triptofan, fenilalaninlar kiradi. Hayvon ratsioni tarkibiga yetishmaydigan aminokislotadan foizning juda kam miqdordagi ulushini qo'shib berish yem-oziqa oqsilini oziqa qimmatini 2 martaga oshiradi.

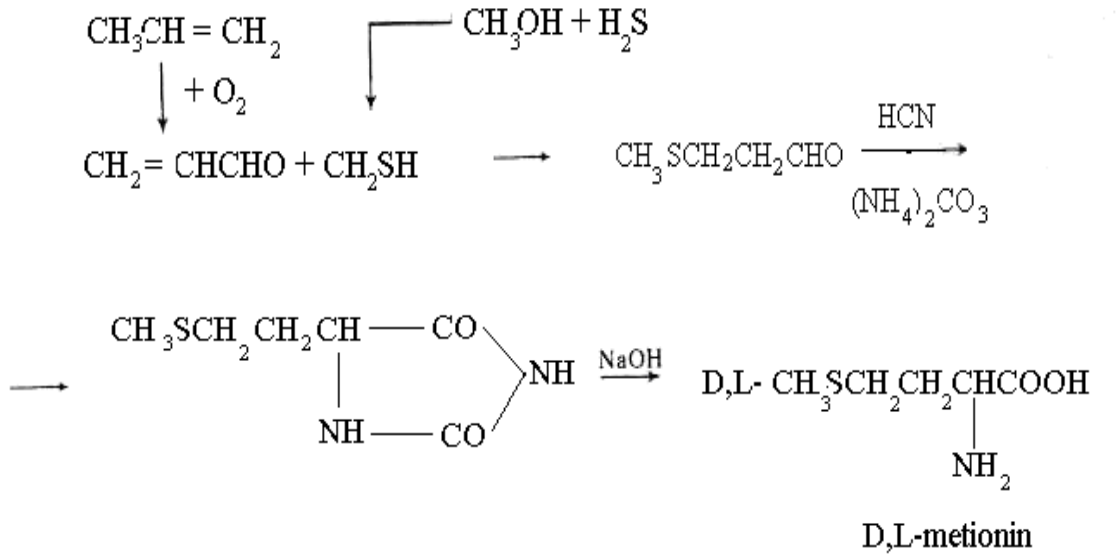
Jahonda hozirgi kunda sanoat miqyosida aminokislotalarni ishlab chiqarish 400 ming tonnadan oshib ketdi. Har yili jahonda 220 ming t glutamin kislota, 160 ming t metionin, 50 ming t lizin, 7 ming t glitsin, 100-200 ming t triptofan ishlab chiqarilmoqda. yem-oziqa va oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishda leysin, izoleysin, prolin, treonin va boshqa aminokislotalarga bo'lgan talab yuqori (130 ming t) bo'lishiga qaramay, bu aminokislotalar kamroq miqdorda ishlab chiqarilmoqda. Bugungi kunda jahon amaliyotida ishlab chiqariladigan jami aminokislotalarning 60 % mikrobiologik uslubda ishlab chiqarilmoqda. Kelajak istiqbolda L-aminokislotalar ishlab chiqarishning mikrobiologik uslubi yanada keng quloch yoyadi. Bu uslubda aminokislotalar ajratib olish boshqa uslublarga qaraganda texnik-iqtisodiy jihatdan ancha qulay, hamda bu uslub bir sanoat korxonasining o'zida induvidual aminokislotalarni yuqori tozalikda, shuningdek ularni ham oziq-ovqat, ham yem-oziqa, ham tibbiy maqsadlarda ishlatish mumkin bo'ladi. Bugungi kunda metionin, glutamin kislota, lizin, triptofan, treonin, glitsin va qator boshqa aminokislotalarning D, L-shakllarini sanoat miqyosida ajratib olish ishlari yo'lga qo'yilgan.

Zamonaviy texnologiyalar individual aminokislotalarni juda yuqori samara bilan hamda, yuqori darajadagi kimyoviy tozalikda ishlab chiqarish imkonini beradi. Lekin bu uslubning kamchiligi shundaki, olinadigan mahsulotni ko'p tonnali miqdorda ishlab chiqarishni yo'lga qo'yib bo'lmaydi. Odatda yem-oziqa va oziq-ovqat maqsadlarida ajratib olinadigan aminokislotalar faqat L-shaklda bo'lishi shart. Mikrobiologik uslubda ishlab chiqariladigan aminokislotalar rasemat holatda, ya'ni mahsulot tarzida ajratib olingan aminokislotalarning D, L –shakllarini aralashmalaridan iborat bo'ladi. Bu aminokislotalar aralashmasidan L-shakllarini ajratib olish juda murakkab jarayon hisoblanadi, hamda bu ishni amalga oshirish ancha qimmatga tushadi.

Tayyor mahsulot tarkibida D-shakldagi aminokislotalarning bo'lishi maqsadga muvofiq emas, chunki ular odam va hayvon organizmi tomonidan o'zlashtirilmaydi, ularning ba'zilari esa organizm uchun zaharli bo'ladi. Bu qoidadan glitsin va

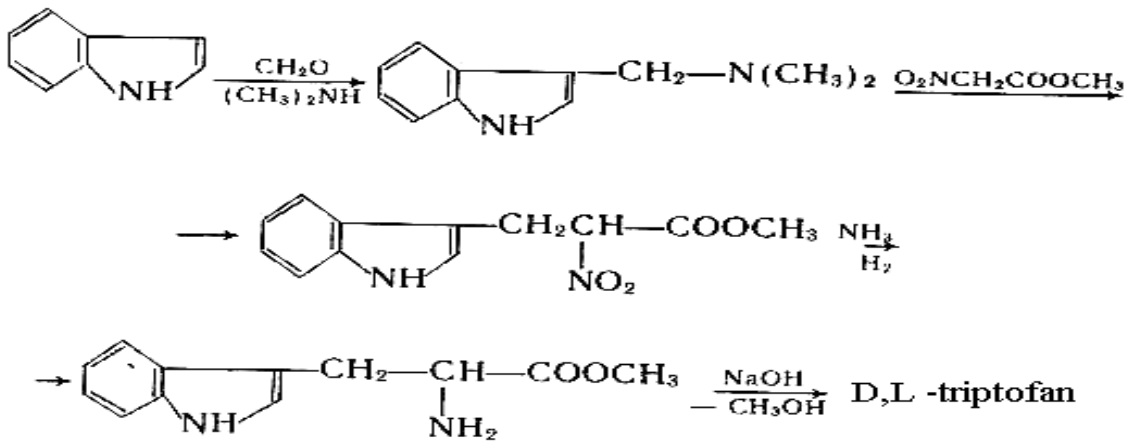
metionin mustasno bo‘lib, glitsinning optik izomeri yo‘q, metioninning har ikkala izomeri ham odam va hayvonlar tomonidan bir xil o‘zlashtiriladi.

**Aminokislotalarni kimyoviy sintez asosida ajratib olish D, L –metioninni ajratib olish.** D, L-metioninni kimyoviy yo‘l bilan ajratib olish juda murakkab va ko‘p bosqichli jarayon bo‘lib, uni akroleindan olinadi. Quyidagi sxemaga muvofiq bo‘lgan kimyoviy reaksiyalar orqali ajratib olinadi:




Bu uslubda 1 t D, L-metionin ajratib olish uchun 0,6 t akrolein sarflanadi, rasematni ajratish esa talab qilinmaydi.

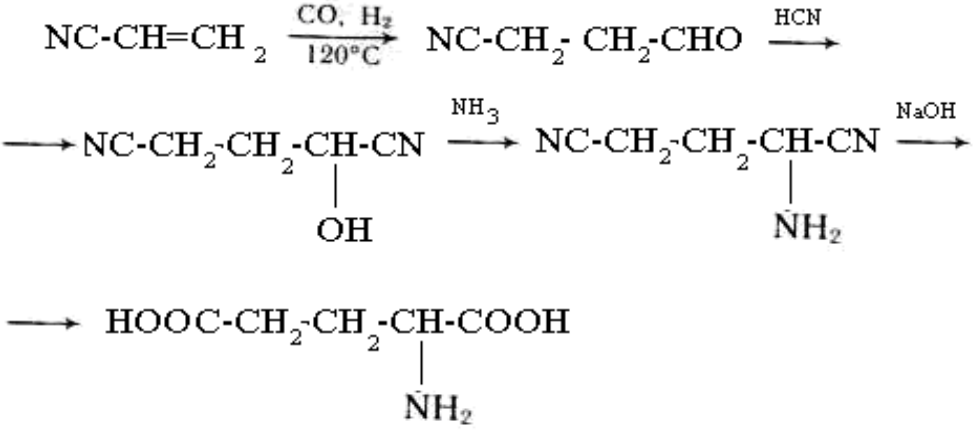
*D, L-triptofanni indol va nitrosirka efirdan ajratib olish.*



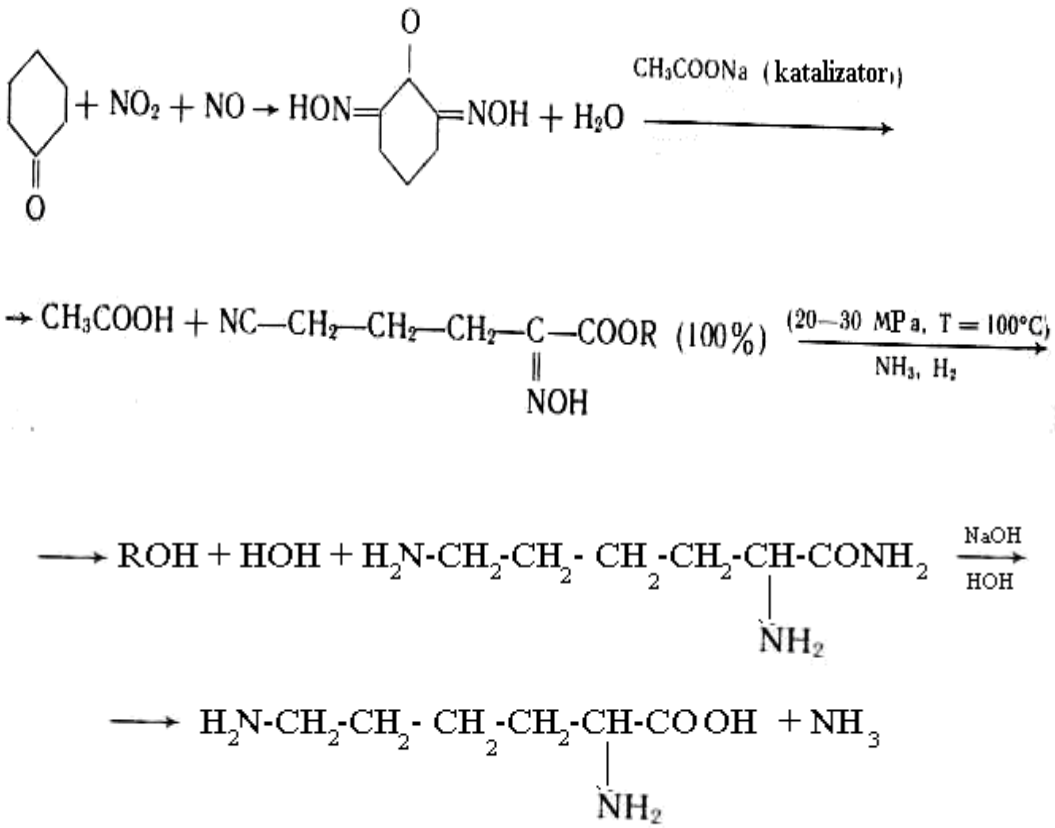

Bu sxema asosida ajratib olingan D, L-triptofan yem-oziqa sifatida ishlatilganda uni rasematidan, ya’ni D va L- shakllarini bir biridan ajratish talab qilinmaydi.

*Natriy L-glutamatni akrilnitritdan ajratib olish.* Bu uslubda olingan rasemat ikkala optik izomerlarni alohida olingan toza shaklidagiga nisbatan suvda yaxshiroq eriydi, Shu sababli to‘yingan eritma tarkibidagi L-shaklni ajratib olish uchun aralashmaga natriy L-glutamat kristallari qo‘shiladi.

*Siklogeksanondan L-lizinni ajratib olish.* Bu uslub asosida olingan lizinning D va L- shakllarini bir biridan ajratib olish uchun ularning tuzli aralashmalariga L- vino kislota qo‘shib o‘zaro ta’sirlantiriladi. D-lizin va vino kislotaning tuzlari suvda kamroq eriydi. Shu xossadan foydalanib D- va L-lizinlar bir biridan ajratiladi. Bundan keyin lizinning L-shaklini vino kislotadan ajratish uchun kolonkada ion-almashinuv xromatografiyasi o‘tkaziladi. Ajralib qolgan D-lizin salitsil aldegid bilan o‘zaro ta’sirlantirilib qaytadan rasematsiyalash uchun qaytadan qurilmaga yo‘naltiriladi.

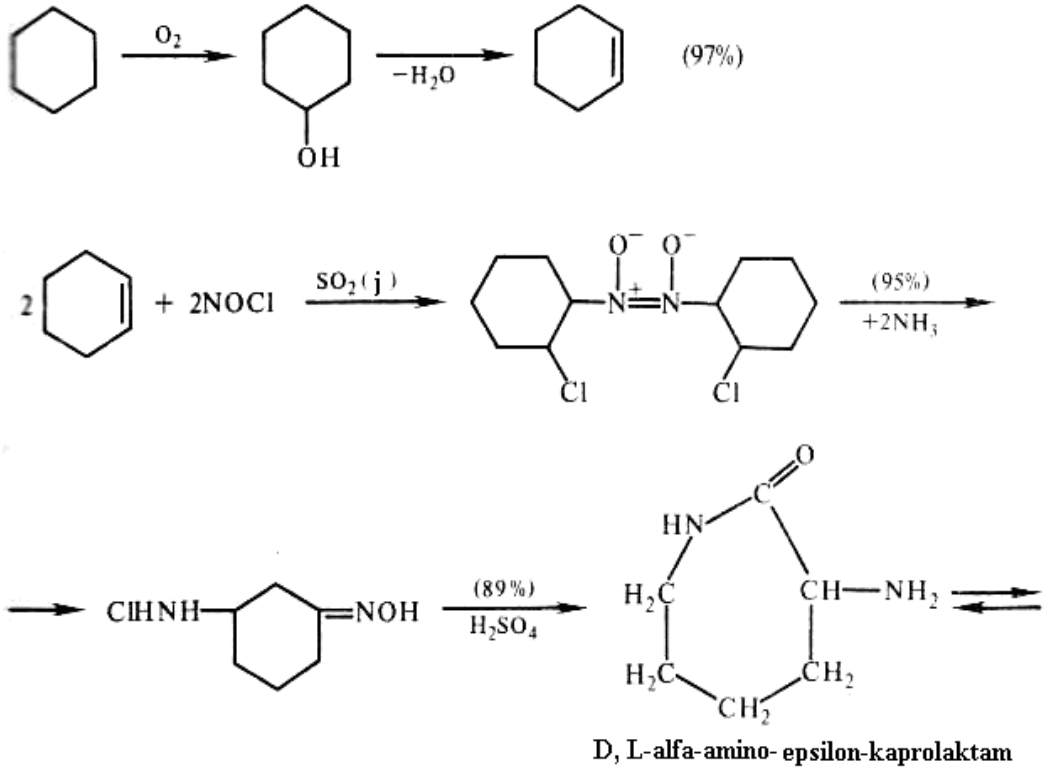


D,L-glutamin kislota

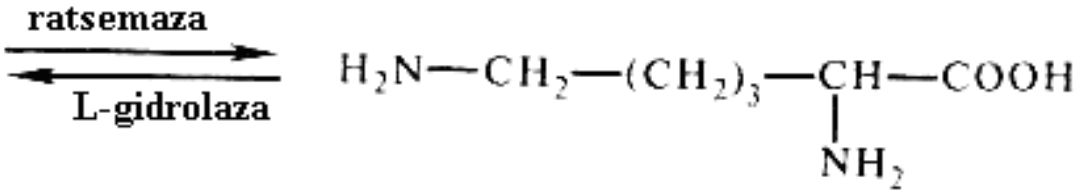


D,L-lizin

*L-lizinni kombinatsiyalangan yoki fermentativ uslubda ajratib olish.* L-lizinni bu uslubda ajratib olishni o‘tgan asrning 70-yillarida Yaponiyaning «Toyoreyon» firmasi tomonidan taklif qilingan. L-lizinni bu uslubda ajratib olishda mahsulotni hosil bo‘lish samarasi 95 % ni, kimyoviy tozalik darajasi 99 % ni tashkil qilar ekan. Bunda reaksion muhitdagi aminokislotaning miqdoriy ko‘rsatkichi 200 g/l ga yetishi mumkin ekan. Jarayonning texnologiyasi o‘z ichiga D, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamni siklogeksandan organik yo‘l bilan sintezlanishini va uning fermentativ gidrolizlanishini oladi. Bu texnologiya asosida L-lizinni ajratib olish quyidagi kimyoviy sxema asosida amalga oshiriladi.




D, L-alfa-amino- epsilon-kaprolaktam




**L-lizin**

**+**

**D-alfa-amino-epsilon-kaprolaktam**

Muayyan sxemaga binoan ishlab chiqarish sanoatini tashkil qilish ikkita ferment-L-gidrolaza va rasemazalardan foydalanishni hisobga oladi. Ularning birinchisi organik sintez natijasida hosil bo‘ladigan D, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamni gidrolizlaydi, ikkinchisi ratsematsiyani amalga oshirib, D-va L-

shakllardagi lizinni hosil bo‘lishini ta’minlaydi. Jarayonning amalga oshishini ta’minlovchi shart-sharoit shundan iborat-ki, ferment mikrob tomonidan ishlab chiqilgan bo‘lishi kerak. Ma’lumki, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamning gidrolazasini zamburug‘larning *Cryptococcus*, *Candida*, *Trichosporo*n avlodlarini vakillari ishlab chiqaradi, bu fermentning faollovchilari sifatida ikki valentli metallar-marganets, magniy va ruxning ionlari xizmat qiladi. D-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamning rasemazasini bakteriyalarning *Achromobacter*, *Flavobacterium* avlodlarini o‘stirish yo‘li bilan ajratib olish mumkin.

Har ikkala ferment immobilizatsiyalangan uzluksiz ishlaydigan apparatga joylashtirilib, D, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktam substrati bilan bu fermentlarning birgalikdagi ta’siriga asoslangan fermentativ reaksiya o‘tkaziladi. Yuqorida keltirilgan kimyoviy reaksiyalarning murakkabligidan ko‘rinib turibdiki, organik sintezga asoslangan uslubni qo‘llash qator texnologik operatsiyalarni amalga oshirishni talab qiladi. Bu reaksiyalarning har birini amalga oshirish tegishli qurilmani va uni amalga oshirilishini nazorat qiluvchi moslamalarni bo‘lishini talab qiladi. Bu xildagi sanoat ishlab chiqarishini tashkil qilishda ko‘pincha qator toksik moddalardan va ancha qimmat bo‘lgan o‘ta toza kimyoviy moddalardan foydalanishni, shuningdek rasematlarni ajratib olish bilan bog‘liq qiyinchiliklarni yengishga to‘g‘ri keladi.

**Oqsil gidrolizatlaridan aminokislotalar ajratib olish.** Aminokislotalarni toza holda ajratib olishning yana bir xili, ba’zi tabiiy oqsillarni kislotali, ishqoriy va fermentativ gidrolizlash hisoblanadi. Bu tabiiy manbalar sifatida go‘sht sanoatining chiqindilari, sut kazeini, bug‘doy kleykovinasi va boshqalardan foydalanish mumkin bo‘ladi. Lekin bu uslubning qator kamchiliklari mavjud, ular aminokislotalarni ko‘p tonnali hajmda ajratib olishga yo‘l qo‘ymaydi. Bu kamchiliklarning muhimlaridan biri manba xizmatini o‘tovchi xom-ashyoning miqdoriy jihatdan cheklanganligi va uning nostandartligi, shuningdek aminokislotalarni ajratish va tozalash bilan bog‘liq bo‘lgan ko‘p bosqichli kimyoviy ishlovlarni talab qilinishi hisoblanadi.
Bundan tashqari gidroliz uchun mineral agentlardan foydalanganda ko‘p qimmatli aminokitslotalar: triptofan, treonin, sistein, serinlar parchalanib ketishi, proteolitik fermentlardan foydalanish esa, peptid bog‘larni to‘liq parchalanishini ta’minlamasligi, ish unumini ancha pasaytiradi.

**Mikrobiologik uslubda aminokislotalar ajratib olish.** Bugungi kunda aminokislotalarni ajratib olinishini hamma uslublari orasida mikrobiologik uslubga ko‘proq e’tiborberiladi. Bu uslubning ustunligi shundaki, unda kimyoviy biosintez uchun xos bo‘lgan kamchiliklar uchramaydi va ajratib olinadigan aminokislotalar biologik faol, ya’ni L-shaklda olinadi. Bu narsa chorvachilik uchun yem-oziqa tarkibiga qo‘shib beriladigan texnik preparatni ajratish va tozalash imkonini beradi. Aminokislotalarni L-shaklini sanoat miqyosida ishlab chiqarishni tashkil qilish ikki xil texnik sxema asosida amalga oshirilishi mumkin. Ular bir biridan asosan mikrob o‘stirilgan suyuqlikni olish bosqichlari bilan farqlanadi. Birinchi xili bo‘yicha mikrob o‘stiriladgan suyuqlikni ikki bosqichda (ikki bosqichli uslubda) olinsa, ikkinchisi bir bosqichda (bir bosqichli uslubda) olinadi. Ikki bosqichli uslubda olinishi lozim bo‘lgan aminokislotani mikrob hujayralarida, uni sintezlanishi uchun xizmat

qiladigan eng arzon turadigan manbalardan foydalanishni nazarda tutadi. Bu o‘rinda manba sifatida xizmat qiladigan moddani hosil qilish va uni keyingi bosqich uchun tayyorlash jarayonning birinchi bosqichi hisoblanadi. Bu bosqichga ferment preparatini (odatda mikrob tabiatli) biosintezi ham kiradi, hamda bu ferment manba sifatida xizmat qiladigan moddani maqsadli ravishda tegishli aminokislotagacha transformatsiyalaydi. Bunda sanoat miqyosida fermentlarning produsenti (mikroorganizmlar biomassasi) ni o‘stiriladi. Biomassani mikrob o‘stirilgan suyuqlikdan ajratiladi va bevosita transformatsiya uchun foydalaniladi yoki imkoniyat chegarasidagi har xil uslublar (mexanik, fizik-kimyoviy, kimyoviy) vositalar yordamida hujayralarni shikastlantirgandan so‘ng foydalaniladi
Ikkinchi bosqichda esa, birinchi bosqichda mikroorganizm tomonidan ishlab chiqarilgan ferment tizimidan foydalanib, aminokislotani sintezlanishi uchun xizmat qiluvchi moddani aminokislotagacha transformatsiyalanadi.

**Aminokislotalarni mikroorganizmlar hujayralari yordamida biosintezlash.** Ma’lumki, mikrob hujayralari oqsillari tarkibiga aminokislotalarning 20 tadan iborat bo‘lgan to‘liq tarkibi kiradi va bu prototrof mikroorganizmlar aminokislotalarni oziqa muhitidagi karbon, azot va oltingugurt tutuvchi birikmalaridan biosintezlaydi. Karbonning manbayi sifatida karbonsuvlar, karbonvodorodlar va ularning oraliq oksidlanish mahsulotlari bo‘lishi mumkin. Karbon manbalari sifatida karbonsuvlarning: glikolizi, ularning Entner-Dudarev yo‘li bilan almashinuvi va pentozafosfat, shuningdek, uch karbon kislotalar sikli kabi ketma-ket keladigan metabolitik jarayonlarning kechishi tufayli hosil bo‘ladigan oraliq mahsulotlar xizmat qiladi. Bu aminokislotalarning sonini ko‘p bo‘lishiga qaramay, hamma vaqt ularning biosintezi uchun deyarli bir xil modda xizmat qiladi va faqat gistidinning sintezigina o‘ziga xos jihatga ega. 2-Jadvalda aminokislotalarning biosintezida ishtirok etadigan hamma oraliq moddalar va ulardan hosil bo‘ladigan aminokislotalar keltirilgan.

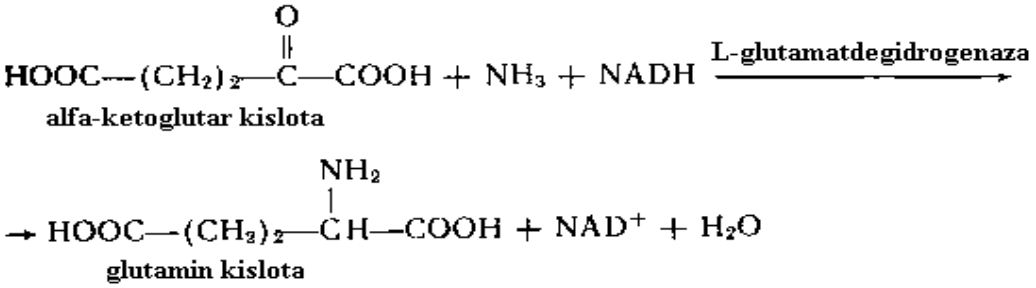
45-jadval

**Aminokislotalarning biosintezi uchun xizmat qiladigan moddalar va ulardan hosil bo‘ladigan aminokislotalar**

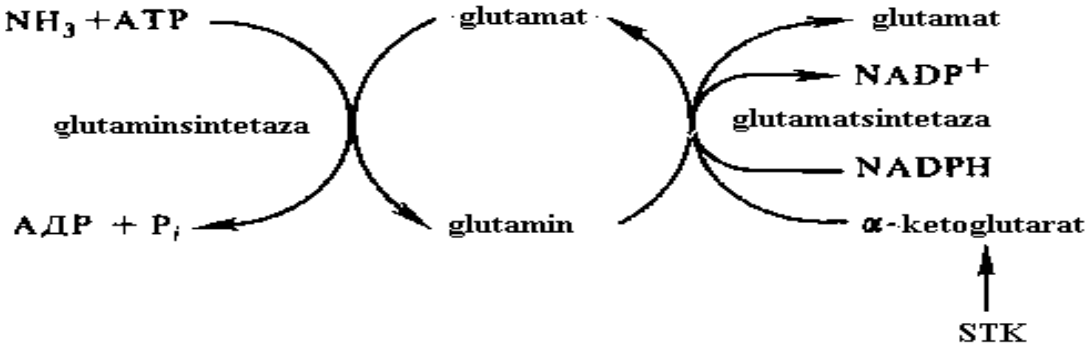
| Aminokislotalar biosintezi uchun xizmat qiluvchi moddalar | Aminokislotalar |
|---|---|
| Piruvat | Alanin, valin, leysin |
| 3-Fosfogliserat | Serin, glitsin, sistein |
| Otquloqsirka kislota | Aspartat, asparagin, metionin, lizin, treonin, izoleysin |
| Alfa-ketoglutar kislota | Glutamat, glutamin, arginin, prolin |
| Fosfoenolpiruvat+eritrozo-4-fosfat | Fenilalanin, tirozin, triptofan |
| Fosforibozil-1-pirofosfat+ATF | Gistidin |

Biroq ba’zi mikroorganizmlar uchun xos bo‘lgan narsa, bu ham bo‘lsa, bir aminokislotani o‘zi har xil manbalardan hosil bo‘ladi. Masalan, lizin ham otquloqsirka kislotadan, ham alfa-ketoglutar kislotadan sintezlanishi mumkin. Mikroorganizmlarning taksonomik jihati va fiziologik guruhlariga mos holda karbon

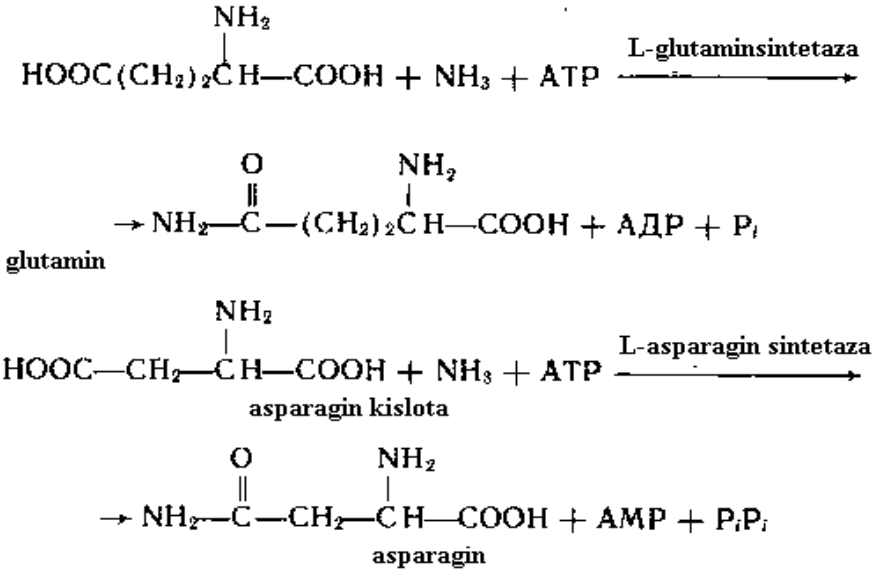
skeletini aminlanishi uchun ammoniy tuzlari, nitratlar yoki molekulyar azot xizmat qilishi mumkin. Ammiak azoti oksidlanish darajasi nuqtai nazaridan mikrob hujayrasini organik komponentlariga ko‘proq mos kelganligi sababli ko‘p bakterial va achitqili muhitlarda ancha oson o‘zlashtiriladi.Ammiakning glutamin kislotaning aminoguruhiga assimilyatsiyasi alfa-ketoglutar kislotasini qaytarilishi orqali olish mumkin:




Shuningdek, glutamat sikl orqali ham amalga oshishi mumkin.




Glutamat sikl ikkita ferment, glutaminsintetaza va glutamat sintetazalarning birgalikda ta’sir etishini, hamda ko‘p miqdorda energiya sarflanishini talab qiladi, chunki 1 mol glutamat sintezlanishi uchun 1 mol ATF sarflanadi.



Qaytariluvchi aminlanish ammiak ionlarining mo‘lligida amalga oshadi, aksincha uning past konsentratsiyali holati, shuningdek manba sifatida nitratlar, molekulyar azot yoki tarkibida azot tutuvchi organik birikmalardan foydalanilganda, glutamat sikl ishlab ketadi. Glutamin kislota mikrob hujayrasi tomonidan sintezlanadigan boshqa aminokislotalarni biosintezi uchun donor vazifasini bajaradi: Transaminaza yordamida 10 dan ortiq aminokislotalar tegishli ketokislotalardan sintezlanishi mumkin. Ammiakni aminokislotalar tarkibiga birikishini ta’minlovchi boshqa ikki xil reaksiya bu glutamin va asparaginni hosil bo‘lishi bilan bog‘liq bo‘ladi. Nitratlar qator mikroorganizmlar, xususan: mikrosuvo‘tlari, zamburug‘lari, bakteriyalarning ba’zi turlari uchun azot manbayi sifatida xizmat qiladi. Nitrat azoti aminokislota tarkibiga qo‘shilishidan oldin, qaytarilish yo‘li bilan ammiakka aylanishi lozim:

$$NO_3^- \xrightarrow{\text{nitratreduktaza}} NO_2^- \xrightarrow{\text{nitritreduktaza}} NH_3$$

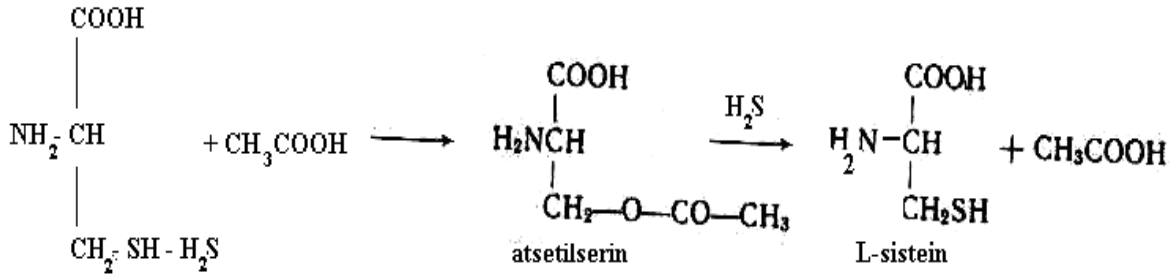
Bu jarayon assimilyatsion qaytarilish deb yuritiladi va kislorodga nisbatan sezgir bo‘lmagan, hamda ATF ni generatsiyalovchi reaksiyaga aloqadar bo‘lmagan, suvda yaxshi eruvchi ferment tizimi yordamida amalga oshadi. Nitratreduktaza tarkibida molibden bo‘lishi shart bo‘lgan ferment bo‘lganligi sababli muhitda nitratlar bilan birga molibdenning bo‘lishi talab qilinadi. Ammiak nitratlarni qaytarilishini assimilyatsiyalovchi fermentlarni repressiyalaydi. Erkin yashovchi va simbiotik prokariotlarning azotni o‘zlashtiruvchi kichik guruhi atmosfera azotini $N_2$ holatdan ammiakgacha qaytarish orqali aminokislota tarkibiga qo‘shadi. Qaytarilishni-murakkab ikkita oqsil subbirlikli, ya’ni azoferredoksin va molibdenoferredoksinli nitrogenaza ferment tizimi amalga oshiradi. Nitrogenaza reaksiyasi ferredoksin yoki flavodoksinning qaytarilgan shakllari ishtirokida kechadi, chunki bu moddalar nitrogenaza uchun elektron manbayi bo‘lib xizmat qiladi va azot molekulasi atomlarini faollash uchun kerak bo‘ladigan ATF energiyasining sarflanishi bilan bog‘liq bo‘ladi. Oraliq mahsulotlarni ajratilishi yuz bermaganligi sababli bu mahsulotlar fermentlar bilan bog‘langan holatda bo‘lsa kerak deb taxmin qilinadi va ularning qaytarilishi quyidagi oraliq bosqichlar orqali amalga oshadi:

$$\text{ferment} \cdot N{\equiv}N \xrightarrow[2H^+]{2e^-} \text{ferment} \cdot \overset{H}{\underset{|}{}}\overset{H}{\underset{|}{}}N{=}N \xrightarrow[2H^2]{2e^-}$$

$$\rightarrow \text{ferment} \cdot \overset{H}{\underset{|}{}}\overset{H}{\underset{|}{}}N{-}N\overset{H}{\underset{|}{}}\overset{H}{\underset{|}{}} \xrightarrow[2H^+]{2e^-} \text{ferment} + 2NH_3$$

Molekulyar azotning ammiakgacha qaytarilishi ham muhitda molibdenning ishtirok etishini talab qiladi.

Oltingugurt tutuvchi aminokislotalarning sintezlanishida ko‘p mikroorganizmlar sulfatlarni dastlab assimilyatsiyalab sulfitlarga aylantirish yo‘li bilan qaytarish asosida o‘zlashtiradilar. Vodorod sulfid mikrob hujayrasi uchun toksik tavsifga ega (oltingugurt bakteriyalaridan tashqari) bo‘lganligi uchun u birdaniga quyidagi reaksiyaga muvofiq atsetilseringa aylanadi:




Hosil bo‘lgan L-sistein hujayraning oltingugurt tutuvchi komponentlari uchun dastlabki modda vazifasini bajaradi. Mikroorganizmlarda alohida olingan aminokislotalarning biosintezlanish yo‘li mikrobiologik amaliyotda auksotrof mutantlarni olish va izotop nishonlarni qo‘llash joriy etilgandan keyin o‘rganildi.
Alohida olingan aminokislotalarning biosintezlanish ketma ketligini aniqlashda mutantlardan quyidagicha foydalaniladi:

1. Bir xil o‘sish omilini yuzaga chiqaruvchi mutatsiyali genlarning soni aniqlanadi. Shu yo‘l bilan bir moddani sintezlanishiga tegishli bo‘lgan reaksiyalar soni va demak ularning bosqichlarini soni aniqlanadi. Aynan bu uslub yordamida sakkiz xil genlar mutatsiyalari argininga nisbatan auksotroflikni namoyon qilganligini e’tiborga olib, bu aminokislotani biosintezi uchun 8 xil reaksiyani o‘z ichiga olishi aniqlangan edi.
2. Odatda biosintezni blokada qilish bu blokada reaksiyasidan oldinroq muhitda intermediatni ajralishiga sababchi bo‘ladi, bu moddani kimyoviy yo‘llar bilan identifikatsiyalash biosintezlanish yo‘llarini aniqlash imkonini beradi.
3. Alohida olingan aminokislotalarni biosintezlanish reaksiyalari ketma-ketligiga oid ma’lumotlar mutant shtammlarning o‘sishiga ta’sir etuvchi intermediatlar tahlili asosida yig‘iladi. Masalan, faolligi arginaza bilan bog‘liq bo‘lgan mutantlar muhitiga sitrullin va ornitinni kiritish, bu mahsulotlar argininni biosintezida ishtirok etuvchi oraliq birikmalar ekan degan xulosaga kelish imkonini beradi.

*Mikroblar sintezlagan oqsillar gidrolizatlaridan aminokislotalar ajratib olish.* Odatda mikroorganizmlar aminokislotalarning hammasini ma’lum miqdorlarda sintezlash qobiliyatiga ega bo‘ladi va bu aminokislotalardan hayotiy jarayonlardagi o‘zlarining ehtiyojlari uchun zarur bo‘lgan maxsus oqsillarni sintezlaydi. Demak har bir aminokislotani biosintezlanish tezligi gen darajasida shu aminokislotani sintezi uchun mas’ul bo‘lgan ferment (repressiya) orqali, shuningdek bu fermentlarning o‘zlari darajasida, ya’ni hosil bo‘lgan aminokislotalarning miqdori oshib ketsa uning faolligini o‘zgarishi (retroingibirlanish) orqali nazorat qilinadi.

Mikroorganizmlar tomonidan amalga oshiriladigan aminokislotalar biosintezining shu tamoyilda nazorat qilinishi bu aminokislotalarning oshiqcha

miqdorda hosil bo‘lishiga yo‘l qo‘ymaydi. Demak aminokislotalarni hujayradan ajratib olish darajasidagi miqdorda sintezlanishini ta’minlash uchun tizimni izdan chiqarib aminokislotani mikrob hujayrasida ko‘p miqdorda yig‘ilishiga erishish lozim bo‘ladi. Bu xil mikroblar tabiiy manbalardan ajratib olinadi. Masalan, yovvoyi tip shtammlari orasida glutamin kislota, prolin yoki valinni to‘playdigan xillari uchraydi. Lekin aminokislota produsentlarini seleksiyalashning asosiy yo‘li-auksotrof va boshqaruvchi mutantlarni ajratib olishdan iboratdir. Auksotrof mutantlarni bakterial suspenziya aralashmasiga fizik (ultrabinafsha va rentgen nurlari) va kimyoviy (etilenimin, dietilsulfat, nitroetilmochevina) omillarni ta’siridan so‘ng selektiv muhitda tanlab ajratib olinadi. Bunday mutantlarda fermentni determinatsiyalovchi defekt gen paydo bo‘ladi-ki, usiz muayyan aminokislotani biosintezi amalga oshmaydi. Aminokislotalarning produsentlari-auksotrof mutantlar sifatida faqat dastlabki mahsulotning bir xilidan eng kamida ikkita aminokislotani tarmoqli ravishda biosintezini amalga oshiruvchi mikroorganizmlardan foydalanish mumkin bo‘ladi. Aminokislotalarning biosintezini umumiy sintetik jarayonning birinchi fermenti faoliyati darajasida so‘nggi mahsulotning hosil bo‘lishi orqali retroingibirlash yo‘li bilan nazorat qilinadi. Bu xil auksotrof mutantlarda muhitda bir xil aminokislotalarning ko‘p miqdorda bo‘lib, ikkinchi aminokislotaning kamligi ferment faolligini to‘sib qo‘ymaydi. Mutagen ta’sir natijasida biosintezi to‘sib qo‘yilgan aminokislota muhitga chegaralangan miqdorda qo‘shilishi mumkin. Boshqaruvchi mutantlarni tanlashda ular orasidan ajratib olinadigan aminokislota analogiga nisbatan barqaror bo‘lgan xilini tanlab olinadi. Shu maqsadda tanlab olinadigan shtamm (ko‘pincha auksotrof) tarkibida karbon manbayi, anorganik tuzlar va maqsadli aminokislotaning analogi bo‘lgan muhitga ekiladi (kiritiladi). Aminokislotani analogi tabiiy aminokislotani antogonisti bo‘lib, mikrobli muhitda shu aminokislotani oshiqcha miqdorini imitatsiyalaydi va hujayralarning boshqariluv tizimiga ta’sir etadi; natijada u analog oqsilning hosil bo‘lishida ishtirok eta olmaydi va demak mikrobning keyingi o‘sishi to‘xtaydi. Bu uslub mutantlardan maqsadli aminokislotani hosil qilishni boshqaruvchi tizimni izdan chiqaradi, ulardan ba’zilari esa bu aminokislotaning sintezini jadallashtirish va hujayradan ajratish qobiliyatiga ega bo‘lib qoladi. So‘nggi paytda aminokislotalar produsentlarini seleksiyasida gen muhandisligidan foydalanish yo‘lga qo‘yilmoqda va bunda plazmidalarda klonlash ishini amalga oshirish yo‘li bilan aminokislotalar biosintezi genini dozasi oshirilmoqda. Hujayraning gibrid plazmidalarini transformatsiyalab genlarning dozasini oshirishga va demak, tegishli aminokislotani biosintezi uchun mas’ul bo‘lgan ferment miqdorini oshirishga erishiladi.

*L-glutamin kislotani biosintezi va uni sintezlashni jadallashtiruvchi mikroorganizmlarni seleksiyasi.* L-glutamin kislota sanoat miqyosida mikrobilogik sintez asosida ajratib olingan birinchi aminokislota hisoblanadi. Bu sintez jarayonlarining produsentlari sifatida korinebakteriyalarning glutamat hosil qiluvchi yovvoyi shtammlaridan foydalanilgan. Bu shtammlarning me’yoriy chegarada o‘sishini ta’minlaydigan sharoitda bu aminokislotaning o‘ta ko‘p miqdorda sintezlanishi amalga oshmaydi. Korinebakteriyalarning yovvoyi shtammlari tomonidan bu mahsulotning “oshiqcha miqdorda” ishlab chiqarilishi maxsus

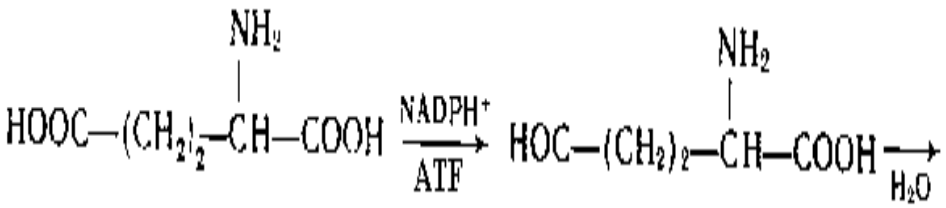
fiziologik sharoitlarda, ya’ni hujayralarning o‘sishi to‘xtaganda, hujayra membranasida tuzilmaviy va funksional o‘zgarishlar sodir bo‘lib, uning o‘tkazuvchanligini glutamin kislotasiga nisbatan kuchayishi tufayli yuz beradi. Bunday sharoit muhitda biotinning limiti (1-5 mkg/l) yuzaga kelganda paydo bo‘ladi. Aynan shunday samara mikrobli muhitga ba’zi antibiotiklarni va detergentlarni qo‘shganda yuz beradi. Hujayrada hosil bo‘layotgan glutamin kislotaning jadal ravishda undan chiqarilishi, bu aminokislotaning hujayra ichidagi konsentratsiyasini keskin pasaytiradi va natijada so‘nggi mahsulotni, ya’ni uning ehtiyoji uchun zarur bo‘lgan maxsus oqsilning sintezi susayadi.

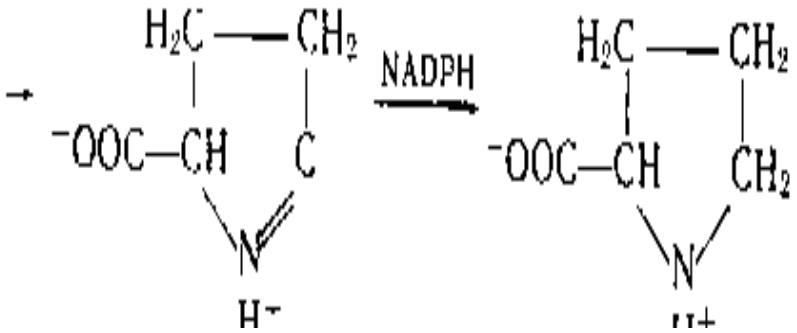
Bunday sharoitda hattoki yovvoyi shtammlar foydalaniladigan karbon manbayini 50 % ni glutamin kislotaga aylantirish qobiliyatiga ega bo‘ladi. Bu aminokislotani produsentlari bo‘yicha olib boriladigan seleksion ishlar asosan faolligini sustligi bilan ajralib turadigan alfa-ketoglutaratdegidrogenaza (glutamin kislota uchun xom-ashyo vazifasini bajaruvchi moddani uch karbon sikliga qo‘shuvchi ferment) li auksotrof mutantlar ajratib olish, so‘nggi mahsulot bilan ingibirlanishga sezgirligi sustligi bilan tavsiflanuvchi L- glutamatdegidrogenazali boshqaruvchi mutantlarni va biotinning oshirilgan miqdorida mahsulot hosil qilishga qodir bo‘lgan mutantlarni tanlab olish yo‘nalishida olib boriladi.

Mutantni bosqichli tanlaganda seleksion uslubning asosiy yo‘nalishi bo‘lgan ya’ni, unga mutagen ta’sir ko‘rsatgandan so‘ng mutantni biotinning mo‘l miqdori (30mkg/g) muhitida baholash orqali amalga oshiriladi. Odatda qand lavlagisi chiqindilaridan mikroblarni o‘stirishda yagona karbon manbayi sifatida foydalanilganda, reaksion muhitda 50 g/l gacha glutamin kislota yig‘iladi va muhitga qo‘shimcha ravishda biomembranalarning o‘tkazuvchanligini oshiruvchi sirt tarangligi yuqori bo‘lgan moddalarni kiritishning hojati bo‘lmaydi.

Yapon olimlari qand lavlagi chiqindilaridan mikrob uchun karbon manbayi sifatida foydalanib, glutamin kislotani ajratib olishda harorat rejimini o‘zgartirish orqali mutant tanlashni yo‘lga qo‘ydilar. Haroratga nisbatan sezgir bo‘lgan mutantlarni o‘stirib, so‘ng haroratni 40ºC chegarasigacha oshirish hujayra membranalarini shikastlanishiga va hujayrada hosil bo‘lgan glutamat kislotani hujayraning tashqarisiga chiqishiga olib keladi. Bunday mutantlar qand lavlagisi chiqindilari karbon manbasi sifatida foydalanilgan muhitda 20-26 g/l gacha glutamat ajratishi mumkin ekan.

L-prolin glutamin kislotalar oilasiga mansub bo‘lib, glutamin kislotaning ATF ishtirokida qaytarilib, uning yarimaldegidiga aylanishi va keyinchalik sikllanib yana qaytarilib, prolinga aylanishini quyidagi reaksiya sxemasi asosida izohlash mumkin:






Prolinni mikrobiologik sintezini quyidagicha amalga oshirish mumkin:

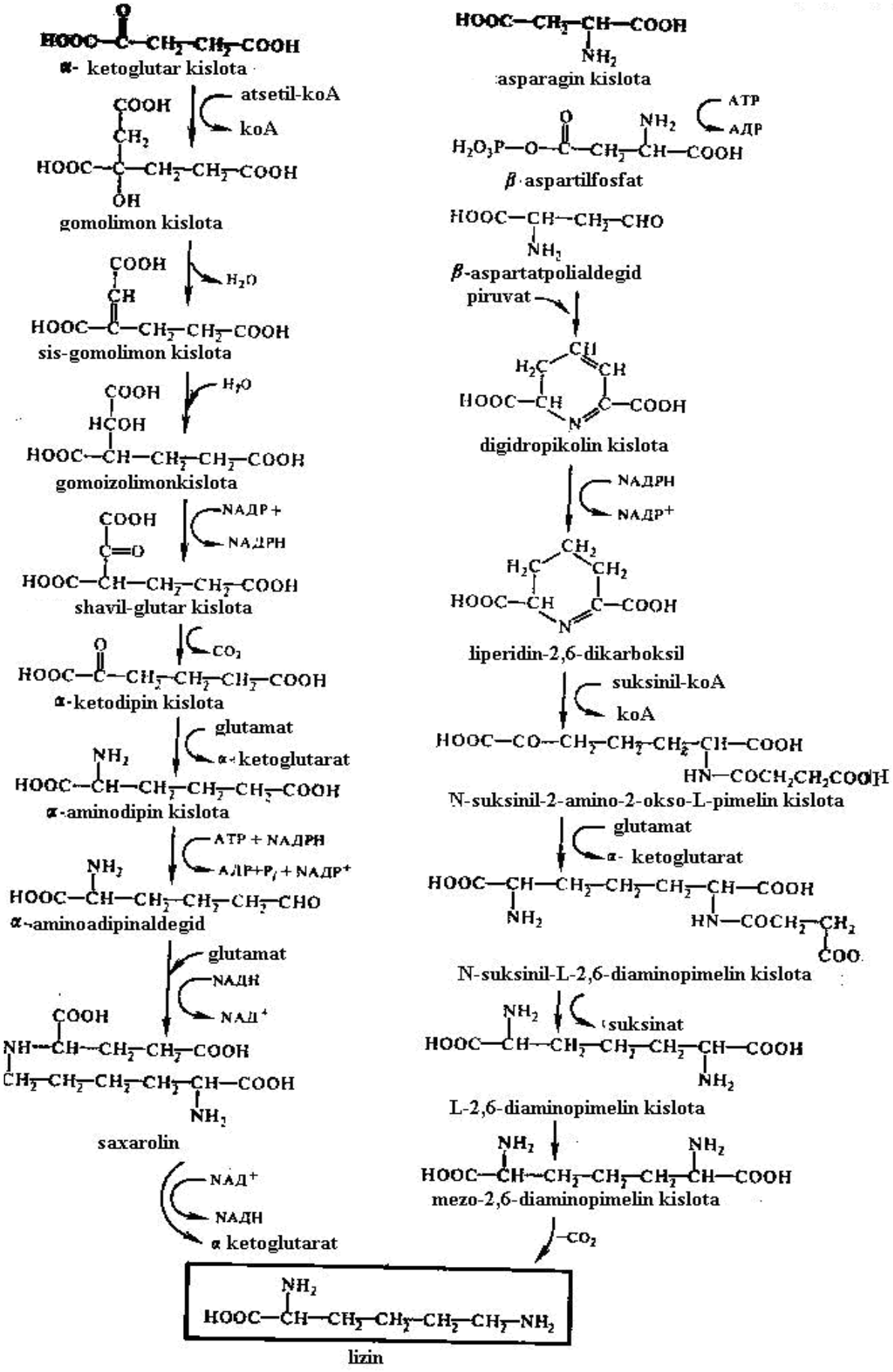
1. Tabiatda uchraydigan mutantlardan foydalanish. Masalan, yapon olimlari *Corin. glutamicum ATS 21144* mutantini ajratib olishga muyassar bo‘ldilar. Bu mutant glyukozali muhitda 18 g/l gacha prolin ajratib olish imkonini berar ekan.

2. Glutamat hosil qiluvchi korinebakteriyalarning prototrof shtammlaridan foydalanish. Bunda shunday ferment muhitidan foydalaniladiki, mikrob hujayrasining ichkarisidan ajraladigan glutamat va prolin ajralishi yo‘nalishini prolin ajralishi yo‘nalishi tomon boshqarilishiga erishish lozim bo‘ladi. Bunga erishish uchun muhitda biotinning miqdorini oshirish kerak, bunday qilish o‘z navbatida glutamin kislotaning hujayradan chiqarilishini to‘sib qo‘yadi, natijada glutamin kislota hujayradan tashqariga chiqmaydi va prolinga aylanadi.

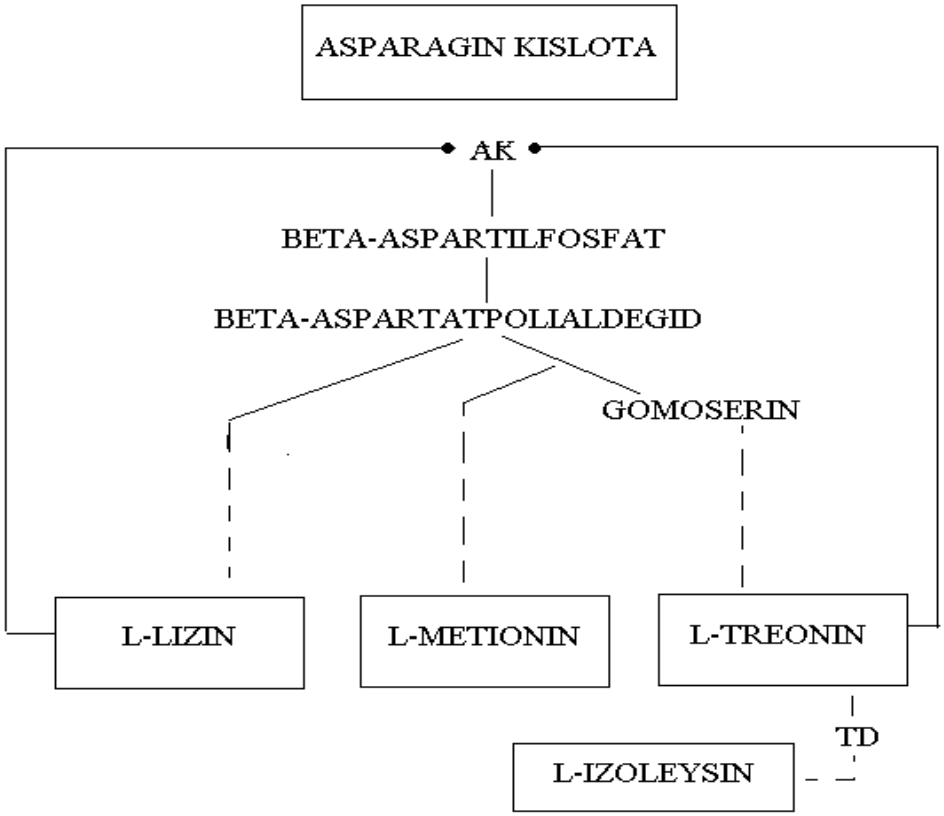
3. Auksotrof mikroblarni ajratib olish. Ma’lumki gistidin, metionin, leysin, izoleysin auksotroflari: *Brevibacter sp*. lar glyukozali muhitda 20-25 g/l gacha prolin hosil qilar ekan. Shu narsani qayd etish lozimki, bu xildagi auksotroflar tomonidan prolin hosil qilinishini ko‘paytirish uchun sulfaguanidin va 3,4-digidroprolinga nisbatan rezistent bo‘lgan mutantlarni tanlab olish kerak bo‘ladi. Shuningdek auksotrof mutantlarning muhitda biotin va ammoniy ionlarini mo‘l bo‘lishini talab qilishini e’tiborga olish lozim.

4. Prolin produsentlarini gen muhandisligi uslubida ajratib olish. Bu uslub faqat bitta obyekt *E.coli* da sinab ko‘rilgan. Birinchi bosqichda prolin analoglariga nisbatan chidamli mutant shtammlar ajratib olinadi, ulardan DNK donorlari sifatida foydalaniladi. Keyin uchta gendan iborat bo‘lgan prolin operonini plazmidaga klonlanadi va gibrid plazmidani retsipiyent shtammga kiritiladi. Shu yo‘sinda olingan plazmidali shtammlar prolinni plazmidasiz mutantlarga nisbatan 2-3 marta ko‘proq hosil qiladi. Plazmidali produsentlar 48 soatda 27g/l gacha prolin hosil qilishi mumkin.

L-Lizin mikroorganizmlar tomonidan farqlanuvchi yo‘llar yordamida sintezlanadi. Mikrosuvo‘tlari, zamburug‘lar, achitqilar lizinni alfa-ketoglutar kislotadan alfa-adipin kislotasiga aylantirish yo‘li bilan sintezlaydi. Bu uslubda ish yuritishda fermentlar faolligini boshqarish hanuzgacha yyetarli darajada o‘rganilgan emas. Shu sababli mutantlar orasida aminoadenilat yo‘li bilan sintezlovchi xillari ajratib olinmagan va bu ishlar sanoat miqyosida yo‘lga qo‘yilmagan. Yuksak o‘simliklar, bakteriyalar, ba’zi suv o‘tlari lizinni boshqa yo‘l bilan biosintezlanishi ma’lum. Bu yo‘l asparagin kislota orqali boshlanib alfa-diaminopimelin (DAP) kislotani hosil bo‘lishi va uning lizinga aylanishi bilan nihoyasiga etadi.




**70-rasm**. L-lizinning hosil bo‘lish sxemasi




**71-rasm**. Yuksak o‘simliklarda lizinning hosil bo‘lish sxemasi

Aspartat oilasiga tegishli aminokislotalarning biosintezini boshqarilishi dastlabki ferment-beta-aspartokinaza (AK) darajasida yuz beradi. Lizinning produsentlari-glutamat hosil qiluvchi korinebakteriya: *Corynoebacterium glutamicum, Brevibacterium flavum* lar yagona beta-aspartokinazaga ega, uning faolligi treonin va lizin o‘rtasidagi o‘zaro mutanosib holda sodir bo‘ladigan ingibirlanish tamoyili asosida boshqariladi.

Treoninning sintezi gomoserindegidrogenaza (GD) ga bog‘liq, lizinning sintezi esa, bu aminokislotani biosintezlanish yo‘li tarmog‘ining birinchi fermenti-digidrodipikolinat sintetaza (DDPS) tomonidan katalizlanadi. Lizin va treoninning sintezida sintez uchun xizmat qiladigan dastlabki modda umumiy bo‘lib, u asparagin kislotaning yarimaldegidi hisoblanadi va korinebakteriyalarning yovvoyi shtammlarida asosan treoninni sintezi uchun sarflanadi, chunki GD ning faolligi DDPS ning faolligiga nisbatan 15 martaga yuqori bo‘ladi, ya’ni lizinning biosintezi aslida hujayraning treonin, metionin va izoleysin bilan to‘yinganidan keyin boshlanadi. Shu sababga ko‘ra lizinni ko‘p miqdorda ajratib olishni yo‘lga qo‘yish uchun bu metabolitlarni biosintezini blokada qilish lozim bo‘ladi. Bunga erishish uchun esa, GD yoki gomoserinkinaza (GK) ni faolligini bo‘g‘ib qo‘yish kerak bo‘ladi. Glutamat hosil qiluvchi mikroblardan foydalanilganda, prototrof shtammlarga qarshi mutagen omillar ta’sir etdiriladi. Lizin hosil qiluvchi mutantlarning uchta sinfi ma’lum:

1. Gomoserin bo‘yicha GD faolligisiz yoki treonin bo‘yicha GK faolligisiz bo‘lgan auksotroflar. Lizinning eng ko‘p yig‘iladigan (sarflangan karbonsuvning 40 % gacha miqdorda) yo‘li auksotroflarning gomoserin yo‘li hisolanadi. Chunki bu xil mutantlarda GD ni blokadasi treonin sintezini to‘xtatadi va muhitda gomoserin (yoki treonin) ni miqdoriy jihatdan cheklab qo‘yib AK ni ingibirlanishiga chek qo‘yadi. Bu holatda asparagin kislotaning yarimaldegidi faqat lizin hosil qilish uchun sarflanali. Treonin bo‘yicha auksotroflar kamroq mahsuldor bo‘ladi, chunki GD faolligi qisman saqlanganligi sababli sintezda ishtirok etadigan dastlabki mahsulotning bir qismi gomoserin sintezi uchun sarflanadi. *Coryn. glutamicum*ning gomoserin va treonin bilan bog‘liq mutantlari mutagen (UB-nurlar, dietilsulfat, nitrozoetilmochevina) larning ta’sirida ko‘p bosqichli tanlov asosida ajratib olingan.

2. Metionin va treoninga sezgir shtammlar-*Brev. flavum*da GD faolligi 20-50 martaga pasaygan bo‘ladi, lekin shunga qaramay, bu ferment hujayraning gomoseringa bo‘lgan ehtiyojini qondiradi va uni muhitga kiritish talab qilinmaydi. Bu xildagi mutantlar 20 g/l gacha lizin yig‘ishi mumkin.

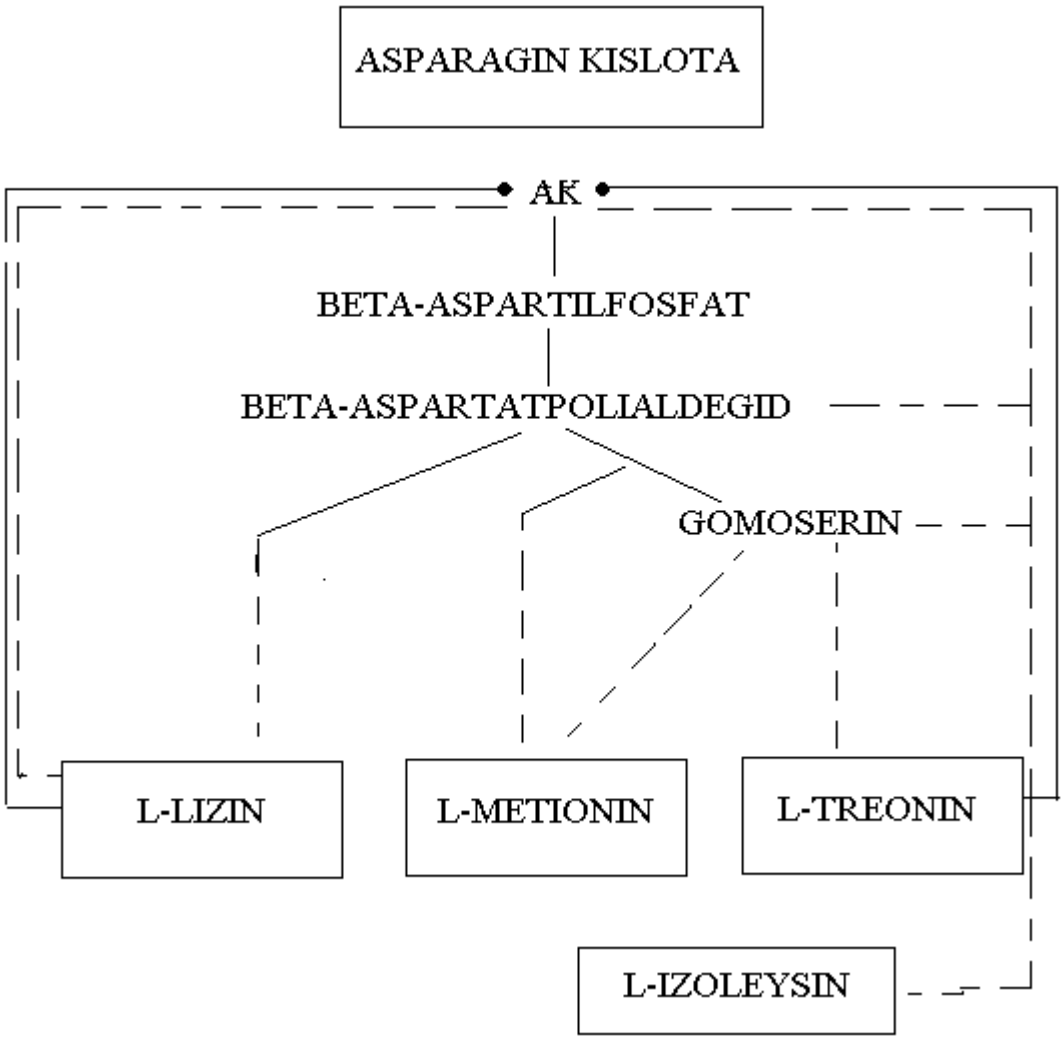
3. Lizinning analogorezistent protomorf produsentlari. Ularni selektiv uslub yordamida lizinning analoglari-aminoetilsistein (AES) dan foydalanib ajratib olinadi, chunki bu modda treonin bilan birgalikda korinebakteriyalarning o‘sishini to‘xtatadi. Bu xildagi mutantlar 15 g/lgacha lizinni yig‘ishi mumkin. Hozirgi paytda analogo-rezistentlik va auksotroflik tamoyillarini birgalikda qo‘shib foydalanish asosida qand lavlagisi chiqindilarini oziqa muhiti sifatida ishlatib 40g/l gacha, sirka kislotali oziqa muhitida esa 70g/l gacha lizin yig‘ilishiga erishish mumkin.

L-treonin ham xuddi lizin kabi sintezlanadi. Treoninni produsentlarini ajratib olishdagi seleksion ishlar ikkita oilaga mansub bo‘lgan shtammlar, ya’ni korinebakteriyalar va enterobakteriyalar bo‘yicha olib boriladi. Bu mikroorganizmlarda aminokislotalarning biosintezini nazorat qilinish tamoyili bir biridan tomoman farq qiladi.

Korinebakteriyalarda 72-rasmda ko‘rsatilganidek biosintezning boshqariluvi o‘zaro mutanosib holda yuz beradigan ingibirlanish orqali, ya’ni muhitda izoleysin, metionin yoki lizinning yetishmovchiligi oshiqcha miqdorda treoninning sintezini keltirib chiqarmaydi, chunki u GD ni ingibirlaydi, shu sababga ko‘ra o‘zini oshiqcha miqdordagi sintezini oldini oladi.

Korinebakteriyalardan treoninni produsent mutantlarini ajratib olishning yagona yo‘li-treoninga nisbatan sezgir bo‘lmagan GD li boshqaruvchi mutantlarni seleksiyalashdan iboratdir.

Selektiv agentlar sifatida treoninning analoglaridan, ko‘pincha beta-oksinorvalin, 2-amino-3-oksivalerian kislota (AOV) dan foydalaniladi. *Brev. flavum* mutantlari OAV ga chidamli va ikki xil boshqaruv mutatsiyasiga ega, ham GD ni, ham AK ni retroingibirlanishini izdan chiqaradi. Bu xildagi shtammlardan bir yo‘la treonin ham, lizin ham ajraladi. Enterobakteriyalar tomonidan aminokislotalar biosintezini boshqarish izofermentlardan foydalanib differensial boshqarish tamoyiliga muvofiq amalga oshiriladi.

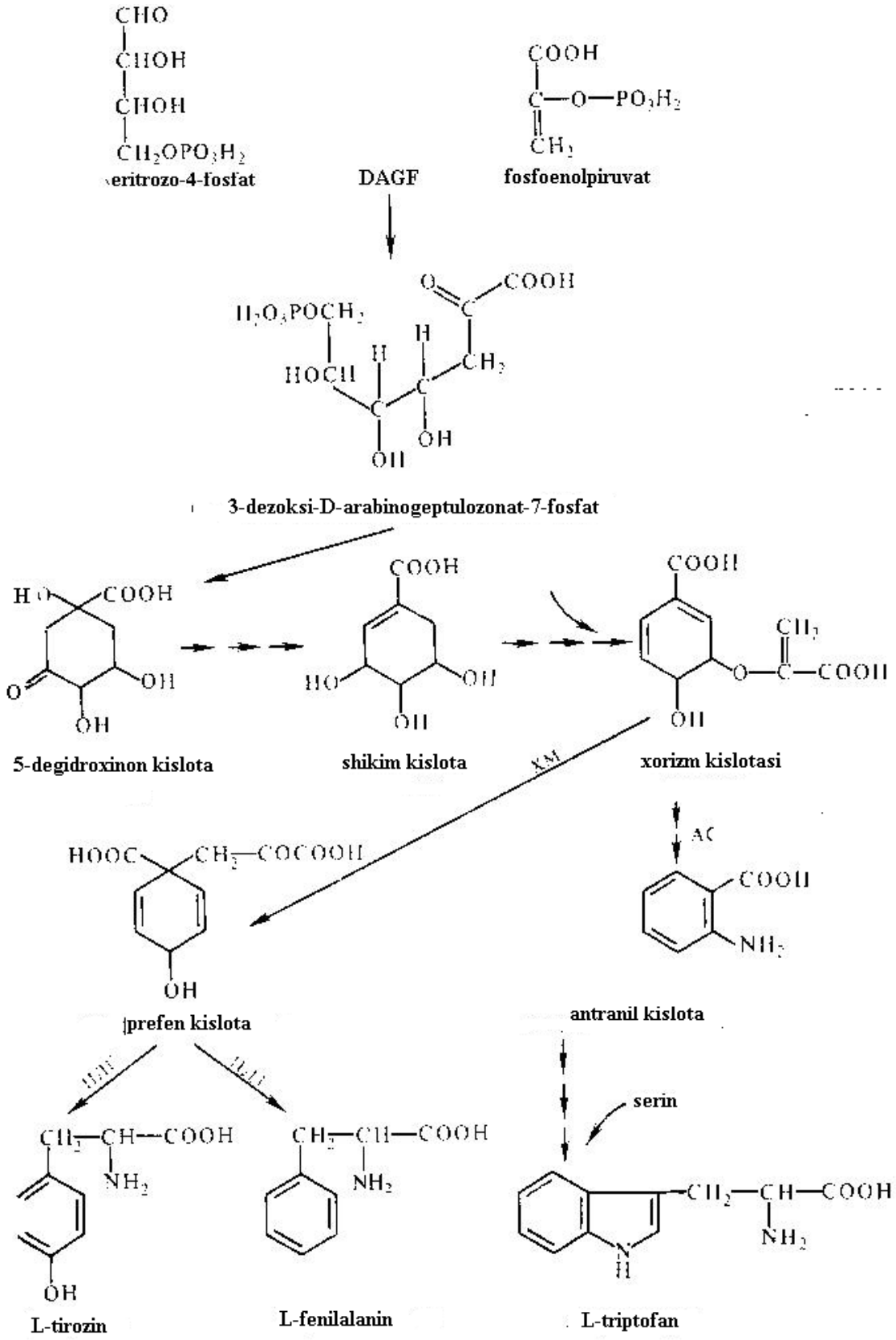



**72-rasm**. L-treoninning sintezlanish sxemasi

*E.coli*da uchta aspartokinaza (AK) va ikkita gomoserindegidrogenaza (GD) lar borligi aniqlangan. AK-1 treonin tomonidan ingibirlanadi va repressivlanadi, AK-2 metionin tomonidan repressivlanadi, AK-3 lizin tomonidan ham ingibirlanadi, ham repressivlanadi. AK-1 va AK-2 ga o‘xshash tarzda GD-1 va GD-2 larning fermentativ faolliklari ham boshqariladi. Muayyan boshqaruv tizimi bo‘yicha treoninning produsent-mutantlarini ajratib olishda biosintezning so‘nggi mahsulotlari hisoblanmish aminokislotalarga nisbatan tanqislik mutatsiyasini kiritish, ya’ni uchlamchi auksotroflar ajratib olish kerak bo‘ladi. Ilmiy adabiyotda *E.coli* negizida shu xildagi mutantlarni ajratib olingani haqida ma’lumotlar keltirilgan. Uchlamchi (DAP, metionin, izoleysinga bog‘liq bo‘lgan) auksotroflar yordamida 15-20 g/l treonin sintezlangan, bunda reaksion muhitda lizinning dastlabki mahsuloti DAP, metionin va izoleysinlar esa mutantni o‘sishi uchun yetarli bo‘lgan miqdorda bo‘lgan. Bu narsa bunday mutantlarni sanoat ishlab chiqarishi miqyosida tanlab olishni qiyinlashtiradi.

So‘nggi paytda aromatik aminokislotalar-triptofan, fenilalanin va tirozinlarni produsent mikroorganizmlarini shtammlarini seleksiyalash katta amaliy ahamiyatga ega bo‘lib bormoqda. Mikrob hujayrasida bu birikmalarni sintezi xorizm

kislotasigacha umumiy yo‘l bo‘yicha borsa, keyinchalik ikkita tarmoqqa ajraladi, ulardan biri triptofanning sinteziga qarab ketsa, ikkinchisi prefen kislota orqali tirozin va fenilalanin tomon yo‘nalgan bo‘ladi.




**73-rasm**. Aromatik aminokislotalar sintezi sxemasi

Aromatik aminokislotalarning mutant-produsentlarini ajratish bo‘yicha olib boriladigan seleksion ish uchta oila vakillari: korinebakteriyalar (*Brev. flavum, Coryn.glutamicum*), basillalar (*Bac. subtilis*) va enterobakteriyalar (*E.coli*) orasida o‘tkaziladi. Bu mikroorganizmlar uchun umumiy boshqarilish yo‘li birinchi ferment bo‘g‘ini-3-dezoksiarabinogeptulozo-7-fosfatsintetaza (DAGF) da joylashgan, lekin bu fermentning boshqarilish mexanizmi o‘zaro farqlanadi. Korinebakteriyalarda DAGF ning faolligi fenilalanin va tirozinlar tomonidan o‘zaro mutanosib ingibirlanishga duch keladi. Bu xildagi aromatik aminokislotalarning produsentlarini seleksiyalashda birinchi bosqichda umumiy dastlabki xom-ashyo mahsulot-xorizm kislotasi hosil qiladigan auksotrof-shtammlarning ajratilishi lozim bo‘ladi. Triptofan produsentlarini seleksiyalash ishlarini olib borishda fenilalanin va tirozin bo‘yicha auksotrof mutantlardan foydalaniladi; fenilalanin produsentlarini ajratishda esa tirozin bo‘yicha auksotroflardan foydalaniladi.

Bu mutantlarning mahsuldorligini oshirish uchun ular asosida boshqaruvchi mutantlarni ajratib olish va bu boshqaruvchi mutantlarda biosintezning birinchi fermenlari desensebillangan bo‘lishi lozim bo‘ladi. Triptofan produsentlari uchun bu narsani amalga oshirishda adenilatsiklaza (AS) ni desensebillaydigan uning analoglari (5-metiltriptofan, 6-ftortriptofan va boshqalar) ga nisbatan rezistent bo‘lgan mutantlarni ajratish asosida ish yuritiladi. Bu xil mutantlar glyukozani to‘g‘ridan to‘g‘ri triptofanga aylantirishi mumkin va bunda mahsulot hosil bo‘lish unumdorligi 10-12 g/l ga yetadi. Bosqichli tanlov asosida ajratib olingan fenilalanin produsentlari analoglar (p-ftorfenilalanin, p-aminofenilalanin va boshqalar) ga nisbatan chidamli bo‘lgan shtammlar shakarli muhitda 20g/l dan ziyodroq miqdorda maqsadli mahsulot yig‘ishi mumkin. Seleksion ishda muvaffaqiyatli ravishda foydalanilayotgan *Bac.subtilis* ham bitta DAGF ga ega uning sintezi tirozin va fenilalanin tomonidan repressivlanadi, faolligi esa, xorizm va prefen kislotalar tomonidan ingibirlanadi.

**L-aminokislotalarni mikrobiologik uslubda sintezlash va sanoat miqyosida ishlab chiqarish texnologiyasi.** Yuqori darajada tozalangan kristall aminokislota preparatlarini sanoat miqyosida ishlab chiqarishda ikkilamchi metabolitlarni hosil qilish va ajratib olish uchun qo‘llaniladigan tipik sxemadan foydalaniladi. Eng ko‘p qo‘llaniladigan uslub har qanday aminokislotani bir bosqichli mikrobiologik sintezlash uslubi bo‘lib, dastlabki produsentlarni bir qancha bosqichlarda agarlashtirilgan muhitda dastlabki manba vazifasini bajaradigan namuna sifatida alohida kolbachalarda o‘stiriladi va keyinchalik ularni inokulyatorlar tizimidagi o‘stirish apparatlariga ko‘chiriladi. Bundan keyin esa, mutantlarni sanoat ishlab chiqarishi miqyosida ishlaydigan fermentyorlarda o‘stiriladi. Fermentatsiyani nihoyasiga yyetkazgandan keyin mahsulotli aralashmani filtrlanishini osonlashtirish maqsadida produsent hujayralaridan xolis bo‘lishga kirishiladi. Shu yo‘sinda ajratib olingan suyuqlik sorbsion uslub yordamida bo‘yoqli chiqindilardan tozalanadi. Maqsadli aminokislotani ion-almashinuvi xromotografiyasi yoki cho‘ktirish uslublaridan foydalangan holda ajratiladi. Elyuatlar yoki dastlabki mahsulotli manbani konsentrlash ishlari vakuum-bug‘latish (liofilizatsiya) yo‘li bilan amalga oshiriladi. Bunda hosil bo‘lgan texnik mahsulotni tozalik darajasini yanada oshirish

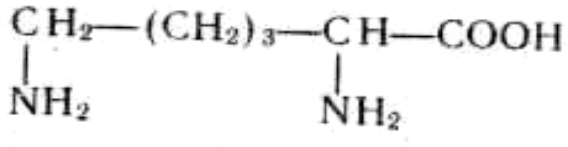
uchun uni oldin to‘yingan eritmada eritiladi va keyin qaytadan kristallizatsiyalanadi. Toza kristallangan mahsulotni ajratib olish jarayoni odatda tozalangan kristall mahsulotlarni liofilizatsiyalash va eng so‘nggida qadoqlash orqali nihoyasiga yetkaziladi. Bu xildagi sanoat ishlab chiqarishi uchun aminokislotalar ajratib olishda muhitdagi utilizatsiyalanmagan dastlabki suyuq qoldiq va produsentning biomassa qoldig‘i, ishlab chiqarish jarayonida ion-almashinuvi kolonkalarini oqar suv bilan yuvilgan yuvindilarini hammasini qo‘shib, birlashtirib vakuum-bug‘latkichda 10 % gacha namlik darajasigacha quritiladi.

Tarkibida asosiy moddasi uncha ko‘p (10 % dan oshiq) bo‘lmagan aminokislotalarning yem-oziqa preparatlarini ajratib olish texnologiyasi mikrob o‘stirilgan suyuqlikni vakuum-bug‘latishdan oldin stabillashtirish, undagi quruq moddalarni vakuum-bug‘latkich qurilmada konsentrlash, bug‘latilgan eritmaga tegishli miqdorda qo‘shimchalar qo‘shish asosida standartlash, hosil bo‘lgan tayyor mahsulotni quritish va qadoqlash ishlarini o‘z ichiga oladi.

Texnik yoki yem-oziqa preparatlarini asosiy mahsulotga boy bo‘lgan xillarini ajratib olishda aralashmani produsent hujayralaridan xolis qilinadi va undagi aminokislotalarni qisman konsentrlash maqsadida ion-almashinuvi xromatografiyasi yoki tuzlash yo‘li bilan cho‘ktirish ishi amalga oshiriladi.

Aminokislotalarni bir bosqichli uslub asosida ajratib olishda produsent sifatida auksotrof mutantlardan foydalanilgani, ular esa o‘zlarini o‘sishi va biosintezi uchun muhitda engil o‘zlashtiriladigan karbon, azot, shuningdek vitaminlar kabi biofaol ikkilamchi metabolitlarning bo‘lishini talab qilganligi sababli bu ishlarni tashkil qilishda antiseptika qoidalariga rioya qilishga to‘g‘ri keladi.

*L-lizinni ajratib olish va uning asosida yem-oziqa mahsuloti tayyorlash texnologiyasi.* Lizin (alfa, epsilon-diaminokapron kislota) ning molekulyar massasi 146,19 Da. U suvda, kislotalarda, asoslarda yaxshi eriydi, spirtda qiyin erib, efirda umuman erimaydi. Lizin 224-225 $^0$C da parchalanib ketadi. Geksonal plastinkalar yoki rangsiz ninachalar tarzida kristallanadi. Struktura formulasi quyidagicha:



Lizin aminokislotasi odam va hayvon organizmida hazm bo‘ladigan oqsilning biologik qimmatini belgilaydi, ovqat hazm fermentlarini ajratilishini, hujayraga kalsiy elementini tashilishini ta’minlab organizmda umumiy azot muvozanatini yaxshilaydi. Bu aminokislotani hayvonlarning ratsioni tarkibiga juda kam miqdorda (0,1-0,4 %) kiritish yem-oziqa tarkibidagi oqsilning o‘zlashtirilish koeffisiyentini oshiradi va natijada yem-oziqa sarfini kamaytiradi.

Sanoat ishlab chiqarishi miqyosida biosintez jarayonini tashkil qilish uchun ishni mikrob shtammlarini keyinchalik foydalanish maqsadida dastlabki o‘stirish materialini inokulyatorlarda yoki mikroblarni o‘stirish apparatlarida o‘stirishdan boshlanadi. Lizinni produsentlari uchun asosiy karbon manbayi sifatida oziqa muhitiga qand lavlagisi chiqindilari, sirka kislota yoki ularning aralashmasi solinadi.

Azot manbayi sifatida ko‘pincha ammoniy tuzlari va mochevina, shuningdek makkajo‘xori ekstrakti, oziq-ovqat va non sanoati hamda kazein gidrolizatlari xizmat qiladi.

Kazein qoldig‘i oziqa sifatidagi ahamiyatidan tashqari, mikrobning o‘sish omili vazifasini ham bajaradi, shuningdek uning tarkibida auksotrof mutant uchun zarur bo‘lgan aminokislotalar va vitaminlar ham uchraydi. Biosintezning me’yoriy chegarada ketishi uchun muhitga makroelementlar: kaliy, fosfor, magniy qo‘shish kerak bo‘ladi. Muhitga mikroelementlarni qo‘shish talab etilmaydi, chunki ular makkajo‘xori ekstrakti va achitqi gidrolizatlari tarkibida yetarli miqdorda uchraydi. Qand lavlagisi qoldiqlari tarkibida quruq modda (QM) hisobida 50 % gacha saxaroza bo‘ladi. Makkajo‘xori ekstrakti tarkibida esa, QM hisobida 48 % gacha shakar bo‘ladi. Oziqa muhitining hamma komponentlari tarkibida amaliy jihatdan aminokislotalarning to‘liq komplekti va biotin bo‘ladi, natijada bu muhitda ishlab chiqarishda foydalanilayotgan shtammlargina emas, balki boshqa yovvoyi shtammlarning o‘sishi va rivojlanishi uchun sharoit mavjud bo‘ladi. Shu sababli biosintez jarayonini qat’iy aseptik sharoitlarda olib borish kerak bo‘ladi. Fermentyorlar (inokulyatorlar) ni ishga tayyorlashda ishlab turgan qurilmalarni issiq va sovuq suv bilan yaxshilab yuviladi, keyin esa, apparatlar va kommunikatsiyalarni kuchli ravishda bug‘lantiriladi. Sterilizatsiyani samarali bo‘lishi uchun bug‘lantirishni 135-140$^{o}$C da olib borish kerak. Lekin sterilizatsiya rejimi qurilma va uning qismlarining qanday materiallardan tuzilganligiga bog‘liq bo‘ladi. Agar uning qandaydir qismi haroratga chidamli bo‘lmasa, unda sterilizatsiyani «sovuq» xilidan foydalanib, qurilmaga ishlov berishda bakteroksid agentlar (formaldegid, fenolning ba’zi hosilalari, xlororganik birikmalar, beta-propiolakton) qo‘llaniladi. «Sovuq» sterilizatsiyadan keyin qurilma steril suv bilan to, kimyoviy agentlarning qoldiqlaridan xolis bo‘lgunga qadar yaxshilab yuviladi. Oziqa muhiti mahsulotlarini, shuningdek texnologik havoni tayyorlashni amalga oshirishda sterillash an’anaviy uslubda amalga oshiriladi. Muhitning eruvchi komponentlarini ma’lum darajagacha qizdiriladi va biroz shu sharoitda ushlab turiladi, keyin esa fermentatsiya harorati darajasigacha pasaytiriladi. Muhitning termolyabil komponentlarini, masalan qand lavlagisi chiqindilarini, oldindan 80$^{o}$C gacha qizdirib va doimo aralashtirib turib sterilizatsiyalanadi. Haqiqiy sterilizatsiyani amalga oshirishda aralashmani bug‘ bilan 120-122 $^{o}$C da qisqa muddatda ushlab turiladi. Sovitilgan eritma siqilgan steril havo bilan birgalikda oldindan tayyorlab qo‘yilgan fermentyorga yuboriladi. Muhitning qolgan barcha komponentlari fermentyorga yo‘naltirilishdan oldin ketma-ket ravishda shu apparatning o‘zida yoki unga paralel joylashgan aralashtirgichli reaktorda tegishli haroratga yetkazilib 1 soat ushlab turib sterillanadi. Produsentni o‘stirish apparatida va fermentyorda ko‘pik so‘ndiruvchi (odatda sintetik tabiatli) modda qo‘shib qattiq rejimda (harorat va davomiyligi jihatidan) alohida sterillanadi.

Bu juda kerakli texnologik jarayon bo‘lib, sanoat ishlab chiqarishi miqyosida yuqori sifatli produsent biomassali hujayralarni ajratib olish va ularni fermentyorlarda o‘stirish uchun kerak bo‘lgan miqdorda yetkazishni nazarda tutadi. Mikroblarni o‘stiradigan apparatlardagi, shuningdek asosiy fermentyorlardagi jarayonning boshlanishi, ularda sanoat ishlab chiqarishi miqyosida qo‘llanaladigan

shtammlarni o‘stirish uchun ko‘paytirishni o‘z ichiga oladi. Produsentning xiliga qarab o‘stiriladigan mikrob materialning o‘stiriladigan apparatga kiritilishi ancha farqli ko‘rsatkich darajasida bo‘ladi, ya’ni uning miqdoriy ko‘rsatkichi 1 dan 20 % gacha (odatda 3-5 %) bo‘lishi mumkin. Mikrob o‘stiriladigan apparatning alohida qismlarini konstruksiyasi (aralashtirish uslubi, ko‘pikni mexanik so‘ndirilishini samaradorligi va boshqalar) ga qarab to‘ldiriladi, ko‘pincha umumiy hajmning 0,5-0,7 qismini tashkil qiladi.

Muhitdagi aralashma doimo aralashtirilib turiladi va unga steril havoni bosim ostida kiritish yoki turbina aralashtirgichini 300 ayl. tezligi/min hisobida aylantirish orqali erishiladi. Produsent mikrobni o‘stirishda oziqa muhitini tarkibi o‘stiriladigan shtammning xiliga va asosiy karbon manbayi xiliga bog‘liq holda o‘zgarishi mumkin.

46-jadval

**Lizinni ajratib olish uchun kerakli produsentni o‘stirish uchun zarur bo‘lgan ozuqa muhitining tarkibi (% hisobida)**

| № | Moddalarning nomi | % |
|---|---|---|
| 1 | Qand lavlagisi chiqindisi (shakarning miqdori bo‘yicha) | 7,5 |
| 2 | Makkajo‘xori ekstrakti (quruq modda hisobida 50 %) | 2,0 |
| 3 | Ammoniy sulfat | 2,0 |
| 4 | Kaliy fosfat bir almashingan | 0,05 |
| 5 | Kaliy fosfat ikki almashingan | 0,05 |
| 6 | Bo‘r | 1,0 |
| 7 | Sintetik ko‘pik so‘ndirgich | 0,1 |
| 8 | Suv | Qolgan qism |
| 9 | Muhit pH | 6,9-7,0 |

O‘stiriladigan shtammni 28-32 $^{o}$C da 18-24 soat oralig‘ida va 1 minutda 1 hajm suyuqlikka 1 hajm havo sarflanishi sharoitida o‘stiriladi. Jarayonning kechishini boshidan oxirigacha muhit pH ni 7,0-7,2 chegarasida ushlab turiladi. Jarayonning nihoyasiga etishini muhit suyuqligini optik zichligi, hamda o‘sib yetilgan mikrob hujayralarning morfologik belgilariga qarab aniqlanadi. Lizin produsentlarini atsetat muhitida o‘stirish qator xususiyatlari bilan tavsiflanadi. Muhitda atsetatni bo‘lishi uch karbon kislotalari sikli fermentlari faolligini bo‘g‘ib qo‘yadi, Shu sababli reaksion aralashma tarkibidagi substratning miqdoriy ko‘rsatkichi 2 % dan oshmasligi kerak. Shu sababli uni reaksion muhitga bo‘lib-bo‘lib kiritiladi. Mikrob biomassasini sanoat miqyosida ishlab chiqarishda sirka kislotani ammoniy atsetat bilan birga qo‘shib ma’lum nisbatlarda muhitga kiritish yaxshi samara beradi, bunda bu nisbatni har xil shtammlar uchun eksperimental yo‘l bilan alohida aniqlanadi. Bunda sirka kislota hisobiga sarhisob qilinganda atsetat ionlarining umumiy konsentratsiyasi 1,5-2,0 % dan oshmasligi lozim. Hujayralarning o‘sishiga ham, lizinning biosintezi uchun ham substrat sifatida atsetat va engil o‘zlashtiriladigan karbonsuv glyukoza yoki saxaroza xizmat qilganda eng istiqbolli natijaga erishilgan. Fermentatsiya jarayoni nihoyasiga yetganda mikrob o‘stiriladigan apparatda faglar, begona mikroflora bo‘lmasligi va

uning 1 ml da titri 10000000000 atrofida bo‘lishi kerak. O‘stirilgan produsent mikrobiologik nazoratdan o‘tkazilgandan so‘ng, uni sanoat miqyosida amalga oshiriladigan ishlab chiqarishda ishlatish uchun tavsiya qilinadi.

Bu ishlarni hajmi 50,63 va 100 $m^3$ bo‘lgan standart bioreaktorlarda olib boriladi. Bu apparatlar sanoat ishlab chiqarishi talabiga mos bo‘lgan produsentlarni aseptik sharoitlarda o‘sishi va rivojlanishini ta’minlashi lozim, ular tegishli kommunikatsiyalar, issiqlik almashinuvi moslamalari, aralashtiruvchi moslamalar, tizimga oziqa muhiti manbayini kirituvchi shtuserlar, steril havoni, qo‘shimcha oziqa ingradientlarini, muhit pH ni doimiy saqlash uchun kislota va ishqor eritmalarini tizimga kirituvchi moslamalar, ko‘pik so‘ndiruvchi va olingan tayyor mahsulotni tizimdan chiqaruvchi qurilmalarga ega bo‘lishi kerak. Har xil shtamm-produsentlar uchun oziqa muhitini tarkibiy jihatlari o‘zaro bir-biridan farqlanishi mumkin. Qand lavlagisi chiqindilari oziqa manbayi vazifasini bajarganda produsentlarni ajratib olish yoki ularni o‘stirish apparatlarida mahsulot ajratib olish maqsadida o‘stirganda o‘zaro farqlanuvchi sharoitlarning mavjud bo‘lishi mumkin. Masalan, yuqorida keltirilgan o‘stirish apparatida mikrobni o‘stirishga va uni ko‘paytirib olishga moslashtirilgan tarkibidagi oziqa muhitini sanoat miqyosi ko‘lamida kengroq bo‘lgan fermentyorlarda o‘stirishga moslab o‘zgartirish mumkin bo‘ladi, buni 5-Jadvalda ko‘rish mumkin. O‘stirish materiali oziqa muhiti hajmini 5-10 % miqdori hajmida fermentyorga o‘tkaziladi. Fermentyorda ko‘pik hosil bo‘lish jadalligiga qarab, uning to‘ldirilish koeffisiyenti 0,6-0,75 ni tashkil qiladi. Fermentatsiya jarayonini aralashtirish jadalligi va aeratsiya (oziqa muhiti hajmiga nisbatan har minutda havoning hajmini 0,8-1,0 hajmda kiritish) ga rioya qilingan holda 55 soatdan 72 soatgacha vaqt oralig‘ida, bosimni 0,02-0,03 MPa gacha oshirib, haroratni doimiy ravishda 28-32 $^oC$ da, pH ni esa fermentatsiya jarayonini boshidan oxirigacha 7,0-7,5 atrofida ushlab turib, muhitga vaqti-vaqti bilan steril ko‘pik so‘ndirgich kiritish yo‘li bilan olib boriladi. Produsentlar birinchi kecha-kunduzda muhitning 25 % atrofidagi karbonsuvlari va umumiy azotini o‘zlashtiradi, jumladan muhitda mavjud bo‘lgan deyarli hamma aminokislotalarni to‘liq o‘zlashtiradi, amaliy jihatdan bu muddatda biomassa to‘liq hosil bo‘ladi.

47-jadval

**Lizinni sanoat miqyosida ajratib olish uchun kerakli produsentni o‘stirish uchun zarur bo‘lgan ozuqa muhitining tarkibi (% hisobida)**

| № | Moddalarning nomi | % |
|---|---|---|
| 1 | Qand lavlagisi chiqindisi (shakarning miqdori bo‘yicha) | 7-12 |
| 2 | Makkajo‘xori ekstrakti (quruq modda hisobida 50 %) | 1,2-1,5 |
| 3 | Ammoniy sulfat | 2,0 |
| 4 | Kaliy fosfat bir almashingan | 0,05 |
| 5 | Kaliy fosfat ikki almashingan | 0,05 |
| 6 | Bo‘r | 1,0 |
| 7 | Sintetik ko‘pik so‘ndirgich | 0,1 |
| 8 | Suv | Qolgan qism |
| 9 | Muhit pH | 7,0-7,2 |

Mikrobning o‘sishini ikkinchi bosqichi biomassani yig‘ilishini keskin kamayishi va lizin aminokislotasining biosintezlanish tezligini 0,8-1,0 g (l.soat) ga oshishi bilan tavsiflanadi. Oziqa muhiti juda ham kambag‘allashadi, uning pH ko‘rsatkichi talay o‘zgarishlarga duch keladi. Biosintez jarayonini nazorati mikrob o‘stirilayotgan suyuqlikni optik zichligini (produsent hujayralarini miqdorini) aniqlash, substrat miqdorini aniqlash yoki pH ko‘rsatchiklarining signaliga qarab hamda fermentativ muhitdagi kislorod miqdorini aniqlash orqali amalga oshiriladi. Biosintez jarayonining oxirida reaksion muhitdagi lizinning miqdori 40 g/l ga yetadi, muhitda qolgan substrat konsentratsiyasining miqdoriy ko‘rsatkichi esa 0,5-1,0 % dan oshmaydi. Yig‘ilayotgan lizinning miqdorini oshirish uchun karbon va azot manbayi kamayganda, ularni qo‘shimcha ravishda tizimga kiritib turilishi kerak bo‘ladi. Shu yo‘sinda vaqti-vaqti bilan qo‘shimcha ravishda karbon va azot manbalarini tizimga kiritib turish orqali qo‘shimcha ravishda 10 % gacha so‘nggi mahsulotni ajratib olishga erishish mumkin bo‘ladi. Qand lavlagisi oziqa muhiti vazifasini bajargan sharoitda lizin aminokislotasini ajratib olishda, uning mikrob o‘stirilayotgan muhitdagi miqdorini 50 g/l gacha oshirish mumkin bo‘ladi. Shakarning o‘zlashtirilishini iqtisodiy samaradorlik koeffisiyenti lizinga nisbatan sarhisob qilinganda 35 % ni tashkil qiladi.

Atsetat muhitida lizinning biomassasi substratini toksikligi tufayli uni faqat tizimga sirka kislotani bo‘lib-bo‘lib vaqti-vaqti bilan kiritish orqali samaraga erishish mumkin bo‘ladi. O‘stiriladigan mikrob materialini ajratib olishda bo‘lgani kabi sirka kislotaning suyuq fazadagi miqdori 2,0 % dan oshmasligi kerak. Muhitga juda kam miqdorda shakar kiritish, masalan 1,5 % gacha to‘yingingacha glyukoza kiritish, tizimda lizin hosil bo‘lishini 30-50 % ga oshiradi. Lizin hosil qilish nuqtai nazardan atsetatni o‘zlashtirilishi bo‘yicha iqtisodiy samaradorlik koeffisiyenti 27,0 % ga yetar ekan. Bunday reaksion muhitdan foydalanish produsent tomonidan o‘zlashtiriladigan biotinning miqdorini har bir litr muhit suyuqligiga 1mkg ni tashkil qilar ekan, lekin bunda defisit aminokislotalarning ma’lum darajadagi mutanosibligini e’tiborga olgan holda ish yuritish lozim bo‘lar ekan. Masalan, *Brevibacterium sp 22 L.* shtammidan 6-Jadvaldagi tarkibga ega bo‘lgan ozuqa muhitdan foydalanilganda, treoninning metioninga bo‘lgan nisbati 3:1, tiaminxloridning miqdori-0,04 mg/l, biotinning miqdori esa 0,05 mg/l bo‘lishi kerak. Bunda tizimga uzluksiz uzatilayotgan atsetat 1 mol/l sirka kislota va 0,25 mol/l ammoniy atsetat holatida bo‘lishi hamda u shunday tezlikda uzatilishi kerakki, umumiy atsetat ionining konsentratsiyasi 1,5 % oshmasin. Jarayonning kechishini 72-soatida lizinning konsentratsiyasi 34 g/l ga yetadi. Lekin ancha yuqori mahsuldor shtammlardan foydalanish va biosintezni amalga oshirishni optimal sharoitlarini tanlab olish real sanoat ishlab chiqarishida aralashmadagi lizin miqdorini 50 g/l gacha oshirish imkonini beradi. Ko‘p lizinni sanoat miqyosida ishlab chiqarishda foydalaniladigan produsentlari ureaza faolligiga ega bo‘lganligi sababli ularga oziqa manbayi sifatida siydikchilni kiritish ham mumkin bo‘ladi. Lekin bunda har bir shtamm uchun eksperimental yo‘l bilan lizinni eng ko‘p miqdorda hosil bo‘lishini inobatga olib ish yuritish kerak bo‘ladi. Biosintez jarayonini bosqichlarida uning kechishi uchun shtammlarning xiliga qarab azot va karbonning nisbiy konsentratsiyalarida farqli jihatlar mavjudligi aniqlangan. Demak har xil shtammlar

uchun har xil optimum nisbat bo‘lishi mumkin ekan. Masalan, *Coryn. Glutamicum 95* uchun C:H nisbati =11:1 optimum hisoblanib, uni oshirganda lizin hosil bo‘lishi oshsa, kamayganda lizinning o‘rniga alanin yig‘iladi. Fermentatsiya jarayonida aeratsiyaning yetarli darajada bo‘lmasligi sut kislotaning hosil bo‘lishiga olib keladi.

48-jadval

**Lizin aminokislotasini ajratib olishda foydalaniladigan *Brevibacterium sp. 22 L* shtammlari uchun zarur bo‘lgan ozuqa muhitning tarkibi ( % hisobida)**

| № | Moddalarning nomi | % |
|---|---|---|
| 1 | Ammoniy atsetat | 1,5 |
| 2 | Glyukoza | 1,0 |
| 3 | Bir almashingan kaliy fosfat | 0,02 |
| 4 | Magniy sulfat | 0,04 |
| 5 | Ammoniy sulfat | 3,0 |
| 6 | Soya uni gidrolizati (quruq modda hisobida) | 1,5 |
| 8 | Suv | Qolgan qism |

Produsentning me’yoriy chegarada o‘sishi va rivojlanishi uchun muhitda fosforning bo‘lishi shart. Uni oziqa muhiti tarkibiga kaliyli tuzlar tarzida kiritiladi. Lekin fosforning muhitdagi miqdoriy ko‘rsatkichlari 8-20 mg/ % chegarasida cheklangan bo‘ladi. Muayyan konsentratsiyani bir pog‘ona yuqoriga ko‘tarish *Corin. glutamicum* produsenti uchun lizin hosil qilish jarayonini ikki martaga kamaytiradi. Lizinning barcha produsentlari u yoki bu darajada qator mikroelementlar: magniy, temir, mis, marganetsga nisbatan ehtiyoj bildiradi. Bu metallarni reaksion muhitga sulfat kislota tuzlari holatida: ammoniy sulfat-0,03-0,05 %, qolgan tuzlarni kamroq, ya’ni 0,0008-0,001 % gacha bo‘lgan miqdorda kiritiladi. Agar makkajo‘xori ekstrakti, kand lavlagisi chiqindilari va boshqa komponentlar tarkibida bu mikroelementlar yetarli miqdorda bo‘lsa reaksion muhitga maxsus ravishda temir, mis va marganetslarni kiritilmaydi. Lizinni mahsulot sifatida ishlab chiqarish samaradorligi fermentatsiya jarayonini asosiy parametrlariga: harorat, erigan holdagi kislorod konsentratsiyasi, jarayonni o‘tkazish muddati, o‘stiriladigan mikrob materialining dozasi va uning yoshiga bevosita bog‘liq bo‘ladi. Lizin aminokislotasi produsentlarini o‘sishi, rivojlanishi va boshqa aminokislotalarning biosintezi uchun 28-30ºC optimal harorat hisoblanadi. Produsentni o‘stirish jarayonida haroratni 5ºC oshirish hujayralarning avtolizini tezlashtiradi va lizinning muhitga ancha kam miqdorda yig‘ilishini sabachisi bo‘ladi. Haroratni optimalga nisbatan 5ºC ga pasaytirish lizin mahsulotini hosil bo‘lishini iqtisodiy jihatdan zarar keltiradigan darajaga olib keladi, chunki biosintez jarayoni 12-24 soatga uzayadi va muhitning pH ko‘rsatkichi 6-8,5 ko‘rsatkich chegarasidagi o‘zgarishlarga duch keltiradi. Hozirgi kunda sanoat ishlab chiqarishi miqyosida foydalaniladigan shtammlar uchun optimum pH chegarasi 7,0-7,5 ni tashkil qiladi. Lizinning har xil produsentlari kislorodga nisbatan har xil talabni namoyon qiladi, lekin biosintez jarayoni uch karbon kislotalar siklining degidrogenazalari va glioksil sikli fermentlarining yuqori darajadagi faolligini talab qilganligi tufayli shtammlarni o‘stirish kuchli aeratsiyani talab qiladi. Demak bu

shtammlar suyuq fazada erigan kislorod miqdorini optimal darajada bo‘lishini talab qiladi. Reaksion muhitda aeratsiyaning yetarli bo‘lmasligi lizinning hosil bo‘lishini kamaytirib, alanin va sut kislotaning hosil bo‘lishini kuchaytiradi. O‘ta kuchli aeratsiya esa biomassaning juda ham ko‘payishiga olib keladi, lekin bunda ham lizinning miqdori kamayadi. Jarayonni kechishida kislorod konsentratsiyasini nazorat qilishni portsial bosim ($pO_2$) ni aniqlash orqali amalga oshiriladi. Dastlabki biomassani jadal hosil bo‘ladigan va lizinning maksimal sintezlanadigan paytida ya’ni, 16 soatdan 20 soatgacha bo‘lgan oraliqda $O_2$ ko‘rsatkichi keskin pasayib ketadi, bu narsa esa aminokislotani biosinteziga salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Shu narsa aniqlandiki, fermentyorda portsial bosimning pasayganida unga yo‘naltirilayotgan erigan kislorodning konsentratsiyasi 20-30 % dan kam bo‘lmasligi kerak. O‘stirish materialining miqdori sanoat ishlab chiqarishi fermentatsiyasi uchun 1-5 % atrofida bo‘lishi kerak bo‘ladi, o‘stirish materiali dozasi oshganda, iqtisodiy koeffisient ko‘tariladi. Hujayralarning o‘sishi va lizin bisintezini maksimumi o‘zaro bir biriga mos bo‘lmaganligi, ya’ni butun biomassaning hosil bo‘lishi dastlabki 12-18 soat ichida yuz bersa, lizinning ko‘zga ko‘rinarli miqdorda sintezlanishi biomassa o‘sishini sekinlashganida boshlanadi. Lizinning hosil bo‘lish jarayonini boshlanishidan keyin produsent hujayralarning kattaligi maydalashadi. Lizin biosintezini boshlanishini o‘qiga xos tavsifi, shundan iboratki, bunda auksotrof mutantlar tomonidan muhitdagi defisit aminokislotalar, masalan, treonin to‘liq o‘zlashtirilib qo‘yiladi. Bu omillar fermentatsiya jarayonini mikrobiologik va biokimyoviy nazorat qilishda foydalanish imkoniyatini yaratadi. Jarayonning nihoyasida hosil bo‘lgan suyuq aralashma lizin va boshqa metabolizm mahsulotlaridan tashqari, produsent biomassasi va muhitdagi o‘zlashtirilmay qolgan oziqa moddalaridan tashkil topgan bo‘ladi. Mikroblarni o‘stirish yo‘li bilan sanoat ishlab chiqarishi miqyosida qo‘yilgan maqsadga muvofiq ravishda suyuq lizin konsentrati (SLK) va lizinli quruq konsentrat (LQK) lar holatidagi texnik preparatlarni, shuningdek yuqori darajada tozalangan yem-oziqa va oziq-ovqat hamda tibbiyot sanoati uchun yuqori darajada tozalangan kristall preparatlarni ajratib olish mumkin bo‘ladi. Bu preparatlarni ajratib olishda har biri uchun o‘ziga tegishli bo‘lgan texnologiyalaridan foydalaniladi. Tovar holatida ishlab chiqariladigan SLK va LQK lar tarkibida chorva mollariga qo‘shimcha ravishda beriladigan bu mahsulotlar tarkibida uning oziqa qimmatini oshiruvchi boshqa birikmalar, masalan $B_1$, $B_2$, $B_3$, $B_6$, PP vitaminlar va boshqalar uchraydi.

Suyuq lizin konsentrati (SLK) ni sanoat miqyosida ajratib olish texnologiyasi mikrob o‘stirilgan suyuqlikni mutloq quruq modda darajasining 40 % darajasigacha bug‘lantirishga asoslangan. Buning uchun muayyan suyuqlikni oldindan 95-100$^oC$ gacha qizdiriladi so‘ng ko‘p korpusli vakuum-bug‘latkich qurulmaga yo‘naltiriladi va 3,5-4 soat mobaynida bug‘lantiriladi. Uzoq muddat bug‘lantirilganda lizin kamayishi mumkin, shuning uchun aralashmani oldin suyuq fazani uning hajmiga nisbatan 0,4 % miqdorda 25 % li natriy giposulfit yordamida stabillanadi, keyin esa xlorid kislota yordamida pH ni 4,5-5,0 ga yetkaziladi. Bunda lizinning monoxlorgidrati termik ta’sirga chidamli bo‘lib qoladi. Shu xildagi stabilizatsiya va nordonlashtirish tadbiri lizinni 5-15 % gacha yo‘qotmasdan saqlab qolish imkonini beradi. Bu texnologiya

asosida ajratib olingan SLK ni qayshqoqligi 0,65x10-3 kg (m.s) ga, muzlash harorati -18 $^0$C, solishtirma og‘irligi 1,15-1,30 ga pH 4,5-5,0 ga teng bo‘lib, o‘zining xossalarini o‘zgartirmasdan 3 oy saqlanishi mumkin ekan. Bu mahsulot LQK ga nisbatan biologik qimmati yuqoriroq sanaladi. Tayyor mahsulot temir yo‘l sisternalariga solib ist’emolchiga yuboriladi

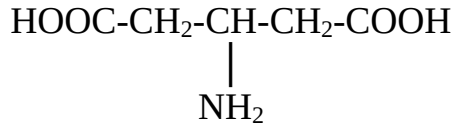
Lizinning yem-oziqa konsentrati (LEOK) preparatini sanoat miqyosida ishlab chiqarish SLK asosida amalga oshiriladi. Buning uchun suyuq konsentrat purkagich quritqichda 90 $^0$C dan oshiq bo‘lmagan issiq havoda 4-8 % namlik darajasigacha quritiladi, 20 kg dan etib polietilen xaltachalarga joylashtiriladi. Bu xil konsentrat quruq modda hisobiga 15-20 % gacha lizinning monoxlorgidrati, 14 % gacha boshqa aminokislotalar, 15-17 % gacha oqsil, 10-13 % gacha betain va 20-25 % gacha kul moddalaridan tashkil topadi, o‘zining tarkibi bo‘yicha amaliy jihatdan SLK dan farq qilmaydi. Lekin bu texnologiya asosida ajratib olingan LEOK juda gigroskopik bo‘lib saqlash jarayonida yirik bo‘lakchalarga aylanadi va undan kombinatsiyalab yem-oziqa tayyorlashda qiyinchilik tug‘iladi. Bu kamchilikdan xolis bo‘lish uchun SLK ni bug‘lantirib quritish vaqtida unga suyak uni, so‘ndirilmagan ohak, bentonit, bug‘doy kepagi qo‘shiladi. Ko‘pincha bug‘doy kepagi qo‘shiladi. Buning uchun SLK ni 35-40 % gacha konsentrlab unga kepakni shunday hisobda qo‘shiladiki, aralashmaning namligi 70 % ga yetsin va hosil bo‘lgan massa granula hosil qilish darajasida bo‘lsin. Shu xil qo‘shimcha qo‘shilgan LEOK tarkibida 7-10 % gacha lizin bo‘ladi, u sepilib ketadigan va nogigroskopik xossaga ega.

Yuqori darajada konsentrlangan yem-oziqa preparatlarini olishda mikrobli aralashmani oldindan sulfat kislota yordamida pH 1,6-2,0 gacha nordonlashtiriladi. Bunda lizin molekulasi ikki valentli kation holatiga o‘tadi, bu narsa uning keyinchalik ionitda sorbsiyalanishiga imkon beradi. Nordon holatga keltirilgan eritma ammoniyli shaklda KU-2-8 sulfokationiti solib to‘ldirilgan ion-almashinuvi kolonkalariga yo‘naltiriladi. Adsorbsiya jarayoni o‘tkazilgandan so‘ng sorbitni suv bilan yuviladi. Produsentning hujayra qoldiqlari va adsorbsiyalanmagan boshqa komponentlar texnologik oqova sifatida utilizatsiyaga duch keladi. Ionalmashinuvini ta’minlaydigan kolonkalaridagi lizin (adsorbsiyalangan umumiy miqdordan 80-90 %) lizin 0,5-5,0 % ammiak eritmasi bilan elyutsiyalanadi. Elyuatni vakuum yordamida 60$^o$C da 30-50 % quruq modda hosil bo‘lgunga qadar bug‘lantiriladi va so‘ng konsentrlangan xlorid kislota yordamida uning pH ko‘rsatkichi 4,9 ga olib kelinadi. Hosil bo‘lgan lizinning monoxlorgidrati quritish qurilmasiga yo‘naltiriladi. Ishlab chiqarishning so‘nggi mahsuloti LEOK preparati tarkibida lizin monoxlorgidratning miqdori 70 % ga yetadi. Tarkibida produsent hujayralari, aminokislotalar va boshqa qoldiqlar, shuningdek lizinning iz qoldiqlari bo‘lgan texnologik oqovalar va yuvindi suvlar birga qo‘shiladi va 10 % namlik darajasigacha quritiladi. Olingan mahsulot yem-oziqa mahsuloti bo‘lib, uning tarkibida 40 % gacha oqsil moddalari bo‘ladi. Undan chorva mollarini boqishda foydalaniladi.

Lizin va boshqa aminokislotalarni mikrob o‘stirilgan tindirilgan suyuqliklardan ajratib olinadi, lekin bu ishni amalga oshirishda aralashma produsent hujayralaridan va bo‘yoqli birikmalardan xolis bo‘lishi lozim. Buning uchun biosintez nihoyasiga yetgandan keyin aralashma qo‘shimcha ravishda stabillashtirilmagan holda filtratsion

qurilmaga yo‘naltirilib, produsentning biomassasidan va muhitda mavjud bo‘lgan karbonatlardan va fosfatlardan xolis qilinadi. Nam cho‘kma alohida hajmli idishga, u yerdan esa quritish uchun yo‘naltiriladi. Quruq bioshrot qishloq xo‘jalik hayvonlarini yem-oziqasini boyitish uchun foydalaniladi. Yuqoridagi tartibda tozalangan filtrat faollashtirilgan ko‘mir yoki anionitlardan o‘tkazilib adsorbsiya yo‘li bilan aralashmadagi pigmentlardan ham tozalanadi. Shu yo‘sinda ajratib olingan pH 7,0 ga teng bo‘lgan eritma ionalmashinuvi qurilmasiga yo‘naltiriladi. Kristall lizinni ajratib olishning keyingi bosqichi yuqorida keltirilgan lizinning yuqori darajada konsentrlangan preparatini ajratib olish texnologiyasiga o‘xshash bo‘lib, farqli jihati faqat lizinning monoxlorgidrati olish bosqichida kuzatiladi. Lizinning monoxlorgidrati eritmasi 60$^{o}$C da qo‘shimcha ravishda vakuum-bug‘lantirgandan keyin 12-14 $^{0}$C gacha sovitiladi, hosil bo‘lgan lizingidroxloridning kristallari azot bosimida filtrlanadi, qolgan eritmani yana vakuum-bug‘latish bosqichiga qaytariladi. Agar cho‘kmaga tushgan kristallar pigmentlar bilan bo‘yalgan bo‘lsa ,unda filtrlashdan bir yo‘la kristallizatorga yo‘naltiriladi, u yerda 70 $^{0}$C da 3-4 hajmdagi deionlangan suvda eritiladi. So‘ng bu massani sovitiladi, sorbent orqali o‘tkazib pigmentlardan xolis qilinadi va so‘ng vakuum-bug‘latishga yo‘naltiriladi. Lizinning tozalangan konsentratiga unga nisbatan 3-4 karra ko‘p miqdorda etanol qo‘shiladi va suvli-spirtli eritmadan kristallizatsiyalanadi. Cho‘kmaga tushgan kristallar filtrlanadi va toza etanol bilan yuviladi. Suvli-spirtli qoldiq regeneratsiya uchun qaytariladi. Tayyor kristall mahsulot vakuumda 60$^{o}$C da quritiladi. Lizinning ajratilish bosqichida hosil bo‘lgan umumiy miqdoridan ajratiladigan toza qismi 75 % ni tashkil qiladi. Tayyor mahsulot L-lizin monoxlorgidrat bo‘lib, undagi asosiy mahsulot 97-98 % ni tashkil qiladi va namliga 0,5 % ni, kul 0,3 % ni, erish harorati 210$^{o}$C ni tashkil qiladi. Ishlab chiqarish jarayoni tayyor mahsulotni qadoqlash, taxlash va uni omborga joylashtirish bilan nihoyasiga yetadi.

*L-glutamin kislota, L-triptofanni mikrobiologik uslubda sintezlash va sanoat miqyosida ishlab chiqarish*. Glutamin kislotani formulasi quyidagicha:



Bu kislota ancha miqdorda o‘simlik va hayvonlar oqsillari tarkibiga kiradi. U almashinmaydigan aminokislotalar jumlasiga kirmaydi, lekin uning asosida odam va hayvonlar organizmini me’yoriy faoliyatini ta’minlash uchun zarur bo‘lgan muhim fiziologik faol moddalar sintezlanadi. Glutamin kislotadan oziq–ovqat sanoatida foydalanish imkoniyatlari keng, shuningdek tibbiyotda undan jigar va buyrakni zaharlanishi bilan bog‘liq bo‘lgan kasalliklarni davolashda foydalaniladi.

Natriy glutamat (mononatriyli tuzi) ni ovqat mahsulotlarini ancha muddatlarda saqlanishini va shirinlik sifatini oshirishni nazarda tutib, konservalangan va muzlatilgan holda saqlash maqsadida qo‘shimcha tarzida kiritiladi.

Sanoat miqyosida glutamin kislotani va uning asosida natriy glutamatni bir qancha uslublardan foydalangan holda, ya’ni: akrilonitrildan ko‘p bosqichli kimyoviy sintez yo‘li bilan, shuningdek qand lavlagisi qoldiqlari yoki oqsil gidrolizatlaridan

foydalangan holda mikrobiologik bir bosqichli va ikki bosqichli texnologiya asosida ajratib olinadi. Hozirgi kunda koʻproq qoʻllaniladigan uslub glutamin kislotani qand lavlagisi qoldiqlaridan foydalangan holda bir bosqichli mikrobiologik sintez yoʻli bilan ajratib olish uslubidir. Bu uslub bugungi kunda ham eng istiqbolli uslub boʻlib qolmoqda. L-Glutamin kislotani sanoat miqyosida biosintezlashda L-lizinni ishlab chiqarishda qoʻllanilgan mikroorganizmlardan, yaʼni *Coryn.glutamicum* va *Brev.flavum* dan foydalaniladi. Bulardan tashqari sanoat produsentlari sifatida bakteriyalarning *Micrococcus* va *Microbacterium* shtammlaridan foydalanish mumkin.

Glutamin kislotani moʻl miqdorda ishlab chiqarish uchun alfa-keto-glutar kislotani qahrabo kislotaga aylanishi izdan chiqqan ferment tizimli shtammlaridan foydalaniladi. Bunda agar muhitda oʻstirilayotgan mikrobning alanindegidrogenazasi va laktatdegidrogenazasini biosintezida tanqislik sezilsa, muhitda alanin va sut kislotasini biosintezi uchun kerak boʻlgan muhitdagi karbonsuvlar sarflanmay qoladi va natijada glutamin kislotaning hosil boʻlishi kuchayadi.

Sanoat miqyosida glutamin kislota ishlab chiqarilishida karbon manbayi sifatida engil assimilyatsiyalanuvchi qand lavlagisi yoki kraxmal gidrolizati tarkibida uchrovchi karbonsuvlar (saxaroza va glyukoza) dan foydalaniladi. Azot manbayi sifatida siydikchildan, baʼzan ammoniy xlorid va ammoniy sulfatdan hamda makkajoʻxori ekstraktidan foydalaniladi. Makkajoʻxori ekstraktini tarkibida biotinning miqdori koʻp boʻlganligi sababli undan faqat inokulyat va oʻstirish materialini olishdagina foydalaniladi. Qand lavlagisi chiqindisini tarkibida biotinning miqdorini koʻp boʻlishi, uni biosintez uchun ishlatiladigan asosiy xom-ashyo sifatida ishlatilishini cheklaydi. Glutamin kislotani produsentlarini barchasi biotinning miqdori bilan, baʼzilari esa tiaminning miqdoriy koʻrsatkichlari bilan bogʻliq boʻlib, bunda biotinning miqdoriy koʻrsatkichi 1 l muhitdagi aralashma hisobiga 2-5 mkg dan oshmasligi lozim. Bu vitaminning muhitda koʻproq miqdorda boʻlishi produsent hujayralarining oʻsishiga hamda alanin, sut, qahrabo, asparagin kislotalarning hosil boʻlishini kuchayishiga olib keladi, buning natijasida esa, glutamin kislotani miqdoriy koʻrsatkichi kamayib ketishi kuzatilar ekan. Biotinning ingibirlovchi taʼsirini pasaytirish uchun oziqa muhitiga baʼzi spirtlar, sirt tarangligi yuqori moddalar, antibiotiklar (penitsillinlar, tetrosiklinlar) ni qoʻshish lozim boʻladi. Muhitga sirt tarangligi yuqori moddalarni 0,01-0,2 % gacha miqdorda yoki benzilpenitsillinning kaliyli tuzidan (1l muhitdagi aralashma hisobiga 4-6 mingdan bir birlik) qoʻshish produsentning biosintetik qobiliyatini 15-45 % ga oshiradi va aralashmadagi glutamin kislotaning miqdorini 50 g/l gacha yetishiga olib keladi. Foydalaniladigan shtammning hususiyatlariga bogʻliq holda biosintez jarayonini amalga oshishi uchun oziqa muhitiga qoʻshiladigan siydikchilning miqdori 1,0-2,05 % tashkil qiladi. Biosintez jarayoni uchun optimal sharoit yaratish va ishlab chiqariladigan bir litr reaksion suyuqlik hisobiga hujayralarning asosiy massasini hosil boʻlishi nihoyasiga yetganidan keyin muhitga yana ozgina miqdorda siydikchil kiritish lozim boʻladi. Siydikchilning reaksion muhitdagi miqdoriy koʻrsatkichi 0,8 % dan oshmasligi, eritmaning pH esa, 6,8-7,8 atrofida boʻlishi lozim. Muhitda azotning miqdorini kam

bo‘lishi glutamin kislotaning hosil bo‘lishiga xalaqit berib, alfa-ketoglutar kislotaning ko‘p miqdorda yig‘ilishiga olib keladi.

Produsentni o‘stirish va glutamin kislotasini biosintezini amalga oshirish texnologiyasi L –lizinni ajratib olishda qanday texnologik sxemadan foydalanilgan bo‘linsa, aynan shu texnologik sxemani qo‘llash orqali amalga oshiriladi. Shu sababli bu o‘rinda produsentni o‘stirish va biosintezni amalga oshirish borasida ayrim farqlanuvchi jihatlarnigina ko‘rib chiqish bilan chegaralansa bo‘ladi. Produsentni o‘stirishning har bir bosqichi 24 soat (ishni probirkada amalga oshirishning boshlanishidan tortib, to o‘stirilgan materialni ko‘paytirish qurilmasiga o‘tkazgungacha bo‘lgan vaqt) oralig‘ida barcha operatsiyalar aseptik sharoitda olib borilishi lozim. Oziqa muhitini tarkibi bir shtammdan boshqa shtammga o‘tishda juda kam o‘zgaradi va o‘stirish materialini olishning oraliq bosqichlarida amaliy jihatdan o‘zgarmaydi. Faqat produsentni o‘stirish apparatida o‘stirilganda oziqa muhitiga 0,1 % steril sintetik ko‘pik so‘ndirg‘ich qo‘shiladi.

Sanoat ishlab chiqarishi uchun xizmat qiladigan *Coryn.glutamicum* shtammidan o‘stirish materiali ajratib olishda 49-jadvaldagi tarkibga ega bo‘lgan ozuqa muhitidan foydalaniladi.

49-jadval

**_Coryn.glutamicum_ shtammidan o‘stirish materiali ajratib olishda foydalaniladigan ozuqa muhitining tarkibi (% hisobida)**

| № | Moddalarning nomi | % |
|---|---|---|
| 1 | Qand lavlagisi chiqindilari | 8,0 |
| 2 | Makkajo‘xori ekstrakti | 0,3 |
| 3 | Ammoniy xlorid | 0,5 |
| 4 | Ikki almashingan kaliy fosfat | 0,05 |
| 5 | Ammoniy sulfat | 0,03 |
| 6 | Suv | Qolgan qismi |
| 7 | Muhit pH | 7,0-7,2 |

Glutamin kislotani biosintezlash bosqichida oziqa muhiti sifatida foydalaniladigan komponentlar yuqoridagi komponentlardan tashkil topgan bo‘lishi va bunda faqat makkajo‘xori ekstrakti va ammoniy sulfat o‘rniga 2 % li siydikchil ishlatilib, qand lavlagisi chiqindilari miqdorini 20 % gacha oshirish, qo‘shimcha 1 % gacha bo‘r va 0,1 % gacha ko‘pik so‘ndirgich qo‘shilishini talab qilinadi. Biomassani aerob sharoitlarda har litr muhit suyuqligi hisobiga 6-8 g gacha miqdorda mutloq quruq modda hisobiga yig‘ilishiga erishish uchun produsentni dastlab hajmi 2 $m^3$ li inokulyatorda, keyin esa hajmi 5 $m^3$ li o‘stirish apparatida o‘stiriladi. Hosil bo‘lgan mikrobli o‘stirish materialini konsentratsiyasi 5-6 % (ishlab chiqarish apparatidagi muhit suyuqligi tarkibini umumiy hajmi hisobida) ni tashkil qilganda uni asosiy fermentyorga o‘tkaziladi.

Biosintez jarayonini qat’iy aseptik sharoitda apparatning to‘lg‘azilish koeffisiyenti 0,7 bo‘lgan, hajmi 50 $m^3$ li fermentyorda, 48-52 soat davomida va 1 minutda 1 hajm muhitdagi suyuqlik hisobiga 1 hajm havo sarflanishi inobatga

olingan jadal aeratsiya (80-85 mg $O_2$/(l.m )) li sharoitda amalga oshiriladi. Haroratni jarayonning kechishini hamma bosqichlarida doimiy ravishda 28-30$^oC$ atrofida ushlab turiladi. Biosintetik jarayonning nihoyasida shtamm o‘stirilgan suyuqlik tarkibida 45 g/l hisobida glutamin kislota hosil bo‘ladi. Sarflangan shakarning miqdoriga nisbatan hosil bo‘lgan glutamin kislotaning miqdori 45-50 % ni tashkil qiladi. Glutamin kislotani ajratib olishda uni o‘ta toza holda olish nazarda tutiladi va keyingi texnologik sxema bu kislotani oziq-ovqat mahsulotlari va dorivor moddalar tarkibiga qo‘shishni hisobga oladi. Reaksion muhitdan glutamin kislotani ajratib olish va keyingi tozalash ishlarini farmakopeya me’yorlari doirasida olib borish quyidagi ketma-ket texnologik operatsiyalarni o‘tkazishni talab qiladi.

Reaksion muhitga so‘ndirilmagan ohak qo‘shiladi va keyin oshiqcha miqdordagi kalsiy ionlari fosfat kislota yordamida cho‘ktiriladi. Bunda hosil bo‘lgan cho‘kma produsent hujayralari va oshiqcha chiqindi moddalarning ajralishini tezlashtiradi. Reaksion mahsulot sentrifugalanadi yoki bosim ostida filtrlanadi. Reaksion mahsulotni qoramtir rangga bo‘yab turgan pigment qoldiqlardan tozalashdan iborat. Buning uchun filtratni faollashtirilgan ko‘mir bilan ishlov beriladi yoki IA-1 anionitida ion-almashinuvi sorbsiyasi o‘tkaziladi. 40-60$^oC$ da vakuum-bug‘latish o‘tkaziladi, bunda glutamin kislotaning eritmasidan 50 % dan 80 % gacha suv bug‘lantiriladi.

Bundan oldingi bosqichda olingan konsentratga xlorid kislota qo‘shib pH 3,2 (glutamin kislotaning izoelektrik nuqtasi) ga yetkaziladi va eritmani 4-15$^oC$ gacha sovitiladi. Operatsiyani birinchi bor o‘tkazganda 77 % glutamin kislota kristallansa, ikkinchi bor o‘tkazganda bu ko‘rsatkich 87 % gacha oshadi. Ajratib olingan kristallarning tozalik darajasi 88 % ga yetadi. Keyingi qayta kristallizatsiyalarni o‘tkazish tozalik darajasini 99,6 % gacha ko‘tarish imkonini beradi, bu tozalik darajasi farmakopeya talablariga to‘liq javob beradi.

Bunga erishish uchun yuqorida keltirilgan tarzda ishlov berilgan glutamin kislotasi aralashmasi sentrifugalanadi va dekantatsiya qilinadi, dekantant yana vakuum-bug‘lantirish bosqichiga qaytariladi. Ajratib olingan kristallar distillangan suv bilan yuviladi va quritiladi. Bu jarayon vakuumda yoki 60-70$^oC$ gacha qizdirilgan havo oqimida amalga oshiriladi.

Natriy glutamat ($HOOC-CH_2CH_2CH(NH_2)COONa*H_2O$) ni ajratib olish qayta kristallangan glutamin kislotasini namli kristallarini natriy gidroksidi bilan ishlov berish asosida amalga oshiriladi. Buning uchun namli kristallar ma’lum hajmdagi suvda eritiladi va 45-50 % li o‘yuvchi natriy eritmasi bilan neytrallanadi, pH 6,8 ga yetkaziladi va keyin filtrlanadi. Natriy glutamatning tindirilgan eritmasi vakuumda 60 % gacha quruq modda hosil bo‘lgunga qadar bug‘lantiriladi va keyin kristallizatsiyalanadi. Kristallizatsiyani uch kecha-kunduz davomida haroratni asta-sekin pasaytirish yo‘li bilan o‘tkaziladi. Natriy glutamat kristallarini sentrifugalash yo‘li bilan ajratib olinadi va iliq havo oqimida quritiladi.

MRTU 18/210-68 talablariga muvofiq oziq-ovqat tarkibiga qo‘shish uchun javob beradigan natriy glutamat quyidagi tarkibga ( % hisobida ) ega bo‘lishi lozim:

Asosiy mahsulot miqdori - 94 dan kam bo‘lmagan miqdorda

Natriy xlorid - 5 dan oshiq bo‘lmagan miqdorda

Namlik -1 dan oshiq bo‘lmagan miqdorda
Umumiy azotning miqdori - 7,02 dan kam bo‘lmagan miqdorda.

Glutamin kislotani ikki bosqichli uslubda ajratib olishni amalga oshirishda alfa-ketoglutar kislotadan transamilaza yoki glutamatdegidrogenaza ishtirokida kechadigan quyidagi o‘zaro ta’sirlanish reaksiyalaridan foydalaniladi:

I variant –amnokislotalarning qayta aminlanishi:

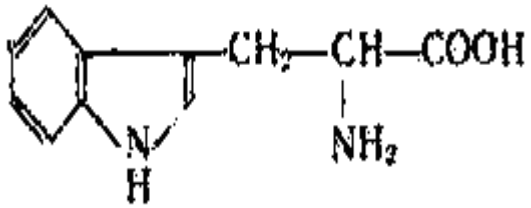
Alfa-ketoglutar kislota + aminokislota-----→L-glutamin kislota+Transamidaza+alfa ketokislota;

II variant qaytariluvchi aminlanish:

Alfa-ketoglutar kislota + $NH_4^+$ + NADH------→L-glutamin kislota+$N_2O$+ glutamatdegidrogenaza+$NAD^+$

Har ikkala holatda alfa-ketoglutar kislota glutamin kislotani biosintezida dastlabki mahsulot vazifasini bajaradi. Bu reaksiyalarni amalga oshirish uchun manba sifatida alfa-ketoglutar kislota va tegishli ferment tizimini bo‘lishi talab qilinadi. Ushbuni birinchisini amalga oshirish uchun arzon xom-ashyodan foydalanib ko‘p miqdorda alfa-ketoglutar kislota ishlab chiqaradigan mikroorganizmlarni tanlash lozim bo‘ladi. Alfa-ketoglutar kislotasini produsenti sifatida *Pseudomonas* va *Escherichia* lar bo‘lishi mumkin, agar bu maqsadda *Kluyverd citrophila* dan foydalanilsa alfa-ketoglutar kislotaning yig‘ilish chiqimi 57 % ga yetar ekan. *Candida* avlodiga mansub bo‘lgan achitqi-zamburug‘lar n-parafinlarda o‘stirilganda alfa-ketoglutar kislotani pirouzum kislota bilan birgalikdagi aralashmasi 6:1 nisbatda hosil qiladi. Bunda biosintez natijasida o‘zlashtiriladigan karbonvodorodlardan hosil bo‘ladigan mahsulotning iqtisodiy samara koeffisiyenti 90 % ga yetar ekan. Transamidaza fermenti produsentlari vazifasini har xil mikroorganizmlar, masalan, *E.coli* bajarishi mumkin. Aminoguruhning donori sifatida asparagin kislota yoki alanin xizmat qilishi mumkin. Qaytariluvchi aminlanishni *Pseudomonas* dan foydalanib amalga oshiriladi.

Triptofan (alfa-amino-beta-indolil propion kislota) almashinmaydigan aminokislotalar guruhiga kiradi. Uning strukturaviy formulasi quyidagicha:




Uning miqdori o‘simlik oqsillari tarkibida uncha ko‘p bo‘lmaydi. Hayvon organizmi uchun unga bo‘lgan talab uncha yuqori bo‘lmasada, uni yem-oziqa tarkibiga qo‘shib berish qishloq xo‘jalik hayvonlarini ratsionini boyitadi. Bundan tashqari L-triptofanning o‘ta tozalangan 99 % gacha tozalikka ega bo‘lgan preparatlaridan tibbiyot uchun davolash komponentlari ishlab chiqarishda va biokimyoviy tatqiqotlarda foydalaniladi. L-triptofanni tibbiyot, qishloq xo‘jaligi va ilmiy tadqiqot ishlarini olib borish uchun mo‘ljallangan har xil tozalik darajasida ajratib olish texnologiyasi ishlab chiqilgan va ishlab chiqarishga joriy etilgan. Sanoat miqyosida triptofanni ishlab chiqarishni bakterial-shtammlar yordamida tirozin va fenilalanin yetishmasligi sharoitida amalga oshirish ham, L-triptofanni hosil qilish uchun xizmat

qiladigan biosintezni har xil achitqi fermenti tizimidan foydalangan holda transformatsiyalash orqali ham ajratib olish mumkin.

Triptofanni bir bosqichli biosintezlashda bakteriyalarning sporali shtamm-mutantlari *Bac.subtilis* yordamidan foydalaniladi va bunda har 1 l reaksion suyuqlik hisobiga 10 g triptofan sintezlanadi. Triptofanni ikki bosqichli uslubda sanoat miqyosida ishlab chiqarish uchun *C.utilis* ning ferment tizimi yordamida antranil kislotani L-triptofanga transformatsiyalash orqali amalga oshiriladi va bunda reaksion muhitda mahsulotning miqdori 6 g/l ga etadi.L-triptofanni bir bosqichli biosintezlash uslubida triptofanning produsentini o‘stirish, uni ajratib olish va tozalash, hamda uning asosida yem-oziqa va yuqori darajadagi tozalikka ega bo‘lgan preparatlarni ajratib olishga tegishli ishlar amaliy jihatdan L-lizindagi mikrobiologik ishlab chiqarish bosqichlaridagini takrori hisoblanadi. Shuning uchun asosiy texnologik jarayonlarning ba’zi xususiyatlarinigina keltirib o‘tish bilan kifoyalanamiz.

50-jadval

**Triptofanni produsentini o‘stirish uchun zarur bo‘lgan ozuqa muhitining tarkibi (% hisobida)**

| № | Moddalarning nomi | % |
|---|---|---|
| 1 | Saxaroza (texnik) | 10,0 |
| 2 | Makkajo‘xori ekstrakti | 2,0 |
| 3 | Siydikchil | 0,5 |
| 4 | Ammoniy sulfat | 0,1 |
| 5 | Kaliy fosfat bir almashingan | 0,06 |
| 6 | Kaliy fosfat ikki almashingan | 0,14 |
| 7 | Natriy xlorid | 0,05 |
| 8 | Suv | Qolgan qism |
| 9 | Muhit pH | 7,0-7,2 |

Inokulyatorda va o‘stirish apparatida o‘stirish materialini ajratib olish bosqichida saxarozadan tashqari hamma komponentlarni yuqorida keltirilgan tarkibda olinadi, saxarozani esa, undagidan ikki marta kam miqdorda olinadi.Boshqa aminokislotalarni ajratib olishdagi kabi steril ko‘pik so‘ndirgichning 0,1 % li miqdoridan foydalaniladi. Mikrobni o‘stirish vaqti va harorati o‘zaro mos holda 20 soat va 37 $^0$C ni tashkil qiladi. Asosiy fermentatsiya uchun yo‘naltiriladigan tayyor o‘stirish materialining miqdori 5-10 % dan oshmaydi. Biosintez jarayonining davomiyligi 37 $^0$C da 48 soatdan oshmaydi. Muhitning aeratsiyalanish darajasi 3,6-4,0 g $O_2$/(l.soat) ni tashkil qiladi. Triptofanning yem-oziqa konsentrati (TEOK) ni ajratib olish uchun produsentning biomassasidan ajratmasdan turib mikrobli suyuqlikni tarkibida 30-40 % gacha quruq modda hosil bo‘lgunga qadar vakuum-bug‘latish yo‘li bilan konsentrlanadi va uni purkagichli qurutqichda 110-120$^o$C da quritiladi. Yuqori darajada konsentrlangan triptofanni produsentli suyuqlikdan hujayra elementlari va erimay qolgan chiqindilari ajratib olingan filtratdan olinadi.

Bunda asosiy texnologik operatsiyalarning ketma-ketligi quyidagicha bo‘ladi:

- produsent biomassasini filtrlash yoki sentrifugalash yo‘li bilan ajratish;

- filtratni xlorid kislota bilan pH 1,0 gacha nordonlashtirish va hosil bo‘lgan cho‘kmani ajratish;

- H-shaklidagi sulfokationit KU-2-8 to‘ldirilgan kolonkada triptofanni adsorbsiyalash;

- adsorbsiyalangan triptofanni 5 % li suvli-izopropanolli ammiak eritmasi bilan desorbsiyalash, bunda sorbsiyalangan triptofanning 90 % elyutsiyalanadi;

- elyuatni vakuum-bug‘latkichda 60-70$^{o}$C da konsentrlash (buning natijasida 80-90 % li suvli-spirtli fraksiya haydaladi) va keyin konsentratni 4-6$^{o}$C gacha sovitish;

- triptofanni uning suvli-spirtli eritmasidan kristallizatsiyalash;

- kristallarni aralashmadan ajratish va uning suyuq qismini vakuum-bug‘latkichga qaytarish;

- kristallarni etanol bilan yuvish va 60$^{o}$C li vakuum-bug‘latkichda quritish.

Ushbu sxema bilan ish yuritganda triptofanning texnik preparatini olishga erishiladi. Yuqori darajadagi tozalikka ega bo‘lgan va tarkibida 99 % asosiy mahsulot bo‘lgan triptofan preparatini ajratib olish uchun etanolda yuvilgan kristallarni suvda eritiladi va 65 % li etanolda yoki 60 % li izopropanolda qayta kristallanadi. Qoldiq suyuqlik qaytadan vakuum-bug‘latkichga qaytariladi,hosil bo‘lgan kristallar esa vakuumda 60$^{0}$C da quritiladi. Tozalangan triptofan preparatini ajratib olish jarayonida hosil bo‘lgan chiqindilari: produsent biomassasi va kristallizatsiya suyuqliklarining tarkibida ancha miqdorda triptofan bo‘lishi tufayli ularni dastlabki o‘stirish suyuqligi bilan aralashtirib qo‘shiladi bu aralashmadan yem-oziqa mahsuloti olishda foydalaniladi.L-triptofanni ikki bosqichli uslubda biosintezlashda birinchi bosqichda aseptik sharoitda *C.utilis* shtammli achitqi zamburug‘i probirkadan tortib, to fermentyorgacha mikroorganizm biomassasini maksimal darajada yig‘ish maqsadida o‘stirib ko‘paytiriladi, ikkinchi bosqichda shu bioreaktorda yig‘ilgan biomassa yordamida dastlab hosil bo‘lgan mahsulotni transformatsiyalanadi. Dastlabki o‘stirish materiali muhitida 28-30$^{o}$C da 24 soat davomida mikroorganizmlarni o‘stirib ko‘paytiriladi. *C.utilis* produsentining ferment tizimlarini hosil qilish uchun o‘stirish kolbalariga 51-jadvaldagi tarkibga ega bo‘lgan oziqa muhiti tavsiya etiladi.

51-jadval

***C.utilis* produsentining ferment tizimlarini hosil qilish uchun zarur bo‘lgan ozuqa muhitining tarkibi ( % hisobida)**

| № | Moddalarning nomi | % |
|---|---|---|
| 1 | Qand lavlagisi chiqindisi | 10,4 |
| 2 | Siydikchil | 0,5 |
| 3 | Ikki almashingan kaliy fosfat | 0,01 |
| 4 | Kalsiy xlorid | 0,01 |
| 5 | Magniy sulfat | 0,005 |
| 6 | Suv | Qolgan qism |
| 7 | Muhit pH | 7,5-8,0 |

O‘stirib ko‘paytirilgan biomassaning tarkibida 3-5 g achitqi materiali bo‘lib, undan sanoat miqyosida ishlatiladigan fermentyordarda o‘stirib ko‘paytirishda foydalaniladi. Sanoat ishlab chiqarishi uchun tayyorlanadigan oziqa muhitini asosiy komponentlari o‘stirib ko‘paytirish uchun foydalaniladigan komponentlarga tamoman o‘xshash, uning farqli jihati faqat qand lavlagisi chiqindilari konsentratsiyasini yuqorida keltirilgan ko‘rsatkichdan 6,2 % gacha kamaytirishni talab qiladi.

Birinchi bosqichda achitqi zamburug‘ini dastlabki 24 soat oralig‘ida jadal aeratsiyali sharoitda oziqa muhitiga 7 g $O_2$/(l.soat) dan kam bo‘lmagan miqdorda havo yuborib, aseptik sintetik ko‘pik so‘ndirgichdan foydalangan holda o‘stirib ko‘paytiriladi.

Ikkinchi bosqichda produsent (uni 24 soat ichida o‘stirib ko‘paytirilgandan so‘ng) ning oziqa muhitiga antranil kislotaning 5 % li spirtli eritmasi va siydikchilning 50 % li eritmasi kiritiladi. Aeratsiya jarayoni jadalligini ikki karra, ya’ni 3 g$O_2$/(l.soat) gacha kamaytiriladi. Muhitga antranil kislota va siydikchilni kiritgandan keyin 4 soat vaqt o‘tishi bilan qand lavlagisi chiqndisini 25 % li eritmasi qo‘shiladi. Biosintez jarayonini davom ettirib, muhitdagi aralashmaga har 6 soatdan keyin antranil kislota va siydikchil, har 12 soatdan keyin qand lavlagisi chiqindisi kiritiladi.

Biosintetik jarayon 144 soat davomida olib borilib, uning dastlabki 24 soati produsentni o‘stirish, ya’ni kerakli bo‘lgan faol ferment tizimini hosil qilish uchun sarflansa, qolgan 120 soati antranil kislotani triptofanga transformatsiyalanishini amalga oshirish uchun sarflanadi. Tayyor mahsulotli suyuqlikning tarkibidagi triptofan 6,0g/l ga yetsa, undagi quruq modda miqdori 8-13 % ga yetadi va bunda ish nihoyasiga yetgan hisoblanadi. Tayyor mahsulotli suyuqlikka keyingi ishlov berish yuqorida keltirilgan sxemaga asosan amalga oshiriladi. Antranil kislotani triptofangacha biosintezlanishidan keyin qolgan, tozalanmagan qismidan triptofanning yem-oziqa konsentrati (TEOK) preparati olinadi. U quyidagi tarkibga ega bo‘ladi ( % hisobida): oqsil moddalari - 48-54; umumiy triptofan -1-3; boshqa aminokislotalar-6; namlik-10; vitaminlar (mg/kg hisobida): $B_1$-15-18; $B_2$-24,5-32,5; PP-620-680.

## 19§. ORGANIK KISLOTALAR ISHLAB CHIQARISH

Mikrobiologik sintez orqali turli xil organik kislotalar: sirka, limon, yantar, itakon, glyukon va boshqa xil kislotalarni olish mumkin. Ulardan oziq-ovqat, farmatsevtika, kimyo, yengil sanoat va boshqa turli xil ishlab chiqarish sanoatlarida keng ko‘lamda foydalaniladi. Mikrobiologik sintez orqali olingan limon, sirka va sut kislotalari an’anaviy oziq-ovqat ishlab chiqarishda keng qo‘llaniladi va kimyoviy sintezlash yo‘liga nisbatan samaraliroq hisoblanadi.

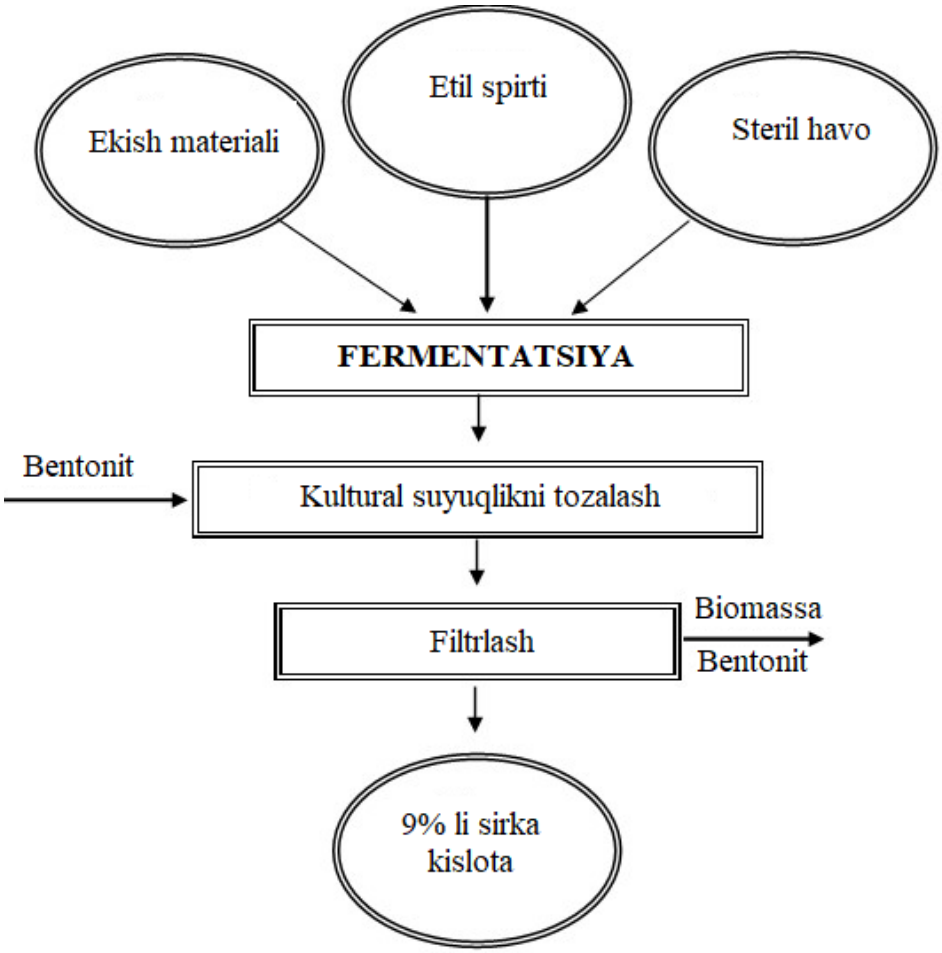
Ushbu kislotalarning produsent-mikroorganizmlari bakteriyalar, mog‘or zamburug‘lari va achitqilar hisoblanadi. Sirka va limon kislota sintezlovchi produsent-mikroorganizmlar aeroblar hisoblanadi. Sut kislotasini esa anaerob mikroorganizmlar hosil qiladi.

Mikroorganizmlar ushbu kislotalarni o‘zlarini begona mikrofloradan himoya qilish maqsadida sintezlaydilar, shuningdek, uglerodni zahira sifatida sintez qiladi degan nazariyalar mavjud.

**Sirka kislota ishlab chiqarish**. $CH_3COOH$ – rangsiz, o‘tkir hidli suyuqlikdir. Oshxona sirkasi (sirka kislotasining 5-9% li suvli eritmasi), sirkali essensiya (70-80%), suvsiz yoki muzlatilgan sirka kislota (98-99,8%) holidagi sirka kislotalari mavjud. *Acetobacter* turkumiga mansub sirka kislotali bakteriyalar etil spirtini oksidlab, sirka kislota hosil qilish xususiyatiga egadir. Etil spirtining oksidlanishini alkogoloksidaza fermenti katalizlaydi. Reaksiya tenglamasini quyidagicha yozish mumkin:

$$CH_3CH_2OH \xrightarrow{\text{Ferment}} CH_3COOH + H_2O + 490kDj$$

Sanoat sharoitida sirka kislotani mikrobiologik sintez qilish, sirka kislotali bakteriyalarni suyuqlikda uzluksiz o‘stirish usulidan foydalanib, ketma ketlikdagi fermentyorlar birikmalarida amalga oshiriladi.




**74-rasm.** Sirka kislota ishlab chiqarishning texnologik chizmasi

Sirka kislota ishlab chiqarishning texnologik jarayonlari quyidagi asosiy bosqichlarni tashkil etadi:

- Ekish materialini olish;
- Xomashyolarni tayyorlash;

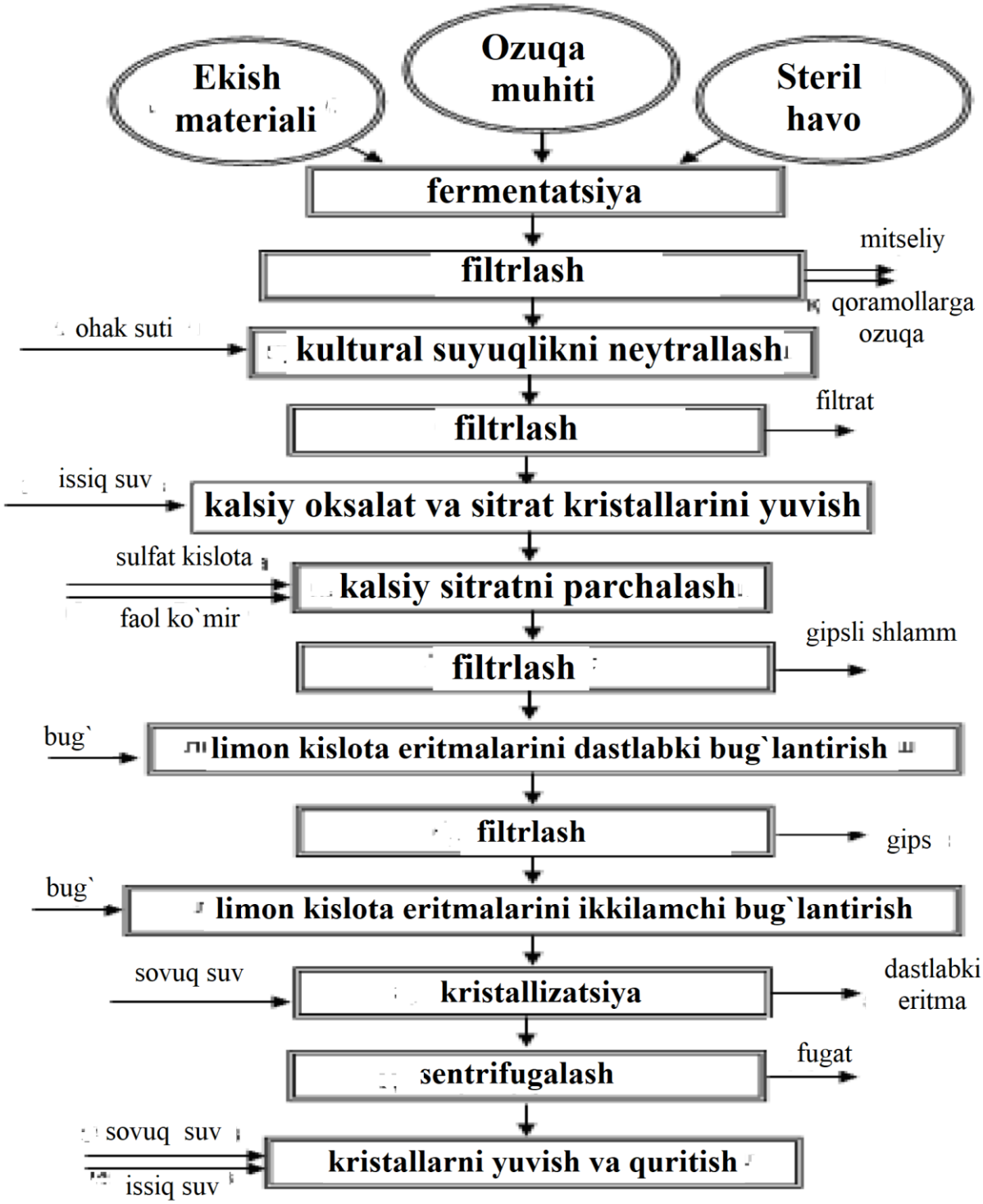
- Fermentatsiya;
- Tayyor mahsulotni tindirish va quyish.

Ishlab chiqarishda sirka kislotali bakteriyalarning ikki xil turi *Bacterium Schtzenbachii* va *Bacterium curvum* qo‘llaniladi. Ekish materialini laboratoriyalarda sirka kislotali bakteriyalarni suyuq oziqada kolbalarda, mikrobiologik tebratgichda, so‘ngra 30 l hajmli laboratoriya fermentyorlarida o‘stirib olinadi. Sirka kislota olish uchun xomashyo sifatida etil spirti, rektifikat yoki tozalangan yog‘dan foydalaniladi. Sirka kislotali bakteriyalarning hayot faoliyati oziqa muhitining pH ko‘rsatkichiga bog‘liq bo‘ladi. Ularning yaxshi rivojlanishi uchun mu’tadil pH ko‘rsatkichi 3,0-3,2 oralig‘ida bo‘ladi. Oziqa muhitidagi sirka kislota va etil spirti miqdori ham mikroorganizmlar hayot faoliyatida muhim rol o‘ynaydi va katta ta’sir ko‘rsatadi. Kislotalarning mu’tadil miqdori 10% deb hisoblansa, spirt miqdori *Bacterium Schtzenbachii* uchun 6-7%, *Bacterium curvum* uchun esa 9-14% ni tashkil etadi. Fermentatsiya jarayoni esa beshta ketma ketlikda birikkan fermentatorlardan tashkil topgan uskunalarda amalga oshiriladi. Har bir uskuna aralashtirgich, barbometr va burama (spiralsimon) issiqlik almashtiruvchilar bilan ta’minlangan. Birinchi fermentyorga, etil spirti va sirka kislotaning umumiy miqdori 6,4-6,7% ni tashkil etadigan oziqa muhiti va steril havo uzluksiz beriladi hamda ekish materiali solinadi. Bunda sirka kislotali bakteriyalarning juda tez rivojlanishi uchun qulay sharoit yaratiladi. Birinchi fermentyor qolgan barcha keyingi fermentyorlar uchun sirka kislotali bakteriyalar generatori hisoblanadi. Shuningdek, bunda sirka kislotasida etil spirtining oksidlanishi amalga oshadi. Kultural suyuqlik bir fermentyordan ikkinchi fermentyorga hosil qilingan havo bosimi hisobiga uzatiladi. Har bir fermentyor etil spirti jadal oksidlanishi va sirka kislotaga aylanishi uchun sharoit yaratib beradi. Zarur bo‘lgan spirt miqdori bilan ta’minlash uchun ikkinchi, uchinchi va to‘rtinchi uskunalarga 40% li etil spirti qo‘shiladi.

Harorat va aeratsiya jadalligi bir fermentyordan ikkinchisiga o‘tganda pasayib boradi: agarda birinchi fermentyorda harorat 28$^{o}$Cga, aeratsiya jadalligi esa 0,35-0,40 $m^3/(m^3 \cdot min)$ ga teng bo‘lsa, oxirgi uskunaga kelib muvofiq ravishda 25$^{o}$C va 0,1-0,15 $m^3/(m^3 \cdot min)$ ni tashkil etadi. Kultural suyuqlik beshinchi fermentyordan sirka kislota miqdori 9% dan kam va 9,3% dan ortiq bo‘lmagan holda chiqadi. 100 l. suvsiz etil spirtidan 75-90 kg sirka kislota olinadi. Sirka kislotasi eritmasiga tindirish uchun bentonit va ko‘p bo‘lmagan miqdorda limon kislota qo‘shiladi. Aralashtirilib bo‘lingandan so‘ng, tindirilgan sirka kislota eritmasi zich-filtrga uzatiladi. O‘zida 9% sirka kislotasini (oshxona sirkasi) saqlovchi filtrat tayyor mahsulot yig‘iladigan joyga uzatiladi va undan quyib olish mumkin bo‘ladi.

**Limon kislota ishlab chiqarish**. Limon kislota - $C_6H_8O_7$, uch asosli oksikislotadir. Suvli eritmalardan rangsiz, tiniq, rombik ko‘rinishidagi kristallar paydo bo‘ladi. Limon kislotasi meditsinada, oziq-ovqat, kimyo va yengil sanoatda juda keng miqyosda ishlatiladi. Ma’lumotlarga ko‘ra dunyo miqyosida limon kislotasining ishlab chiqarilish hajmi yiliga 400 ming tonnani tashkil etadi. Limon kislotasining bunday katta miqdorda ishlab chiqarilishiga turli xil uglerod manbalari, xususan, uglevod va uglevodorodlar asosida mikrobiologik sintezlash usullari yaratilgandan keyingina erishildi. Limon kislotasining produsent mikroorganizmlari mikroskopik zamburug‘lar (*Aspergillus niger*), achitqilar (*Candida lipolytica*,

*Candida quilliermondii*) va bakteriyalar (*Corynebacterium, Arthrobacter*) hisoblanadi.




**75-rasm.** Limon kislota ishlab chiqarishning texnologik chizmasi

Rossiyada limon kislotasi melassali oziqa muhitida *Aspergillus niger* mikroskopik zamburug‘ini o‘stirib, mikrobiologik sintez asosida olinadi. Limon kislotasini ishlab chiqarish jarayonini o‘zida mikrobiologik texnologiyaning barcha asosiy bosqichlarini mujassamlashtiradi:

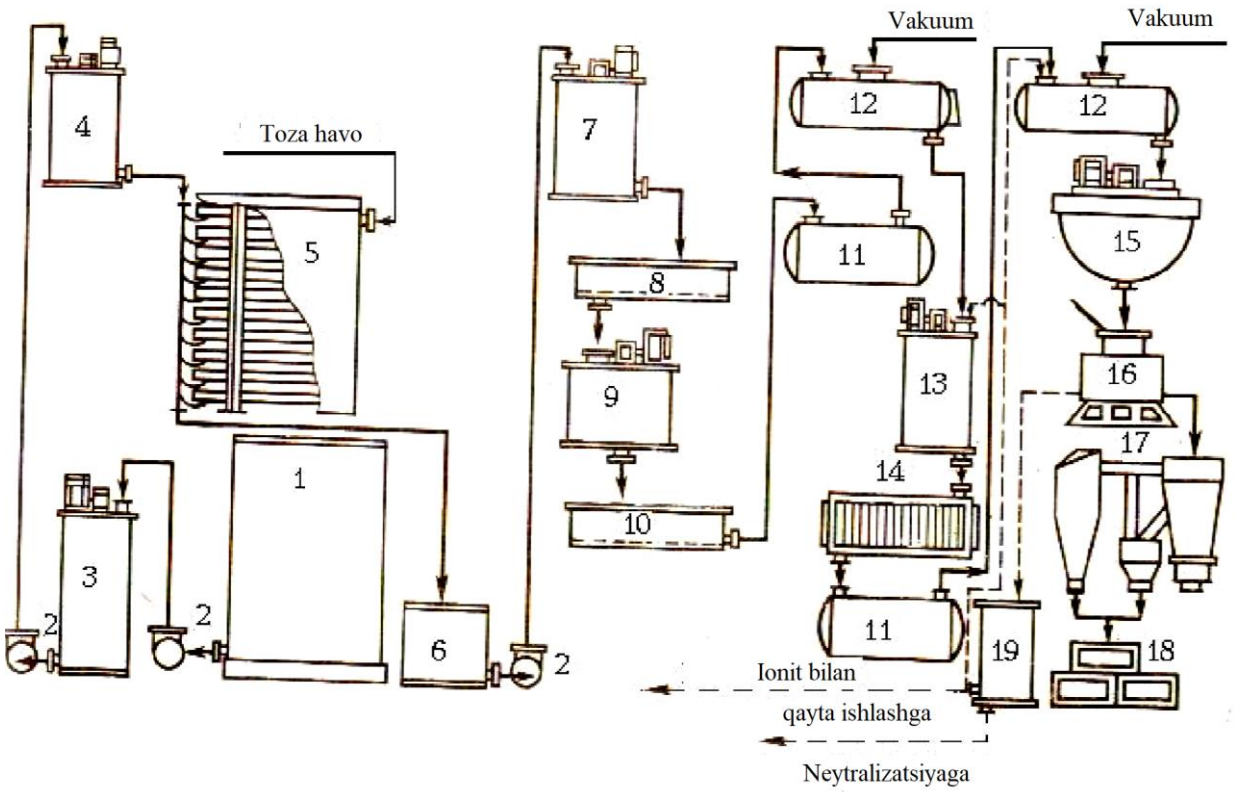
- Ekuv materialini tayyorlash;

- Melassa - xomashyolarni fermentatsiyaga tayyorlash;
- Havoni tayyorlash va sterillash;
- Fermentatsiya;
- Mitseliy-produsent biomassalarini ajratish;
- Kultural suyuqlikdan limon kislotasini ajratish va uni kristall ko‘rinishda olish.

Limon kislotasi produsentlarini yuza qismga va suyuqlik ichiga ekish usullarida o‘stirish mumkin. Limon kislotasini bu usullarda ishlab chiqarishning texnologik chizmasi faqatgina fermentatsiya bosqichida farqlanadi. Qolgan barcha bosqichlar bir xilda kechadi. Maxsus mikrobiologik muzeylarda *Aspergillis niger* shtammlari quruq spora ko‘rinishida (konidiy) faollantirilgan ko‘mir aralashmasida saqlanadi. Dastlabki kultura probirkalarda agarli oziqa muhitida rivojlanadi, so‘ngra kolba va kyuvetalarda qattiq oziqa muhitida o‘stiriladi. O‘stirish harorati 32$^{o}$C bo‘lib, o‘stirish davomiyligi har bir bosqichda 2 sutkadan 7 sutkagacha davom etadi. Qattiq oziqa muhiti sirtida o‘stirilganda konidiya hosil qiluvchi mitselial qoplam rivojlanadi. Yetilgan konidiylar vakuum uskunasi yordamida yig‘ib olinadi. Yig‘ib olingan konidiylar steril holdagi qo‘shimchalarga (talk yoki faollashtirilgan ko‘mir) aralashtiriladi va 32$^{o}$C haroratda quritiladi. Tayyor ekuv materiali steril shisha kolbalarga yoki 0,5 dan 1 litrgacha bo‘lgan sig‘imli bankalarga joylanadi. Bu usulda ishlov berilgan ekuv materialini saqlash muddati 6 oydan kam bo‘lmaydi. Limon kislotasini sanoat asosida olish uchun substrat sifatida shakar sanoatining qoldiq mahsuloti bo‘lgan melassa qabul qilingan. Melassa aniq standartga (tarkibga) ega bo‘lmagan xomashyo hisoblanadi, shuning uchun uning yaroqliligi laboratoriya sharoitida nazorat fermentatsiyalarda limon kislota sintez bo‘lishi bo‘yicha tekshirib ko‘riladi. Yaxshi, sifatli melassa tarkibida 46% dan kam bo‘lmagan shakar saqlaydi. Agarda nazorat fermentatsiya jarayonida limon kislota sintezi, yuza qismga ekish usulida 1,25 kg/($m^2$·sut) yoki suyuqlikda ekish usulida 12 kg/($m^3$·sut) ni tashkil etsa, bunday melassa ishlab chiqarish uchun yaroqli hisoblanadi.

Oziqa muhiti yuza qismida o‘stirish usulida oziqa muhiti qaynatish qozonida tayyorlanadi. Melassa suv bilan 1:1 nisbatda suyultirilib olinadi va sulfat kislota qo‘shilib eritma pH ko‘rsatkichi 6,8-7,2 gacha olib boriladi. Temir tuzlari va og‘ir metallarni cho‘ktirish uchun qaynatish davomida aniq miqdordagi sariq qon tuzi eritmasi kaliy geksatsianoferroat (GSFK) solinadi. Melassa eritmasiga 60-70$^{o}$C haroratda ketma-ketlikda azot, fosfor (kaliy fosfat), makro- va mikroelementlar (rux, magniy, kaliy va boshqalar) manbalari qo‘shiladi. Tayyor oziqa muhiti 45-50$^{o}$C haroratda steril idishga o‘tkaziladi. Oziqaning shakar saqlashi 12-16% ni tashkil etishi lozim.

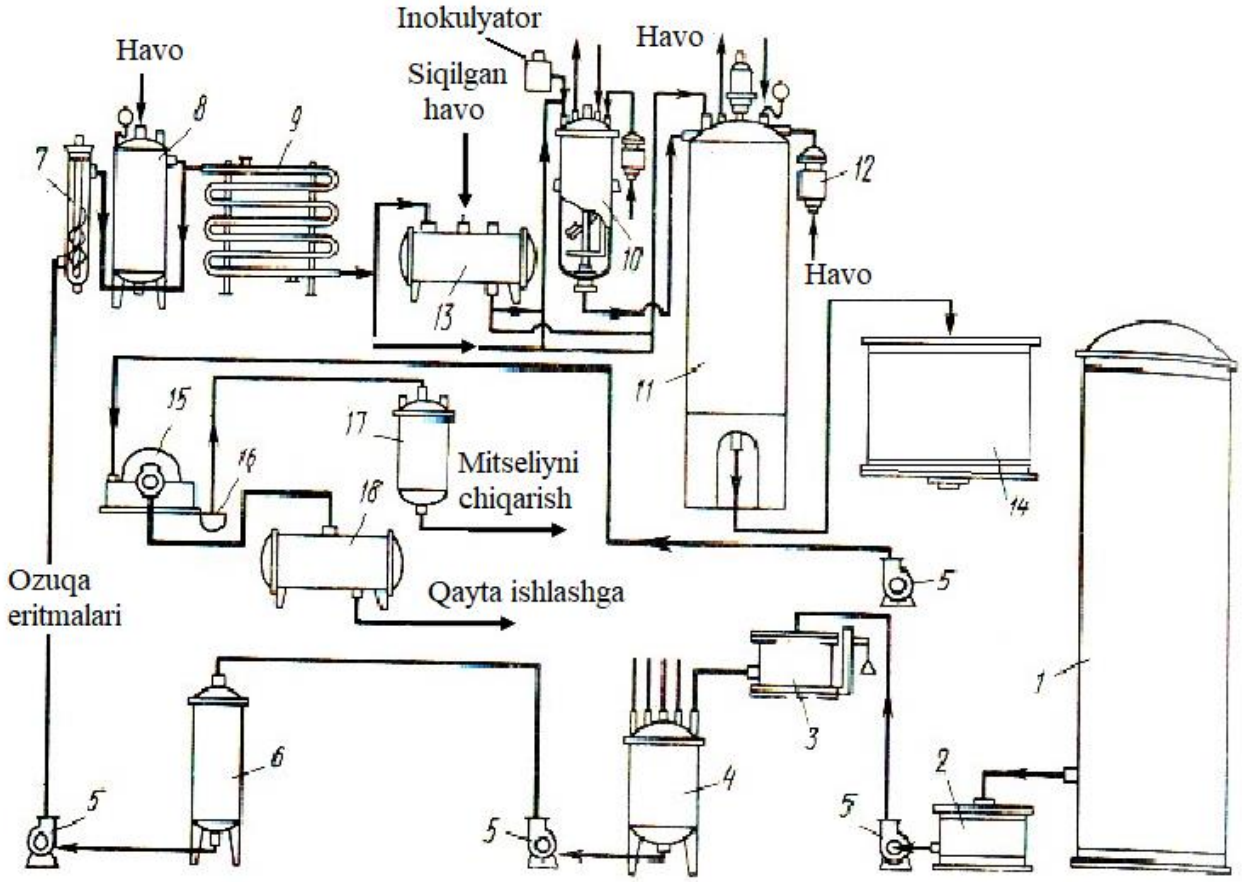
Asosiy fermentatsiya stelajlarida (javonlar) kyuvetalar joylashgan yopiq bo‘lmalari mavjud bo‘lgan maxsus bo‘lmalarda amalga oshiriladi. Kyuvetalar to‘g‘ri burchakli shaklda alyuminiy yoki zanglamaydigan po‘latdan tayyorlangan bo‘ladi. Kyuvetalarning uzunligi 7 m, eni 1,8 m, bort balandligi 20 sm gacha bo‘lishi mumkin. Kyuvetalar oziqa muhiti bilan to‘ldiriladi va kultural suyuqlik shtutser orqali kyuveta tubiga sizib o‘tib turadigan bo‘ladi. Kamera qizdirilgan steril havo uzatgich tizim bilan jihozlanadi.




**76-rasm.** Melassa saqlovchi muhitda limon kislota olishning texnologik chizmasi (bunda: 1-melassa uchun idish; 2-markazlashtiruvchi nasoslar; 3-melassani suyultirish uchun reaktor; 4-sterilizator; 5-achitish kamerasi; 6- bijg‘iydigan eritmalarni yig‘gich; 7-neytralizator; 8-nutch-filtr; 9-aralashtirgich; 10- nutch-filtr; 11- montejyig‘gich; 12-vakuum-uskunasi; 13-disolver; 15-kristallizator; 16-qabul bo‘limi; 17quritish; 18-tayyor mahsulot; 19- filtratlarni yig‘ish).

Yangi fermentatsiya halqasi oldidan kameralar va kyuvetalar yaxshilab yuviladi hamda paroshakllin aralashmasi bilan sterillanadi, keyin esa paroammiakli aralashmada degazatsiyalanadi. Sterilizatsiyalangan va sovutilgan kamera kyuvetalariga oziqa muhiti 12 dan 18 sm gacha qatlam qilib quyiladi. Maxsus uskunalarda *Aspergillus niger* konidiylari, ya’ni ekish materiali oziqa muhitiga purkab sepiladi. Ekishdan keyin bir kun o‘tgach yupqa oq-sarg‘ish mitseliy qoplami hosil bo‘ladi va uch kun o‘tgach qalinlashib burmali, qatlam-qatlam tuzilishni namoyon qiladi. Zamburug‘ mitseliysining faol o‘sish bosqichi juda kam aeratsiyada, 34-36$^{o}$C haroratda ta’minlanadi. Faol kislota hosil bo‘lish bosqichida harorat 32-34$^{o}$C ga pasayadi, havo uzatilishi esa 3-4 marta oshadi. Kislota hosil bo‘lishining jadalligining pasayishi va ajraladigan issiqlik miqdori kamayishining oldini olish uchun kameraga berilayotgan havo sekin-asta kamaytirib boriladi. Fermentatsiya jarayoni eritmada 1-2% shakar qolganda va kultural suyuqlikda kislota saqlashi 12-20% ni tashkil etganda to‘xtatiladi. Kyuvetalardan kultural suyuqlik mahsulot yig‘gichga quyiladi, so‘ngra kimyoviy sexga o‘tkaziladi. U yerda limon kislota ajratiladi. Kultural suyuqlikning limon kislota saqlashi 12-20% ni tashkil etadi. Mitseliy kislotalardan issiq suv bilan yuvib tozalanadi va qoramollar uchun oziqa sifatida qo‘llanilishi mumkin.

Suyuq oziqa muhitida o‘stirish usulidagi fermentatsiyada *Aspergillus niger* zamburug‘larini suyuq oziqada o‘stirish orqali lizin olish jarayoni 100 $m^3$ hajmdagi fermentyorlarda amalga oshiriladi. Ekish materiali sifatida 10 $m^3$ hajmdagi ekish fermentyorlarida olingan o‘suvchan mitseliylar qo‘llaniladi. Melassa eritmasi ekish va ishlab chiqarish fermentyorlari uchun xuddi yuza qismda o‘stirish usulidagidek olinadi, faqatgina suyuqlikda fermentatsiya uchun dastlabki melassa eritmasi 4% dan kam bo‘lmagan shakar saqlashi lozim. Agarda fementatsiya jarayonida shakar miqdori keskin kamaysa, 25-28% shakar saqlovchi steril melassa eritmasi (quyuluvchi eritma) quyish amalga oshiriladi. Ushbu eritma shunday miqdorda quyiladiki, bunda fermentyordagi shakar miqdori 12-15% ni tashkil etsin.




**77-rasm**. Suyuqlikda o‘stirish usulida limon kislota olishning texnologik chizmasi (bunda: 1-melassali bak; 2-qabul qiluvchi bak; 3-tarozilar; 4-qaynatuvchi qozon; 5markazlashtiruvchi nasos; 6-oraliq idish; 7-steril kolonka; 8-saqlagich; 9muzlatgich; 10-ekish fermentatori; 11-ishlab chiqarish fermentatori; 12bakteriologik filtr; 13-melassani saqlash uchun idish; 14-oraliq yig‘gich; 15-barabanli vakuum filtr; 16-mitseliyni qabul qiluvchi idish; 17-mitseliyni yig‘ish uchun vakuum yig‘gich; 18-filtrlangan (bijg‘igan) eritmalarni yig‘ish uchun vakuum-yig‘gich)

Oziqa muhiti bilan to‘ldirilgan ekish uskunasiga, dastlab termostatda 32$^oC$ haroratda 5-6 soat saqlangan konidiy suspenziyasi quyiladi. Kultura doimiy aralashtirish va aeratsiyada 34-35$^oC$ haroratda o‘stiriladi. O‘stirish jarayonida

fermentatorga havo uzatilishi qat’iy nazorat qilinadi, ya’ni havoning sarfi fermentatsiya oxirlariga borib deyarli 10 baravar oshadi.

Jadal ko‘piklanish davomida ko‘p bo‘lmagan miqdordagi kimyoviy penogasitel (ko‘piksizlantiruvchi) solinadi (olein kislota).

Mitseliy yetilish jarayoni 30-36 soatdan keyin kultural suyuqlik kislota miqdorini 1-2% saqlaganda tugallanadi. Yetilgan mitseliylar ishlab chiqarish fermentyoridagi oziqa muhitiga ekish uchun yuboriladi. Fermentyorda kislota hosil bo‘lish jarayoni uzluksiz aeratsiya va 31-32$^oC$ haroratda 5-7 sutka davom etadi. Havo sarfi boshlang‘ich davrda 400 $m^3/s$, fermentatsiya oxirlarida esa 2200 $m^3/s$ gacha oshib boradi. Shakar miqdorini mu’tadillashtirib turish uchun quyish eritmasidan vaqtivaqti bilan 2-3 marta qo‘shiladi. Bunda shakar miqdori eritmada 12-15% ni tashkil etishi lozim. Jarayon oxirida esa umumiy kislotalik va shakar miqdori aniqlanadi. Fermentatsiya jarayoni tugagandan so‘ng kultural suyuqlik 60-65$^oC$ haroratgacha bo‘lgan o‘tkir bug‘da qizdiriladi va yig‘gichga quyiladi. U yerdan esa mitseliy biomassalarini yuvish va ajratish uchun vakuumfiltrga uzatiladi. Yuvilgan mitseliylar qoramol oziqasi sifatida qo‘llaniladi. Asosiy limon kislota eritmasi esa suv tarkibida kimyoviy sexga limon kislotasini ajratish uchun uzatiladi.

Limon kislotasini ajratish va uni kristall holda olishda murakkab texnologik jarayonlardan foydalaniladi. Mitseliylar ajratilgandan so‘ng kultural suyuqlik tarkibida limon, glyukon va oksalat kislota (shavel (qahrabo) kislota)lar aralashmasi, shakar cho‘kmalari va mineral aralashmalarini saqlaydi. Kultural suyuqlikdan limon kislotani ajratish uning sitrat uch kalsiyli tuzida kam eruvchanlik xususiyati hosil qilishiga asoslanadi. Neytralizatsiya jarayoni maxsus uskuna – neytralizatorda amalga oshiriladi, u o‘z navbatida aralashtirgich va bug‘li batareyalar bilan jihozlangan bo‘ladi. Kultural suyuqlik qaynash darajasigacha qizdiriladi va ohakli yoki bo‘rli sut uzluksiz aralashtirish ostida qo‘shiladi. Neytralizatsiya oziqa pHi 6,8-7,5 bo‘lganda tugallanadi. Bunda barcha uch kislotaning tuzlari hosil bo‘ladi:

$$2C_6H_8O_7 + 3Ca(OH)_2 = Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 6H_2O$$

$$2C_6H_{12}O_7 + Ca(OH)_2 = Ca\,(C_6H_{11}O_7)_2 + 2H_2O$$

$$C_2H_2O_4 + Ca(OH)_2 = CaC_2O_4 + 2H_2O$$

Kalsiy sitrat va oksalat bunda cho‘kmaga tushadi, kalsiy glyukonat va mineral qoldiqlar eritmada qoladi. Kalsiy sitrat va oksalat eritmadan vakuum-filtrda ajratiladi va yaxshilab issiq suvda yuvib tashlanadi. Kalsiy sitrat va aniq miqdordagi suv solingan reaktorga aralashtirib solinadi va unga faollashtirilgan ko‘mir qo‘shiladi (tindirgich sifatida). So‘ngra reaktor 60$^oC$ gacha haroratda qizdiriladi va unga aniqlangan miqdordagi sulfat kislota aralashtirish davomida quyiladi.

Aralashma 10-20 minut davomida qaynatiladi. Kalsiy sitrat sulfat kislotada quyidagi tenglamaga ko‘ra ajraladi:

$$Ca_3(C_6H_5O_7)_2 + 3H_2SO_4 = 2C_6H_8O_7 + 3CaSO4$$

Kalsiy oksalat bu sharoitda ajralmaydi. Kalsiy sitrat to‘liq ajralgandan so‘ng reaktorga og‘ir metallarni cho‘ktirish uchun granulalangan bariy sulfat solinadi. Limon kislota eritmasi gips, kalsiy oksalat, ko‘mir va og‘ir metal tuzlari qoldiqlaridan vakuumfiltrda ajratiladi. Filtrlangan limon kislota eritmasi bug‘lantirishga

yo‘naltiriladi. Vakuum-uskunada bug‘lantirish ikki bosqichda amalga oshiriladi. Birinchi uskunada eritma 1,24-1,26 g/sm$^3$ zichlikkacha bug‘lantiriladi va bunda gips qoldiqlari cho‘kmaga tushadi. Zich-filrda gips ajratilib, so‘ng tiniq eritma ikkinchi uskunada 1,35–1,36 g/sm$^3$ zichlikkacha bug‘lantiriladi. Bunda limon kislota miqdori 80% ni tashkil etadi. 70$^o$C haroratda vakuum-uskunada bug‘lantirilgan eritma kristallizatorga yuboriladi. Kristallizatorda eritma 35-37$^o$C haroratgacha sovutiladi va limon kislota kristallari ajratishga yuboriladi. Kristallizatsiya doimiy aralashtirish va bosqichma-bosqich 8-10$^o$C gacha sovutish orqali amalga oshiriladi. Hosil qilingan limon kislotasi kristallari sentrifugalash orqali ajraladi va ko‘p bo‘lmagan miqdordagi sovuq suvda yuvilib quritishga yo‘naltiriladi. Kristall limon kislotasini quritish lentali yoki barabanli pnevmatik quritgichda 35$^o$C dan oshmagan haroratli havoda amalga oshiriladi. Tayyor preparat tarkibida 99,5% dan kam bo‘lmagan miqdordagi limon kislotasi (monogidratga hisoblaganda) saqlashi lozim.

**Sut kislotasi ishlab chiqarish**. $C_3H_6O_3$ bir asosli organik kislotadir. Gidrooksil guruh ikki xil holatda (α va β) joylashishi mumkin, shuning uchun sut kislotasi ikki izomerga bo‘linadi. Sut kislotasini ham mikrobiologik ham kimyoviy sintez yo‘li bilan olish mumkin. Sut kislotasi produsenti mu’tadil rivojlanishi 48-50$^o$C haroratda kechadigan gomofermentativ termofil bakteriyalarga mansub bo‘lgan *Bacterium dilruckii* bakteriyasi hisoblanadi. Sut kislotasi olish uchun xom-ashyo sifatida turli xil uglevodlar qo‘llanilishi mumkin. Kislota ishlab chiqarishda, tarkibida glyukoza, saxaroza va maltoza saqlovchi xom-ashyolardan foydalaniladi. Masalan, Rossiyada sut kislotasi ishlab chiqarish uchun rafinadli qiyom (shakarrafinad ishlab chiqarish qoldig‘i), melassa, kraxmal (makkajo‘xori va kartoshkaniki) va dastlabki qandlashtirilgan soloddan foydalaniladi.

Sut kislotali bakteriyalarning glyukozani bijg‘itib sut kislota hosil qilish reaksiyasi quyidagicha kechadi:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CH_3CH(OH)COOH + 75{,}36\ kJ$$

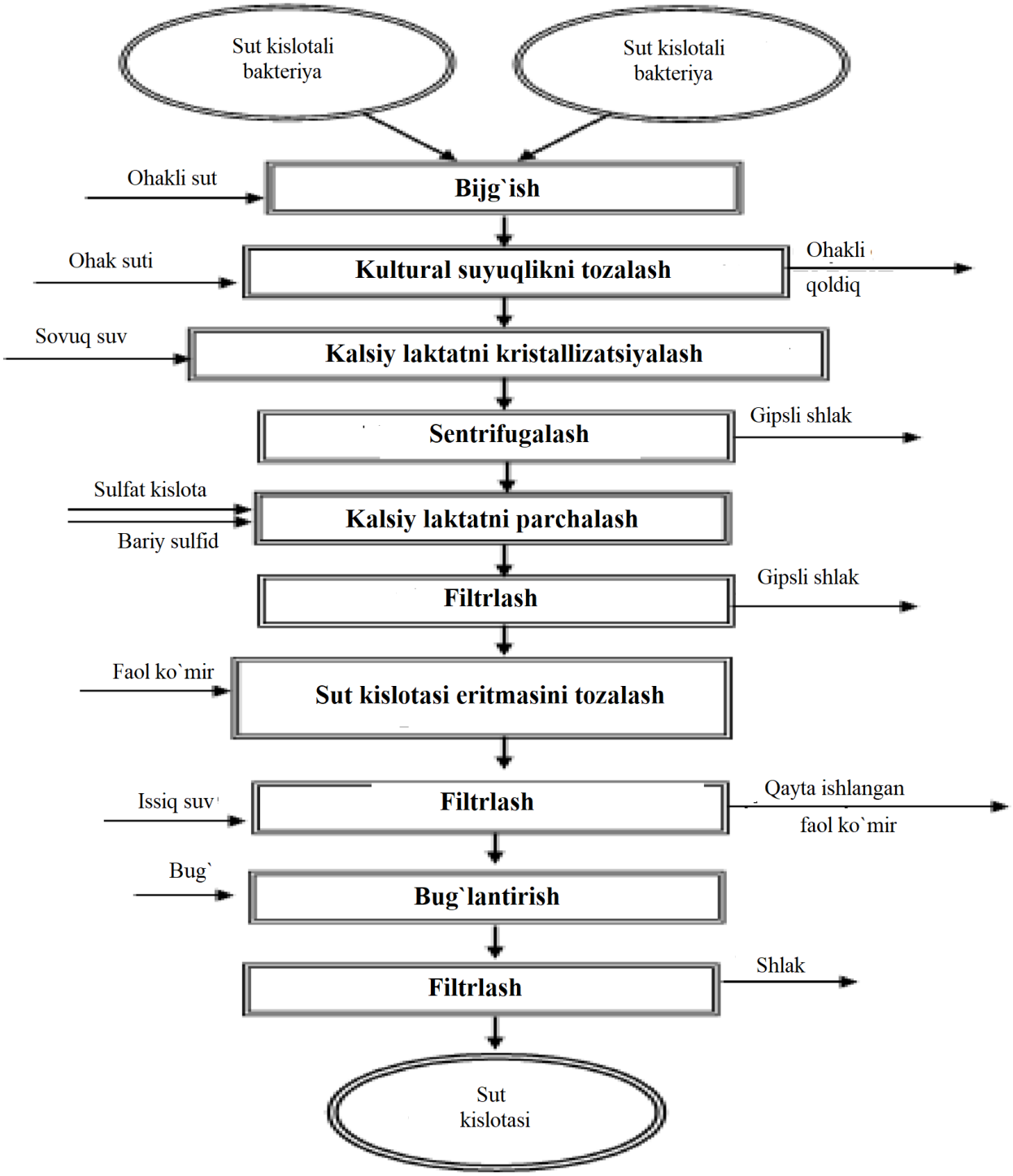
Kimyoviy tenglamaga asosan 100 g glyukozadan 100 g sut kislotasi olinadi. Bijg‘ish jarayonida mahsulotning amaliy chiqishi shakar massasiga nisbatan 90-91% ni tashkil etadi. Sut kislotasi ishlab chiqarishning texnologik jarayonlari anaerob sharoitda o‘tadi (havo tayyorlash bosqichi bo‘lmaydi) va haroratning ko‘tarilishi bilan tavsiflanadi (zararli mikroflora bilan zararlanish xavfi pasayadi). Bular sut kislotali bakteriyalarning termofilligi va anaerobligini ko‘rsatadi.

Sut kislota ishlab chiqarish jarayoni quyidagi asosiy bosqichlardan iborat:

- ekish materiali tayyorlash;
- oziqa muhiti tayyorlash;
- sut kislotali bijg‘ish (fermentatsiya);
- yig‘ilgan eritmani qayta ishlash va filtrlash;
- kalsiy laktatni parchalash;
- sut kislotasini bug‘lantirish (bug‘lantirish).

Ekish materialini tayyorlashda dastlabki kultura probirkadan olinib yangi oziqa muhiti solingan uchta probirkalarga ekib olinadi. Probirkada o‘sgan kulturalar 500 ml sig‘imli kolbalarga, undan 10 l sig‘imli shisha idishlarga va nihoyat ulardan kultivatorga olib ekiladi. Ekish materiali miqdori bijg‘itish uskunasi hajmining 30%

idan kam bo‘lmasligi lozim. Birinchi ikki bosqich solod suslosidan tayyorlangan oziqa muhitida, uchinchi bosqich suslo va ishlab chiqarish uchun tayyorlangan o‘stirish oziqalari aralashmasidan (1:1), oxirgi bosqich esa faqat ishlab chiqarish uchun tayyorlangan oziqada amalga oshiriladi. O‘stirish harorati 48-50$^{o}$C bo‘lib, o‘stirish davomiyligi har bir bosqichda 20-24 soat davom etadi.




**78-rasm.** Sut kislotasi olishning texnologik chizmasi

Oziqa qo‘shimcha sifatida steril bo‘r saqlashi va steril bo‘lishi lozim. Asosan zavodlarda toza kultura ishlab chiqarish jarayoni oldidan tayyorlanadi. Keyinchalik

ekish materiali sifatida bijg‘itish uskunalardan olingan kultural suyuqlikdan foydalaniladi.

Sut kislotali bijg‘ish silindr ko‘rinishdagi, sferik tubli, sig‘imi 25-45 $m^3$ bo‘lgan, alyuminiy yoki zanglamaydigan po‘latdan tayyorlangan, issiq suvning sirkulyatsiyasi amalga oshadigan uskuna bilan ta’minlangan qurilmalarda (changlarda) amalga oshiriladi. Oziqa muhiti bevosita bijg‘ish qurilmasida tayyorlanadi. Melassa va rafinad qiyomi qurilmaga o‘zi oqib tushuvchi truba orqali beriladi, shakar – manbayi esa dastlab suvda eritiladi va keyin bijg‘ish qurilmasiga quyiladi. Bo‘rli sut alohida idishda tayyorlanadi. Qurilmaning ishchi sig‘imi $^2/_3$ hajmda suv bilan to‘ldirilib, unda melassa va rafinad qiyomi eritiladi va eritmada shakar miqdori 3-4% gacha bo‘lgunga qadar olib boriladi. Eritma 70°C gacha bo‘lgan haroratda qizdirilib, mana shu haroratda 1 soat davomida pasterilizatsiya qilinadi. So‘ngra eritma 48-50°C gacha sovutilib, unga 15% solod quyqasi (solingan shakar massasiga) va qurilma sig‘imining 20% hajmi barovarida ekish materiali solinadi. O‘stirishdan 6 soatdan so‘ng oziqa muhiti havoda davriy barbotirlash orqali aralashtiriladi. Qachonki, eritmada sut kislota hisobiga kislotalik 0,5-0,6% ni tashkil etsa, har 1,5-2 soatda ko‘p bo‘lmagan miqdorda bo‘rli sut qo‘shiladi. Sut kislotasi neytralizatsiyasi natijasida kalsiy laktat hosil qiladi. Mu’tadil bijg‘ish jarayonida har sutkada 2% gacha shakar o‘zlashtiriladi. Shakar miqdori kamayganda bijg‘ish qurilmasiga bir nechta usullarda shakarning 50% li eritmasi (rafinad qiyomi saqlashi mumkin) qo‘shiladi. Oziqaning tarkibida 3-4% gacha shakar saqlashi ta’minlanadi. Shakar miqdori tajribalar asosida aniqlanib, bijg‘ish jarayonining oxirida kultural suyuqlikning tarkibidagi kalsiy laktat miqdori 15% dan, o‘zlashtirilmagan shakar miqdori esa 0,2-0,5% dan ko‘p bo‘lmasligi lozim. Bijg‘ish 6-8 kun davom ettiriladi. Bijg‘ish jarayoni tugagach, kultural suyuqlik bijg‘ish uskunasida 70-80°C gacha qizdiriladi va kuchsiz ishqoriy reaksiyagacha ohakli sut yordamida neytralizatsiyalanadi. Neytralizatsiya jarayonida oqsil moddalari koogulyatsiyaga uchraydi, temir cho‘kadi va shakarning juda kam qoldiqlari parchalanadi. So‘ngra kultural suyuqlik tindiriladi va cho‘kmadan ajratilgandan keyin bug‘da qizdirilgan zich filtrga yo‘naltiriladi. Kalsiy laktat eritmasi 70-80°C haroratda filtrlanadi. Olingan filtrat 27-30% miqdorgacha bug‘lantiriladi. Keyin 25-30°C gacha sovutilib kristallizatorda 36-48 soat ushlanadi. Kristallizatsiya dastlabki eritmada kalsiy laktatning miqdori 6% atrofida qolganda tugallanadi.

Kristall kalsiy laktat sentrifugada ajratib olinadi, sovuq suvda yuviladi va quritiladi. Sulfat kislota ta’sirida kalsiy laktat parchalanib, erkin sut kislotaga aylanadi. Bu jarayon 60-70°C haroratda amalga oshiriladi. Reaksiya quyidagi tartibda kechadi:

$$Ca(C_3H_5O_3)_2 + H_2SO_4 \longrightarrow C_3H_6O_3 + CaSO_4$$

Sut kislota eritmasi tarkibidagi temir, natriy sulfat birikmalari cho‘kishi uchun geksatsianoferrat (II) kaliy (GSFK), og‘ir metallar va mishyak cho‘kishi uchun bariy sulfit va rang beruvchi moddalarni yo‘qotish uchun esa faollashtirilgan ko‘mir bilan ishlov beriladi. Ishlov berilgandan so‘ng aralashma filtrlanadi. Filtrdagi, gips qoldiqlaridagi qolgan sut kislotasini yuvib chiqarib tashlanadi. Natijada 18-20% miqdordagi sut kislotasi eritmasi olinadi. Eritma miqdori 40% gacha oshishi uchun

eritma vakuum-uskunasida bug‘lantiriladi. So‘ngra yana bir marta faol ko‘mirda tindiriladi va GSFK bilan ishlov beriladi. Tindirilgandan so‘ng faol ko‘mir zichfiltrda ajratiladi, sut kislota esa tayyor mahsulot yig‘gichga quyiladi. Bundan tashqari, sut kislotasini 70% gacha olish mumkin. Bunda vakuum-uskunada ikkinchi marotoba bug‘lantiriladi va zich-filtrda filtrlanadi. 70% li sut kislotasi juda kam miqdorda bo‘r saqlovchi quyiltirilgan pasta yoki suyuq holatda ishlab chiqariladi.

## 20§. OQSIL PREPARATLARI ISHLAB CHIQARISH

Oqsil moddalari hayotiy zarur vazifalarni bajarib, har qanday tirik organizmlarning hujayralarini tashkil etuvchi komponentlardan eng zaruriysi hisoblanadi. Oqsil moddalar hujayralarda katalitik boshqarish, transport, bioenergetik, har xil yuqumli kasalliklardan va stress faktorlar ta’siridan himoyalovchi, zahira va boshqa vazifalarni bajaradi. O‘sib turgan o‘simliklarda oqsil modda 5 dan 15% gacha (quruq modda hisobidan), boshoqli o‘simliklar donida 8% dan 18% gacha, yog‘li o‘simliklar urug‘ida 16% dan 28% gacha, dukkakli o‘simliklar urug‘ida esa 20-40% ni tashkil qiladi. Inson va hayvon to‘qimalarida odatda oqsil miqdori 20-80% ni tashkil etadi. Aytib o‘tilganlardan ko‘rinib turibdiki, hujayralarni va organizm to‘qimalarini hosil bo‘lishi uchun, shuningdek, hayotiy zarur bo‘lgan funksiyalarni bir maromda ushlab turish uchun doimiy ravishda oqsil sintezi amalga oshib turishi kerak. Oqsil molekulasini sintezi uchun barcha tirik organizmlar 18 aminokislota va 2 ta aminokislotalarning amidini (asparagin va glyutamin) ishlatadilar. Ammo, sintez bo‘lganidan keyin oqsil molekulalari har xil o‘zgarishlarga (modifikatsiyaga) uchrashlari mumkin, oqibatda oqsil tarkibidagi aminokislotalar turi 26 taga yetgan hollari ham uchraydi. O‘simliklar va ko‘pchilik mikroorganizmlar o‘zlari uchun zarur bo‘lgan aminokislotalarni oddiy moddalardan karbonat angidrid, suv va mineral tuzlardan sintez qilaolish imkoniyatiga ega bo‘lsa, hayvonlar va odamlar organizmida ba’zi-bir aminokislotalar sintez bo‘laolmaydilar, shuning uchun ham ular organizmga tashqaridan tayyor holda kirishlari shart. Bunday aminokislotalarni almashinmaydigan aminokislotalar deb yuritiladi. Bular: valin, leysin, izoleysin, lizin, metionin, treonin, triptofan va fenilalanin mana shu aminokislotalardan birortasi ovqat tarkibida bo‘lmasa, insonni og‘ir xastalikka olib keladi, hayvon oziqasida yetishmagan hollarda esa, ularni mahsuldorligini pasaytirib yuboradi.

Inson va hayvonlarni almashinmaydigan aminokislotalar bilan ta’minlab turish shartligini e’tiborga olib, ularni ilmiy asoslangan sutkalik o‘rtacha miqdori hisoblab chiqilgan. Shunday qilib, bir odamni bir sutkalik almashinmaydigan aminokislotalarga bo‘lgan muhtojligi quyidagicha (g): valin-5,0; leysin – 7,0; izoleysin-4,0; lizin –5,5; metionin – 3,5; treonin-4,0; triptofan-1,0; fenilalanin – 5,0. Inson almashinmaydigan aminokislotalarni asosan hayvon yoki o‘simlik oqsillari orqali olsa, hayvonlarni ko‘pchiligi faqatgina o‘simlik oqsillaridan olishadi. Ovqat yoki oziqa bilan organizmga tushgan oqsil moddalar oshqozon shirasi tarkibidagi proteaza fermentlari ta’sirida aminokislotalargacha parchalanadi, hosil bo‘lgan aminokislotalar esa inson yoki hayvon oqsili sintezi uchun ishlatiladi. Bunda almashinmaydigan aminokislotalarni roli benihoyadir. Ularni yetishmasligi oqsil sintezini to‘xtatib qo‘yadi, bu esa organizmni o‘sib rivojlanishini chegaralab qo‘yadi.

Shuni ham hisobga olish kerakki, barcha almashinmaydigan aminokislotalar oziqa oqsili tarkibida organizmni talabidan kelib chiqqan holda, ma’lum nisbatda bo‘lishlari kerak. Agarda ulardan birortasi yetishmasdan qolsa, qolganlari ham oqsil sintezida ishlatilmaydi, chunki oqsilni sintez mexanizmi shuni talab qiladi. Bunday sharoitda, oqsil moddalarni sintezini davom ettirish ovqat yoki oziqa xarajatlarini oshishiga olib keladi. Bunday hodisalarni oldini olish uchun, bir tomondan oziqa tarkibidagi oqsil moddalarni, ikkinchi tomondan esa oqsil tarkibidagi almashinmaydigan aminokislotalar miqdorini nazorat qilib borish zarur bo‘ladi. Oqsil tarkibidagi aminokislotalarni baholash uchun ularni biologik oziqa birligini aniqlash kerak. Almashinmaydigan aminokislotalarni mu’tadil miqdorda saqlaydigan oziqa yoki oziq-ovqat oqsillari biologik sifatli oqsil deb yuritiladi.

Birlashgan millatlar tashkiloti (BMT) qoshida tashkil etilgan oziqovqat va qishloq xo‘jaligi masalalari bo‘yicha xalqaro tashkilot (Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO) juda ko‘plab oqsillarni aminokislota tarkibini o‘rganib chiqish orqali bir qator yo‘llanmalar ishlab chiqqan. Bu yo‘llanmalarda oziq-ovqat va oziqa oqsili tarkibidagi oqsillarda almashinmaydigan aminokislotalarni me’yoriy (mu’tadil) miqdori ko‘rsatilgan. Masalan, agar FAO yo‘llanmasi asosidagi oqsil tarkibini 100% deb qabul qilinsa, ko‘pchilik hayvonlar oqili 90-95%; dukkakli o‘simliklarni vegetativ organlaridan olinadigan oqsillar 80-90%; dukkakli g‘alla va yog‘li urug‘li o‘simliklar urug‘idan, kartoshkani ildiz mevasidan, sabzavotlardan olinadigan oqsillar 75-85%; boshoqli o‘simliklar urug‘idan olinadigan oqsillar 60-70%, makkajo‘xori urug‘idan olinadigan oqsil esa atigi 52-58% tashkil qiladi. Har bir inson kuniga ovqat bilan 60 dan 120 gr gacha oqsil iste’mol qilishi kerak. Qishloq xo‘jalik hayvonlarini yaxshi boqish uchun ularni oziqalari 100-120 gr yaxshi hazm bo‘ladigan oqsil saqlashi zarur. Agar hayvonlar oziqasini tashkil etgan o‘simlik tarkibida oqsil miqdori kam bo‘lsa, bunday oziqani sifati oqsil konsentratlari qo‘shish orqali tuzatiladi.

52-jadval

**Har xil oqsillar tarkibidagi almashinmaydigan aminokislotalar miqdori**

(100 g oqsilda g hisobida)

| Aminokislotalar | Sigir suti | FAO etaloni | Soya | Sholi | Bug‘doy | Makkajo‘xori | Arpa | No‘xat |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lizin | 6,6 | 4,2 | 6,6 | 3,5 | 2,6 | 2,5 | 3,2 | 6,5 |
| Triptofan | 1,4 | 1,4 | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 0,6 | 1,2 | 0,8 |
| Metionin | 2,4 | 2,2 | 1,4 | 2,9 | 1,7 | 2,1 | 1,7 | 1,4 |
| Treonin | 4,6 | 2,8 | 3,8 | 3,5 | 2,6 | 3,2 | 3,9 | 3,8 |
| Valin | 6,9 | 4,2 | 5,4 | 6,5 | 4,6 | 4,4 | 5,4 | 4,5 |
| Leysin | 9,9 | 4,8 | 7,9 | 8,0 | 6,9 | 11,2 | 7,2 | 6,5 |
| Izoleysin | 6,6 | 4,2 | 5,3 | 4,6 | 3,4 | 2,7 | 3,5 | 5,0 |
| Fenilalanin | 4,9 | 2,8 | 5,1 | 5,2 | 4,3 | 4,1 | 5,1 | 4,8 |

Xuddi shu yo‘l bilan oziqa oqsilidagi almashinmaydigan aminokislotalar miqdori ham nazorat qilinadi. Bu jadvaldan ko‘rinib turibdiki, boshqa o‘simliklarga

qaraganda soya o‘simligi oqsili almashinmaydigan aminokislotalar miqdori bo‘yicha bir qator ustunlikga ega ekan. Bu oqsilda faqatgina metionin va triptofan miqdori biroz pastroq. No‘xat oqsili ham nisbatan yaxshi biologik bahoga ega, ammo bug‘doy, makkajo‘xori, arpa oqsillari tarkibi FAO talablaridan anchagina uzoqda. Soya urug‘idan olinadigan oqsilni aminokislota tarkibi FAO talablariga eng yaqin bo‘lganligi hamda soya urug‘ida oqsil miqdori 35-40% ga teng ekanligi uchun bu o‘simlik oziq-ovqat hamda oziqa oqsili manbayi sifatida keng ishlatiladi. Dunyoda soyani eng ko‘p ekadigan mamlakat AQSh hisoblanadi. O‘zbekistonda ham bu o‘simlikni o‘stirish zarurligi muhokama qilinib, Andijon viloyatida uni ekish boshlab yuborilgan. Ammo, bu o‘simlikdan yuqori hosil olish uchun uni agrotexnikasini va boshqa bir qator muammolarni yechishga to‘g‘ri keladi. Dunyoni ko‘pgina ilmiy laboratoriyalarida arpa urug‘i oqsilini oshirish, uni tarkibidagi aminokislotalarni balansga keltirish yo‘lida seleksiya–genetika ishlari amalga oshirilmoqda. Arpani donidan olinadigan oqsil tarkibida lizin aminokislotasi ko‘p bo‘lgan nav bilan chatishtirish asosida yangi navlar yaratilgan. Shuningdek, bug‘doy doni bo‘yicha ham shunga o‘xshagan ishlar amalga oshirilmoqda. Bunday ishlar mamlakatimiz qishloq va suv xo‘jaligiga qarashli bir qator ilmiy laboratoriyalarda ham olib borilmoqda. Biotexnologiya, molekulyar biologiya fanlari yutuqlaridan foydalanib, gen va hujayra muhandisligi usullari asosida o‘simliklarni qimmatbaho genotiplarini yaratishga alohida e’tibor berilmoqda. Hayvonlar uchun oziqa tayyorlashda asosan boshoqli o‘simliklardan foydalaniladi.

53-jadval

**Ba’zi bir mikroorganizmlar oqsillarida almashinmaydigan aminokislotalar miqdori** (100 g oqsilga hisobida)

| **Aminokislota** | **Achitqi** | **Bakteriya** | **Suv o‘tlari** | **Zamburug‘lar** | **Soya kunjarasi** | **FAO etaloni** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lizin | 6-8 | 6-7 | 5-10 | 3-7 | 6,4 | 4,2 |
| Triptofan | 1-1,5 | 1-1,4 | 0,3-2,1 | 1,4-2 | 1,4 | 1,4 |
| Metionin | 1-3 | 2-3 | 1,4-2,5 | 2-3 | 1,3 | 2,9 |
| Treonin | 4-6 | 4-5 | 3-6 | 3-6 | 4,0 | 2,8 |
| Valin | 5-7 | 4-6 | 5-7 | 5-7 | 5,3 | 4,2 |
| Leysin | 6-9 | 5-11 | 6-10 | 6-9 | 7,7 | 4,8 |
| Izoleysin | 4-6 | 5-7 | 3,5-7 | 3-6 | 5,3 | 4,2 |
| Fenilalanin | 3-5 | 3-4 | 3-5 | 3-6 | 5,0 | 2,8 |

Shuningdek, bu maqsadda baliq uni, suyak uni, go‘sht va sut sanoati qoldiqlaridan yog‘-moy kombinati kunjaralaridan ham keng foydalaniladi. Baliq va suyak unlari hamda hayvonlarni boshqa chiqindilari oziqa oqsili uchun ishlatilayotganliklari uchun, oxirgi vaqtda ularni har tomonlama, to‘la qonli almashtiraoladigan yangi manbalar topish yo‘lida ilmiy izlanishlar tobora kuchayib

bormoqda. Har xil organizmlarni taqqoslab o‘rganish oqibatida, ko‘pgina mikroorganizmlardan foydalanish ham mumkin ekanligi aniqlandi. Maxsus tajribalar asosida mikrob oqsilini oziqaviy hamda toksikologik xususiyatlari o‘rganib chiqildi va natijada ba’zi – bir mikroorganizmlar oqsillari biologik xususiyatlari bo‘yicha hayvon yoki o‘simlikdan olinadigan oqsillardan past emasligi isbotlandi.

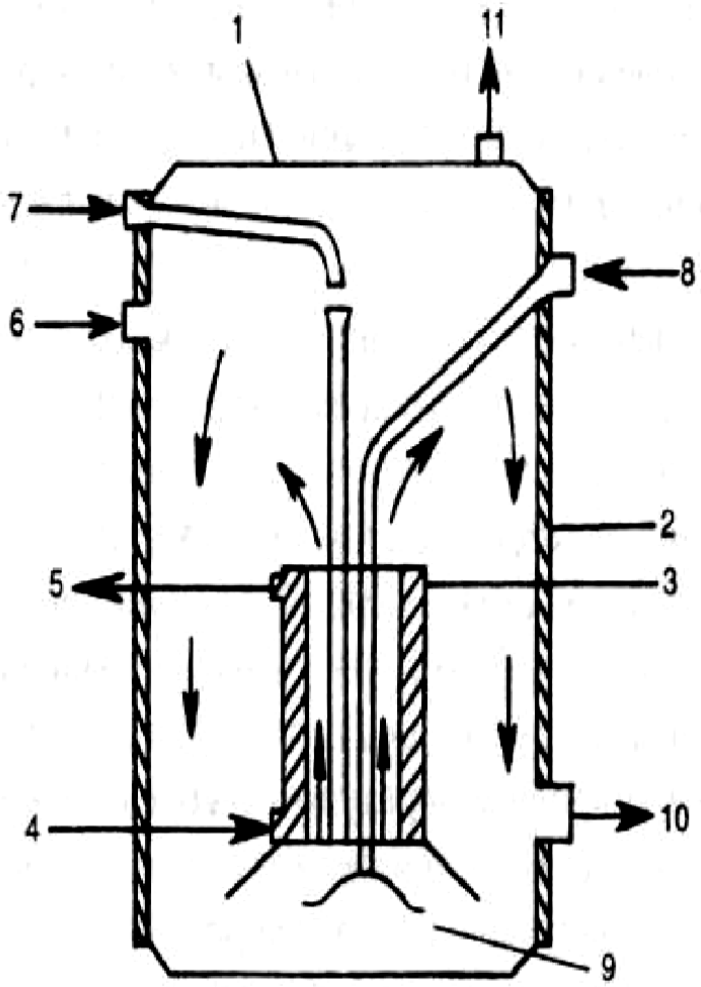
Mikroorganizmlarni yana bir ustuvorlik tomoni bor, u ham bo‘lsa tez oqsil massa hosil qilish xususiyatidir. Masalan, 500 kg og‘irlikdagi soya pishib-yetilish fazasida bir sutkada 40 kg gacha oqsil to‘play olsa, shunday og‘irdikdagi buqa atigi 0,5-1,5 kg, achitqi zamburug‘ining 500 kg biomassasi esa 1,5 t oqsil to‘plash imkoniyatiga ega. Oziqa oqsili manbayi sifatida ko‘proq achitqi zamburug‘lari va bakteriyalar, mikroskopik zamburug‘lar, bir hujayrali suv o‘tlari, o‘tli o‘simliklarni oqsil qismi ishlatiladi. Mikroorganizmlar oziqa oqsili manbayi sifatida o‘simlik hatto hayvon organizmlariga nisbatan bir qator ustunlikga ega ekanligi aniqlangan. Eng avvalo mikroorganizmlarda oqsil miqdori juda ham baland (60% gacha quruq massa hisobida). Oqsil bilan birga mikroorganizmlar bir qator boshqa eng muhim moddalar, ya’ni oson sьriluvchi karbon suvlar, to‘yinmagan yog‘ kislotalarini ko‘proq saqlovchi yog‘ moddalari, vitaminlar, sintez qilish hamda mikro-, makroelementlar to‘plash xususiyatiga egadir. Mikroorganizmlar asosida uncha katta bo‘lmagan maydonda sanoat ishlab-chiqarish bazasini tashkil etib, katta hajmda oziqa konsentratlari olish mumkin. Eng avvalo, bunday texnologiya qishloq xo‘jaligi yoki sanoat chiqindilari asosida tashkil qilinib, fasl yoki ob-havoga bog‘liqlik joyi yo‘q.

**Oziqa achitqilari.** Achitqi zamburug‘lar inson va hayvonlar uchun ishlatiladigan oqsil manbayi sifatida birinchi marotaba Germaniyada, birinchi jahon urushi davrida ishlatilgan. O‘shanda pivo achitqilari (*S.cerevisiae*) o‘stirishni sanoat texnologiyasi yaratilgan bo‘lib, olingan mahsulot oziqa mahsulotlari tarkibiga kiritilgan edi. Sobiq ittifoqda bu texnologiya 1935-yilda ishga tushirilgan. Achitqilar daraxtlarni va boshqa sellyuloza saqlovchi moddalarni kislotali gidrolizatlarida o‘stirilgan. Ikkinchi jahon urushi vaqtida shunday zavodlarni biri Yangiyo‘l shahri yaqiniga ko‘chirib kelingan edi. Kislotali gidroliz oqibatida sellyuloza saqlovchi polimerlar, mayda shakar monomerlargacha parchalanadilar, ular esa o‘z navbatida achitqilar uchun juda yaxshi oziqa muhiti hisoblanadi. Shu maqsadda somon, paxta sheluxasi, kungaboqar boshi, zig‘ir poyasi, makkajo‘xori poyasi, spirt bardasi, g‘o‘zapoyadan va boshqa sellyuloza saqlovchi moddalardan foydalanish mumkin.

Maydalangan katta miqdorda kletchatka, gemitsellyulozalar, pentozanlar, saqlovchi o‘simlik mahsulotlari yuqori harorat va bosimda kislotalar yordamida parchalanadi, oqibatda 60-65% polisaxaridlar monosaxaridlarga aylanadi. Olingan gidrolizat lignindan ajratiladi, gidrolizdan ortib qolgan kislota qoldig‘i ammiak suvi yoki boshqa ishqor yordamida neytrallashtiriladi. Biroz tindirilib, sovutilgan gidrolizatga mineral tuzlar, vitaminlar va boshqa moddalar solinadi va fermentyorlar sehiga o‘tkaziladi va achitqilar ekib, o‘stiriladi. O‘simlik chiqindilari gidrolizatlarida o‘stirish uchun *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces* achitqilari mos kelib, ular geksoza, pentoza, organik kislotalarda (gidroliz natijasida hosil bo‘lgan) yaxshi o‘sib rivojlanadilar. Mu’tadil sharoitda 1 t. daraxt chiqinsidan 200 kg gacha oziqa achitqisi tayyorlash mumkin. Oziqa achitqi tayyorlash uchun, ularni suyuq muhitda maxsus ustqurmalarda (ularni fermentyorlar deb ham yuritiladi) o‘stiriladi. Fermentyorlarda

oziqa muhitini doimiy ravishda aralashtirib turish hamda aeratsiya uchun mu’tadil sharoit yaratilgan bo‘ladi.

Belgilangan issiqlikni bir me’yorda ushlab turish uchun fermentyor chizmasida ortiqcha issiqlikni chiqarib turadigan joy mo‘ljallangan. Achitqilarni o‘sish davri taxminan 20 soat davom etadi. Ammo, ularni yarim uzluksiz usulda o‘stirish texnologiyasi ham yaratilgan. Bu usulga asosan har 6-8 soatda fermentyorda o‘stirilgan achitqini 3/4 qismi quyib olinadi va qolganini ustiga sterillanib, sovutilgan oziqa muhiti yuboriladi va shu holda bir necha xaftalab, hattoki oylab fermentyorni to‘xtatmasdan mahsulot olish mumkin bo‘ladi.




**79-rasm.** Achitqi zamburug‘ini suyuq muhitda o‘stirish uchun fermentyor (bunda: 1–Fermentyor korpusi (tanasi); 2– sovutadigan qavat; 3–issiqlik almashtiruvchi; 4–sovuq suvni issiqlik almashtiruvchiga yuboradigan joy; 5– issiqlikni issiq almashtiruvchidan chiqadigan joy; 6–ekiladigan mikroorganizm tushadigan joy; 7–suyuq ozuqa muhitini quyadigan joy; 8–aeratsiya va ozuqa muhitini aralashtirish uchun havo yuboriladigan joy; 9–Havo yo‘nalishini issiq almashtiruvchiga boshqaradigan idish; 10–fermentatsiyadan keyin achitqilarni quyib oladigan joy; 11– tozalash filtri orqali havoni atmosferaga chiqadigan joyi)

Fermentyordan chiqarib olingan achitqi suspenziyasi maxsus nasoslar orqali flotatsiya (ajratadigan) qiladigan ustqurmaga yuboriladi va u joyda achitqi biomassasi

o‘stiruvchi muhitdan ajratiladi. Bu jarayon davomida achitqi hujayralari ko‘pik bilan birga tepaga ko‘tariladi va suyuqlikdan dekantatsiya yo‘li bilan ajratib olinadi. Biroz tindirib qo‘yilgandan keyin achitqi massasi separator yordamida yana ham quyiltiriladi. Achitqilarni hayvon organizmida yaxshi so‘rilishi uchun (hazm bo‘lishi uchun), ularga maxsus ishlov beriladi (mexanik, ultratovush, issiqlik, fermentativ lizis va h.k) va hujayra qobig‘ini bir tekis yorilishigacha olib kelinadi. Keyin achitqi massasi keraklicha suvsizlantiriladi va quritiladi. Tayyor mahsulotda namlik 8-10% dan oshmasligi kerak. quruq achitqi massasida 40-60% oqsil, 25-30% hazm bo‘ladigan karbon suvlar, 3-5% yog‘, 6-7% kletchatka va kul moddalari, katta miqdorda (50 mg% gacha) vitaminlar bo‘ladi. Achitqilarga ultrabinafsha nurlari ta’sir etish orqali ularda Vitamin $D_2$ miqdorini oshirish usuli yaratilgan. $D_2$ vitamini ultrabinafsha nurlar ta’sirida achitqilarda ko‘p miqdorda bor bo‘lgan ergosterinlardan paydo bo‘ladi. Tayyor mahsulotni fizikaviy xususiyatlarini yaxshilash maqsadida ularni granulalar holatida ishlab chiqiladi. Yuqoridagilarni xulosasi sifatida achitqi tayyorlash texnologiyasini quyidagi cha izohlash mumkin:

Ekuv materiali → fermentyor → flotatsiya → separatsiya → hujayralarni parchalash → quritish → granulyatsiya qilish

Fermentatsiya yo‘li bilan o‘simlik chiqindilari gidrolizatlaridan achitqidan tashqari spirt olish ham mumkin. Bu holatda, biotexnologiyaning o‘ziga xos tomoni shundan iboratki, gidroliz jarayonida hosil bo‘lgan geksozalar eng avval spirtli bijg‘ish yo‘li bilan spirtga aylantiriladi. Hosil bo‘lgan spirtni haydab olingandan keyin tarkibida pentozalar saqlovchi, ishlatilmay qolgan substrat – barda qoladi. Mana shu spirtdan keyin qolgan barda achitqi zamburug‘lar o‘sib, rivojlanishi uchun yaxshi oziqa muhiti hisoblanadi. Shunday qilib o‘simlik qoldiqlari gidrolizatlaridan bir vaqtni o‘zida ikki xil eng kerakli mahsulot tayyorlash mumkin. Rossiyada va boshqa bir qator neft qazib oluvchi mamlakatlarda oziqa achitqisini n-parafinlar (neft tarkibidagi) dan tayyorlash texnologiyasi yaratilgan va ishlab-chiqarishga joriy qilingan. Achitqi hujayralari o‘zlarini o‘sib, rivojlanishlari uchun yagona uglerod manbayi sifatida tarkibida o‘ndan o‘ttiztagacha uglerod saqlovchi karbon suvlarni ishlatishlari mumkin. Bu moddalar suyuq fraksiyada to‘plangan bo‘lib, ularni qaynash harorati 200-320$^oC$ tashkil etadi va neftdan haydash orqali ajratib olinadi.

Achitqi zamburug‘lar o‘stirish uchun ishlatiladigan neft uglevodorodlarini tozalangan fraksiyasi uch yo‘l bilan olinishi mumkin: past haroratda kristallizatsiya qilish, karbamid yordamida parafinsizlashtirish va molekulyar elaklarda adsorbsiya qilish.

- Birinchi yo‘l - orqali uglevodorodlar olish uchun yuqori haroratda qaynaydigan fraksiyani organik erituvchilarda eritib olgandan keyin doimiy sovitish orqali kristallizatsiya qilinadi. Kristallizatsiya qilish orqali tozalangan fraksiya achitqilar uchun oziqa muhiti sifatida ishlatiladi.
- Ikkinchi yo‘l - neft n-parafinlarini karbomid bilan mustahkam kompleks hosil qilishiga asoslangan bo‘lib, bunday kompleks boshqa fraksiyalardan ajratilgandan keyin, sekin qizdirilganda parchalanib ketadi va qayta haydash orqali uglevodrodlarni karbomiddan ajratib olinadi.

- Uchinchi yo‘l - neft tarkibidagi uglevodorodlarni kerakli fraksiyasini molekulyar elaklarga (seolitlarga) adsorbsiya qilinadi va undan keyin desorbsiya qilish orqali tozalangan n-parafinlar olinadi.

Bu texnologiya neft narxi bilan bog‘liq bo‘lib, neftni narxi qimmat mamlakatlarda ishlatilmaydi. Rossiyada bunday zavod 1971-yilda qurib, ishga tushirilgan. Mikroorganizmlarni neftni n-parafinlarida o‘stirilganda, oziqa muhitiga mikro- makroelementlar, vitaminlar va aminokislotalar, azot manbayi sifatida esa ammiak suvi qo‘shiladi. Achitqilarni fermentyorlarda o‘stirish jarayonida haroratni hamda aeratsiyani bir me’yorda ushlab turish zarur. Neft n-parafinlarida o‘stirilganda eng samarali natijalar bergan achitqilar *Candida guilliermondii* hisoblanadi.

Achitqi massasini ajratib olish, uni quritish gidroliz yo‘li bilan olingan achitqilardan deyarli farq qilmaydi. Quritilgan achitqi zamburug‘ini massasi granulyatsiya qilinib, oqsil – vitamin konsentrati (OVK) sifatida qishloq xo‘jalik hayvonlarini oziqlantirish maqsadida ishlatiladi. OVK tarkibida 50-60% oqsil moddasi saqlanadi. Preparat tarkibida qolgan karbon suvlarni miqdori 0,1% dan oshmasligi kerak. Xomashyodan to‘laroq foydlanish, hamda tayyor mahsulot tarkibidagi uglevodorodlarni miqdorini kamaytirish maqsadida OVK tayyorlashni mukammallashgan texnologiyasi ishlab chiqilgan. Bu texnologiya ikki bosqichli fermentatsiya va qolgan n-parafinlarni achitqi massasidan benzin bilan ekstraksiya qilish orqali ajratishdan iborat. Bu texnologiya asosida olingan OVK tarkibidagi oqsil 58-65% gacha, qolgan n-parafinlar miqdori esa 0,05% dan kam bo‘ladi. Achitqi zamburug‘larini o‘stirish uchun yaxshi substrat bo‘lib, sutni qayta ishlash jarayonlarida chiqindi sifatida qoladigan zardob hisoblanadi. 1 t zardobda o‘rtacha 10 kg gacha sifatli oqsil moddasi va 50 kg laktoza shakari saqlanadi. Bu moddalar mikroorganizmlar tomonidan oson iste’mol qilinadi. Zardob tarkibidagi oqsilni ajratib olish uchun samarali ultrafiltratsiya usuli ishlab chiqarilgan. Bu usul membranalar yordamida yuqori hamda kichik molekulyar og‘irlikga ega bo‘lgan moddalarni ma’lum bosim ostida ajratishga mo‘ljallangan. Bu usul bilan ajratib olingan oqsil quruq sut tayyorlashda yoki qo‘shimcha oqsil oziqasi sifatida ishlatiladi. Oqsil ajratib olingandan keyingi suyuq qoldiq (permeat-ruscha nomi), tarkibida ko‘p miqdorda shakar moddasi (laktoza) saqlagani uchun achitqi zamburug‘lari o‘stirish maqsadida ishlatilib, osongina yuqori konsetratsiyali oqsil saqlovchi mahsulotga aylanishi mumkin.

Ko‘pchilik vaqtlarda zardobdan oqsilini ajratmasdan, to‘g‘ridanto‘g‘ri achitqi o‘stirish uchun ishlatiladi. Bunday sharoitda o‘sish va rivojlanishi uchun oqsilga muhtoj bo‘lgan, ko‘proq biomassa to‘playdigan zamburug‘ *Torulopsis* dan foydalaniladi. Zardobda achitqi o‘stirish jarayonida uch xil oqsil saqlovchi mahsulotlar olinadi:

- buzoqlarni boqishga mo‘ljallangan sut o‘rnini bosuvchi mahsulot;
- suyuq oqsil mahsuloti (bu mahsulot zardobga qaraganda 2,5-3,0 marotaba ko‘proq oqsil saqlaydi);
- quruq yog‘sizlantirilgan sutni o‘rnini bosuvchi, achitqi zamburug‘i oqsillari bilan boyitilgan mahsulot.

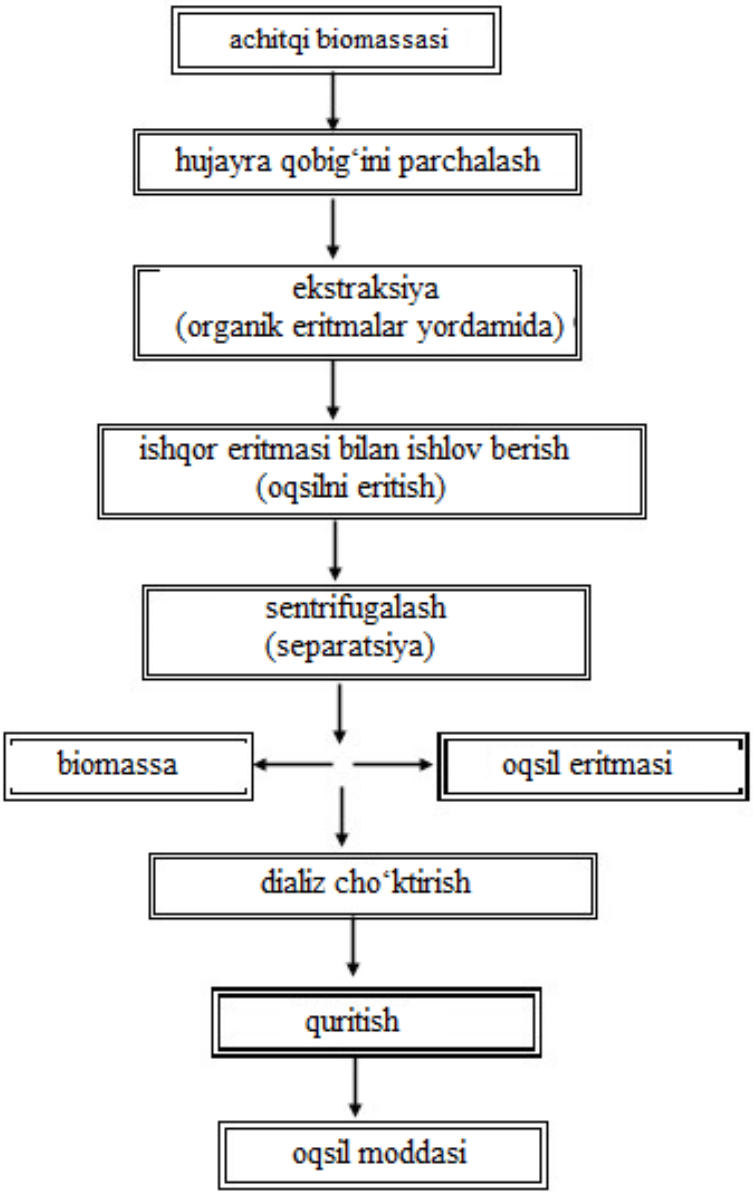
Achitqi zamburug‘larni o‘stirish yagona uglerod manbayi sifatida karbonsuvlar va n-parafinlardan tashqari tuban spirtlar – metanol va etanol ham ishlatiladi. Bu spirtlarni tabiiy gazdan yoki o‘simliklar chiqindilaridan olish mumkin. Spirtda

o‘stirilib olingan achitqi massasi, tarkibida yuqori konsentratsiyada oqsil (58-62% quruq modda hisobida) saqlashi bilan farq qiladi. Shuningdek, bu massada nparafinlarda o‘stirilganlarga nisbatan kamroq zararli moddalar uchraydi. Achitqilarning oziqali xususiyatlarini o‘rganish, ularni hayvon organizmida yaxshi hazm bo‘lishini (oqsillarni hazm bo‘lishi 80-90%), almashinmaydigan aminokislotalarni umumiy miqdori FAO etaloniga yaqinligini, oqsil tarkibidagi lizin, treonin, valin va leysin miqdori bo‘yicha esa FAO etalonidan ham baland turishini ko‘rsatdi. Achitqi oqsilining kamchiligi uni tarkibidagi metionin va umuman oltingugurt saqlovchi aminokislotalar miqdorini kamchiligidadir.

O‘simlik manbalaridan olingan oqsillarga nisbatan achitqi zamburug‘i oqsili tarkibida nuklein kislotalar ko‘proq (4-6%). Bu miqdorda esa, nuklein kislotalar organizmga salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Ma’lumki, nuklein kislotalarni gidrolizi natijasida ko‘p miqdorda purin asoslari paydo bo‘ladi va ular keyin siydik kislotasiga aylanib, organizmda tuzlar-toshlar hosil qiladi va osteoxondroz hamda boshqa kasalliklarga olib keladi. Shuning uchun ham achitqi massasi qishloq xo‘jalik hayvonlari oziqasi tarkibida 5-10 % oshmagan miqdorda, achitqi oqsili esa 10-20% miqdorida ishlatiladi, xolos (umumiy oqsilga nisbatan). Neft n-parafinlarida o‘stirilgan achitqi massasi ko‘plab miqdorda D-aminokislotalar, anomal yog‘simon moddalar, har xil toksinlar, kanserogen moddalar saqlaydi. Bular esa organizm uchun zararlidir. Shuning uchun ham achitqi massasini benzin bilan tozalash tavsiya etilgan. Achitqi oziqasini ishlab-chiqarishni tashkil etishda, atrof-muhitni zararlantirmaslik maqsadida jarayon davomida hosil bo‘layotgan gazsimon va suyuq chiqindilardan tozalashni yo‘lga qo‘yish zarur. Shuning uchun ham ekologik toza, chiqindisiz, suvni yopiq halqada ishlatishga moslashtirilgan texnologiyalar yaratish ustida izlanishlar olib borilmoqda. Ishlab-chiqarish texnologiyasini mukammallashtirishdan tashqari achitqi zamburug‘larini yuqori hosildor shtammlarini yaratish ham katta ahamiyatga ega.

Bunday shtamm substratlarda tez o‘sib, rivojlanishi, biomassasida ko‘proq oqsil moddasi saqlashi va yuqorida ta’kidlangan boshqa kamchiliklardan mustasno bo‘lish kerak. Bunday shtammlarni yaratish uchun oddiy seleksiya ishlaridan boshlab, genmuhandislik usullaridan ham foydalanilmoqda. Yana bir muammo, hayvon iste’moliga allaqachonlardir kirgan bu mahsulotni inson uchun foydalanish yo‘llarini topish bilan bog‘liq. 1930-1940 yillarda ba’zi bir mamlakatlarda pivo va boshqa oziqa achitqilarini (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida arborea*, *Candida utilis*) o‘stirish texnologiyalari yaratilib, olingan mahsulotlar har xil oziqa mahsulotlarga qo‘shimcha oqsil sifatida ishlatilgan. Oziq-ovqat oqsili olish uchun achitqi biomassasi astoydil tozalanishi zarur. Bu maqsad uchun achitqilarni hujayra qobig‘lari har xil yo‘llar (mexanika, ishqoriy, kislotali yoki fermentlar bilan ishlov berish orqali) bilan buziladi va hujayra ichidagi barcha massa organik erituvchilar yordamida ekstraksiya qilinadi. Organik va mineral qoldiqlardan tozalangandan keyin achitqi mahsuloti tarkibidagi oqsilni eritish maqsadida, unga ishqor eritmasi bilan ishlov beriladi, keyin oqsil eritmasi qolgan achitqi massasidan ajratilib, dializga yuboriladi. Dializ jarayonida oqsil kichik molekulali qoldiqlardan tozalanadi. Keyin oqsil cho‘ktiriladi, quritiladi va olingan oqsil massasi har xil oziq-ovqatga (sosiskalar, go‘sht va konditer mahsulotlari) qo‘shimcha sifatida ishlatiladi. Achitqi zamburug‘laridan olingan oqsil moddalari shuningdek, sun’iy go‘sht tayyorlashda ham ishlatiladi. Buning uchun oqsilga ma’lum shakl berish maqsadida uni isitiladi va

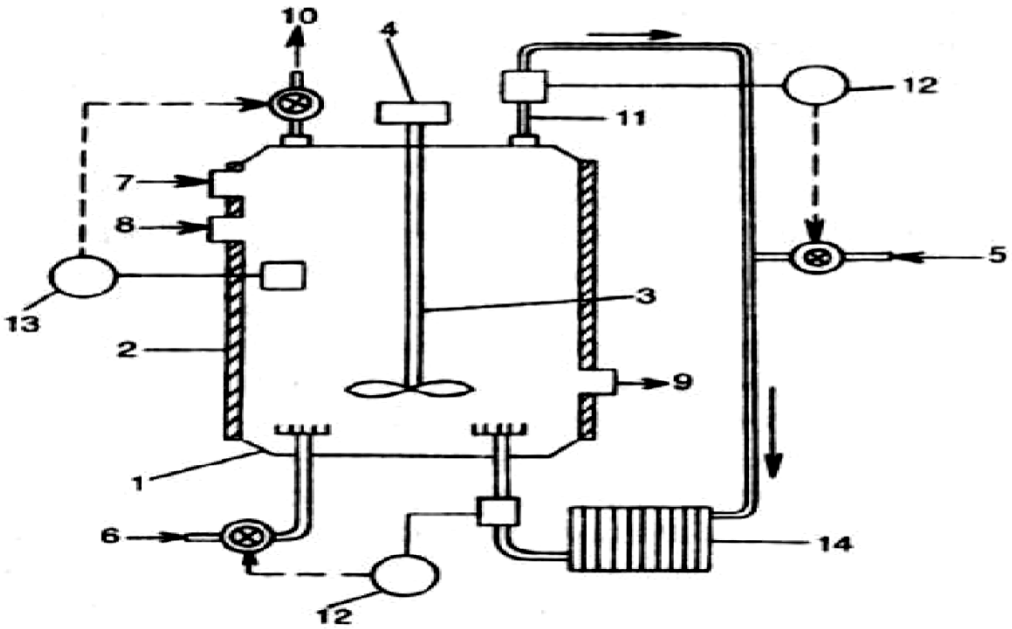
tez sovutilib, ma’lum (istalgan) shakldagi teshikchalardan bosim ostida o‘tkaziladi. Oqsilga ta’m berish maqsadida unga ma’lum miqdorda polisaxaridlar va boshqa kerakli komponentlar qo‘shiladi. Shuningdek, oqsil gidrolizatlari tibbiyot uchun preparatlar tayyorlash hamda parhez ovqatlarga ta’m beruvchi sifatida ham ishlatiladi.




**80-rasm**. Achitqilardan insonlar uchun oziq-ovqat oqsili olish chizmasi

**Bakteriyalardan olinadigan oqsil konsentratlari**. Achitqilar qatori, hayvonlar oziqasiga qo‘shib ishlatish uchun bakteriyalardan olinadigan oqsil konsentratlari ham katta ahamiyatga molik. Eng avvalo ularni tarkibidagi oqsil miqdori 60-80% ni tashkil etishini ta’kidlab o‘tmoq kerak. To‘laqonli oziqa oqsili olish uchun manba bo‘lib xizmat qilaoladigan 30 dan ortiq bakteriyalar ma’lum. Bakteriyalar, achitqilarga nisbatan bir necha barobar tezroq va ko‘proq biomassa hosil qilish imkoniyatiga egalar va ularni oqsillarida oltingugurt saqlovchi aminokislotalarni miqdori ham anchagina, shu sababli ham bakteriyalar oqsillari,

achitqi zamburug‘lari oqsillariga nisbatan ko‘proq biologik bahoga egalar. Bakteriyalar o‘sishi uchun uglerod manbayi bo‘lib, har xil gazsimon moddalar (tabiiy gaz, gaz konsentrati va h.k), tuban spirtlar (metanol, etalon) va vodorod xizmat qilishlari mumkin.




**81-rasm.** Gazsimon uglevodlarda mikroorganizmlar o‘stirish uchun fermentyor (bunda: 1 –fermentyor korpusi; 2-sovutadigan qatlam; 3–aralashtirgich; 4– aralashtirgichning boshqaruvchisi; 5–gazsimon uglevodlarni uzatish; 6–kislorod sa qlovchi gazni uzatish; 7–suyuq ozuqa aralashmasini uzatish; 8–ekiladigan mikroorganizmni uzatish; 9–fermentatsiya tugagandan keyin bakteriya suspenziyasining chiqadigan joy; 10–fermentyordan gaz chiqadigan joy; 11–gazlar aralashmasini qayta sirkulyatsiya uchun chiqadigan joy; 12–boshqaruv usqurmasiga xabar beradigan gaz aniqlagich; 13–fermentyor ichidagi bosimni boshqaruvchisi; 14–karbonat angidrid gazini ushlab qoluvchi uskuna)

Substrat sifatida gazsimon mahsulotlardan foydalanilganda, asosiy komponent bo‘lib metan xizmat qiladi, shuning uchun ham oziqa aralashmalari, bosim ostida purkagich tipida yasalgan maxsus fermentyorlarga yuboriladi. Substratni yaxshiroq utilizatsiya bo‘lishi uchun bunday fermentyorlarga gaz aralashmalarini qayta aylantiradigan ustqurma (chizmada 11 joy) mo‘ljallangan. Bakteriyalarga yetarlicha kislorod yetkazib berish maqsadida maxsus teshikchalar (chizmada 6-joy) qilingan. Gazli oziqa muhitida ko‘proq *Methylococcus* avlodiga mansub bakteriyalar o‘stiriladi. Bu bakteriyalar mu’tadil sharoitda fermentyorga yuborilgan 85-90 % metanni hazm qilish imkoniyatiga egalar. Gazli oziqa muhitida bakteriyalar o‘stirishga mo‘ljallangan ustqurmalar muhit tarkibini aniq nazorat qilish va mustahkam berkitilgan, portlashlarga xavfsiz qilib yasalgan bo‘lishi shart. Fermentatsiya tugagandan keyin bakteriya hujayralari cho‘ktiriladi va separatorlar yordamida suyuqlikdan ajratib olinadi. Olingan bakterial massaga mexanik yoki ultra tovush yordamida ishlov beriladi. Shu yo‘l bilan qobiqlari yorilgan massa quritilib, oziqa oqsil konsentratlari tayyorlash uchun ishlatiladi.

Metan va havodan iborat bo‘lgan gaz muhiti yong‘inga o‘ta xavfli bo‘lganligi, hamda bakteriyalar tomonidan metanni to‘lig‘icha parchalash uchun jarayonni bir necha bor qaytarish zarurligi sababli gazsimon moddalardan oziq-ovqat oqsili tayyorlash o‘ta murakkab va qimmatbaho texnologiya hisoblanadi. Metandan oqsidlash orqali olish mumkin bo‘lgan metanol asosida oqsil tayyorlash texnologiyasi ko‘proq ishlatiladi. Metanol saqlovchi oziqa muhitida o‘stirish uchun *Methylomonas, Pseudomonas, Methylohillus* avlodlariga kiruvchi bakteriyalar ishlatiladi. Bu bakteriyalarni suyuq oziqa muhitida, oddiy fermentyorlarda o‘stiriladi. Metanol asosida oziqa oqsili tayyorlashni keng miqyosidagi texnologiyasi dastlab Angliyada ishlatilgan. «Ay-Si-Ay» konserni tomonidan «Prutin» nomi bilan oziqa oqsil preparati ishlab chiqariladi. Rossiyada esa, metanol asosida «Meprin» nomli bakterial oqsil massasi ishlab chiqariladi. Bu preparat tarkibida 70-74% oqsil, 5% gacha yog‘simon moddalar, 10% atrofida mineral moddalar, 10-13% nuklein kislotalari saqlaydi. Rossiyada shuningdek, *Acinebacter* avlodiga mansub bakteriyalarni etanolli oziqa muhitida o‘stirirish orqali «Eprin» nomi bilan yangi preparat ishlab chiqarish yo‘lga qo‘yilmoqda. Kelajakda bu preparatni oziq-ovqat tarkibida ham ishlatish mo‘ljallanmoqda. Oqsil moddalarni sintez qilish samaradorligi bo‘yicha vodorod oksidlaydigan bakteriyalarga yetadigani yo‘q. Bu bakteriyalarni hujayralarida 80% gacha oqsil moddalar saqlanadi (quruq modda hisobidan). Bu bakteriyalar karbonat angidridni ba’zi shtammlari esa hattoki, havodagi azotni utilizatsiya qilish uchun vodorodni oksidlanish energiyasidan foydalanadilar. Vodorod oksidlaydigan bakteriyalarni o‘stirish uchun gazsimon oziqa, odatda 70-80% vodorod, 20-30% kislorod va 3-5% karbonat angidrid saqlaydi. Bunday tarkibdagi oziqa muhitida o‘stirilganda, *Pseudomonas, Alcaligenes, Achromobacter, Corenebacterium* va boshqa avlodga mansub bakteriyalar yuqori samaradorlikga ega bo‘ladilar. Oqsil massasi ishlab–chiqarish uchun kerak bo‘lgan vodorod odatda suvdan, uni elektroliz yoki fotokimyoviy parchalash orqali olinadi. Karbonat angidrid qandaydir sanoat ishlab-chiqarishini gazsimon chiqindilaridan yoki yoqilg‘i gazlardan olinishi mumkin, bunday hollarda bir yo‘la gazli muhitni tozalash muammosi ham yechiladi. Vodorod oksidlovchi bakteriyalar asosida oqsil tayyorlash texnologiyasi, qo‘shimcha mahsulot sifatida vodorod hosil qiluvchi kimyo sanoati korxonalariga yaqin joyda tashkil etilishi ham mumkin. Odatda oziqa oqsili hayvon oziqasiga 2,5-7,5%, cho‘chqalarga ba’zan 15% gacha qo‘shib ishlatiladi. Ulardan ko‘proq miqdorda foydalanishga to‘sqinlik qilib kelayotgan muammo bu oqsil preparatlari tarkibidagi nuklein kislotasi miqdorini o‘ta balandligidir (10-25% gacha). Bundan tashqari bakterial massada ko‘plab foydali moddalar qatori, qiyin so‘riladigan yog‘simon moddalar (lipidlar) ham sintez bo‘lishidir. Bakterial oqsil preparatlarini ajratish metodlarini qiyinligi va ularni baholarini balandligi ham bu preparatlardan kengroq foydalanishga salbiy ta’sir ko‘rsatib kelmoqda.

**Suvo‘tlaridan olinadigan oziqa oqsillari**. Dunyoni ko‘plab mamlakatlarida bir hujayrali suv o‘tlari: *Chlorella* va *Scenedesmus* shuningdek, *Spirulina* avlodiga mansub ko‘k-yashil suv o‘tlardan oziqa oqsili tayyorlash yo‘lga qo‘yilgan. Bu o‘simliklar quyosh nuri energiyasidan foydalanib, karbonat angidrid, suv va mineral moddalardan oqsil va boshqa organik moddalar sintez qiladilar. Ularni o‘stirish uchun ko‘p miqdorda suv. Kerakli miqdorda yorug‘lik va harorat bo‘lsa kifoya. Issiq, janubiy mintaqalarda suv o‘tlarini ochiq havzalarda o‘stirish yo‘lga qo‘yilgan

bo‘lsada, yopiq, yarimsteril holatda o‘stirish yuqori sifatli oqsil moddalari va boshqa organik moddalar ishlab chiqarish imkoniyatini yaratadi. Xlorella va ssenedemus avlodlariga mansub suv o‘tlar o‘zlarini o‘sishlari uchun neytral muhitni talab qiladilar, ularni hujayra qobiqlari mustahkam sellyulozadan tashkil topganliklari uchun ham hayvon organizmida yaxshi hazm bo‘lmaydi. Ularni yaxshi so‘rilishlari uchun maxsus ishlov berishni talab qilinadi. Spirulinalar hujayralari xlorellaga nisbatan 100 marotaba kattaroq, ammo qalin sellyuloza qobig‘i bo‘lmaganligi uchun ular organizmda yaxshi so‘riladilar. Spirulinalar ishqoriy muhitda o‘stiriladi (pH 10-11), tabiatda ham ishqoriy ko‘llarda yoki havzalarda ko‘proq tarqalgan. Suv o‘tlari biomassa to‘plash tezligi bo‘yicha achitqi zamburug‘lari va bakteriyalardan pastroq bo‘lsada, qishloq xo‘jalik o‘simliklaridan ancha ustunlikga ega. Ochiq tipdagi maxsus o‘stirgichlarda o‘stirilganda 1 gektar maydondan yiliga 70 tonna quruq biomassa olish mumkin. Taqqoslash uchun quyidagi sonlarga e’tibor bering: 1 gektar maydondan 3-4 tonna g‘alla; 5 tonna sholi; 6 tonna – soya; 7 tonna makkajo‘xori olish mumkin, xolos.

*Chlorella* va *Ssenedesmus* hujayralarida oqsil miqdori (quruq massaga nisbatan) 45-55%, spirulinada esa 60-65% tashkil etadi. Suv o‘tlaridagi oqsil tarkibidagi almashinmaydigan aminokislotalar miqdori ham baland, faqat metionin kamroq, xolos. Suv o‘tlarida to‘yinmagan yog‘ kislotalari ham ko‘proq sintez bo‘ladi (ba’zi birlari almashmaydigan yog‘ kislotalari safiga kiradi). Shuningdek, provitamin A–karotin (150 mg% gacha), B guruhiga kiruvchi vitaminlar ko‘plab sintez qilinadi. Suv o‘tlari tarkibidagi karotin miqdori beda uniga nisbatan 7-9 marotaba ko‘proq. Bir hujayrali suv o‘tlarida nuklein kislotalar miqdori (4-6%), bakteriyalarga nisbatan kamroq bo‘lsada, o‘simliklardan olinadigan oqsil tarkibidagidan (ularda 1-2%) ko‘proqni tashkil etadi. Suv o‘tlari hujayralaridan oqsil massasi olish texnologiyasi quyidagi bosqichlardan iborat: maxsus tanlangan shtammni o‘stirish (ochiq yoki yopiq tipdagi o‘stirgichlarda); suv o‘tlarini suvdan ajratish (separatsiya); suspenziya holatidagi mahsulot olish; pastasimon yoki quruq kukun holatidagi mahsulot tayyorlash. Suv o‘tlari hujayralarini suvdan ajratish, ko‘p miqdorda energiya talab qilayotgan jarayondir. Chunki, suvni miqdori juda ham ko‘p, quruq moddalar miqdori esa juda ham kam. Suv o‘tlarini o‘stirish yopiq va ochiq usulda amalga oshiriladi. Yopiq usulda o‘stirish to‘liq boshqarilsada, o‘stirish texnologiyasi murakkab va uni tannarhi yuqoridir. Ochiq usulda o‘stirish yarim boshqariladi va o‘stirish texnologiyasi oddiy, tannarixi esa ancha arzon.

Dunyoni bir qancha mamlakatlarida (Yaponiya, Isroil, Bolgariya, Meksika, Turkmaniston, O‘zbekiston va h.k.) suv o‘tlarini ochiq usulda o‘stirish texnologiyasi yaratilgan. Ular bir-birlariga o‘xshash bo‘lganliklari sababli, O‘zbekiston fanlar akademiyasining akademigi, professor Ahror Muzaffarovich Muzaffarov tomonidan yaratilgan ustqurmaga diqqatingizni tortishni ma’qul ko‘rdik: Suv o‘tlari o‘stirish ustqurmasini uzunligi 10 metr, eni 2 metr, chuqurligi 30 smli oxur (lotok) shaklidagi, o‘zidan suv o‘tkazib yubormaydigan ustqurmada 15 sm chuqurlikda 3 tonna xlorella suspenziyasi yetishtirish mumkin. Buning uchun ustqurmaga 3 tonna suvga 600 g ammoniyni sulfatli tuzi, 90 g kaliy digidrofosfat, 240 g magniyni sulfatli tuzi, 300 g natriy gidrokarbonat va 3-5 xil mikro elementlar qo‘shib eritiladi va unga 30 l 1—15

kun davomida o‘stirilgan xlorella suspenziyasi quyilib, suvni maxsus nasos yordamida aralashtirib turiladi.

O‘stirish davomida karbonat angidrid ($CO_2$) - maxsus balonlarda minutiga 0,1-0,2 l miqdorda rotometr orqali o‘lchab yuborib turiladi. O‘zbekiston sharoitida tabiiy quyosh yorug‘ligi yetarli bo‘lib, harorat 16 dan 39$^oC$ orasida bo‘lishi maqsadga muvofiqdir. Oradan 9-10 kun o‘tgach (yoz kunlari 6-7 kunda) 1 l oziqa muhitida 1,5-3,0 gramgacha xlorella hujayralari saqlagan suspenziya yetilib tayyor bo‘ladi. Xlorellani qish faslida ham o‘stirib, foydalanishga ehtiyoj bo‘lganda, dastgohni ustini oyna yoki polietilen plenkasi bilan yopish kifoya. Tayyor suspenziyadan buzoqlarni oziqlantirishda foydalanish mumkin. Bitta buzoqqa bir sutkada 3-6 l, katta yoshli hayvonlarga esa 8-10l suspenziya berish tavsiya etilgan. Kovush qaytaradigan hayvonlarda 50% o‘simlik oqsilini xlorella oqsili bilan almashtirish mumkinligi isbotlangan. Suv o‘tlarini oqava suvlarda o‘stirish katta ahamiyatga ega. Masalan, ssenedesmus yoki xlorellani chorvachilik kompleksi oqava suvlarda o‘stirilganda15 kun davomida, iflos oqava suvlarni organik moddalardan butunlay tozalash mumkin, bunda suvni rangi o‘zgarib, hidi yo‘qoladi. Suv o‘tlarini sanoat oqava suvlarida yoki issiqlik beruvchi stansiyalarni oqava suvlarida o‘stirilganda ortib qolgan issiqlik hamda texnologik jarayonda yoki har xil chiqindilarni yoqishdan paydo bo‘lgan karbonat angidridi ishlatiladi, oqibatda esa qo‘shimcha biomassa olinadi. Xlorella o‘stirish bo‘yicha eng yirik kompaniya – «Xlorella San Kompani» Yaponiyada tashkil etilgan. Bolgariyani issiq suv tabiiy manbalarida xlorella va ssenedesmus o‘stirish usullari yaratilgan. Shu mamlakat olimlari tomonidan qobig‘ida sellyuloza saqlamaydigan xlorella shtammlari yaratilgan, bu esa olingan biomassani hayvon organizmida tez hazm bo‘lishini ta’minlaydi. Spirulina markaziy Afrika va Meksikani ishqoriy tabiatli suv saqlagan ko‘llarida ko‘plab ekilib, biomassa to‘playdi. Spirulina biomassasidan oqsil va boshqa mahsulotlar ishlab chiqaradigan eng yirik kompaniya Meksikani «Sosa Tekskoko» firmasidir. Italiyada dengiz suvlarida spirulina ekib, o‘stirish hamda yopiq tipdagi o‘stirgichlarda biomassa olish ustida ilmiy izlanishlar davom ettirilmoqda. Spirulina suv o‘tining biomassasi oshqozon fermentlari tomonidan yaxshi parchalanishi hamda undagi oqsil miqdori juda ham baland bo‘lib (70% gacha), organizm uchun zarur bo‘lgan aminokislotalarga boy bo‘lganligi sababli, u oqsilga boy bo‘lgan konditer taomlar tayyorlash uchun ishlatiladi. Spirulina servitamin va noyob yog‘ kislotalar manbayi sifatida, tabletka holatida tibbiyotda ham ishlatilib kelinmoqda. Sanoat sharoitida ishlatiladigan suv o‘tlarini qo‘shimcha oqsil manbayi sifatida chorvachilikda hamda odamlar ovqatlanishida muvoffaqiyatli ishlatilishi dunyo olimlari oldida har xil yo‘nalishda ya’ni: seleksiya, genetika, biokimyo va boshqa sohalarda izlanishlar olib borishni bosh masalalardan biri qilib qo‘ydi.

Maqsad yanada hosildorroq, fotosintezni jadalroq olib boradigan, almashinmaydigan aminokislotalarga boy, sovuqroq sharoitda ham yaxshi o‘sib rivojlana oladigan, organizmda yaxshi so‘riladigan, vitaminlarga boy shtammlar yaratishdir. Bunday maqsadga albatta gen muxndisligi usullarsiz yetishish amru mahaldir. O‘zbekistonda suv o‘tlaridan unumli foydalanish bo‘yicha bir qator ishlar amalga oshirilgan. Yuqorida keltirib o‘tilganidek, bu ishlarga akademik A.M.Muzaffarov boshchilik qilganlar. Bugungi kunda domlaning shogirdlari b.f.d., professor X.A.Berdiqulov, b.f.d., professor R.Sh.Shoyaqubov, b.f.d., professor

J.Q.Qutliev va boshqalar suv o‘tlari asosida yangi, zamonaviy biotexnologiyalar yaratish yo‘lida samarali mehnat qilmoqdalar.

**Mikroskopik zamburug‘lardan olinadigan oziqa oqsillari**. Mikroskopik zamburug‘larni mitseliylari oqsil va almashinmaydigan aminokislotalarga boy manba hisoblanadilar. O‘zlarini oziqaviy xususiyatlari bo‘yicha mitselial zamburug‘lardan olinadigan oqsil moddalari, soya va go‘sht oqsiliga yaqin turadi, shuning uchun ham nafaqat chorvachilikda, balki inson taomlariga qo‘shimcha moddalar sifatida xizmat qilaoladilar. Mitselial zamburug‘larni sanoat sharoitida o‘stirish uchun oziqa manbayi sifatida odatda lignin, gemitsellyuloza, kletchatka saqlovchi o‘simliklar chiqindilari ishlatiladi. Bunda bir yo‘la oqsil massasini tayyorlash hamda atrof-muhitni ifloslashtirish manbayi bo‘lib, xizmat qilishi mumkin bo‘lgan o‘simlikshunoslik hamda yog‘ochga ishlov berish va sellyuloza - qog‘oz sanoati chiqindilarini utilizatsiya qilishdek ikki yirik muammo o‘z yechimini topadi. Ayniqsa, mikroflora ta’siriga chidamli bo‘lgan lignin molekulasini utilizatsiya qilish imkoniyatiga ega bo‘lgan faol shtammlar yaratish katta ahamiyatga egadir. Tabiatda lignin faqatgina qo‘ng‘ir va oq rangli chirishni amalga oshiruvchi *Stropharia, Pleurotus, Abortiporus, Coriolus, Sterium* va boshqa avlodlarga mansub bo‘lgan zamburug‘lar ishtirokida parchalanadi xolos. Hozirgi vaqtda chuqur izlanishlar oqibatida toksin saqlamaydigan, zaharsiz, tez o‘suvchi mezo va termofil zamburug‘larni shtammlari yaratilgan va ishlab-chiqarishga tadbiq etilgan. Bunday shtammlar *Penicillium, Aspergillus, Fusarium, Trichoderma* avlodlariga mansub shtammlardir. Bu zamburug‘larni hujayra qobiqlari yupqa bo‘lib, hayvonlarni oshqozon-ichak yo‘lida oson va tez parchalanadi. Ularni tarkibida o‘ziga hos hid va maza beradigan aromatik moddalar, vitaminlar va yog‘lar bor. Achitqi zamburug‘lariga qaraganda mitselial zamburug‘lar oqsillari oltingugurt saqlovchi aminokislotalarga boy, va yaxshi hazm bo‘ladi. Ularni tarkibidagi nuklein kislotalar miqdori (1-4%) o‘simliklarnikiga yaqin. Shuning bilan birga mitselial zamburug‘lar hujayralarida oqsil kamroq sintez bo‘ladi (20-60% quruq massadan), ular achitqi zamburug‘lariga nisbatan sekin rivojlanadilar va biomassa hosil qiladilar (biomassani ikki marotaba ko‘payish davri 4-16 soat, achitqi zamburug‘larida esa 2-3 soat). Sellyuloza va lignotsellyuloza saqlovchi chiqindilarda o‘stirilgan tuban mitselial zamburug‘larning gidrolitik fermentlar sintez qilish xususiyati tufayli lignin va sellyulozani oddiy moddalargacha parchalab tashlaydilar va ulardan aminokislotalar hamda oqsil moddalari hosil bo‘ladi. Mitselial zamburug‘larni o‘sishini tezlashtirish uchun o‘simlik chiqindilariga dastlabki ishlov berish (yuvish, isitish, maydalash) foydalidir. Ko‘proq ishqoriy, kislotali ishlov berish, yuqori bosimda par bilan ishlov berish, ammiak yoki kaustik soda bilan ishlov berish usullaridan foydalaniladi. Mana shunday ishlov berishlar oqibatida lignin va boshqa qiyin gidrolizlanuvchi polisaxaridlar qisman parchalanadilar, bu esa zamburug‘ massasini tezroq o‘sib, rivojlanishini (7-8 sutka) ta’minlaydi. O‘simlik mahsulotlarini tayyorlanganligiga qarab, mikroskopik zamburug‘larni o‘stirishni tegishli usullari tanlanadi. Zamburug‘larni qattiq oziqa muhitida o‘stirish uchun qattiq fazada fermentatsiya qilish usuli ishlab chiqilgan. Bu usul o‘simlik mahsulotlarini maydalash, ularga issiq par yoki ammiak suvi bilan ishlov berish, ularni mineral moddalar bilan to‘yintirish, zamburug‘larni ekish va ularni oldindan

aeratsiya rejimida va mu’tadil haroratda o‘stirish jarayonlarini o‘z ichiga oladi. Ammo, zamburug‘larni bunday texnologiya asosida o‘stirishda, o‘simlik mahsulotlarini ishlatish koeffitsiyenti juda past bo‘lganligi sababli hosil bo‘ladigan oqsil miqdori ham unchalik yuqori bo‘lmasligini oldindan bilsa bo‘ladi. Bu texnologiya asosida yetishtirilgan zamburug‘ massasida oqsil 20-30% ni tashkil etadi xolos. Masalan, tuban mitselial zamburug‘larni to‘g‘ridan–to‘g‘ri somonda yoki boshqa o‘simlik chiqindilarida o‘stirilishi ushbu manbalardagi uglerodni 17-25% ini zamburug‘ mitseliysini organik moddalariga o‘tishini ta’minlaydi xolos.

O‘simlik mahsulotini ishlatilish koeffitsiyenti odatda zamburug‘larni har xil gidrolizatlarda o‘stirilganda oshadi. Ma’lumki, buning uchun zamburug‘lar suyuq muhitda maxsus fermentyorlarda o‘stiriladi. Bunday sharoitda o‘stirilgan zamburug‘ mitseliysida oqsil miqdori 50-60% gacha yetadi. Oziqa muhitni ko‘proq ishlatish maqsadida zamburug‘lar bilan bakteriyalarni qo‘shib o‘stirish mumkin. O‘simlik chiqindilaridan tashqari, torf, go‘ng va boshqa hayvon chiqindilarini oqsilga aylantirish usullari ham yaratilgan. Zamburug‘lardan olinadigan oqsil moddalarini hayvon organizmida yengil so‘rilishi, hamda ularni tarkibiga nuklein kislotalarini nisbatan kamligi, bulardan achitqi oqsilariga nisbatan ko‘proq miqdorda ishlatish imkonini yaratadi. Odatda hayvon bolalarini oziqlantirishda oziqa ratsioniga 15-20% zamburug‘ oqsili qo‘shish tavsiya etilgan. Yoshi katta hayvonlar ratsioniga esa 50% gacha zamburug‘ oqsili qo‘shish mumkin.

**O‘simliklardan olinadigan oziqa oqsillari**. Sifatli oziqa va oziq-ovqat oqsilining manbayini topish maqsadida olimlar azal-azallardan faqatgina tabiiy o‘simliklardan ovqatlanib kelayotgan yovvoyi hayvonlarni hayotini, ularni ovqatlanishi va rivojlanishini sinchiklab o‘rganib kelganlar. Eng qizig‘i shundaki, ular (yovvoyi hayvonlar) o‘z xayotlari uchun yagona, har yili qaytadan o‘sib chiqadigan o‘tlardan foydalanadilar-u ammo hech qanday almashinmaydigan aminokislotalar, yog‘ kislotalari yoki vitaminlarga muhtojlik sezmaydilar. Bularning barchasi mana shu giyohlarda-yu, yovvoyi hayvonlar iste’mol qilayotgan o‘simliklarda, tirik organizmni yaxshi rivojlanishi uchun kerak moddalarni barchasi muxayyo (ohularni tez harakatchanligi, maymunlarni daraxtlardan- daraxtlarga sakrashi, qolaversa cho‘lda yaltirab rivojlanib yurgan qo‘y to‘dalarni ko‘z oldingizga keltiring) ekanligidan darak beradi. Tadqiqotlar o‘tlarning tarkibidagi oqsil moddalarni sintez tezligi bir-birlaridan farq qilsada, ana shu oqsillar tarkibidagi almashinmaydigan aminokislotalar miqdori barcha yovvoyi o‘tlarda bir-biriga yaqin ekanligini ko‘rsatdi. O‘tli o‘simliklar tarkibidagi aminokislotalar miqdori bo‘yicha FAO etalonidan ham balandroq bo‘lib, faqatgina metionin miqdori biroz kamroq ekan. Ilmiy tajribalar, barcha xilma- xil o‘tlar orasida dukkakli o‘simliklarni yashil oziqa qismi, o‘zlarini biologik xususiyatlari bo‘yicha boshqalardan ustun turishligini ko‘rsatdi (80-90%). Bu o‘simliklarni yashil qismida ham oqsil miqdori boshqalarga nisbatan ko‘proq (15-25% quruq modda hisobidan). Eng ko‘p oqsil beda o‘tida ekan.

O‘tlarni vegetetiv massasining oqsillari tarkibidagi aminokislotalarni yetarliligi, bu o‘simliklarni barglarida ham oqsil sintezi jadal amalga oshirilishi va nihoyat ularni tarkibidagi oqsil miqdorini nisbatan balandligi, yashil o‘simliklarni vegetativ massasidan oqsil ajratib olishni samarali texnologiyasini yaratishni taqazo qiladi. Dastlab mana shunday eksperimentlar 1773-yilda o‘tkazilgan. Bu tajribalarda oqsil, yashil o‘simliklardan siqish (presslash) orqali chiqarib olingan. Ammo,

keyinroq o‘simlik sharbatida oqsildan tashqari bir qator zararli moddalar: fenollar, og‘ir metallar, tripsinni ingibitori (tripsin hayvon va inson oshqozoni sokidagi oqsil parchalanishida faol ishtirok etuvchi ferment), nuklein kislotalar, alkaloidlar, xlorofill parchalanishida hosil bo‘ladigan moddalar va h. k. borligini ko‘rsatdi. Yuqorida keltirib o‘tilgan moddalar ko‘proq yadroda, xloroplastlarda, mitoxondriyada uchrasa, sitoplazmada ularni miqdori kamroq. Mana shu natijalardan kelib chiqqan xolda oziqa yoki oziq-ovqat oqsilini sitoplazmadan ajratish maqsadga muvofiqligi ayon bo‘ldi.

54-jadval

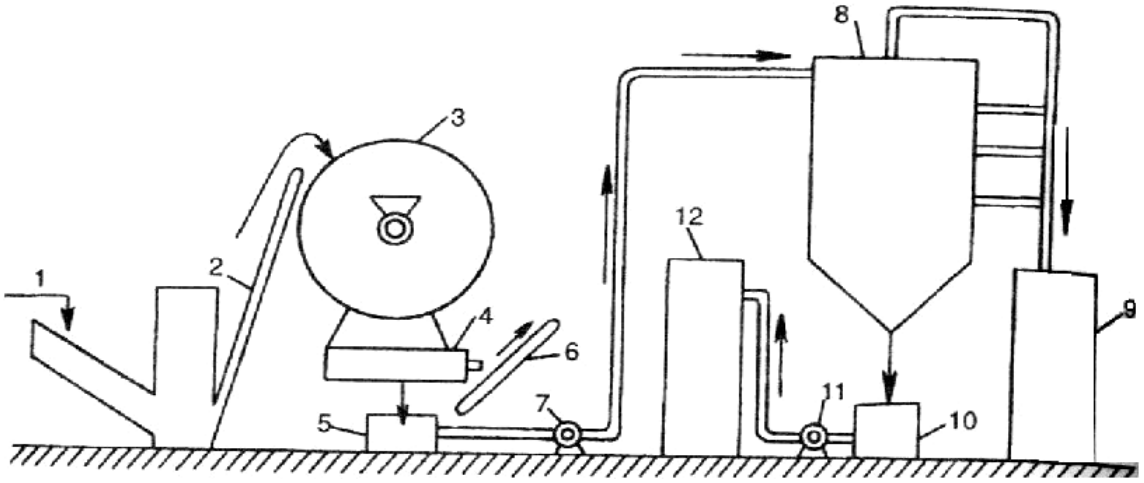
**O‘t o‘simliklarni vegetativ massasidagi oqsilardagi almashinmaydigan aminokislotalarni miqdori** (100 g oqsil tarkibida g hisobida**)**

| Aminokislotalar | O‘t o‘simliklar | FAO etaloni |
|---|---|---|
| Valin | 5,9 - 6,9 | 4,2 |
| Izoleysin | 4,5 - 5,5 | 4,2 |
| Leysin | 8,8 - 10,2 | 4,8 |
| Lizin | 5,6 - 7,3 | 4,2 |
| Metionin | 1,6 - 2,6 | 2,2 |
| Treonin | 4,7 - 5,3 | 2,8 |
| Triptofan | 1,2 - 2,3 | 1,2 |
| Fenilalanin | 5,5 - 6,8 | 2,8 |

Sobiq ittifoqda o‘simlik sharbatidan oqsil ajratishni sanoat texnologiyasi 1942-yilda tashkil etilgan edi. Katta miqdorda provitamin A-karotin saqlovchi oqsil konsentratlari yaradorlarni davolashda ishlatilar edi. 1960-yillarni boshlarida o‘simlik oqsili olish texnologiyasi yaratilib, ishlab chiqarilgan mahsulot chorvachilikda qo‘llanilish uchun tavsiya etilgan edi. Bunday ustqurmalarni chorvachiligi rivojlangan, chorva mollari uchun maxsus ekuv maydoniga ega bo‘lgan har bir xo‘jalikda tashkil qilish mumkin. Oqsil konsentratsiyasi tayyorlash texnologiyasi o‘simlik massasini maydalash, sharbatini siqib chiqarish, sharbatni koagulyatsiya qilish, koagulyatni tvorogsimon yashil massa va qo‘ng‘ir rangli sharbatga ajratish, oqsil vitamin pastasini konservatsiya qilishni o‘z ichiga oladi.

Shunday qilib, o‘simlik massasiga ishlov berish orqali uch xil oziqa tayyorlash mumkin: oqsil koagulyanti (cho‘kmasi), bundan oqsil vitamin konsetrati tayyorlanadi: sharbat siqib olingandan keyin qolgan o‘simlik mahsulotlari (jom holatida). Oqsil koagulyanti - quruq massa hisobidan 15-22% oqsil saqlaydi. Odatda bu mahsulotdan qish faslida hayvonlarni oziqlantirish uchun foydalaniladi. Past haroratda, konservantlar qo‘shilganda bir oy davomida saqlanishi mumkin. Kovush qaytaruvchi hayvonlarga umumiy ratsiondagi oqsil miqdoridan 50 % miqdorida bu mahsulotdan berish tavsiya etilgan. Fermentlangan qo‘ng‘ir rangli sharbat – 7-12% quruq modda; 1-3% oqsil; 1,0-1,5% organik kislotalar ; 4-5% azot saqlamaydigan tez eruvchan moddalar (odatda yaxshi so‘riladigan karbon suvlar yig‘indisi); 1-2% kul moddalari; 40-50 mg% karotin saqlaydi. Bu mahsulot qishloq xo‘jalik hayvonlarini

umumiy oziqasiga qo‘shib beriladi. Masalan, cho‘chqalarni har biriga sutkasiga 1,5 l dan berish tavsiya etilgan. Bundan tashqari bu sharbat asosida achitqi zamburug‘lari oqsili tayyorlash ham mumkin. Jom – ham hayvonlarni oziqlantirish maqsadida ishlatilishi mumkin. Uni tarkibida 12-17% oqsil moddalari; 3-4% yog‘ va yog‘simon moddalar; 8-9% kul moddalari; 35 % kletchatka bor.




**82-rasm.** O‘simliklarni vegetativ massasidan oziqa uchun oqsil konsentratsiyalari olish texnologiyasining chizmasi (bunda: 1-yashil massa qabul qilish joyi; 2-yashil massani maydalashga uzatib beruvchi uskuna (transpartor); 3-maydalagich; 4-o‘simlik sharbatini chiqaruvchi press; 5-sharbat yig‘iladigan idish; 6-jomni chiqarib tashlovchi ustqurma (transporter); 7-sharbatni fermentyorga uzatuvchi nasos; 8-fermentyor koagulyator; 9-fermentyordan chiqqan sharbatni yig‘uvchi idish; 10-koagulyatni yig‘uvchi idish; 11-koagulyatni uzatuvchi nasos; 12-koagulyatni yig‘uvchi idish)

Odatda oqsil vitamin pastasini tayyorlash uchun beda, yo‘ng‘ichqa, qand lavlagisi barglaridan foydalaniladi. Qand lavlagisi bargidan tayyorlangan oqsil-vitamin pastasini maxsus usullar orqali tozalab oziq-ovqat uchun ham ishlatish mumkinligi ko‘rsatib o‘tilgan. Hozircha o‘simlik massasidan oqsil-vatamin konsentratlari tayyorlash texnologiyasi ko‘p energiya talab qilishi hamda rentabilligi pastligi sababli keng qo‘llanilmasdan turibdi.

## 21§. TURLI TARKIBLI OZIQA PREPARATLARI ISHLAB CHIQARISH

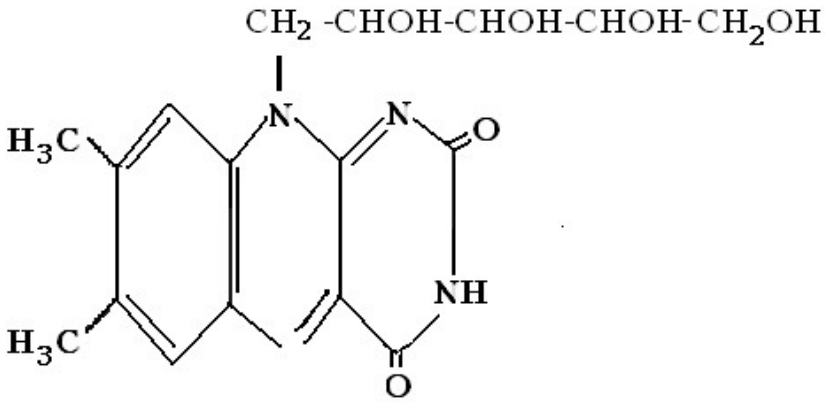
Oziqa mahsulotlarini sifatini, ularni biologik xususiyatlarini ko‘tarish uchun muhim omillardan biri bo‘lib, ularni tarkibidagi vitaminlarni miqdori va xilma-xilligi xizmat qiladi. Vitaminlar turli xil kimyoviy tuzilishga ega bo‘lib, organizmni xayotiy faoliyatini faol ushlab turishga xizmat qiladi. Vitaminlarni biologik faolligi, ularni faol guruh sifatida fermentlarni kataliz markazlari tarkibiga kirishi bilan bog‘liq. Shuning uchun ham vitaminlar miqdori kamayganda, tegishli fermentlarni faolligi pasayadi, oqibatda biokimyoviy jarayonlar susayib, ishdan chiqa boshlaydi. Bu esa vitaminlar yetishmasligi bilan bog‘liq bo‘lgan har xil kasalliklarga olib keladi.

Ma’lumki, inson va hayvon organizmi o‘zlariga kerakli bo‘lgan vitaminlarni sintez qilaolmaydilar, ammo o‘simliklar esa bunday noyob xususiyat egasidirlar. Ular tabiatda topilgan barcha vitaminlarni (vitamin $B_{12}$ dan tashqari) sintez qilish xususiyatiga egadirlar. Mikroorganizmlar ham ko‘pgina vitaminlarni sintez qilaoladilar. Ko‘rinib turibdiki, o‘simlik va mikrob mahsulotlari inson va hayvon uchun almashtirib bo‘lmaydigan vitamin manbayi bo‘lib xizmat qilar ekan.

Organizmni vitaminga bo‘lgan muhtojligi ikki yo‘l bilan qondiriladi: ovqat va organizmdagi mikroorganizmlarni vitamin sintez qilish xususiyatlari orqali. Bir bo‘lmali oshqozonli organizmlar uchun, vitaminlar bilan ta’minlashni asosiy yo‘li oziq-ovqat tarkibida iste’mol qilish yoki sof holdagi vitaminlarni yoki ularni old mahsulotlarini (organizmda vitaminga aylanadigan moddalar) qabul qilishdir. Chunki bunday organizmlarda mikroflora unchalik rivojlanmagan bo‘ladi, shu tufayli vitaminlar sintezi deyarli amalga oshmaydi. Kovush qaytaradigan hayvonlarni oshqozon oldi qismida mikrofloraga boy bo‘lganligi uchun vitaminlarga bo‘lgan muhtojlikni ular orqali qondirib turadi. Qishloq xo‘jalik hayvonlarini oziqasi asosan o‘simliklardan tayyorlanishi, ularni tarkibidagi vitaminlar ($V_{12}$) o‘simliklarda sintez bo‘lmaganligini e’tiborga olib, hayvon oziqasiga qo‘shimcha qilib, mikroorganizmlardan ajratilgan servitamin mahsulotlar aralashtirib turiladi.

**Vitamin $B_2$-saqlovchi oziqa preparatlari.** Vitamin $B_2$–riboflavin kimyoviy tabiatiga ko‘ra azot asosli 6,7– dimetilizaalloksazin, D- ribit spirti qoldig‘i saqlovchi birikmadir.

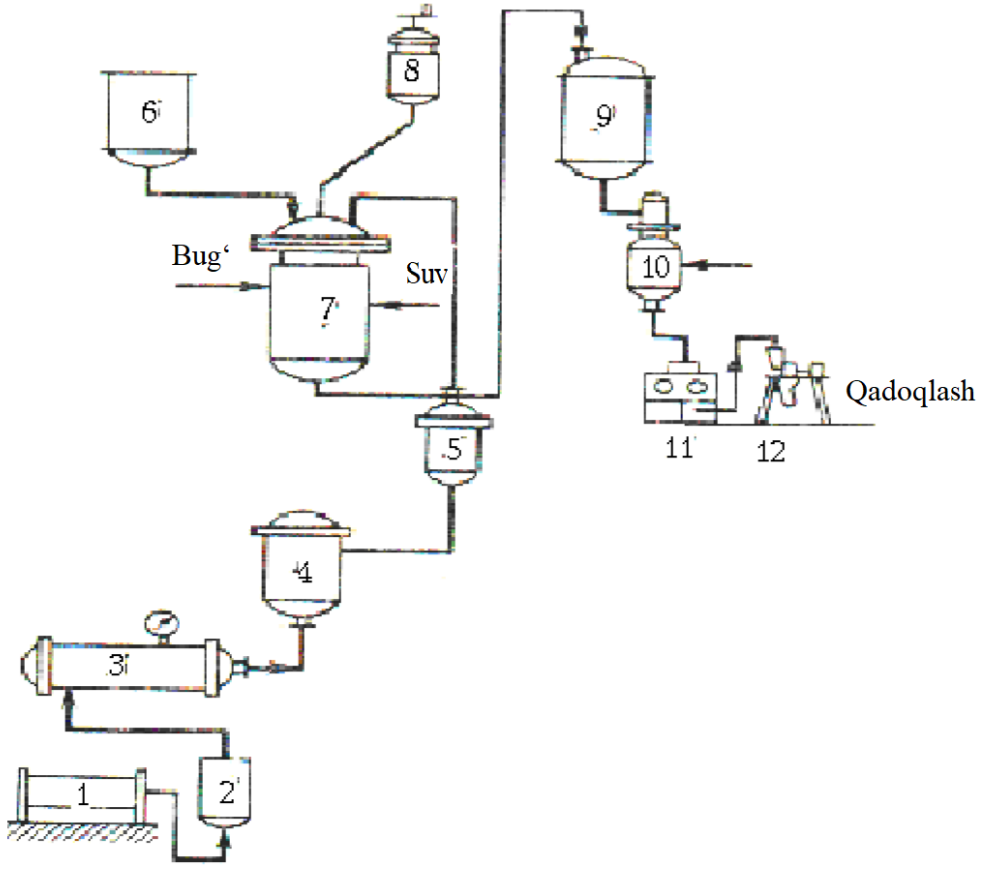
Uning kimyoviy tuzilishi quyidagicha:




$B_2$ - vitamin

Bu vitamin oksidlanish-qaytarilish fermentlari faol guruhlari flavinmono-nukleotid (FMN) tarkibiga kiradi. Shuning uchun ham, organizmda bu vitamin yetishmaganda oksidlanish-qaytarilish jarayonlari susayib ketadi. Bu vitaminni cho‘chqalarga berish me’yori 2–7 mg, har bir kilogramm quruq oziqaga qo‘shib beriladi. Hayvonlarga oziqa sifatida ishlatilib kelinayotgan o‘simlik mahsulotlarida $B_2$ vitaminni miqdori juda ham kam. $B_2$ vitaminini har xil taksomik guruhga kiruvchi mikroorganizmlar – bakteriyalar, achitqi zamburug‘lar, aktinomitsetlar sintez qiladilar, ba’zi- bir shtammlar 1 l kultural suyuqlikda 1 mg gacha $B_2$ vitamini sintez qila oladi. Oziqa riboflavinni produsenti *Eremothecium ashbyii* achitqi zamburug‘ini seleksiya qilib tayyorlangan shtammi hisoblanadi. Riboflavin achitqi hujayralarini vakuolalarida to‘planib, mikroorganizmga o‘ziga xos bo‘lgan sariq rang beradi.

Katta hajmda ishlab-chiqarish uchun alohida tarkibga ega bo‘lgan suyuq oziqa muhiti tayyorlanadi, ekuv materiallari esa maxsus uskunalarda (kichikroq fermentyorlarda) o‘stiriladi.




**83-rasm.** *Eremothecium ashbyii* kulturasi yordamida riboflavin ozuqa konsentrati olishning texnologik chizmasi (bunda: 1-havo kompressori; 2-yog‘ ajratgich; 3-resiver; 4-bosh filtr; 5-inokulyator; 6aralashtirgich; 7-fermentyor; 8-inokulyator; 9-kultural suyuqlik yig‘iladigan moslama; 10-bug‘lantirish uskunasi; 11-quritish uskunasi; 12-maydalagich)

Oziqa muhiti tarkibiga kerakli miqdorda soya uni, makkajo‘xori ekstrakti, bo‘r ($CaCO_3$), gidrol, shakar, $K_2HPO_4$, NaCl, va boshqa makro-, mikroelementlar qo‘shiladi. Fermentyorga yuborilishdan oldin oziqa muhiti sterilizatsiya qilinadi. Ekuv materiali sifatida *Eremothecium ashbyii* ni pshenoda o‘stirilgan sporalari ishlatiladi. Yuvilgan psheno bo‘kish uchun 30-35 minut davomida sut zardobida ushlab turiladi, keyin quritilib, 50-60 grammdan sterilizatsiya qilingan flakonlarga solinadi. Flakonda psheno uch marotaba sterilizatsiya qilinadi va undan keyin achitqi zamburug‘i suvdagi suspenziyasi bilan ekiladi va 7-8 kun davomida 29-30$^oC$ inkubatsiyaga qo‘yiladi. Ko‘rsatilgan vaqt oshgandan keyin vakuum-qurutgichda sekin quritilib, suyuq ekuv materiallari tayyorlashga yuboriladi. Riboflavin olish uchun produsent 28-30$^oC$ da 72 soat davomida o‘stiriladi. Har 8 soatda mikrob hujayralarini, oziqa muhiti tarkibini va hosil bo‘lgan vitaminni nazorat qilib boriladi.

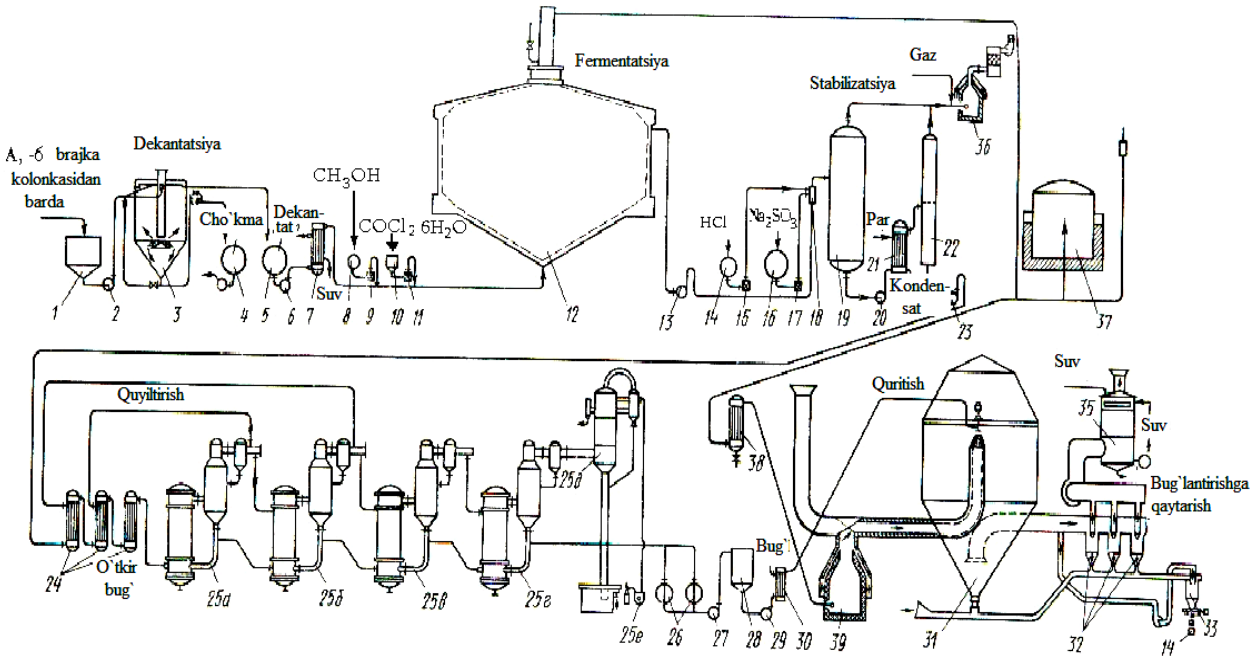
Tayyor kultural suyuqlik fermentatsiya oxirida, 5% quruq modda va 14 mg/ml riboflavin saqlashi kerak. Quritish jarayonida bu vitaminni mu'tadillashtirish maqsadida kultural suyuqlik xlorid kislotasi bilan pH 4,5-5,0 gacha nordonlashtiriladi, undan keyin vakuum-bug'latgich uskunasida konsentrlashtiriladi.

Olingan konsentrat odatda, 5,6 mg/ml vitamin $B_2$ va 20% quruq modda saqlagan bo'ladi. Quyultirilgan vitamin konsentrati purkab qurutgich uskunasida, namligi 5-10% qolgo'nga qadar quritiladi. Keyin kepak va makkajo'xori bilan aralashtirilib, 20 grammdan polietilen paketchalarga solib chiqiladi va bu paketchalarga qog'oz qopcha solib, tegishli etiketkalar bilan jihozlantiriladi. Tayyor mahsulotda vitaminni miqdori 1% dan kam bo'lmasligi kerak. Tayyor mahsulotni saqlash davri 1 yil.

**Vitamin $B_{12}$-saqlovchi oziqa preparatlari.** $B_{12}$ vitamin tarkibida 3 valentli kobalt va boshqa radikallar bilan almashaoladigan amin hamda sian gruppalarini saqlaydi. Bu vitamin qonni yaxshilaydi, aminokislotalar va azot birikmalari sintezida qatnashadi. Bu vitamin o'simliklarda uchramaydi va uni inson va hayvonga yetkazib beradigan yagona manba-bu mikroorganizmlardir. Bu vitaminni sanoat miqyosida ishlab-chiqarish uchun mikroorganizmlarni maxsus tanlangan biotsenozi o'stiriladi. Bu biotsenoz issiq metanli bijg'ish reaksiyasini amalga oshirib, tarkibida sellyulozani parchalovchi, ammonifikatsiya qiluvchi, karbonsuvlarni bijg'ituvchi, sulfit qaytaruvchi va metan hosil qiluvchi bakteriyalar bor. Bu mikroorganizmlarni fermentatsiyasini birinchi bosqichida (10-12 kun davomida) termofil ammonifikatorlarni va karbonsuvlarni bijituvchi mikroorgaizmlarni jadal rivojlanishi kuzatiladi, bu jarayon past nordon sharoitda (pH 5,0-7,0) o'tadi. Bu biotsenozni boshqa guruh qatnashchilari bijg'ish ishqoriy sharoitda (pH 7,0-8,5) o'tganda rivojlanadi. Bu davrda metan hosil qiluvchi bakteriyalar ko'proq kuzatiladi. Ular biotsenozni boshqa ishtirokchilariga qaraganda $B_{12}$ vitaminini 4-5 marotaba ko'proq sintez qiladilar. Metan hosil qiluvchi bakteriyalarni jadal rivoji uchun asosiy substrat bo'lib yog' kislotalari va tuban spirtlar hisoblanadi, shuning uchun ham bu moddalarni oziqa muhiti tarkibiga kiritilishi, vitamin sintezini kuchaytiradi.

Oziqa muhiti tayyorlash uchun odatda atsetono-butanol ishlab chiqarishidan qolgan bardadan foydalaniladi. Barda tozalanib, unga kobalt xlorid ($4g/m^3$) va 0,5% metanol qo'shiladi. pH-6,5 gacha nordonlashtiriladi va unga 0,20-0,25% sulfit natriy solinadi. Bakteriyalarni sanoat sharoitida o'stirish uchun dastlab ekuv meteriallari (250 $m^3$ hajmli apparatlarda) tayyorlab olinadi (15-20 kun mobaynida), keyin ekuv materiallari temir betondan yasalgan hajmi 4200 $m^3$ bo'lgan fermentyorlarga yuboriladi, mana shu joyda metanli bijg'ish jarayoni o'tadi.

Yangi tayyor bo'lgan barda fermentyor hajmidan 25-30% lik miqdorda har kuni fermentyorni tagiga yuborib turiladi. $B_{12}$ vitamini saqlagan suspenziya fermentyorni tepa qismidan olib turiladi. Ishchi halqa davomida fermentyordagi rN, uchuvchan yog' kislotalarini miqdori, ammoniyli azotni miqdori nazorat qilib turiladi va doimiy ravishda harorat 55-57$^oC$ oralig'ida ushlab turiladi. Bijg'ish jarayonida 65% metan va 30% $CO_2$ dan iborat bo'lgan gaz aralashmasi hosil bo'ladi va u issiqlik manbayi sifatida ishlatilishi mumkin.




**84-rasm**. $B_{12}$-vitamini konsentratini metan hosil qiluvchi aralash kulturalar yordamida olishning texnologik chizmasi (bunda: 1-barda yig‘gich; 2-barda uchun nasos; 3-barda dekantatori; 4-quyiltirilgan bardani yig‘gich; 5-barda dekantatorini yig‘gich; 6-barda dekantatori uchun nasos; 7’-barda dekantatorini sovutish uchun muzlatgich; 8-metanolni yig‘ish uchun ulchamli idish; 9-metanolni me’yorlovchi nasos; 10-kobolt xlorid eritmasini o‘lchovli yig‘gich; 11- kobalt xlorid eritmasini me’yorlovchi nasos; 12-metanli bijg‘ish uchun fermentator; 13-metanli brajka uchun nasos; 14-xlorid kislota uchun o‘lchovli yig‘gich; 15-xlorid kislota uchun me’yorlovchi nasos; 16-natriy sulfid eritmasi uchun o‘lchovli yig‘gich; 17-natriy sulfid uchun me’yorlovchi nasos; 18-metanli brajka, xlorid kislota va natriy sulfidni aralashtirgich; 19-metanli bijg‘ish sharoitida $B_{12}$ vitaminini mu’tadillashtirish uchun ishlatiladigan reaktor; 20-nasos; 21-mu’tadilashtirilgan metanli bijg‘ishda paydo bo‘lgan aralashmani isitgich; 22-metanli bijg‘ishdan chiqadigan gazlarni haydovchi separator; 23-metanli bijg‘ishdan chiqqan aralashmani parlatuvchi apparatga haydovchi nasos; 24- metanli bijg‘ishdagi aralashmani isitgich; 25-parlativ quyultiruvchi; 26-quyiltirilgan aralashmani saqlovchi idish; 27-nasos; 28-quyiltirilgan aralashmani saqlovchi idish; 29-nasos; 30-isitgich; 31-purkab quritgich; 32-purkab qurituvchini halqaonlari; 33-quruq konsentratlar saqlovchi bunker; 34-qoplarga qadaqlash; 35-gazlarni vitamin poroshogdan tozalagich; 36-gazlarni yoquvchi usqurma; 37-gazgolder (bijg‘ishdan chiqadigan gazlarni to‘plovchi idish); 38-suvni gazdan ajratuvchi sovutgich; 39-purkab quritgichni gaz pechkasi)

Fermentatsiya mahsuloti sifatida hosil bo‘lgan tayyor kultural suyuqlik, odatda 2,0-2,5% quruq modda va 1,1–1,7 mg/l $B_{12}$ vitamini saqlaydi. Quritish jarayonida vitamin parchalanib ketmasligi uchun kultural suyuqlik xlorid yoki fosfor kislotasi yordamida vakuumda olib boriladi. Shunday qilib, tayyorlangan kultural suyuqlik, gazsizlantiriladi, vakuum–bug‘lantirgich ustqurmasida quyultirilib, purkagich - quritgichlar yordamida, 5-10% namlik qolguncha quritiladi. Tayyor mahsulotni fizikaviy xususiyatlarini yaxshilash maqsadida, kepak yoki makkajo‘xori uni qo‘shib

aralashtiriladi. 25-30 kg dan polietilen qoplarga solib qoplanadi va qog‘oz qopga solinadi. Tayyor oziqa preparatida $B_{12}$ vitamini eng kamida 2,5 mg % bo‘lishi kerak, preparat 1 yil mobaynida quruq va salqin joyda saqlanadi. Rossiyada chiqadigan preparat KMB–12 deb yuritiladi. Bu preparatda shuningdek, B guruhiga kiruvchi boshqa vitaminlar va almashinmaydigan aminokislotalar ham mavjud.

**Oziqa lipidlari**. Oqsil, karbonsuv va vitaminlardan tashqari qishloq xo‘jaligi hayvonlari oziqalarining ajralmas qismi lipidlar hisoblanadi. Lipidlar tarkibiga to‘yinmagan yog‘ kislotalari kirib ular hayvon organizmida sintez bo‘laolmaydilar, shunday ekan organizmni me’yorida o‘sib, rivojlanishida faol ishtirok etuvchi bu moddalar oziqa tarkibida bo‘lishlari kerak. To‘yinmagan yog‘ kislotalar hujayra membranasini hosil bo‘lishida ishtirok etadilar. Ular yetishmaganda hayvonlarni yetilish tezligi susayadi, ularni reproduktiv xususiyati to‘xtaydi, organizmni infeksiyaga bo‘lgan qarshiligi pasayadi. Qishloq xo‘jalik hayvonlari uchun almashmaydigan yog‘ kislotalarini asosiy manbayi bo‘lib o‘simlik mahsulotlari xizmat qiladilar. Ammo, o‘simliklardan tayyorlangan oziqalar tarkibida yog‘larni miqdori juda ham kam bo‘ladi, bo‘lganda ham ularni yog‘ kislota tarkibi nomuvofiq bo‘lib, oziqani oziqaboplik bahosini tushuradi. Oziqadagi mana shu kamchiliklarni bartaraf qilish uchun almashmaydigan yog‘ kislotalar sintez qiluvchi yangi manbalar axtarib topish, ularni asosida yog‘ kislotalari konsentratlarini tayyorlash va ishlatish biotexnologiyaning asosiy vazifalari jumlasiga kiradi. Tajribalar shuni ko‘rsatadiki, bunday manbalar vazifasini achitqi va mikroskopik zamburug‘lar bajara olar ekan. Bunday mikroorganizmlar odatda hujayra ichida lipid saqlasalarda, ularni orasida sintez bo‘lgan lipid moddalarini hujayra atrofiga-oziqa muhitiga sekretsiya qilganlari ham uchrab turadi. Mikroorganizmlarni ba’zi-bir shtammlarining hujayralarida lipidlar miqdori 25% dan 70% gacha (quruq massa hisobidan) boradi. Ularning 40-90% triatsilglitserinlar (yog‘lar) bo‘lsa, 5-50% esa fosfolipidlar tashkil etadi. Bundan tashqari lipidlar tarkibida asosan ergosterindan iborat steriod moddalar (1,01,5% quruq massadan), ham saqlanadi, ular esa hayvon organizmida $D_2$ vitaminiga aylanadilar. Achitqi va mitselial zamburug‘larning lipid kompopentlarini yog‘ kislota tarkibi asosan muvofiq bo‘lib, ulardan ko‘prog‘ini olein kislotasi (oliy yog‘ kislotalarni 20-50%), linol (50% gacha), linolen (1719%) kislotalari hamda hayvon organizmida qiyin so‘riladigan kislotalar (oksikislotalar, toq sonli uglerod atomi saqlaydigan kislotalar yoki tarqalgan zanjirli kislotalar) tashkil etadi 40-jadval).

Achitqi zamburug‘larni *Rhodotorula*, *Lipomyces*, *Cryptococcus* avlodiga mansub shtammlari ko‘p-roq miqdorda (quruq massadan 50-60%) lipid saqlaydilar. *Candida* avlodiga mansub mikroorganizmlar ozroq (20-40 %) lipid saqlasalarda, tez o‘sib, rivojlanishlari bilan ajralib turadilar. Mikroskopik zamburug‘lar 40-50% gacha oliy navli lipid sintez qilishlari mumkin. Bu lipidlarni yog‘ kislota tarkibi o‘simlik yog‘inikiga o‘xshab ketadi.

Mikroorganizmlar o‘ta faol gidrolitik fermentlar sintez qilganliklari uchun, ular uglerod manbayi sifatida xilma-xil substratlardan o‘simlik chiqindilarini gidrolizatlari, spirt sanoatini chiqindisi bo‘lgan barda, sut zardobi, melassa, g‘allani qayta ishlash muassasalarini chiqindilari, neft uglevodorodlari, past molekulali spirtlar (metanol, etanol)dan foydalana oladi. Azot manbayi sifatida esa, oziqa muhiti tarkibiga achitqi yoki makkajo‘xori ekstrakti, ammoniy tuzlari, mochevinadan

foydalanadilar hamda azot va uglerod munosabatlarini o‘zlari nazorat qilaoladilar, chunki oziqa tarkibida azot miqdori ko‘payib ketsa, mikroorganizm hujayralarida lipidlar sintezi susayadi (C:H = 320-400).

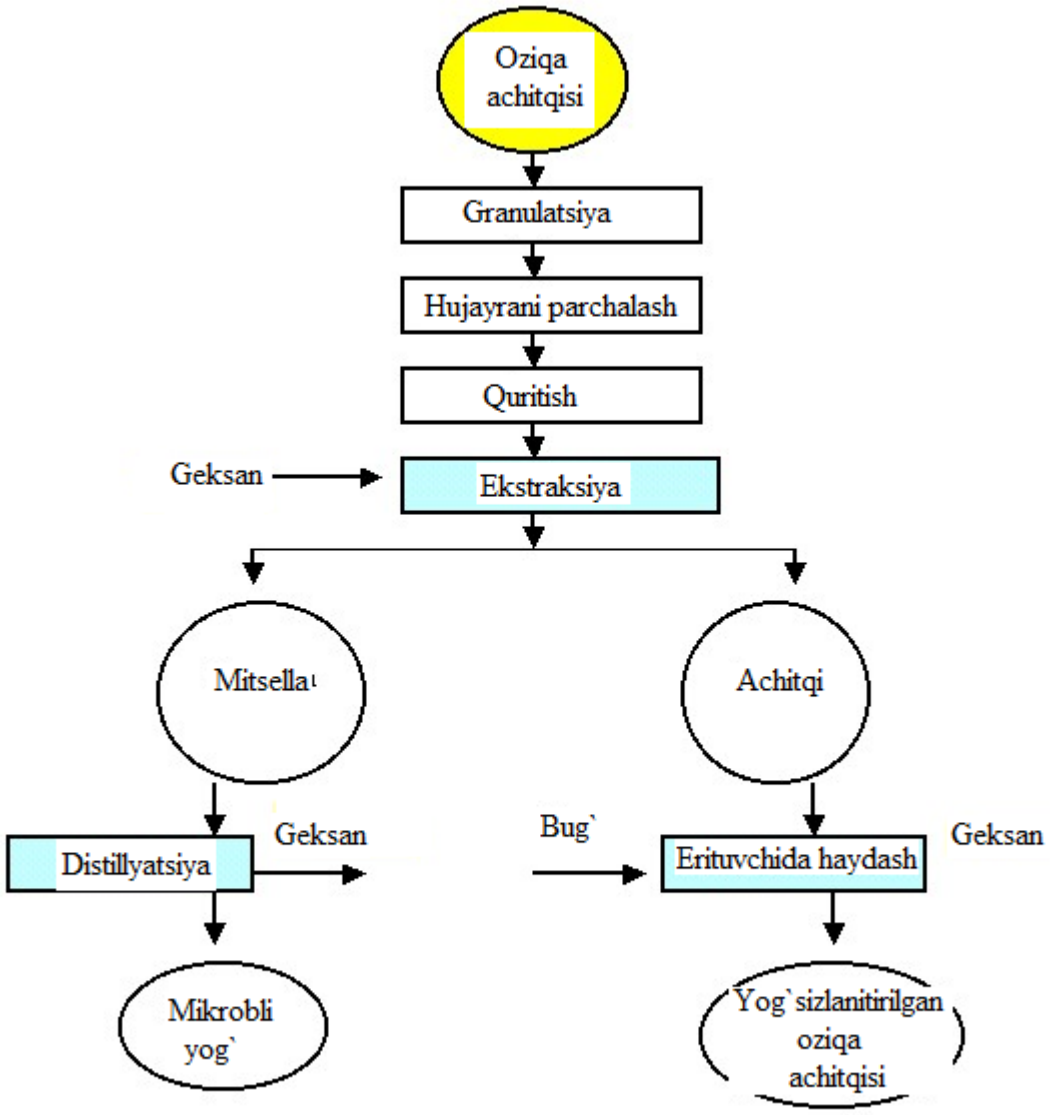
55-jadval

**Ba’zi bir o‘simlik yog‘lari va mikroorganizmlar lipidlarining yog‘ kislota tarkibi** (% hisobida)

| Yog‘ manbayi | Kislotalar | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Miristin | Palmitin | Palmito-olein | Stearin | Olein | Linol | Linolen |
| Oliv yog‘i | - | 10 | - | 1,0 | 82 | 7,0 | - |
| Soya yog‘i | 0,5 | 11 | - | 4,5 | 22 | 53 | 8,0 |
| Kungaboqar yog‘i | 0,5 | 6,5 | - | 3,5 | 23 | 65 | 0,5 |
| Zig‘ir yog‘i | - | 7,0 | - | 14 | 18 | 14 | 47 |
| *Candida Sake* | - | 2-11 | 0,3-4 | 1-4 | 21-92 | 4-23 | 1-17 |
| *Candida Scotti* | - | 0,1-10 | 0,1-1 | 1-4 | 31-49 | 20-39 | 0,1-5 |
| *Candida lipolitica* | - | 11-16 | 6-15 | 1-6 | 24-35 | 31-51 | 0,1-5 |
| *Rhodotorula glutinus* | - | 10-22 | 1-4 | 3-90 | 25-48 | 21-49 | 3-17 |
| *Lipomyces lipoterus* | - | 13-23 | 1-2 | 2-3 | 25-35 | 39-51 | 2-3 |
| *Blakeslea trispora* | 0,1-1 | 16-25 | 0,1-1 | 4-13 | 36-43 | 11-19 | 11-12 |
| *Rhizopus cohnii* | 0,1-2 | 15-33 | 0,1-3 | 5-13 | 34-46 | 15-22 | 3-19 |
| *Trichoderma harzianum* | 0,2-7 | 8-30 | 0,1-1 | 3-7 | 18-37 | 29-52 | 0,1-4 |

Azot va uglerod mambalaridan tashqari oziqa muhiti tarkibiga P, K, Mg, Zn, Fe, Mn, B guruhi vitaminlari, tokoferol va boshqalar qo‘shiladi. Mikroorganizmlarni oziqa muhitida o‘stirish jarayonida dastlab ularni jadal o‘sib, rivojlanishi kuzatiladi va nisbatan ko‘p bo‘lmagan miqdorda lipidlar sintez bo‘ladi. Lipidlarni sintezi mikroorganizmlar o‘sishining statsionar fazasida kuzatiladi. Oziqa lipidi produsentlarini o‘stirilganda past haroratda lipidlar sintezi pasayadi. Lipidlar tarkibida esa to‘yinmagan yog‘ kislotalar miqdori kamayib ketadi. Fermentatsiya jarayonida yaxshiroq aeratsiya berish tavsiya etiladi, chunki uglerodli substratlarni

oksidlanishi uchun ko‘proq kislorod kerak bo‘ladi. Shuningdek, kislorod to‘yinmagan yog‘ kislotalari sintezi uchun ham zarur, shuning uchun ham aeratsiyani jadal turishi almashmaydigan yog‘ kislotalarini sitezini kuchaytiradi. Fermentatsiya tugaganidan keyin, mikrob massasi qolgan substratlardan ajratiladi va oziqa achitqisi tayyorlash texnologiyasiga o‘xshagan sharoitda quritiladi. Mahsulotni fizikaviy xususiyatlarini yaxshilash uchun unga kepak yoki makkajo‘xori uni qo‘shib aralashtiriladi.




**85-rasm**. Lipid olish texnologiyasining chizmasi

Oziqa lipidi ishlab chiqarish bilan bir qatorda, mikroorganizmlarni fermentatsiya qilish asosida mikrob preparatlarini kompleksini tayyorlash texnologiyasi ham yaratilgan. Bu texnologiyaga asosan bir vaqtni o‘zida oqsil, lipid, karotinoidlar va boshqa oziqa moddalariga boy bo‘lgan mahsulot tayyorlanadi va hayvonlarni asosiy oziqasiga qo‘shimcha sifatida ishlatiladi. Masalan, parrandalarning oziqa ratsioniga *Lipomyces lipoterus* nomli achitqi zamburug‘idan olingan, tarkibida 18-20% oqsil va 27-29% lipid saqlagan mahsulotni hamda *Blakeslea trispora* zamburug‘i biomassasini (tarkibida 30% oqsil va 28% lipid

saqlagan) qo‘shib ishlatilganda juda katta samara olingan. Shuni ham aytib o‘tish kerakki, mikroorganizmlar lipidlari nafaqat hayvon oziqasi sifatida balki o‘simlik yog‘larini almashtiruvchi sifatida texnik ehtiyojlar uchun (lak-bo‘yoq, kimyo sanoati, mikrobiologiya sanoatida) ham ishlatilishi mumkin. Chunki dunyoda ishlab chiqariladigan o‘simlik yog‘ini qarayib 20% texnik ehtiyojlar uchun sarf bo‘ladi.

**Fermentli oziqa preparatlari.** Zamonaviy biotexnologiyaning yo‘nalishlaridan biri - mikroorganizmlarni o‘stirish asosida ferment preparatlari ishlab chiqarishdir. Chunki ular qishloq xo‘jaligida hayvonlarga oziqalar tayyorlashda, oziqalarga qo‘shimchalar sifatida va hayvonlarni ba’zi-bir xastaliklardan davolashda ham ishlatilishi mumkin (oshqozon-ichak va parazitar kasalliklarni oldini olish va davolash maqsadida fermentlardan foydalaniladi). Qishloq xo‘jalik hayvonlari oziqasini asosi o‘simlik mahsulotlari (don, silos, hashak, somon) juda ko‘p miqdorda qiyin hazm bo‘ladigan moddalar – klechatka, lignin, gemitsellyuloza saqlaydilar. Hatto kavsh qaytaruvchi hayvonlarni oshqozon oldi qismida faol sellyuloza parchalaydigan mikroorganizmlar to‘plangan bo‘lishiga qaramasdan, klechatkani 40-65% parchalanadi, xolos. O‘simlik oqsillari ham to‘lig‘icha parchalanmaydi (60-80%), lipidlar (60-70%), kraxmal va polifruktozidlar (70-80%), pektin moddalar ham kam miqdorda parchalanadilar, xolos.

O‘simliklardan tayyorlangan oziqani organizmda so‘rilishini va ishlatish samaradorligini oshirish maqsadida, qishloq xo‘jalik hayvonlari oziqa ratsionlariga 0,1-1,5% hisobidan mikroorganizmlardan olingan gidrolitik fermentlar preparatlari aralashtirib ishlatiladi. Mikrob ferment preparatlari odatda bakteriyalardan yoki mikroskopik zamburug‘lardan olinadi. Bakteriyalarni ba’zi bir turlari (masalan, *Bac.subtillis*) gidrolitik fermentlarni oziqa muhitiga chiqaradilar (sekretsiya), shuning uchun ham ularni fermentlarini kultural suyuqlikni quyultirish va maxsus uskunalarda quritish orqali tayyorlanadi. Agar ferment manbayi bo‘lib mikroskopik zamburug‘lar (*Aspergillus, Trichoderma, Fusarium*) xizmat qilsa, ularni quruq oziqa muhitida yuzaki ekilib, ferment preparatlari o‘sib chiqqan mikroorganizmni yig‘ib olib quritish orqali tayyorlanadi.

Tozalangan fermentlar esa mikroorganizmlar hujayralaridan ekstraksiya qilib olish va etanol yoki boshqa organik erituvchilar (izopropanol, atseton) yordamida cho‘ktirib, quritish orqali tayyorlanadi. Yirik shoxli hayvonlarning oziqa ratsionida ko‘proq kletchatka, pentozanlar, pektin moddalariga boy bo‘lgan mahsulotlar ishlatiladi. Ular mollarni xalqumidagi mikroorganizmlar yordamida sekin parchalanadilar va boshqa oziqa moddalarini organizmga so‘rilishini pasaytiradilar.

Bu moddalarni so‘rilishi oziqa ratsioniga tegishli ferment preparatlarini qo‘shib ishlatilganda tezlashadi. Bunday hollarda nafaqat hayvonlarni umumiy mahsuldorligi oshadi, shuning bilan birga hayvon mahsulotlarini bitta birligi uchun sarf bo‘ladigan oziqa miqdori ham 8-10% ga kamayadi.

Ferment preparatlaridan foydalanish ayniqsa qishloq-xo‘jalik hayvonlarini bolalarini oziqlantirishda ishlatilganda katta samara beradi. Ma’lumki, buzoqlarda xalqum 2-3 oylikda paydo bo‘ladi, shuning uchun ham yoshroq buzoqlar qattiq oziqa mahsulotlarini (somon, tikon, o‘tlar) hazm qilishga qiynaladilar.

46-jadval

**Qishloq xo‘jaligida ishlatiladigan eng muhim ferment preparatlar**

| Nomi* | Ishlatilish sohasi |
|---|---|
| Amilosubtilin GZx | Qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalar oziqa ratsioniga qo‘shimcha, fermentativ gidrolizatlar tayyorlash; oshqozon va parazitar kasalliklarni oldini olish va davolash |
| Protosubtilin GZx | Qishloq xo‘jalik hayvonlari, parrandalar, baliqlar ratsioniga qo‘shimcha; fermentativ gidrolizatlar tayyorlash; oshqozon va parazitar kasalliklarni oldini olish va davolash |
| Glyukovamorin Px | Buzoqlar, qo‘zilar, cho‘chqa bolalari oziqasiga qo‘shimcha, kartoshka, dukkakli o‘simliklar, somon va boshqa o‘simliklarni siloslash |
| Glyukovamorin P10x | Yirik shoxli hayvonlar va cho‘chqa bolalarini oziqa ratsioniga qo‘shimcha |
| Pektofoetidin GZx | Qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalarni oziqa ratsioniga qo‘shimcha, o‘simliklardan silos tayyorlash. |
| Pektofoetidin P10x | Achitqi zamburug‘larini gidrolizlash |
| Amilorizin PZx | Buzoqlar va cho‘chqa bolalarini oziqa ratsioniga qo‘shimcha; kartoshkadan silos tayyorlash |
| Drojjelitin GZx | Ferment gidrolizati tayyorlash |
| Selloviridin GZx | Yirik shoxli hayvonlar va parrandalar oziqa ratsioniga qo‘shimcha; o‘simlik chiqindilari gidrolizi. o‘simliklardan silos tayyorlash |
| Glikozidaza GZx | Qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalar oziqa ratsioniga qo‘shimcha; ferment gidrolizatlari tayyorlash |
| Lizosubtilin G10x | Ferment gidrolizatlari tayyorlash; yirik shoxli hayvonlarni parazitar kasalliklarini oldini olish va davolash |
| Protezim GZx | Cho‘chqalar va parrandalar ratsioniga qo‘shimcha |
| Lizotsellyulozin G10x | Achitqi zamburug‘lari biomassini va o‘simlik mahsulotlarni gidroliz qilish; parrandalar oziqa ratsioniga qo‘shimcha |
| Lizogrizein G10x | Achitqi zamburug‘lariva o‘simlik chiqindilarni gidroliz qilish |
| Maltavamorin G10x | O‘simlik chiqindilarini gidroliz qilish |

| | |
|---|---|
| Sellolignorin Px | O‘simlik chiqindilarini gidroliz qilish; somon va dukkakli o‘simliklar o‘tlaridan silos tayyorlash |
| Sellokandin GZx | O‘simlik chiqindilarini gidroliz qilish; somon va dukkakli o‘simliklarni |
| Lizotsim GZx | Qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalar oziqa ratsioniga qo‘shimcha; parazitar kasalliklarni oldini olish va davolash |

***Izoh***. *-P-yuzaki, quruq oziqa muhitida ekilib, olingan fermentlar (P-yuza qismda); G-suyuq oziqa muhitida, fermentyorlarda ekib olingan fermentlar. 3 yoki 10-raqamlari fermentlarni tozalik koeffitsiyent (3-quruq ferment preparati; 10-tozalangan ferment preparati) lari.

Shuning uchun ham sutni o‘simlik oziqasi bilan almashtirilganda buzoqlarni ratsioniga pektofoetidin P10x yoki G3x (pektin parchalaydigan ferment), amilosubtilin G3x (kraxmal parchalovchi fermenti), protosubtillin G3x (oqsil parchalovchi ferment) qo‘shib ishlatilganda buzoqlar sog‘lom o‘sib, tez yetiladi. Cho‘chqa bolalarida (sut emadiganlarida), oshqozon ichak yo‘llarini ferment tizimi, ular 3-4 oylik bo‘lgandagina me’yorida ishlay boshlaydi, shuning uchun ham yosh cho‘chqa bolalari ratsioniga ferment preparatlari aralashtirib ishlatish tavsiya etiladi. Ko‘proq protezim G3x preparati ishlatiladi. Qo‘zilarni oziqlanishi yaxshi bo‘lishi uchun ularni oziqa ratsioniga glyukavamorin Px va amilorizin Px qo‘shib ishlatish tavsiya etilgan va bunda qo‘zilarni og‘irligi 11-15% ga oshganligi kuzatilgan. Parrandalarni oziqlantiruvchi bezlari, kletchatka va pektin moddalarini parchalovchi fermentlar ishlab chiqarmaydilar, ularni ichagidagi mikroflora esa unchalik ko‘p emas, shuning uchun ham ularni oziqa ratsioniga pektin, oqsil, sellyuloza–kletchatkalarni parchalaydigan fermentlarni qo‘shib ishlatish tavsiya etilgan. Ferment ishlatilgan tovuq fermalarida tuxum qo‘yish 5% ga, broylerlarni semirishi 7-15% ga oshganligi va mahsulot birligini hisobga olganda oziqa miqdori 4-7% ga kamayganligi kuzatilgan. Ferment preparatlari baliq boqishga ham qo‘l keladi. Baliqlarni oziqa ratsioniga protosubtillin G3x, amilosubtillin G3x, pektavamorin Px preparatlaridan 0,1-0,15% miqdorda qo‘shib ishlatilganda, oqsil moddalarni va oziqa tarkibidagi boshqa biopolimerlarni so‘rilishi yaxshilanadi. Shuningdek, ferment preparatlari oziqa ishlab-chiqarishda, ko‘proq makkajo‘xori, somon, yontoq va boshqa o‘simliklardan silos tayyorlashda ham keng ishlatiladi. Fermentlar qo‘shilib tayyorlangan silosni oziqa birligi 15-18% oshganligi kuzatilgan. Somon tarkibida katta miqdorda qiyin so‘riladigan moddalar (sellyuloza, ksilan, lignin) va juda ham kam miqdorda oqsil bo‘ladi. Somonda sut achituvchi bakteriyalarni rivojlanishi uchun zarur bo‘lgan eruvchan karbonsuvlar deyarli yo‘q. Shuning uchun ham somondan silos tayyorlashda selloviridin G3x, sellolignorin Px, sellokandin G3x, pektavamorin Px ishlatish tavsiya etiladi. Bu fermentlarni ta’sirida siloslanadigan massada karbon suvlarni miqdori ko‘payadi, ularni iste’mol qilib, rivojlangan mikroorganizmlar hisobidan oqsil miqdori 50% gacha ortadi. Somon konsentratlari tayyorlash uchun Rossiyada ikki xil ferment preparatlari: pektofoetidin G3x va glyukavamorin Px ning aralashmalaridan foydalaniladi. Bu fermentlar polisaxaridlarni parchalanishini ta’minlab beradilar. Keyin parchalangan mahsulotda achitqi zamburug‘lari o‘stiriladi. Achitqi zamburug‘larini yaxshi o‘sib, rivojlanishini

ta’minlash uchun konsentratga melassa, mochevina, kalsiy monofosfat, osh tuzi hamda kerakli miqdorda suv qo‘shiladi. Mana shunday usulda tayyorlangan oziqa silosga o‘xshasada, oziqa bahosi bo‘yicha yaxshi bedadan kam bo‘lmaydi. Somon konsentratlari granula holida olinishi mumkin va oziqa xususiyatini bir yil mobaynida buzilmasdan saqlab turaoladi. Bunday oziqadagi kletchatkani so‘rilishi 75-80% oshib, undagi oqsil miqdori quruq massaga nisbatan 10-12% ni tashkil etadi.

Ferment preparatlari buzoqlar uchun tabiiy sutni o‘rnini bosadigan mahsulot tayyorlashda ham ishlatiladi. Buning uchun oziqa achitqisi fermentativ gidroliz qilinadi, bunda achitqining hujayra qobig‘i yorilib, mikrob biomassasi oson so‘riladigan shaklga o‘tadi, eruvchan karbonsuvlarni, almashinmaydigan aminokislotalar va yog‘ kislotalarini miqdori oshadi. Bu texnologiyada pektofoetidin G3x, drojjelitin G3x, lizosubtillin G10x lardan foydalaniladi. Mikrob fermentlari veterinariyada, qishloq xo‘jalik hayvonlari va parrandalarni ba’zi bir kasalliklarini davolash va diagnostika qilish uchun ham ishlatiladi. Masalan, hujayra qobig‘ini buzaoladigan va lizis qilish imkoniyatlariga ega bo‘lgan ferment preparatlari hayvonlarning bakterial va boshqa kasalliklarini, parrandalarda (solmonelyoz va populloro, qoramollarda endometritlar va h.k.) davolashda ishlatiladi. Bu maqsad uchun sanoatda ishlab chiqariladigan fermentlar: lizotsim G3x, glikozidaza G3x, lizosubtilin G10x, maltavamorin G10x, drojjelitin G3x lar ishlatiladi. Amilosubtillin G3x va protosubtillin G3x hayvonlarni oshqozon – ichak yo‘lidagi bakteriyalarni reduksion xususiyatlariga, infuzoriylarni soniga va ularni harakatlanishiga, sellyuloza va boshqa qiyin parchalanadigan karbonsuvlarni so‘rilishiga ta’sir ko‘rsatishini e’tiborga olib, ularni hayvonlarni oshqozon – ichak kasalliklarini davolash va bu kasalliklarni oldini olish uchun ishlatiladi. Bu ferment preparatlari, shuningdek, gelmintlarni urug‘ini qobig‘ini parchalash xususiyatiga ham egadirlar.

Mikrob ferment preparatlarini ishlab-chiqarishdan tashqari oshqozon – ichak yo‘lidagi simbiozda yashovchi tirik mikroorganizmlar asosida biopreparatlar tayyorlash texnologiyasi ham yaratilgan. Bu mikroorganizmlar o‘zlaridan har xil vitaminlar, almashinmaydigan aminokislotalar, antibiotiklar, gormonal xususiyatga ega bo‘lgan moddalar sintez qilib chiqaradilar va shu orqali ovqat hazm bo‘lish, hayvonlar hujayralarida sintez bo‘laolmaydigan moddalar sintezi jarayonlariga ijobiy ta’sir ko‘rsatib, hayvonlarni yuqumli mikroblardan himoya qiladilar. Chorvachilikda keng ishlatiladigan mana shunday preparatlardan propiovit (propion achituvchi bakteriyalar) va propiatsid (atsidofil bakteriyalar) hamda azotsid (azotobakterlar) larni misol qilib ko‘rsatish mumkin. Propiovit - qumrangli kukun, 1g preparat 4-6 mlrd. bakteriya va 80100 mkg $B_{12}$ vitamini saqlaydi. Buzoqlarda, cho‘chqa bolalari va jo‘jalarda oshqozon – ichak kasalliklarini davolashda ishlatiladi. Propiovitdan foydalanganda hayvonlarni rivojlanishi me’yoriga tushib, ularni yuqumli kasalliklarga chidamliligi oshadi.

Propitsid va azototsid – hayvonlarni oshqozon – ichak yo‘lida kerakli biotsenoz hosil bo‘lishiga xizmat qiladi, ayniqsa disbakterioz kasalliklariga qarshi samarali biopreparatlardir. Bakteriyalar chaqiradigan oshqozon–ichak kasalliklariga qarshi ishlatiladigan bakterial preparatlar quyidagilar asosida tayyorlanadi: *Bac.subtillis, B.licheniformis, B.mucilaginosis*. Bu turga mansub bakteriyalar fermentlar, vitaminlar, antibiotiklar va gormonlar sintez qilish imkoniyatiga egadirlar.

Biotexnologiya sohasida faoliyat ko‘rsatadigan olimlar va mutaxassislar oldilariga qo‘yilgan muhim vazifalardan biri – hayvonlarni oshqozon – ichak yo‘lining ekotizimida yashay oladigan, sellyuloza va boshqa o‘simlik polimerlarini parchalay oladigan, almashinmaydigan aminokislotalar va vitaminlarni yuqori darajada sintez qilaoladigan mikroorganizmlarni hosildor shtammlarini yaratish va ularni chorvachilik amaliyotiga tadbiq etishdir. Shuningdek, kovush qaytaradigan hayvonlarni xalqumidagi mikroflorani chuqurroq o‘rganish (xalqumda–oziqa 70-80% gacha parchalanadi) bu mikroflorani hayvon organizmiga foyda keltiradigan yo‘nalishda kengaytirish, ularni faolligini bir me’yorda ushlab turish jarayonlarini boshqarishdan iboratdir. Xalqum – bu anaerob mikroorganizmlarni to‘xtovsiz o‘stirishning tabiiy va yuqori faollikga ega bo‘lgan tizimidir. Xalqumda bakteriyalardan – *Ruminococcus, Bacteroides, Butyrivibrio, Clostridium, Eubacterium* va boshqalar; shuningdek, eng sodda hayvonlardan – *Diplodinium, Entodinium, Ophryoscolex, Jsotricha* va boshqalar uchraydilar. Xalqumni shilimshiq qavati o‘zining fermentini hosil qilmaydi, shuning uchun ham ovqat hazm bo‘lish to‘lig‘icha mikroorganizmlar fermentlari tomonidan amalga oshiriladi. Mana shu mikroorganizmlarning hayot faoliyati tufayli, kovush qaytaruvchi hayvonlarni oziqasida bo‘lgan deyarli barcha biopolimerlar (murakkab karbon suvlar kraxmal, pektin moddalari, gemitsellyulozalar, kletchatka, disaxaridlar), oqsil va lipidlar parchalanadilar, monosaxaridlar esa (glyukoza, fruktoza, mannoza) bijg‘iydilar. Murakkab moddalarni gidrolizida paydo bo‘lgan monosaxaridlar, aminokislotalar, va yog‘ kislotalar hayvonlar tomonidan energiya manbayi sifatida va biosintez jarayonlarida sarflanadi. Mikroorganizmlarni o‘zlari ham, nobud bo‘lganlaridan keyin xalqumda qayta ishlanadi va hayvonlar uchun sifatli oqsil, almashinmaydigan aminokislotalar, to‘yinmagan yog kislotalari, vitaminlar manbayi bo‘lib xizmat qiladilar. Mikroorganizmlarni hosildor shtammlarini va hayvonlarni oshqozon – ichak yo‘li ekotizimini yaratishda odatdagi seleksiya hamda zamonaviy gen muhandisligi va hujayra biotexnologiyasi usullaridan, mutagenez, klonlash usullaridan keng foydalanilmoqda. Bu usullardan foydalanish hayvonlar oshqozon–ichak yo‘li ekotizimini maqsadga yo‘naltirilgan holatda o‘zgartirish, oziqa moddalarni so‘rilishini yaxshilash, foydali moddalar sintezini kuchaytirish, patogen mikroorganizmlarni o‘sib, ko‘payishini oldini olish imkoniyatlarini yaratadi.

**Oziq-ovqat sanoatida biotexnologiyaning ishlatilish me’yorlari.** Mikroorganizmlar yordamida olinadigan oziqa mahsulotlarining doirasi juda keng: qadim zamonlardan beri ishlatilib kelinayotgan, bijg‘ish jarayonining maxsuli bo‘lgan non, qatiq, vino va pivodan boshlab, to oziq-ovqat sanoatining eng yangi mahsuloti – zamburug‘ oqsili mikoproteinlargacha. Bu sohada mikroorganizmlarning ahamiyati xilma-xil bo‘lib, ular sintez qiladigan fermentlar yoki boshqa metabolitlardan foydalanish; mikroorganizmlar yordamida oziqa mahsulotlarini bijg‘itish; hattoki, ba’zi bir mikroorganizmlarni iste’mol uchun o‘stirish.

Oziq-ovqat sanoatida biotexnologik jarayonlarni amalga oshirish uchun mikroorganizmlarning tozalangan shtammlari qatori, mahsulotning o‘zida bo‘lgan yovvoyi turlari ham ma’lum sharoitga tushganlarida (oziqa muhiti, o‘sib-ko‘payish

sharoitlari) tez o‘sib ko‘payadilar. Bu usuldan ayniqsa, qadimdan ma’lum bo‘lgan, an’anaviy biotexnologik jarayonlarni amalga oshirish uchun keng foydalaniladi. Sanoat sharoitida mahsulot ishlab chiqarishda bu jarayonlar qattiq nazorat ostida olib boriladi. Yaqinlargacha biotexnologiya, oziq-ovqat sanoatida yaratilgan jarayonlarni yaxshilash, mahsulot sifatini ko‘tarish maqsadida mikroorganizmlardan oqilona foydalanish uchungina ishlatilib kelingan. Ammo, kelajak genetik usullardan foydalanib, maqsadga to‘la javob beraoladigan mikroorganizmlarning maxsus shtammlarini yaratish bilan bog‘liq. Bijg‘ish jarayonining yangi usullari va texnologiyalarini hayotga tadbiq etish, vitaminlar, aminokislotalar, to‘yinmagan yog‘ kislotalari, prostoglandinlar va inson salomatligi yo‘lida xizmat qilaoladigan boshqa birikmalarni ham sintez qila oladigan mikroorganizmlarning transgen shakllarini yaratish, zamonaviy biotexnologiyaning asosiy vazifalaridan hisoblanadi. Mana shu yo‘l orqali ishlab chiqarishdagi mahsulotlarning sifatini yaxshilash, ularning chiqimini kamaytirish, yangi va xilma xil ishlab chiqarish sohalarining yaratilishiga ham erishildi. Mutaxassislarning fikrlariga ko‘ra, oziq-ovqat sanoatida ishlatiladigan mahsulotlarning 75% dan ko‘prog‘i biotexnologiya asosida ishlab chiqariladigan bo‘lsada, uning ta’siri 25-30 yil muqaddam erishilgan darajadan ko‘tarilgani yo‘q. Bunga sabab nima - degan haqli savol tug‘iladi.

Birinchidan – hozirgacha oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarish og‘ir, qo‘l kuchini ko‘p talab qiluvchi, texnologik darajasi past bo‘lgan sohaligicha qolib kelmoqda. Ko‘pchilik ishlab chiqarish jarayonlari, kulinariya usullari nusxalarini ko‘paytirishdan boshqa narsa emas. Bu sohani asoslarini o‘rganuvchi fanning rivoji maqsadga javob beradigan holatda emas, shu sababli jarayonlarning mohiyati oxirigacha o‘rganilmagan.

Ikkinchidan – oziq-ovqat mahsulotlarini katta miqdorda ishlab chiqarishda biotexnologiyadan foydalanish iqtisodiy kam samara beradigan soha. Shuning uchun ham, ishlab chiqarishni kengaytirish, mahsulotlar xavfsizligini aniqlash usullari va boshqa biotexnologik jarayonlarni va mahsulotlarning raqobat bardoshliligini oshirishga mablag‘ ajratishga imkon beraolmaydi.

Uchinchidan – oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqarishni modernizatsiya qilish (zamonaviylashtirish) yo‘lidagi bosh nizom ikkinchi darajali biologik faol moddalar chaqiradigan keraksiz o‘zgarishlarni kamaytirish yoki butunlay yo‘qotish bilan bog‘liq.

Bugungi kunda bunday jarayonlarni yoritish uchun “salbiy biotexnologiya” degan atama ishlatiladi. Mutaxassislarning fikrlariga ko‘ra, yaqin kelajakda oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishning yangi texnologiyalarini yaratilishida, albatta zararsizligini aniqlash masalalari qo‘shiladi. Bundan tashqari, mahsulotni ishonchli manbayi bo‘lmog‘i va uning narxi imkoniyatlar darajasida bo‘lmog‘i lozim.

## 22§. BAKTERIAL O‘G‘ITLAR ISHLAB CHIQARISH TEXNOLOGIYASI

Tuproqlarda mavjud bo‘lgan mikroflora uning unumdorligiga bevosita o‘z ta’sirini ko‘rsatadi va demak qishloq xo‘jalik ekinlarining hosildorligiga ham ta’sir ko‘rsatadi. Tuproq mikroorganizmlari o‘sish va rivojlanish jarayonlarida tuproqning strukturasini yaxshilashda, oziqa moddalarini to‘planishida, har xil organik va

anorganik birikmalarning mineralizatsiyalanishida faol ishtirok etadi. Xususan, azot va fosfor birikmalarini almashinishida faol ishtirok etib, ularni o‘simlik tomonidan osongina o‘zlashtiriladigan oziqa komponentiga aylantiradi. Tuproq mikroflorasini stimullash maqsadida har xil bakterial o‘g‘itlardan foydalaniladi, ular o‘simlik rizosferasini foydali mikroorganizmlar bilan boyitadi.

Qishloq xo‘jalik amaliyotida qo‘llaniladigan bakterial o‘g‘itlar jumlasiga nitragin, azotobakterin va fosforobakterinlarni kiritish mumkin bo‘ladi.

**Quruq nitraginni ajratib olish texnologiyasi**. Nitragin *Rhizobium* avlodiga mansub bo‘lgan tuganak bakteriyalarning hayotiy faoliyati asosida tayyorlanadigan bakterial o‘g‘it hisoblanadi va no‘xat, loviya, soya, yem-oziqa dukkaklilari, yo‘ng‘ichka kabi dukkakli o‘simliklarini hosildorligini oshirishda qo‘llaniladi.

*Rhizobium* avlodi bakteriyalari dukkakli o‘simliklar bilan simbioz yashab atmosferadagi erkin azotni o‘simlik tomonidan yengil o‘zlashtiriladigan birikmaga aylantiradi. Bu bakteriyalar qat’iy ravishda aerob bakteriyalar hisoblanadi. Bu avlod vakillari orasida faol, kam faol va nofaol xillari mavjud. Atmosfera azotini fiksatsiyalash faqat dukkakli o‘simliklarning ildiz tizimi tuganaklarida yuz berishi mumkin. Tuganaklarning hosil bo‘lishi dukkakli o‘simliklarning ildiz tizimini Rhizobium avlodi vakillari tomonidan infisirlanishi tufayli sodir bo‘ladi. Ildiz tizimini zararlanishi faqat yosh ildiz tuklari orqali bo‘lib o‘tadi, bakteriya unga kirib olganidan keyin uning o‘zagigacha infeksion ip tarzida cho‘ziladi. Cho‘zilgan ipchalar epidermis devorlari orqali ildizning po‘stigacha etib borib tarmoqlanadi va po‘st hujayralari bo‘ylab taqsimlanadi. Bunda xo‘jayinning hujayralarini bo‘linishi va to‘qimalarning o‘sishi indusirlanadi. Xo‘jayin-o‘simlikning ildizini bakteriyalar lokalizasiyalangan joyida tuganaklar hosil bo‘ladi, u yerda ular juda tez ko‘payadi va alohida-alohida tarzda yoki guruh-guruh bo‘lib o‘simlik hujayrasini protoplazmasida joylashadi. Bakterial hujayralarning o‘zlari hajm jihatidan 10-12 marta kattalashadi va shaklini o‘zgartiradi. Agar bu xildagi tuganaklar tarkibida legoglobin pigmenti (hayvonlarning qonini gemoglobinini analogi) ning mavjudligi tufayli qizg‘ich yoki gulobi rangli bo‘lsa, ular molekulyar azotni fiksatsiyalash qobiliyatiga ega bo‘ladi. Bo‘yalmagan (“puch”) yoki yashilroq bo‘yoqli tuganaklar azotni fiksatsiyalay olmaydi. Tuganak ichida joylashgan bakteriyalar nitrogenaza faolligiga ega bo‘lgan ferment tizimini sintezlaydi, u molekulyar azotni ammiakgacha qaytarish qobiliyatiga ega bo‘ladi. Ammiak asosan qator fermentativ almashinuvlar yo‘li bilan keyinchalik oqsillar biosintezi uchun sarflanadigan glutamin va glutamin kislotaga assimilyatsiyalanadi. Tuganakli bakteriyalarni tavsiflashda ularning faolligidan tashqari virulentlik ko‘rsatkichini ham e’tiborga olinadi. Bu narsa mikroorganizmning dukkakli o‘simlik bilan simbioz munosabatga kirishishi, ya’ni ildizning tuklari ichiga kirib olib, tuganak hosil qilishini tavsiflaydi. Bu xilda bakteriyaning ildiz tuklari ichiga kirib borishining tezligi muhim ahamiyatga ega. O‘simlik Rhizobium ning o‘zaro bir-biriga simbiotik yaqinligi simbiotik kompleksning unumliligini bildiradi. O‘simlik bakteriyalarni kerakli oziqa moddalari bilan ta’minlaydi va ularni yashashi uchun optimal sharoit yaratadi. Bakteriyalar esa, tuganak ichida joylashib o‘simlikni azotli oziqlanishini ta’minlaydi. O‘simlik ham, bakteriya ham o‘z-o‘zidan azotni fiksatsiyalay olmaydi. Virulentlik deganda

mikroorganizmning muayyan o‘simlik turiga nisbatan tanlov qobiliyati tushiniladi. Shuning uchun *Rhizobium* avlodini zamonaviy tasniflashda o‘simlik-xo‘jayinni e’tiborga olish lozim bo‘ladi, xususan: *Rh. phaseoli*-loviya uchun; *Rh. vigna-mais*, yer-yong‘oq uchun; *Rh.lupini-lyupin* (bo‘ridukkak) uchun maxsus bo‘lgan bakteriyalar turlari hisoblanadi. Bakterial o‘g‘itlar tayyorlash ishlab chiqarishini tashkil qilishda asosiy vazifa - tuganakli bakteriyalar negizida hayotiy ko‘rsatkichi yuqori bo‘lgan, texnologik jarayonning barcha bosqichlarida hayotiy ko‘rsatkichlarini saqlaydigan, uzoq muddat davomida faolligini yo‘qotmaydigan bakteriya turlarini ko‘paytirish hisoblanadi. Ikki xil nitraginni ajratib olish yo‘lga qo‘yilgan, ular: tuproq va quruq nitragenlaridir. Tuproq nitrogeni - bu sterilizatsiyalangan tuproqda o‘stirilgan tuganakli bakteriyalar hisoblanadi. Bu preparatning 1 g da 0,3 mlrd. hayotchan bakteriya hujayralari bo‘ladi. Uni ajratib olish texnologiyasi murakkab va ancha qiyin amalga oshiriladigan jarayon hisoblanadi. Quruq nitragin unga qo‘shimcha (bentonit, kaolin, bo‘r) qo‘shilgan holda oq-kulrang yoki jigarrang kukun bo‘lib, uning 1 g ni tarkibida 9 mlrd dan ziyod hayotchan bakteriya hujayralari bo‘ladi. Kukun tarkibidagi namlikning miqdori 5-7 % dan oshmaydi.

Nitraginni sanoat miqyosida ishlab chiqarilishi mikrobiologik korxonaning aseptik sxemasi asosida amalga oshiriladi. Tirik hujayra shtammlarini ishlab chiqarishning eng “tor” jihati, uni quritish muammosini hal qilish bilan bog‘liq bo‘lganligi sababli, har gal foydalaniladigan shtammlarni baholashda, ularning mahsuldorligini inobatga olish bilan birga, haroratli ta’sirga nisbatan chidamliligini ham hisobga olish talab qilinadi. Ekish materialini olish uchun tuganakli bakteriyani dastlabki namunasini oldin tarkibida, masalan, dukkakli o‘simliklarning urug‘ini qaynatmasi, 2 % agar va 1 % saxaroza bo‘lgan agarlashtirilgan muhitda o‘stiriladi, keyin hosil bo‘lgan mikrobli aralashmani kolbada suyuq oziqa muhitida 1-2 kun davomida 28-30$^{o}$C va pH 6,5-7,5 bo‘lgan sharoitda ko‘paytiriladi. Sanoat ishlab chiqarishini hamma bosqichlarida bir xil tarkibli oziqa muhitidan foydalaniladi, uning tarkibida: qand lavlagisi qoldiqlari, makkajo‘xori ekstrakti, ammoniy va magniy sulfatlar, natriy xlorid, ikki almashingan kaliy fosfat bo‘ladi. Tayyor bo‘lgan ekish materialini 1 ml ni tarkibida 10 mlrd hujayra bo‘lib, undan oziqa muhitini 3-5 % hajmida ekish apparatiga ko‘chiriladi va yuqorida keltirilgan haroratda, doimo aralashtirish hamda aeratsiyalash (1 minutda 1 hajm muhitga 1 hajm havo yuborish) sharoitida o‘stirib ko‘paytirishni davom ettiriladi. Agar 1 kun o‘tgandan keyin ekish materialining titri 1ml hisobiga 2 mlrd ga etsa, o‘stirishni to‘xtatiladi, hosil bo‘lgan ekish materialini muhit hajmiga nisbatan 3-5 % hajmda fermentyorga o‘tkaziladi. Asosiy fermentatsiyani 2-3 kun o‘sha harorat, o‘sha muhitning pH ko‘rsatkichida, lekin havo oqimining biroz yuqori ko‘rsatkichida (1 minutda 1 hajm muhitga 1,3 hajm havo yuborish) amalga oshiriladi. Jarayonning oxirida hujayralarning titri 1 ml muhitda 10 mlrd ga yetadi. Tayyor mikrobli aralashmani separatsiyalanadi, bunda pastasimon biomassa hosil bo‘ladi, uning namligi 70-80 % ni tashkil qiladi. Biomassaga tarkibi qand lavlagisi qoldiqlari va tiomochevina (20:1 nisbatda) dan iborat bo‘lgan himoya muhiti qo‘shib aralashtiriladi va quritish uchun yo‘naltiriladi. Quritish jarayoni vakuum-quritkichda 30-35 0C da amalga oshiriladi. Quritilgan biomassa maydalanadi, unda shtamm hujayralari titri 1 g hisobiga 10 mlrd ni tashkil

qiladi. Nitraginning quruq preparatlarini 0,2-1 kg hisobida polietilen xaltachalarga qadoqlanadi va germentizatsiyalanadi, 15 0C da 6 oygacha saqlanadi. Nitragin preparatini fosforli-kaliyli va organik o‘g‘itlar fonida qo‘llaniladi, chunki bunda tuganakli bakteriyalarning faolligi oshadi. Nitragin dukkakli o‘simliklarning hosildorligini 15-25 % ga oshiradi, bu ekinlar birinchi bor ekiladigan xududlarda esa 100 % ga oshiradi. Nitraginni ekishdan oldin urug‘larga preparatning quruq kukunini sepib keyin ekiladi.

**Quruq azotobakterinni ajratib olish texnologiyasi**. Azotobakterin - bakterial o‘g‘it bo‘lib tuproq mikroorganizmi *Azotobacter chroococcum* asosida ajratib olinadigan preparat hisoblanadi. Uni ajratib olishda har 1 g sarf etilgan shakar hisobiga 20 mg atmosfera azotini fiksatsiyalaydi. Bundan tashqari o‘g‘it sifatida ishlatilgan bakterial o‘g‘itlar tuproqqa o‘simliklarni o‘sib chiqishi va rivojlanishini stimullovchi biologik faol moddalar (nikotin va pantoten kislotalar, piridoksin, biotin, geteroauksin, gibberilin va boshqalar) ni ishlab chiqaradi, ular tomonidan produksiyalanadigan anisomitsin guruhiga mansub bo‘lgan fungisid moddalar esa, o‘simliklarning rizosferasida zararli mikroskopik zamburug‘larning rivojlanishini bo‘g‘ib qo‘yadi.

Azotobakterlarning hamma turlari – aerob bakteriyalar jumlasiga kiradi. Bu mikroblar muhitdagi organik va anorganik shakldagi fosforning miqdoriga nisbatan sezgirlikni namoyon qiladi, uning muhitdagi miqdorini ko‘p bo‘lishi Azotobakterni rivojlanishini jadallashtiradi. Oziqa muhitida fosforning miqdorini kam bo‘lishi bakteriyalarning rivojlanishini susaytiradi, azotni o‘zlashtirish qobiliyati ham pasayadi. Azotobakter ning ko‘p turlari azotni faqat bog‘langan azotning miqdori kam bo‘lgan muhitda yoki umuman bo‘lmagan muhitda o‘zlashtiradi. Bu mikrobning azotni o‘zlashtirish qobiliyati muhitda ammiak bo‘lganda susayadi. Molibden (ba’zan vanadiy) birikmalari azotni o‘zlashtirilishiga stimullovchi ta’sir ko‘rsatadi. Molekulyar azotni o‘zlashtirilishi uchun mas’ul nitrogenaza tizimi multiferment kompleksi bo‘lib, uni tarkibida gen bilan bog‘lanmagan temir, molibden va SH-guruhlar bo‘ladi.

Mikrobiologik sanoat azotobakterinning bir nechta: quruq, tuproqli va torfli turlarini ishlab chiqaradi.

Quruq azotobakterinni ishlab chiqarish texnologiyasi ko‘p jihatdan nitragin ishlab chiqarish texnologiyasiga o‘xshash, shu sababli quyida, uning farqli tomonlarinigina ko‘rib chiqiladi. Quruq azotobakterin tarkibiga qo‘shimcha ravishda qo‘shilgan Azotobakter ning quritilgan faol hujayralari hisoblanadi. Uning 1g da 0,5 mlrd hayotchan hujayralar bo‘lishi lozim. Mikroorganizmning shtammlari Rhizobium hujayralarini o‘stirishda foydalanilgan oziqa muhiti komponentlaridan foydalaniladi. Unga qo‘shimcha ravishda muhitga temir va marganetsning sulfat tuzlari, shuningdek molibdenat kislotaning murakkab tuzidan qo‘shiladi. O‘stirish jarayonida muhitning pH ni 5,7-6,5 chegarasida tutib turib, 1 minut davomida 1 hajm muhitga 1 hajm havo yuborish darajasidagi aeratsiyadan foydalaniladi. Quritilgan tayyor mahsulotni tegishli miqdorda qo‘shimcha qo‘shgandan so‘ng polietilen xaltachalarga 0,4-2 kg etib qadoqlanadi. Shu holatda haroratni 15$^{o}$C da ushlab turib 3 oygacha saqlash mumkin.

Tuproqli va torfli azotobakterinni ajratib olish texnologiyasi. Azotobakterinning bu turlari qattiq oziqa muhitida o‘stirilgan faol Azotobakter hisoblanadi, uning 1 g da 50 mln dan kam bo‘lmagan hayotchan hujayralar bo‘ladi. Ularni tayyorlash uchun unumdor tuproq yoki neytral reaksiyali chiriyotgan torf olinadi. Maydalangan va elakdan o‘tkazilgan substratga 2 % ohak va 0,1 % superfosfat qo‘shiladi. 500 g aralashma shisha idishga ko‘chiriladi, hajm bo‘yicha 40-60 % gacha namlantiriladi, paxta bilan yopib qo‘yib stirilizasiyalanadi. Ekish materialini tarkibida 2 % saxaroza va mineral tuzlar bo‘lgan agarli muhitga ko‘chiriladi. O‘stirishni 27$^{o}$C da 3-5 kun davomida amalga oshiriladi. Hosil bo‘lgan ekish materialini agarning yuzasidan suv bilan yuvib olinadi va oldindan tayyorlab qo‘yilgan shisha idishdagi substratga ko‘chiriladi. Shisha idishdagi massani yaxshilab aralashtiriladi va 25-27$^{o}$C da tutib turiladi. O‘stirishni 1 g tuproq yoki torfda bakteriyalarning soni 50 mln ga yetganicha davom ettiriladi. Shu yo‘sinda olingan preparatlar o‘zining faolligini 2-3 oy davomida saqlay oladi. Azotobakterin preparatini unumdor, tarkibida fosfor, mikroelement (molibden, vanadiy, bor va boshqa) lar bo‘lgan tuproqlarda foydalanish tavsiya etiladi. Azotobakterinni organik va mineral o‘g‘itlar bilan to‘g‘ri nisbatda qo‘shib qo‘llash yaxshi samara beradi. Azotobakterin urug‘larni, ko‘chatlarni, kompostlarni bakterizasiyalashda foydalaniladi. Bunda o‘simliklarning ildiz orqali oziqlanishi yaxshilanadi va g‘allasimonlar, texnik va sabzavot ekinlarining hosildorligi 10-15 % ga ko‘payadi. Azotobakterinni qo‘llashda g‘allasimonlar bo‘lsa, ekishdan oldin ularning urug‘lariga sepib keyin ekiladi, kartoshkani tuganagini va sabzavot ekinlarini ko‘chatlarini bakteriyalarning suvli suspenziyasi bilan xo‘llanib keyin ekiladi.

**Fosforobakterinni ajratib olish texnologiyasi**. Fosforobakterin - bakterial o‘g‘it bo‘lib, tarkibida *Bacillus megaterium var. phosphaticum* mikroorganizmining sporalaridan iboratdir. U bir xil massali och-kulrang yoki sarg‘ish rangli kukun hisoblanadi. Bu bakteriyalar murakkab fosfororganik birikma (nuklein kislotalar, nukleoproteidlar va boshqalar) ni va qiyin o‘zlashtiriladigan mineral fosfat (pirofosfat, polifosfat) larni o‘simliklar tomonidan o‘zlashtiriladigan shaklga o‘tkazadi. Bundan tashqari bakteriyalar o‘simliklarning o‘sishini (ayniqsa rivojlanishini dastlabki paytida) stimullovchi biologik faol modda (tiamin, piridoksin, biotin, pantoten va nikotin kislotalari, vitamin $B_{12}$ va boshqa) lar ishlab chiqaradi. Fosfobakterin fosforli o‘g‘itlarning o‘rnini bosmaydi, ularsiz ta’sir etaolmaydi ham. Ular stimullovchi samara beradigan preparatlar jumlasiga kiradi.

Fosfobakterinni *Bac.megaterium var. phosphaticum* shtammidan foydalangan holda va uni chuqur uslubda o‘stirib ko‘paytirish orqali ajratib olinadi. O‘stirishni liofil tarzda quritilgan dastlabki shtammdan quyidagi tarkiblardagi oziqa muhitlarini biridan foydalangan holda ajratib olinadi ( % hisobida):

Makkajo‘xori ekstrakti……1,8
Qand lavlagisi chiqindisi……..…1,5
Ammoniy sulfat……...……0,1
Bo‘r…….1
Suv……qolgan qismi
Makkajo‘xori uni……. 2,0

Qand lavlagisi chiqindisi ……..1,5
B kompleks vitaminlar (D vitaminini olishda qolgan qoldiq)..2,0
Ikki almashingan kaliy folsfat ……0,01
Kalsiy karbonat ……..0,3
Suv……qolgan qismi.

Bakteriyani o‘stirish aseptik va doimo aralashtirish sharoitida fermentyorlarda sporalar hosil bo‘lish bosqichigacha olib boriladi. Jarayonning olib borish sharoiti: harorat 28-30$^{o}$C, muhitning pH 6,5-7,5, davomiyligi 1,5-2 kundan iborat bo‘ladi. Birinchi muhitda o‘stirilganda 1 ml o‘stirish muhiti suyuqligida 2,7-3 mlrd. spora bo‘lsa, ikkinchi muhitda o‘stirilganda 4,3 mlrd bo‘ladi. Hosil bo‘lgan biomassa sentrifugalash yo‘li bilan ajratiladi va 65-75$^{o}$C da purkovchi quritkichda 2-3 % namlik darajasigacha quritiladi. Quritilgan sporalar qo‘shimcha (kaolin) qo‘shib aralashtiriladi. Shu yo‘sinda tayyorlangan preparatning 1 g da 8 mlrd hujayra bo‘lishi lozim. Uni 50-500 g dan namlik kirmaydigan xaltachalarga qadoqlapnadi.

Nitragin va azotobakterindan farqli o‘laroq fosforobakterin saqlash uchun ancha chidamli, uni 1 yil saqlaganda bakteriyalarning hayotchanligi 20 % gagina kamayadi. Fosforobakterinni qora tuproqli tuproqlarda qo‘llash tavsiya qilinadi. U g‘allasimonlar, kartoshka, qand lavlagisi va boshqa ekinlarni hosildorligini oshirishda ahamiyati katta. Preparatni tuproqqa solish uchun o‘simliklarning urug‘ini fosforobakterin preparati qo‘shib ishlov beriladi, buning uchun esa, preparatni tuproq yoki kulga qo‘shib 1:40 nisbatda aralashtiriladi va shu holatda ekiladi. Bir gektar maydonga 5 g preparat va 200 g qo‘shimcha modda (kaolin) kerak bo‘ladi. Kartoshka tuganaklarini 15 g preparatga 15 l suv qo‘shibsuspenziya tayyorlanadi va bu miqdor preparat bir gektarga ketadigan kartoshka urug‘iga ishlov berishga yetadi. Fosforobakterindan foydalanish hosildorlikni 10 % ga oshiradi. ’

## 23§. ENTOMOPATOGEN PREPARATLAR ISHLAB CHIQARISH BIOTEXNOLOGIYASI

O‘simliklarni har xil kasalliklardan muhofaza qilishga oid antibiotiklardan tashqari mikrobiologik ishlab chiqarish sanoati patogen mikroorganizmlar (bakteriyalar, mikroskopik zamburug‘lar va viruslar) asosida zararli hasharotlarga qarshi kurashda foydalaniladigan preparatlar ishlab chiqarishni yo‘lga qo‘yildi.

Jahonda har yili zararkunanda-hasharotlar tomonidan qishloq va o‘rmon xo‘jaligiga 100 mlrd.dollar zarar yetkaziladi. Zararkunanda-hasharotlarning har xil ximikatlarga nisbatan chidamliligi oshib borayotgani uchun ularga qarshi samarali kurash choralarini qidirish talab qilinaboshlandi. Hozirgi kunda dunyoning har xil mamlakatlarida 30 dan ziyod biologik entopatogen preparatlar ishlab chiqariladi. Ular zararkunanda hasharotlarning ayrim turlariga nisbatan maxsus ta’sir ko‘rsatish qobiliyatiga ega bo‘lib, odamlar, issiqqonli hayvonlar, qushlar va foydali hasharotlar uchun beziyon preparatlar hisoblanadi. Mikroorganizmlar negizida olinadigan entomopatogen preparatlar tabiiy sharoitlarda ishlab chiqilganligi va yana qaytadan tabiiy sharoitlarga mikrob patogen sifatida qaytarilganligi sababli biosenozlarda noqulay o‘zgarishlarni yuzaga chiqarmaydi hamda xududning ekologik holatini ham

izdan chiqarmaydi. Bu narsa ularni an’anaviy ishlatilib kelinayotgan kimyoviy insektisidlardan istiqbolli ekanligini isbotlaydi. Mikrobiologik sanoat ishlab chiqarishi tomonidan ishlab chiqariladigan entomopatogen preparatlarni uch guruhga bo‘lish mumkin:

1. *Bacillus thuringiensis* negizida ishlab chiqariladigan - entobakterin-3, dendrobatsillin, insektin, toksobakterin.

2. *Beauveria bassiana* zamburug‘i negizida ishlab chiqariladigan - boverin preparati.

3. *Yadro poliedrozi* virusi negizida ishlab chiqariladigan - virin-ENSH, virin-EKS preparatlari.

Hamma mikrobli preparatlar namlanadigan kukun yoki pasta, ba’zan dust, granula, kapsulalashtirilgan kukun, kristall holatlarda ishlab chiqariladi.

**Bakterial entomopatogen preparatlarni ajratib olish texnologiyasi.** Sanoat ishlab chiqarishi bo‘yicha ishlab chiqariladigan mikrob preparatlari orasida bakterial preparatlar keng tarqalgandir. Ular hasharotga nisbatan verulentligi, atrofdagi flora va faunaga beziyonligi, zararkunandaga ancha tez ta’sir etishilari jihatidan ajralib turadi. Shu paytgacha tadqiq qilingan entomopatogen bakteriyalar orasida keng qo‘llanilishi nuqtai nazaridan grammusbat bakteriya *Bac. thuringiensis* ni keltirib o‘tish mumkin. Bu bakteriya hasharot ichiga kirgandan so‘ng, u hasharotni karaxt qilib qo‘yadigan sporalar hosil qilishdan tashqari, o‘sish jarayonida qator toksik birikmalar ishlab chiqaradi, bu birikmalarining bo‘lishi esa, muayyan bakteriyalar negizida ishlab chiqariladigan preparatlarning samaradorligini oshiradi. Bakteriyalar tomonidan ishlab chiqariladigan toksik preparatlar orasida quyidagi to‘rt xil komponentni alohida ko‘rsatib o‘tish mumkin:

1. α-ekzotoksin, yoki fosfolipaza S-bakteriyalarning o‘sayotgan hujayralarini mahsuloti. Bu fermentning toksik ta’siri hasharotlar to‘qimalaridagi almashinmaydigan fosfolipidlaning parchalanishini indusirlaydi va bu narsa o‘z navbatida modda almashinuvini izdan chiqaradi, eng so‘nggida esa hasharotning o‘limiga olib keladi;

2. β-ekzotoksin, yoki termostabil toksin. Bakteriyani o‘stirish suyuqligida hujayravni o‘sishiga mos holda yig‘iladi. Toksin tarkibiga o‘zaro teng nisbatda adenin, riboza va fosfat kislota kiradi. Beta-ekzotoksinni nukleotidning riboza va glyukozaning allosliza kislotasi bilan birgalikdagi birikmasi deb taxmin qilinadi. Uning ta’siri, aftidan ATF bilan bog‘liq holdagi RNK-polimeraza va nukleotidazalarning ingibirlanishi tufayli RNK sintezining to‘xtab qolishiga bog‘liqdir. Toksinning hasharotga ko‘rsatadigan ta’sir spektri juda keng, ayniqsa uning rivojlanishini dastlabki davrida *Bac. thuringiensis* ishlab chiqaradigan boshqa toksinlarga qaraganda uning ta’siri sekinroq bo‘ladi va odatda hasharotning bir rivojlanish davridan boshqasiga o‘tishda yuz beradi. Ko‘p to‘liq rivojlanish davri : tuxum - lichinka - qurt – g‘umbak – kapalak sikliga ega bo‘lgan hasharotlar uchun subletal dozali zaharlanishlar qayd qilingan. Hasharotlarning rivojlanish bosqichlari bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar, beta-ekzotoksinni mutagen ta’sirga ega ekanligini, u hasharotlarni gen apparatini ishdan chiqarishini tastiqlaydi;

3. γ-ekzotoksin, kam o‘rganilgan komponent, hali identifikasiyalanmagan ferment (yoki fermentlar guruhi). Uning toksikligi ishonchlilik darajasida isbotlanmagan;

4. σ-enzotoksin, yoki parasporal endotoksin. Bakteriyani sporalanish jarayonida spora shakllanadigan qismiga qarama-qarshi bo‘lgan qismida hosil bo‘ladi. Spora hosil bo‘lish jarayonini nihoyasida bu toksin to‘g‘ri sakkiz qirrali kristall shakliga o‘tadi. Kristallarning sintezi stasionar fazada 3 soatda amalga oshadi. Kristallar organik erituvchilarda erimaydi, lekin sporalardan ajratilgandan keyin pH ning kuchli ishqoriy muhiti (11,5 dan yuqori) va ishqoriy buferlar (pH 7,9-9,5) da qaytaruvchilar ishtirokida yaxshi eriydi. Kristallar 100 $^0$C gacha qizdirganda 30-40 minutdan keyin parchalanib ketadi va o‘zining toksik ta’sirini yo‘qotadi. Kristallarning kimyoviy tarkibida an’anaviy elementlar va aminokislotalar tarkibiga kiruvchi: karbon, azot, vodorod, kislorod, oltingugurtdan tashqari yana 19 xil element bo‘ladi. Binobarin, ancha miqdorda kalsiy, magniy, kremniy, temir, kamroq miqdorda - nikel, titan, rux, alyuminiy, xrom, mis, marganets uchraydi; fosfor deyarli bo‘lmaydi. Kristallar oqsildan tashkil topgani va har xil shtammlardan olingan preparatlarning aminokislota tarkibi bo‘yicha o‘zaro o‘xshashligi isbotlangan. Kristalning tuzilmaviy butunligi aftidan oqsilning kremniy bilan bog‘langanligi bilan bog‘liq. Kristall oqsilning kimyoviy tabiati jihatidan spora po‘sti oqsiliga o‘xshash. Spora po‘stida oshiqcha miqdorda oqsil hosil bo‘lishi natijasida shu xildagi kristall hosil bo‘ladi degan taxmin bor. Bu kristall oqsilning hasharotga qanday mexanizm orqali ta’sir etishi aniqlangan. Kristall hasharotning ichagida protoksin molekulasiga ajraladi,undagi proteinazalar ta’sirida toksik fragmentlarga parchalanadi. Tadqiqotchilarning fikriga ko‘ra, protoksin molekulyar og‘irligi 230000 Da li oqsil bo‘lib, undan tangachaqanotlilarning ichagida toksik komponentning ajralib chiqishi uchun kerakli bo‘lgan yuqori ko‘rsatkichli pH sharoiti mavjudligi sababli bu toksik komponent ajralib chiqadi.

Hasharot o‘lishi uchun kristallar uning organizmiga kirishi kerak. Kristallar qurt tomonidan yutilgandan keyin u oziqlanmay qo‘yadi. Ko‘p xollarda sigma-toksinning birlamchi ta’sir ko‘rsatadigan ichak qismi uning o‘rta qismi hisoblanadi. Kristallarga nisbatan reaksiyasiga qarab hasharotlarni uch guruhga bo‘lish mumkin:

- umumiy paralich (falaj);
- ichakning o‘rta bo‘limini paralichi (falaji);
- kristallarga nisbatan moyillikka ega emas, lekin yaxlit preparatga nisbatan sezgirlikni namoyon qiladi.

Ko‘p hasharotlar uchinchi guruhga kirib: endotoksin ta’sirida o‘lmasdan, balki sporalarning o‘sishi va bakteriyalarning keyingi bosqichda jadal ko‘payishi natijasida nobud bo‘ladilar. Hozirgi kungacha sigma-endotoksinlarning 12 ta serotipi va 15 ta varianti borligi aniqlangan. Ulardan endomopatogen bakterial preparatlar ishlab chiqarishda amaliy ahamiyatga ega bo‘lganlari to‘rtta variantdan iborat. Ular orasida: tiringiensis yoki berliner I serotipga mansub bo‘lsa, alesti - III ga, dendrolimus-IV ga va galleriya - V ga mansubdir.

Ma’lumki, *Bac. thuringiensis* 130 turga mansub bo‘lgan hasharotlarga nisbatan antogonistik ta’sirga ega, ular orasida dala, poliz, meva ekinlari, tok va o‘rmon

zararkunandalari uchraydi. Bu guruh preparatlarni barg bilan oziqlanuvchi hasharotlarga qarshi qo‘llanilganda yaxshi samaraga erishiladi.

O‘stirish suyuqligida hujayralarning maksimal titriga erishish va toksinning yig‘ilishini ta’minlash uchun produsentni chuqur o‘stirishni hisobga oladi. Sanoat miqyosida ishlab chiqariladigan shtammlar yuqori talablarga javob beradigan bo‘lishi lozim, chunki so‘nggi mahsulotning sifat ko‘rsatkichi ularga bog‘liq bo‘ladi. Bu talablar jumlasiga: shtammlarning qaysi serotipga mansubligi, yuqori darajadagi ta’sirchanligi va katta hajmda o‘stirilganda mahsuldorligini saqlanishi, ketma-ket keladigan bosqichlar orqali mahsulotni ajratib olish jarayonlarida uning faolligini saqlanishi va preparatdan foydalanishning samaradorlini kiradi. *Bac. thuringiensis* entomopatogen shtammini sanoat miqyosida ishlab chiqarishda bu mikrobning fagolizisini oldini olishdagi qiyinchiliklarga duch kelinadi. *Bac. thuringiensis* asosida ishlab chiqariladigan bakterial entomopatogen preparatlarning hammasini bir xil texnologiya bo‘yicha ishlab chiqariladi. Quyida bu texnologiya entobakterin misolida ko‘rib chiqiladi. Texnologiya mikrobiologik ishlab chiqarish amaliyotini hamma bosqichlarini xususan: mikroorganizmlarni chuqur uslub asosida o‘stirish, «ekish» materialini laboratoriya sharoitida va o‘stirish apparatida o‘stirib ko‘paytirish, katta hajmdagi fermentyorlarda o‘stirish, mikrobli suyuqlikni konsentrlash, quritish, standartlash va tayyor mahsulotni qadoqlash ishlarini qamrab oladi. Sanoat korxonasida ishlab chiqarish shtammi *Bac. thuringiensis var. galleriae* ni go‘sht-peptonli agarga «ekiladi» va uni erkin fagning mavjudligi, mahsuldorligi va verulentligi bo‘yicha sinovdan o‘tkaziladi. «Ekish» materialini olishda dastlab 3 l li kolbada titri 1ml da 17 mlrd spora hosil bo‘lgunga qadar o‘stiriladi, uni o‘stirish apparatiga hajm bo‘yicha 0,05 % miqdorda o‘tkazib, 1 minutda 1 hajm muhit suyuqligiga 0,2 l hajm aeratsiyali havo berish sharoitida o‘stiriladi. O‘stirish materiali yuqorida keltirilgan titr darajasiga yetkazilib, muhit suyuqligining 0,0012 % hajmidagi miqdorda fermentyorga o‘tkaziladi. Hamma bosqichlarda harorat ko‘rsatkichini doimiy (28-30$^{o}$C) bir xilda ushlab turiladi. Fermentatsiya jarayonini davomiyligi ekish apparatida ham fermentyorda ham bir xil, ya’ni 35-40 soatni tashkil qiladi. Agar ekish materialini sporalar tarzida ajratib olinsa, ishlab chiqarishning hamma bosqichlarida bir xil tarkibli oziqa muhitidan foydalaniladi. Odatda u achitqili-polisaharidli muhit bo‘lib, tarkibi ( % hisobida): yem-oziqa achitqi – 2-3; makkajo‘xori uni-1-1,5; kashalot yog‘i-1,0 dan tashkil topadi. Agar ekish materialini o‘stirishda uni spora hosil qilish darajasigacha yetkazish shart bo‘lmasa, unda fermentyordagiga nisbatan ekish apparatida o‘stirganda ancha kuchliroq konsentrlangan muhitdan foydalaniladi. Muhitning tarkibiga bog‘liq holda asosiy fermentatsiyaning parametrlari ham o‘zgarishi mumkin, xususan aeratsiya 1 minutga 1 hajm muhitga 1 hajm havo darajasigacha oshirilishi mumkin. Bundan tashqari foydalaniladigan oziqa muhitining tarkibi hosil bo‘lgan sporalar va kristallarning o‘zaro nisbatiga ta’sir etishi mumkin. Masalan, bir xil sharoitda ish yuritganda, ya’ni fermentatsiya sharoitlari bir xil, lekin oziqa muhiti ( % hisobida): texnik glyukoza-0,7; makkajo‘xori ekstrakti-4; natriy xlorid-0,2 bo‘lganda, sporalarning kristallarga bo‘lgan nisbati 1:1 bo‘lsa, oziqa muhiti ( % hisobida): makkajo‘xori ekstrakti-4; kepak-2 bo‘lganda bu nisbat 1:1,7 ni tashkil qilar ekan. Fermentatsiyani

boshlanishida muhitning pH boshqarilmaydi, muhit komponentlarini hammasini qo‘shganda qancha bo‘lsa shu ko‘rsatkichda turadi, u ko‘pincha 6,3 ga teng bo‘ladi. Jarayonning nihoyasida u 8,0-8,5 gacha oshadi. Muhitning tabiiy tarzda asosli xossani namoyon qilishi hosil bo‘lgan kristallarning mayda fragmentlarga bo‘linishiga olib kelishi mumkin, bu esa ularni keyingi bosqichlarda ajratib olish texnologiyasini qiyinlashtiradi. Shu sababli mahsulotli suyuqlikka keyingi ishlov berishdan oldin pH 6,0-6,2 gacha nordonlashtiriladi. Jarayonni sporulyasiyasi 90-95 % bo‘lganda va sporalarning titri 1 ml da 10 mlrd dan kam bo‘lmaganda nihoyasiga yetdi deb hisoblanadi. Uni alohida katta hajmli idishga yig‘iladi, suyuqligini esa, yana bir yoki ikki marta qaytadan oziqa muhiti tayyorlashda foydalanish mumkin. Bu suyuqlikni ko‘p marta ishlatib bo‘lmaydi, chunki unda mikrobni o‘sishini tormozlovchi moddalar yig‘ilib qoladi. Lekin undan yem-oziqa achitqi ishlab chiqarishda foydalanish mumkin bo‘ladi. Shu asnoda ish yuritish ishlab chiqarish oqovalari hajmini kamaytirish, suv sarfini kamaytirishga sababchi bo‘ladi va natijada jarayonning iqtisodiy samarasini oshiradi. Sanoat ishlab chiqarishini nihoyasida va mahsulotlarni ajratishda kristallar va sporalarning hujayra po‘stloqlaridan ajralishi yuz berishi mumkinligi tufayli, yig‘ilgan pastani undagi spora va kristallardan bir xil massa hosil bo‘lishiga erishish maqsadida 30 minut davomida yaxshilab aralashtiriladi, hamda uning titrini, namligini, verulentligini, tarkibida fagning bor-yo‘qligini tekshirish uchun namunalar olinadi. Shu yo‘sinda hamma talablarga javob beradigan pastadan entobakterin preparati olinadi. So‘nggi tayyor mahsulot ho‘llanadigan kukun yoki stabillashtirilgan pasta holida bo‘lishi mumkin. Kukun pastani oldindan namlab keyinchalik purkagichli quritqichda 10 % li namlik darajasigacha quritiladi va titri 1 g da 30 mlrd spora bo‘lgunga qadar kaolin qo‘shib standartizatsiyalanadi. Tayyor mahsulot 4-qatlamli xaltachalarga 20 kg dan etib qadoqlanadi. Stabillashtirilgan pastaga karboksimetilsellyuloza (KMS) qo‘shiladi. KMS molekulalari oqsil kristallari va sporalarni sorbsiyalaydi, ularni manfiy zaryadlaydi, bu narsa faollikni pastaning butun hajmi bo‘ylab tekis taqsimlanishi, konservantni ham bir xil zichlikda bo‘lishiga olib keladi. Shu holatda preparatning saqlash muddati uzayadi. Tayyor mahsulot yopishqoq konsistensiyali oqish-sarg‘ish yoki och-kulrang rangli, sochilib ketmaydigan, saqlash jarayonida muzlamaydigan, hidsiz, chirimaydigan, bir xil massali preparat hisoblanadi.

Preparat bog‘lar, poliz ekinlari, o‘rmon daraxtlari zararkunandalariga qarshi kurash uchun mo‘ljallangan. Preparat 60 dan ziyod o‘simliklarning zararkunandalariga qarshi kurashda yaxshi samara beradi. Uni hasharotlar faol oziqlanadigan vaqtda suvli emulsiya tarzida o‘simlikka purkaladi. Noqulay ob-havo sharoitlari (yomg‘ir, haroratning past bo‘lishi, quyosh radiasiyasi yuqori bo‘lganda) da konsentratsiyani ikki marta oshiriladi. Odatda zararkunandalar 2-10 kun oralig‘ida o‘ladi. Poliz ekinlari ekilgan 1 ga maydonga 1-3 kg, bog‘li maydonga-3-5 kg sepiladi. Entobakterindan foydalanish natijasida 1 ga maydondan yuqoridagi tartibda o‘zaro mos holda poliz ekinlaridan 50 s va bog‘li maydonlardan 5 s qo‘shimcha hosil olish mumkin bo‘ladi.

**Entomopatogen preparatlarni zamburug‘lardan ajratib olish texnologiyasi.** Mikroskopik zamburug‘lardan foydalanib ajratib olingan

entomopatogen preparatlar zararkunanda-hasharotlarga ta’sir etib, ularda mikoz kasalligini keltirib chiqaradi. Entomopatogen bakteriyalar va viruslarga qiyoslaganda entomopatogen zamburug‘lar qator o‘ziga xos xususiyatlarga ega:

- ta’sir etish ovqat hazm qilish trakti orqali emas, balki bevosita kutikula orqali bo‘ladi;
- ta’sir etish hasharotning qurt va imago davrlarida ham bo‘lib o‘tadi;
- zamburug‘lar juda tez o‘sish va reproduksiyalanish qobiliyatiga ega, shu bilan birga ular uzoq muddat tabiiy muhitda o‘zlarining entomopatogen faolligini yo‘qotmay saqlashi mumkin;
- ba’zi hasharotlarga nisbatan maxsus ta’sir kuchiga ega, bunda virulentlik qo‘llaniladigan zamburug‘ning shtammiga bog‘liq bo‘ladi.

Zamburug‘ preparatining hasharotga ta’siri sporaning uning tanasini teri qatlamiga o‘tishi barobarli boshlanadi. Bu xil zamburug‘ning o‘tishi, uning segmentlari orasida jadal ravishda yuz beradi. Hasharot tanasiga kirgandan keyin zamburug‘ sporasi o‘sib gifga aylanadi, ular o‘z navbatida entomopatogen zamburug‘larning infeksion birligini tashkil qilgan gifal tanachalar-konidiylarga ajraladi. Qulay sharoitlarda konidiylarning hosil bo‘lishi hasharotning kutikulasini yuzasida yuz beradi. Kutikulada hosil bo‘lgan konidiyalar o‘zlarining apressoriyalari (o‘suvchi naylari uchidagi bo‘rtmalari) bilan kutikulaga yopishib olib hasharot tanasiga mitsellyar o‘simtalarini kiritadi. Konidiyalar hasharot tanasiga kirgandan so‘ng gemolimfa yordamida harakatlanadi va zamburug‘ning rivojlanishi boshlanadi. Shu bosqichning o‘zida ba’zi shtammlar tomonidan ancha miqdorda toksinlarning ajralishi sodir bo‘ladi. Hasharotning letal holati gemolimfa sirkulyatsiyasining izdan chiqishi va zamburug‘ tomonidan toksin ishlab chiqarilishi tufayli yuz beradi. Eng avvalo zamburug‘ hasharotning mushak to‘qimasiga ta’sir etadi. Uning o‘sishi hasharotning butun ichki organ va to‘qimalari to‘liq parchalanib ketgunicha davom etadi. Konidiyalarning o‘sishi va hasharotlarning o‘limigacha bo‘lgan vaqt 2 kundan 8 kungacha bo‘lgan muddatni o‘z ichiga oladi. Zamburug‘li entomopatogenlardan foydalanish istiqbollari ularni sanoat miqyosida ishlab chiqarish bazasini yaratish va ekish materialini ajratib olish texnologiyasini ishlab chiqilishi bilan bog‘liqdir. Asosan zamburug‘larning *Beauveria*, *Menarrizium*, *Enthomophora* avlodlari vakillarining shtammlari asosida ajratib olishga e’tiborni qaratiladi.

Zamburug‘larning *Beauveria* avlodi asosida sanoat miqyosida preparatni ajratib olishda bu avlodning 60 tur hasharotga ta’sir etuvchi *B. bassiana Vuill* dan, 10 tur hasharotlar asosan qo‘ng‘izlarni nobud qiladigan *B. tentlla Del*. dan foydalaniladi . Boverin entomopatogen preparati *B. bassiana Vuill* ning konidiyasporalaridan tashkil topgan bo‘ladi. Tayyor preparat oq yoki oq-sarg‘ish rangli kukun bo‘lib, uning 1 g da 1,5-6 mlrd konidiospora bo‘ladi. Sporalardan tashqari boverinning faol jihati uning tarkibida boverisin toksinini bo‘lishidir. Yuqori letal konsentratsiyaga (LK 100, ya’ni hasharotlarning 100 % o‘lishiga) erishish uchun unga muayyan hudud uchun me’yor hisoblangan miqdorining 10 % gacha bo‘lgan miqdorda insektisid qo‘shimcha sevin, xlorofos, fozalon qo‘shiladi. Shu yo‘sinda ish yuritish faol dehqonchilik vohasida zaharli kimyoviy preparatlardan foydalanishni 90

% ga qisqartiradi. Preparat issiqqonlilar va odam uchun zararsiz, o‘simliklarda ko‘zga ko‘rinarli o‘zgarishlarni yuzaga keltirmaydi.

*Boverin preparatini ajratib olish texnologiyasi*. Entomopatogen boverin preparatini chuqurlashgan uslubda ko‘paytirib o‘stirish va yuza qismli ko‘paytirib o‘stirish uslubida ajratib olish mumkin. Boverinni chuqurlashgan uslubda ajratib olinganda barcha bosqichlardagi jarayonlar aseptik sharoitda olib boriladi. Bu bochqichlardan eng muhimi ekish materialini tanlab olish hisoblanadi. Dastlabki material *B. bassiana Vuill* ning agarlashtirib saqlanadigan shtammi bo‘lib, uni oldin 25-28 $^0$C da 3-4 kun davomida oziqa muhitida doimo aralashtiriladigan sharoitda ko‘paytiriladi. Hosil qilingan konidiosporalar liofilizatsiya yo‘li bilan quritiladi. Shu yo‘sinda ajratib olingan ekish materiali ishlab chiqarish korxonasida 1 yil davomida yashovchanligi va virulentligini yo‘qotmasdan saqlanishi mumkin. Ekish materiali fermentyordagi oziqa muhitida o‘stirish uchun 1-2 bosqichda: oldin kolbada keyin, inokulyatorda yoki bir yo‘la to‘g‘ridan-to‘g‘ri inokulyatorda ko‘paytirish mumkin. Asosiy apparatda o‘stirish uchun ekish materialining miqdori oziqa muhiti hajmini 2-10 % ni tashkil qilishi kerak. Sanoat ishlab chiqarishini hamma bosqichlarida oziqa muhitini tarkibi va harorat bir xil ushlab turiladi. Odatda oziqa muhitini tarkibi quyidagi komponentlardan tashkil topadi ( %hisobida): lizirlanmagan yem-oziqa achitqisi-2; kraxmal-1; natriy xlorid-0,2; marganets xlorid-0,01; kalsiy xlorid-0,05. Kalsiy xloridning miqdoriy ko‘rsatkichi kuchli ravishda o‘zgartirilishi mumkin, chunki uni aralashmaga ko‘proq miqdorda qo‘shish konidiosporalarning har xil noqulay sharoitlarga nisbatan chidamliligini oshiradi. Ekish materiali ajratib olish maqsadida shtammni o‘stirganda jarayonning davomiyligi 25-28 soat va harorat ham 25-28$^o$C bo‘lsa, asosiy fermentyorda mahsulotni ajratib olish maqsadida o‘stirganda aynan shu haroratda o‘stiriladi va unga 3-4 kun kerak bo‘ladi. Zamburug‘ni ekish apparati (inokulyator) da va ishlab chiqarish fermentyorida o‘stirganda aralashmalar doimo aralashtirib turiladigan va aeratsiyali sharoit yaratiladi. Asosiy apparatdagi jarayonning samaradorligi muhitda aminli azotning miqdorida bog‘liq bo‘ladi, uning taqchilligi konidiosporalarning foiz miqdorini kamaytiradi. Muhitdagi aminli azotning optimal miqdori 10-15 mg % ni tashkil qiladi. Zamburug‘ni chuqurlashtirilgan uslubda o‘stirilganda 1-1,5 kunda yem-oziqa achitqisi to‘liq lizirlanadi, zamburug‘ esa o‘zining rivojlanishini barcha bosqichlarini (mitsellial, gonidial, konidial) bosib o‘tadi. Seroqsilli muhitlarda konidiyalarni hosil bo‘lishi uchun qulay sharoit yaraladi. Zamburug‘ning to‘la etilishi natijasida juda ko‘p fermentlar ajraladi, bu narsa mitselliylarni lizisiga va konidiyalarning ko‘p miqdorda hosil bo‘lishiga olib keladi. Muhit suyuqligida hosil bo‘lgan konidiosporalarning titri produsent-shtammning tabiatiga qarab 1 ml da 0,3 dan 1,3 mlrd gacha bo‘lishi mumkin ekan. Bunda produsentli suyuqlikda konidiosporalar 90-92 % ni tashkil qilsa, gonidiylar 3-5 % ni tashkil qiladi, mitselliylar esa umuman bo‘lmaydi. Tayyor mahsulotli suyuqlikni separatsiyalanadi yoki filtrlanadi. Filtrlagandan keyin 70-80 % li namlikka ega bo‘lgan pasta hosil bo‘ladi, uning titri 6-8 mlrd sporaga teng bo‘lib, uni purkagichli quritkichga uzatiladi. Quritilgan sporalar 10 % li namlikka ega bo‘lgan kukun hisoblanib, titri 1 g da 80 mlrd hujayraga teng bo‘ladi. Letal konsentratsiya LK-50 (test-hasharotning 50 % gacha nobud bo‘lishini ta’minlovchi

doza) aniqlangandan keyin kukun tegishli miqdorda koalin qo‘shib standartizatsiyalanadi.

Zamburug‘ni yuza qismli uslubda ko‘paytirish orqali boverin ajratib olish texnologiyasi uning oziqali suyuqlikdagi sporali pardasidan ajratib olishga asoslangan bo‘lib, uzoq muddatli va juda qiyin amalga oshirilganligi sababli cheklangan ahamiyatga egadir. Quyida bu jarayonni sanoat va yarim sanoat miqyosida amalga oshirishning ba’zi jihatlari haqida mulohaza yuritiladi. Zamburug‘ni yuza qismli ko‘paytirishda ham suyuq oziqa muhitidan, ham yarim suyuq oziqa muhitidan foydalaniladi, bu muhitlarda zamburug‘ yaxshi o‘sadi. Uning mikrobiologik ishlab chiqarilish jarayoni sporali parda hosil bo‘lishi bosqichida yakunlanadi. Sporali pardani yig‘ib olinadi, quritiladi, maydalanadi va zarurat bo‘lsa tegishli miqdorda qo‘shimcha qo‘shib standartizatsiyalanadi. Boverin ishlab chiqarishda zamburug‘ni quyidagi uslublar yordamida o‘stiriladi:

- zamburug‘ni suyuq muhitda avtoklavsiz, aralashtirmasdan, aeratsiyasiz;
- qattiq va suyuq avtoklavlangan muhitlarda aralashtirmasdan va aeratsiyasiz;
- zamburug‘li pardani kombinatsiyalangan uslubda o‘stirish.

Dastlabki ikki uslub zamburug‘ni har xil o‘simlik substratlari-qishloq ho‘jalik mahsulotlarini qoldiqlarida o‘stirishga asoslangan. Zamburug‘ni o‘stirish uchun kerakli bo‘lgan optimum harorat 18-28$^{o}$C bo‘lganligi sababli bu ishni janubiy xududlarda tashqi muhitning haroratida olib borish imkoniyati bor.

Zamburug‘ni suyuq muhitda avtoklavsiz, aralashtirmasdan, aeratsiyasiz oldindan sterilizatsiyalamay o‘stirganda, uni qaynash haroratigacha qizdiriladi, ichi polietilen plyonka bilan qoplangan yog‘och karkasga to‘kiladi. Shu yo‘sinda tayyorlangan oziqa muhitini 35-40$^{o}$C gacha sovitib unga quruq sporalarni «ekiladi». Karkasni usti polietilen plyonka bilan yopib qo‘yiladi va uni muhitda sporali parda hosil bo‘lgandan keyin ochiladi. Oziqa muhiti sifatida har xil qaynatmalardan foydalaniladi, masalan qand lavlagisi, kartoshka, oshqovoq, don, un qaynatmalari. Zamburug‘ni avtoklavlangan qattiq va suyuq muhitlarda aralashtirmasdan va aeratsiyasiz sharoitda o‘stirilganda har xil hajmlarda joylashtirilgan kartoshka, sabzi, makkajo‘xori, tarvuz po‘chog‘i, ba’zan bug‘doy va makkajo‘xori urug‘idan tashkil topgan qattiq-atala-agar tizimidagi oziqa muhitini 112$^{o}$C da 40 minut va suyuq-atala tizimidagi 7 % shakarli oziqa muhitini 110$^{o}$C da 20 minut davomida tutib turiladi. Steril substratga quruq spora yoki uning suspenziyasini kiritiladi va ekish materialini tekis tarqalishiga erishish uchun yaxshilab aralashtiriladi va tashqi muhitning 18-23$^{o}$C haroratida qoldiriladi. Quruq substratlarda konidiosporalarning hosil bo‘lishi 12-15 sutkada nihoyasiga etadi. Zamburug‘ substrat qoldiqlari bilan birgalikda yig‘ib olinib 25-28$^{o}$C da stellajlarda quritiladi. Tayyor mahsulotni hosil bo‘lishi materialni mayda kukun darajasigacha yetkazish bilan nihoyasiga yetkaziladi. Suyuq substratlarda sporalarning hosil bo‘lishi 7-10 kunda kuzatiladi, 18-25 kundan keyin esa, sporali pardani yig‘ib olinadi. Uni shisha ustida quritiladi, yig‘iladi, maydalanadi va torf yoki talk bilan aralashtiriladi. Bu xilda ishlaydigan sexning ish unumi 1 oyga 750-800 kg mahsulot bo‘lib, sporalarning titri 1 g hisobiga 1,5x10 mlrd ni tashkil qiladi. Unumi ko‘proq bo‘lgan uslub kombinatsiyalangan uslub bo‘lib, u o‘z ichiga quyidagilarni qamrab oladi:

- g‘allasimonlarning donida dastlabki o‘stirish materialini yetishtirish;

- inokulyatni (zamburug‘ sporalarini) kolbalarda suyuq oziqa muhitida 12-17 soat davomida o‘stirish;

- fermentyorda zamburug‘ning vegetativ namunasini aeratsiyali va aralashtirib turish sharoitida 22-28 soat davomida o‘stirish va yig‘ish;

- zamburug‘li suyuqlikni kyuvetalarga ko‘chirish va sporali parda hosil qilish;

- sporali pardani yetiltirish, yig‘ib olish va quritish;

- preparatni koalin qo‘shib standartizatsiyalash.

Zamburug‘ni o‘stirishda quyidagi oziqa muhitidan foydalaniladi ( % hisobida): qand lavlagisi chiqindisi-6; makkajo‘xori ekstrakti-1; magniy sulfat-0,05; bir almashingan kaliy fosfat-0,2. Zamburug‘ni o‘stirishni 24-26$^{o}$C da amalga oshiriladi. Konidiyalarning titri inokulyasiya bosqichida ekish materialini 1 ml ga 0,5-2 mln ni tashkil qiladi. Asosiy fermentyorda ekish uchun mo‘ljallangan inokulyatning miqdori muhitning 2-4 % ni tashkil qilishi kerak. Bunda ajratib olingan tayyor suyuqlikning 1 ml da 50-100 mln hujayra bo‘ladi. Zamburug‘larni kyuvetalarda o‘stirilganda 16-18 soatda zamburug‘ pardasi hosil bo‘lsa, 3-4 kunda spora hosil bo‘lishi yuz beradi va 4-5 kunlarda esa yoppasiga konidiyalarni hosil bo‘lishi kuzatiladi. Bu paytda zamburug‘ pardasi yig‘ib olinib, quruq muhitli kyuvetalarga ko‘chiriladi, qopqoq bilan yopilib, konidiyalarning yetilishi uchun 2-3 kunga qoldiriladi. Undan keyin zamburug‘li parda 28$^{o}$C da havo oqimida quritiladi. Quruq zamburug‘li parda polietilen xaltachalarda 18-20$^{o}$C da saqlanadi. Boverinni tayyorlashdan oldin sporali material sharli tegirmonda maydalanadi va elakdan o‘tkaziladi. Mahsulotning titri aniqlanadi va 15-20 minut davomida kaolinning tegishli miqdori bilan qo‘shib aralashtiriladi. Tayyor mahsulot tarkibida 1 g hisobida 1,5 mlrd konidiospora bo‘ladi. Boverinni meva bog‘larining barglarni kemiruvchi zararkunandalariga qarshi ishlatiladi. Boverin kolorada qo‘ng‘izini lichinkalariga qarshi kurashda ham yaxshi samara beradi. O‘simliklarga ishlov berishda bu preparatni purkab sepiladi. Preparatni zaharli kimyoviy moddalar bilan aralashtirishni qo‘llashdan 2 soat oldin amalga oshiriladi.

**Entomopatogen preparatlarni viruslar yordamida ajratib olish texnologiyasi.** Entomopatogen preparatlar orasida virusli preparatlar hasharotlarga nisbatan o‘ta maxsusligi bilan ajralib turadi. Ular odatda bitta turga mansub bo‘lgan hasharotnigina shikastlaydi. Bu preparatlarning o‘ta maxsusligi virusli preparatlarning odamlarga, floraga va faunaga amaliy jihatdan to‘liq zararsiz ekanligini ko‘rsatadi. Viruslar tashqi muhitning noqulay sharoitlari (harorat, namlik) ga juda chidamli, ular o‘zlarining hayotiy faolligini hasharotning tanasidan tashqarida bo‘lganda 10-15 yil davomida saqlay olish qobiliyatiga ega bo‘ladi. Hasharotning virus bilan zararlanishi uning ovqatlanishi vaqtida yuz beradi. Ichakka kirib kelgan begona-tanacha u yerdagi pH ning ishqoriy ko‘rsatkichida parchalanadi. Ajralib chiqqan vibrionlar ichak devorlari orqali shikastlanuvchi hujayralarga kiradi, bu hujayralarning yadrolarida viruslarning replikatsiyasi yuz beradi. Hujayralardan ajralib chiqqan viruslar boshqa hujayralarni zararlantiradi va oqibat natijada hasharot lichinkasini o‘limiga sababchi bo‘ladi. Viruslarning o‘ziga xos jihati, ular faqat tirik to‘qimalardagina ko‘payishidir. Bu narsa ularni sanoat ishlab chiqarishi miqyosida

ko‘paytirish texnologiyasini ishlab chiqishda qiyinchilik tug‘diradi, chunki viruslarni ko‘paytirish tirik xo‘jayin-hasharotlardan foydalanish zarurligini taqozo etadi. Hozirgi kunda uch xil virusli entomopatogen preparatlar: virin-KKOVE (karam kapalagiga qarshi), TIQE (tok ipak qurtiga qarshi), va AOKVE (Amerika oq kapalagiga qarshi) ni ishlab chiqarilishi yo‘lga qo‘yilgan. Har qanday virusli preparatni ishlab chiqarish xo‘jayin-hasharotni uning sog‘lom fiziologik holatini ta’minlash asosida sun’iy oziqa muhitida ko‘paytirish orqali amalga oshiriladi. Ma’lum taraqqiyot bosqichida (odatda qurt bosqichida) hasharotni oziqasiga virus suspenziyasini qo‘shib zararlantiriladi. Bunda inokulyatni bir necha kasal lichinkalardan terib olinadi. Hasharotlar zararlantirilgandan keyin ularning to‘qimalarida virusning maksimal yig‘ilishini ta’minlaydigan sharoitda saqlanadi. Oradan 7-9 kun o‘tgandan keyin o‘lgan va o‘layotgan lichinkalar terib olinadi, 33-35$^{o}$C da yengil-yelpi quritiladi, begona–tanachalarni to‘qimalardan chiqarish uchun mexanik ravishda maydalanadi. Hosil bo‘lgan massaga har bir lichinka hisobiga 1 ml fiziologik eritma qo‘shiladi, so‘ng aralashma filtrlanadi.

Virin-KKOVE preparatini ishlab chiqarishda hosil bo‘lgan poliedrlar filtratdan sentrifugalash yo‘li bilan cho‘ktirib ajratib olinadi. Cho‘kma eng kam hajm miqdorda distillangan suvda eritiladi, unga oldindan sterillab qo‘yilgan glitserin yordamida titri 1 ml da 1 mlrd poliedr ko‘rsatkichigacha olib kelinadi. Tayyor preparat mayda shisha idishchalarga bir gektarlik yoki bir necha gektarlik normani hisobga olib bo‘lib quyiladi. Bitta lichinkadan 36 mlrd gacha poliedr olish imkoni bor, bu lichinkaning quruq massasini 30 % ni tashkil qiladi. Virin-TIQE ishlab chiqarishda filtratga laktoza qo‘shiladi, aralashtirgandan keyin esa, suspenziyani hajmiga nisbatan 4:1 nisbat hisobida atseton qo‘shiladi. Aralashma tindirilgandan keyin cho‘kma usti suyuqligi to‘kib tashlanadi, cho‘kma esa atseton uchib ketguniga qadar quritiladi. Preparatni dustga o‘xshash tayyor shaklga keltirish uchun quruq cho‘kmani mayda dispersli-kaolin yoki bentonit qo‘shib 1 g poliedrning faolligi 1 mlrd gacha yetkaziladi. Virusli entomopatogen preparatlardan foydalanishda hasharotlarning epizootiyasini keltirib chiqarish maqsadida poliedrlar bilan ularning qalin populyasiyalarini zararlantirishga harakat qilinadi. Boshqa holatda, ya’ni hasharotlarning lichinkalarini ommaviy ravishda rivojlanishi davrida o‘simliklarni preparatli suyuqlik bilan purkash yo‘li bilan ham kurash olib boriladi.

# IX bob. BIOTEXNOLOGIYANING ZAMONAVIY YO‘NALISHLARI

## 24§. NANOBIOTEXNOLOGIYA

XXI asrni biologiya asri deb e’lon qilinishini talab qilib chiqqan olimlarni fikriga ko‘ra, biz yashab turgan bu asr yoki biologiya asri bo‘lishi kerak yoki u insoniyatni yo‘qolish asriga aylanib qolishi mumkin! Ammo XXI asrni oxirgi 10 yilliklarida xitob qilingan “fiziklar asri”, estafeta tayoqchasini “biologlar asriga” uzatish lozim degan fikrlari hozircha o‘z yechimini topgani yo‘q. Oldimizda turgan 30-40 yillarda insoniyat uchun katastrofa bo‘lib xizmat qila oladigan darajada 4 ta eng katta xavfni kirib kelayotganligi haqida fikr qilinsa, odamni yuragi orqaga tortib ketishi muqarrar. Xo‘sh bu xavfli katastrofalar nimalardan iborat?

Infeksiya bilan aloqador bo‘lgan immun sistemasini pasayib ketish xavfi. XX asrni o‘rtalariga kelib, ishlab-chiqarila boshlagan va juda keng ishlatilgan antibiotiklar ikki muammoni paydo bo‘lishiga olib keldi: a) antibiotiklar ta’siridan zarar ko‘rgan bakteriyalar o‘rnini, ulardan ko‘ra xavfliroq bo‘lgan viruslar egallab olishdi; b) XX asrni oxiriga kelib, insoniyatga keng miqyosda hujumga o‘tib olgan viruslarga har xil sabablarga ko‘ra antibiotiklar ta’siridan tirik qolgan, ularni ta’siriga o‘rganib qolgan bakteriyalarni maxsus antibiotiklarga rezistent bo‘lib qolgan shtammlari kelib qo‘shildi. Bakteriyalarning chidamliligini oshishiga odamlarni o‘zlari yordam qildilar. Chunki, ko‘pchilik insonlar antibiotiklar ishlatish zarur bo‘lmagan holatlarda ham ulardan foydalandilar, foydalanilganda ham noto‘g‘ri foydalanadigan bo‘lib qoldilar. Shu tarzda bir tomondan juda keng miqyosda (butun sayyoramiz bo‘ylab desak ham xato bo‘lmaydi) bakteriyalarni antibiotiklarga bo‘lgan shtammlarini seleksiyasi amalga oshirildi, ikkinchi tomondan esa, odam o‘z organizmini immun himoya tizimini kuchsizlanishiga sabab bo‘ldi.

Oziq-ovqat katastrofasini sodir bo‘lish belgilari. Biz yashab turgan davrda sayyoramizda 1 mlrd dan ko‘proq odamlar ochlikdan, tabiat, evolyutsiya ularni ovqatlanishga o‘rgatib qo‘ygan mahsulotlarni yetishmasligidan zahmat tortmoqdalar. Agarda, sayyoramizdagi butun botqoqliklarni quritib, bugungi cho‘llarga suv chiqarib, ularni o‘zlashtirib, ekin ekib, hosil ko‘tarib, oziq-ovqat mahsulotlari tayyorlanganda ham, yaqin 40-50 yilda bu katastrofa yana insoniyat oldida gavdalanadi.

Onkologik katastrofa. Bu muammo XX asr davomida kam harakatli faoliyat olib borish, kaloriyalik ovqatlanishni strukturasi va rejimi yo‘qligi, doimiy stress holatda hayot kechirish va boshqa ko‘plab sabablar insoniyatga hujum qilishga tayyorgarlik ko‘rishi natijasida paydo bo`ldi. O‘tgan asr davomida onkologik kasalliklar bilan kasallanish 9 marotabaga oshdi va shunday shiddat bilan davom etmoqdaki, biz yashab turgan asrni o‘rtalariga kelib, rak kasalliklari tufayli odamlarni boshiga qirg‘in kelish xavfi borligi bashorat qilinmoqda.

Global ekologik katastrofa. Ko‘p olimlar bu muammo qochib ham bo‘lmaydigan katastrofaga olib kelishini xitob qilmoqdalar. Faqatgina uni kirib kelish vaqtigina muhokama qilinmoqda xolos. Atrof-muhitga inson faoliyati bilan bog‘liq bo‘lgan ta’sir, me’yoridan 10-12 marotaba oshib ketgan. Biosfera o‘zini-o‘zi

boshqarish va o‘zini-o‘zi tiklash xususiyatini qayta tiklab bo‘lmaydigan darajada yo‘qotib bormoqda.

Faqatgina biologik tadqiqotlarni juda tezkorlik bilan, har tomonlama o‘ylab olib borilishigina, insoniyat oldida turgan bu katastrofalarni butunlay oldini ololmasa ham, uni biroz orqaga surish imkonini beradi. Bunday burilish tibbiyotda, qishloq-xo‘jaligida, tabiatdan foydalanishda, atrof-muhit muhofazasida juda katta yutuqlarni ta’minlashga qodir bo‘lishi kerak. Biologik tadqiqotlarda kutiladigan bunday burilishni nanobiologiya va nanobiotexnologiya ta’minlasa ajab emas.

Nanotexnologiya deganda, nanostrukturalar (nanotuzilmalar) yordamida manipulyasiya qilishga asoslangan fundamental texnologiyalar tushuniladi. Nanostrukturalar– kattaligi 1 nmdan 100 nmgacha bo‘lgan manbalar (obyektlar)dir ($1nm=10^{-9}$). Nanomasshtab o‘ziga xos bo‘lgan xususiyatga ega. Chunki, nanodunyoni materiallarini fundamental xossalari, ularni o‘lchamiga bog‘liq bo‘ladi. Bunday xususiyat boshqa, ulardan ko‘ra kattaroq bo‘lgan obyektlarga xos emas.

Molekulyar darajada molekulyar komplekslarni xususiyatlari bilan belgilanadigan yangi xossalar paydo bo‘ladi. Bu xossa va xususiyatlarni tushunish, ularni o‘rganish va nazorat qilish imkoniyati bir dunyo funksional molekulyar qurilmalar va texnologiyalarni ochilishiga sabab bo‘ladi.

Nanotexnologiyaning yutuqlaridan biologiyada foydalanish – yangi yo‘nalish, nanobiotexnologiyani paydo bo‘lishiga olib keldi.

Nanobiotexnologiya – nanotexnologiyani bir qismi bo‘lib, u nanobo‘lakchalarni tirik sistemaga ta’sirini o‘rganish, hamda biologik nanostrukturalarni, nanohodisalar va nanojarayonlarni modellashtirish, ularni eksperimental biologiya, tibbiyot, ekologiya, qishloq – xo‘jaligi va iqtisodiyotning boshqa tarmoqlarida ishlatish usullarini yaratish bilan shug‘ullanadi. Hozirgi vaqtga kelib, nanobiotexnologiyalarni yaratish va rivojlantirishni uchta asosiy yo‘nalishi shakllandi.

Birinchi yo‘nalish – laboratoriya va ishlab-chiqarish sharoitida tirik sistemaning nanohodisalari va nanomexanizmlarini modellashtirish va ularni qayta tiklash masalalari bilan shug‘ullanadi.

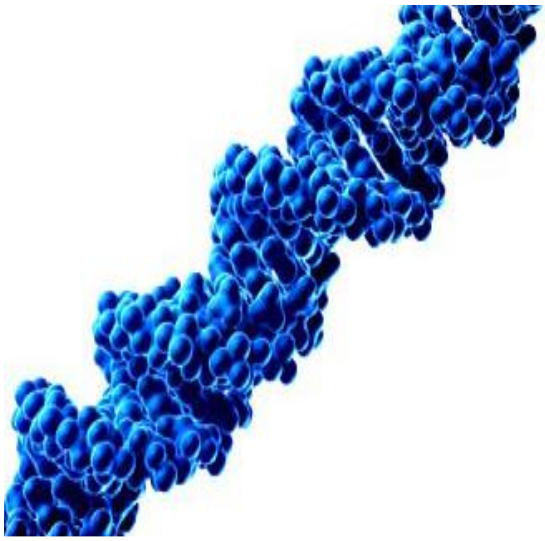
Ikkinchi yo‘nalish – tirik organizmlar ishtirokida nanobo‘lakchalar va nanomashinalar yaratish bilan shug‘ullanadi.

Uchinchi yo‘nalish – nanostrukturalar va nanojarayonlarni tirik organizmga kiritish bilan shug‘ullanadi va tirik organizmlarni o‘rganish, ularni holatini diagnoz qilish va davolashni o‘z oldiga maqsad qilib qo‘yadi.

Nanobiotexnologiya sohasidagi ishlanmalar molekulyar biologiya, hujayra biologiyasi, rivojlanish biologiyasi, genetika, mikrobiologiya va molekulyar biotexnologiya fanlarining yutuqlari asosida yaratiladi.

**“Nanostrukturalar”, “nanohodisalar”, “nanojarayonlar” va “nanotexnologiyalar” tushunchasi.** Nanostrukturalar – kattaligi (o‘lchami) 1 dan 100 nanometrgacha bo‘lgan obyektlar (manbalar). (Nanometr – metrni milliarddan bir bo‘lagi, $10^{-9}$m). Nanostrukturalar nafaqat insonlar yaratgan eng kichik manbalar, balki ular eng mayda qattiq materiallar bo‘lib, ularni alohida ajratib olish, hatto ulardan ba’zilarini manipulyasiya qilish, ya’ni o‘zgartirish ham mumkin (3, 4-rasm).

Nanomasshtab juda noyob, chunki nanodunyo elementlarni fundamental xususiyatlari, ularni o‘lchami bilan shunchalik bog‘liqki, bunday bog‘liqlik boshqa biror masshtabda kuzatilmaydi. Molekulyar darajada atomlarni, molekulalarni va nanokomplekslarni o‘zlarini tutishlari bilan bog‘liq bo‘lgan, yangi fizik-kimyoviy xususiyatlar paydo bo‘ladi. Biologik nanostrukturalarga misol sifatida kattaligi 4-50 nm oralig‘ida bo‘lgan oqsil molekulalarini kiritish mumkin.



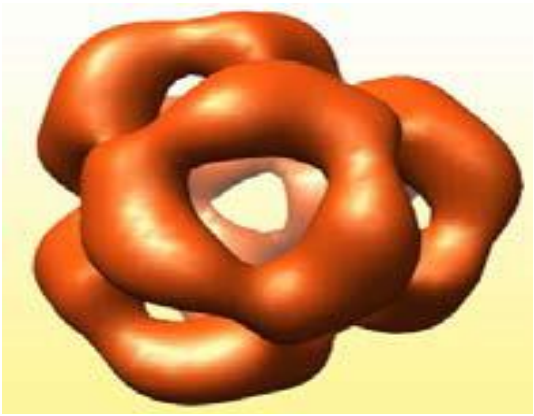
**86-rasm**. DNK ni ikki zanjirli molekulasi

Qalinligi 1-2 nm ga teng bo‘lgan DNK molekulalarini ham, ularni uzunligi birnecha millimetrga teng bo‘lishiga qaramasdan, nanostrukturaga kiritish mumkin. Tirik organizmlardan hayotni hujayrasiz shakli bo‘lgan viruslarni nanodunyoga kiritish mumkin. Viruslarni kattaligi 10-200 nm oralig‘ida yotadi.

Nanobo‘lakchalar yaratish texnologiyasida moddalarga ishlov berishni bir-biridan tubdan farq qiluvchi ikki yondashuv ma’lum:

– “Tepadan pastga”, ya’ni fizik jismlarga mexanik yoki boshqa xildagi ta’sir ko‘rsatib, ularni kattaligini (o‘lchamini) nanometrga tushirish;

– “Pastdan tepaga”, ya’ni yirikroq nanoobyektlarni “pastroq qatorda” turgan elementlardan (atomlar, molekulalar, biologik hujayralarni strukturali bo‘laklari va boshqalar) yig‘ish.



**87-rasm**. Oqsil molekulasi - tirik sistemada eng ko‘p tarqalgan nanostrukturalar (kattaligi 4-50 nm).

Nanostrukturalar (nanobo‘lakchalar) ishtirokida bajariladigan jarayonlar nanojarayonlar deb ataladi. Tirik organizmdagi eng asosiy nanojarayon – oqsil biosintezi.

Tirik tabiatda nanostrukturalar ishtirokida o‘tadigan hodisa (voqea) nanohodisalar deb yuritiladi. Ajoyib, ammo Sharqda tozalik belgisi deb yuritiladigan lotos (Nilufar gullar turkumiga kiradigan chiroyli suv o‘simligi) barglarini o‘z-o‘zidan tozalanishini ham nanohodisalarga kiritish mumkin. Lotos barglari balandligi 5-10 mkm ga teng bo‘lgan mikro bo‘rtmachalar bilan qoplangan bo‘lib, ulardan nanotukchalar o‘sib chiqadi. Mana shu nanotukchalar tufayli yomg‘ir tomchilari birdaniga oqib ketmasdan, barg sirtidan sirpanib o‘tadi va o‘zlari bilan birga barg sirtida to‘planadigan changlarni olib tushadi va bargni tozalab turadi. Bundan ancha qadimiy bo‘lgan nanohodisalarga DNK ni autoreplikatsiyasini (o‘zidan-o‘zi paydo bo‘lishi) keltirish mumkin. Bunday o‘ta murakkab hodisani bundan 3,5 mlrd yillar avval paydo bo‘lgan bakteriyalar namoyish qilib berishgan.

Nanotexnologiya deganda - nanostrukturalar (nanobo‘lakchalar)ni manipulyasiyasiga asoslangan fundamental texnologiyalar tushuniladi. Bu haqda keyingi boblarda batafsilroq to‘xtalib o‘tamiz.

**Nanodunyoni o‘rganishda ishlatiladigan mikroskoplar.** *Yorug‘lik mikroskopi.* Ko‘plab hayvon hujayralarini o‘lchami-10-20mkm ga teng. Bu odam ko‘rishi mumkin bo‘lmagan har qanday bo‘lakchadan 5 marta kichik (odamni ko‘zi to‘g‘ridan –to‘g‘ri kattaligi 100 mkm ga teng bo‘lgan buyumni ko‘ra oladi).

Hayvon hujayrasini oddiy yorug‘lik mikroskopi orqali ko‘rish mumkinmi? Yorug‘lik mikroskopida ko‘rish mumkin bo‘lgan eng kichik struktura, ruxsat etilgan oraliqni eng qisqasi bilan ($d_o$) belgilanadi. Oraliq asosan yorug‘lik to‘lqini ($\gamma$) ning uzunligiga bog‘liq. Bu bog‘liqlik quyidagi formula bilan izohlanadi:

$$D_o = {}^{1}/_{2}\gamma$$

Eslatma: mikroskopni ko‘rsatish imkoniyati: $d_0 = 0,61\ \gamma / n \sin Q$ formulasi orqali hisoblanadi.

Bu yerda $\gamma$ –ishlatilgan yorug‘likni to‘lqin uzunligi (oq rang uchun 0,53 mkm qabul qilingan), n – muhitni sinish koeffitsiyenti. Bu nusxani obyektiv linzasidan yoki kondensatordan ajratib turadi (odatda, havo yoki yog‘dan); Q -obyektivni optik o‘q (os) bilan obektivga tushadigan eng ko‘p nur orasidagi burchak.

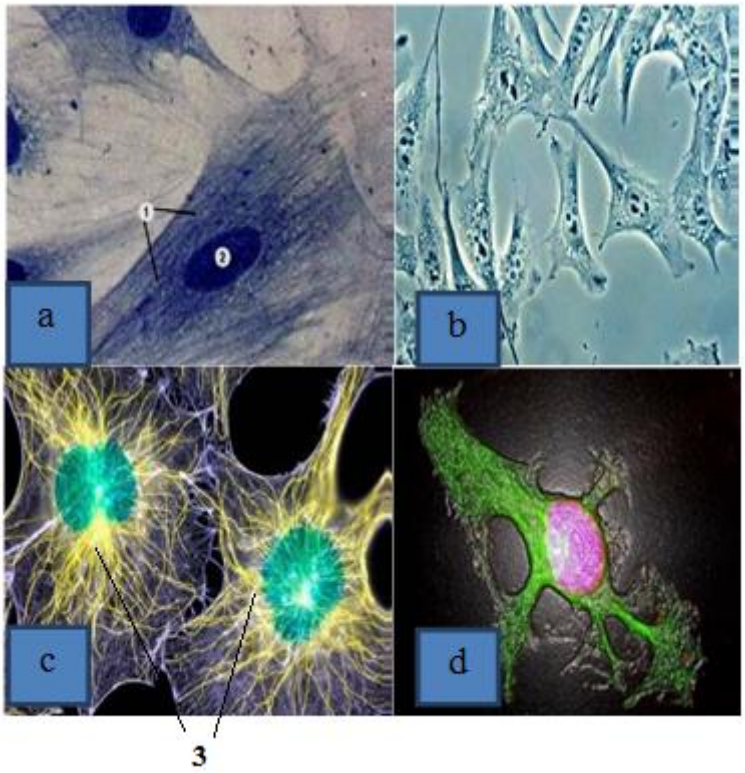
Odatda, yorug‘lik mikroskoplarida yorug‘lik manbalari sifatida ko‘rish spektridagi (400-700 nm) yorug‘lik ishlatiladi. Shuning uchun mikroskopni maksimal ko‘rsatkichi 200-350 nm (0,2-0,35 mkm) dan oshmaydi. Demak, o‘lchami birnecha mikrometrga teng bo‘lgan hayvon hujayralarini odatdagi yorug‘lik mikroskopi yordamida kuzatish mumkin. Ammo, tirik organizmlarni hujayralari rangsiz va tiniq bo‘ladi. Shuning uchun ham tabiiy holatda hujayralar yorug‘lik mikroskopida ko‘rinmaydi. Shunday ekan, hayvon hujayrasini qanday qilib mikroskopda ko‘rish mumkin?

Hujayralarni ko‘zga ko‘rinarli qilishni har xil yo‘llari ma’lum. Birinchidan, har xil bo‘yoqlardan foydalanib, hujayralarni bo‘yash ($6^a$-rasm). Masalan, ishqoriy bo‘yoqlar (gematoksilin, azur) hujayrani nordon komponentlarini yadroni (nuklein kislotalarini) spetsifik bo‘yaydi. Nordon bo‘yoqlar esa (eozin) ishqoriy reaksiyaga

ega bo‘lgan hujayra strukturalari (sitoplazmaning oqsillari) bilan bog‘lanib, keyin rang beradi.

Ikkinchidan, yorug‘lik mikroskopiyasining xilma-xilligi ham hujayralarni kuzatishga yordam beradi. Shulardan biri fazo – kontrastli mikroskopiya usuli, tirik bo‘lmagan hujayrani kuzatish imkonini beradi. Bo‘yalmagan strukturalarni kontrastligi, mikroskopga ulanadigan qo‘shimcha optik sistemalar hisobidan kuchayadi. Kontrastlikni ko‘tarilishi o‘tayotgan yorug‘likni sindiradigan xilma-xil hujayra strukturalarini kuzatish imkonini beradi ($6^b$-rasm).

Tirik hujayralarni kuzatishni ikkinchi yo‘li, bu fluoressent mikroskopiya usuli. Bu usul qator moddalarni qisqa to‘lqinli nur ta’sirida yorug‘lik berish (fluoressenatsiyalanish) xususiyatiga asoslangan.



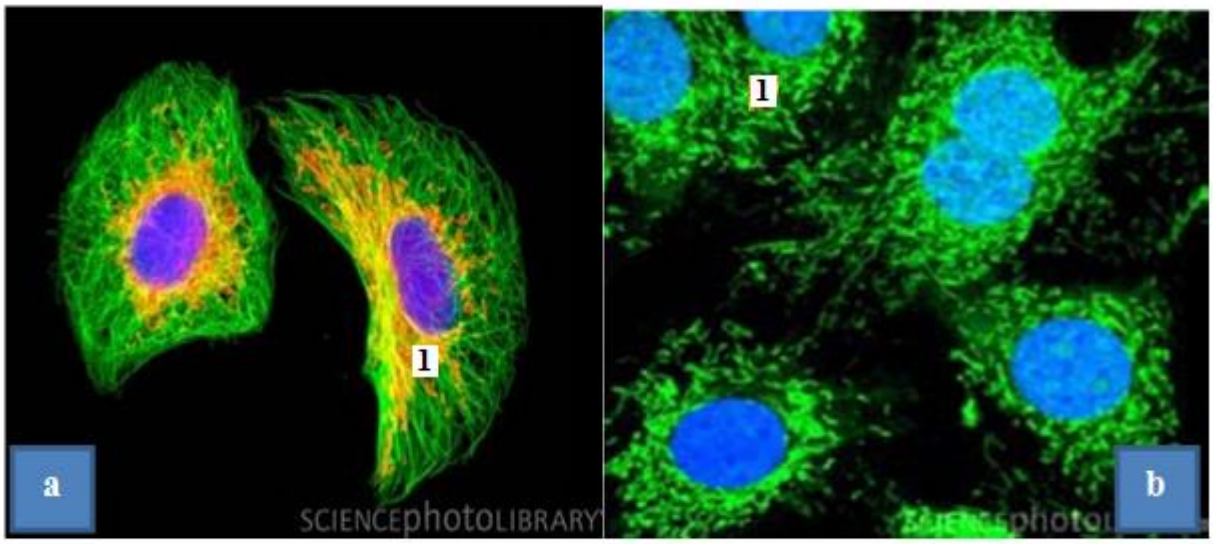

**88-rasm**. Fibroblastlar. a) yorug‘lik mikroskopiyasi yordamida olingan surat (1- aktinli mikrofilamenlar, 2-yadro) ×1000 (ming marta kattalashtirilgan); b) fazo – kontrastli mikroskopiya ×500; c) immunofluoressentli mikroskopiya (3-mikrotrubkalar) ×980; d) konfokalen mikroskopiya ×1000 marta kattalashtirilgan

Ko‘plab pigmentlar, vitaminlar, gormonlar va qator boshqa moddalar hujayraga qisqa to‘lqinli nur tushirilganda, o‘z-o‘zidan (spontan) fluoressensiyalanish xususiyatiga ega. Xuddi shunday xususiyatga tirik organizmlarni barcha hujayralari ham ega, ammo ko‘p holatlarda bu voqeylik juda ham kuchsiz namoyon bo‘ladi. Bunday holatlarda ko‘plab hujayralar ichidagi strukturalarni kuzatish uchun ikkalamchi yoki yo‘naltirilgan fluoressensiyadan foydalaniladi. Bu esa, hujayraga oldindan maxsus fluoroxromlar (fluoressein, rodamin) bilan ishlov berishni talab qiladi.

Fluoroxromlar antitelalarni molekulalari bilan bog‘lanishlari ham mumkin, bu esa, ularni faqat ma’lum makromolekulalar bilan tanlab bog‘lanuvchi yuqori spetsifik reagentlar safiga qo‘shib qo‘yadi.

Fluoressensiyani bu turini immunofluoressensiya deb ataladi. Bunda, avval oqsilga (masalan tubilinga) antitana saqlagan spetsifik zardob olinadi. Tozalangan antitanalar kimyoviy yo‘l bilan fluoressent mikroskop yordamida, (tekshiriladigan obyektda) hujayrada oqsilni lokalizatsiyasini fluoroxromni nur berishi orqali o‘rganiladi(6$^{c}$ -rasm).

Yorug‘lik mikroskopidan foydalanib, obyektni ucho‘lchovli ko‘rinishini aniqlash mumkinmi? Odatda, yorug‘lik mikroskopiyasi unchalik katta yorug‘lik bera olmaydi. Bu esa, o‘rganiladigan obyektni ucho‘lchovli ko‘rinishini aniqlash imkonini bermaydi. Bu muammo konfokalli skanirlovchi yorug‘lik mikroskopi yaratilishi bilan ijobiy hal qilingan. Bunda nur beruvchi sifatida lazer nuridan foydalanilgan. Bu nur birin-ketin preparatni butun qalinligini skaner qilish imkonini beradi. Obyektni zichligi haqida ma’lumot (axborot) skanirlashni har-bir liniyasi bo‘ylab kompyuterda uzatiladi va bu yerda (kompyuterda) maxsus dastur yordamida obyektni hajmdor ucho‘lchovli tasviri rekonstruksiya bo‘ladi. Odatda, bunday kuzatishlar uchun fluoroxromlar bilan bo‘yalgan obyektlar ishlatiladi (6$^{d}$-rasm). Konfokalli mikroskop hujayrani shakli, sitoskeleti, yadro va xromosomani strukturalari hamda hujayra ichidagi organellalarni joylanish xarakteri haqida axborot to‘plash imkonini beradi.



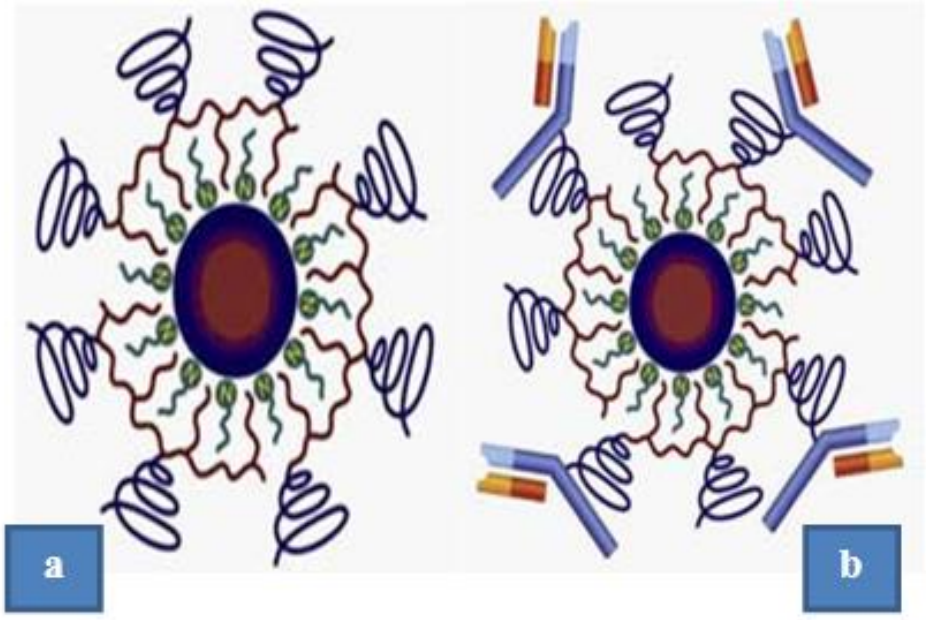

**89-rasm**. Konfokalli mikroskopiya: a-buyrakni epitelial hujayralari, × 1000, b-odamni shish hujayralari Hela ×1000 (1-mitoxondriyalar)

Biologiyada ishlatiladigan fluoroxromlarni ko‘pchiligi, organik birikmalarga kiradilar. Ularni kamchiliklari quyidagilardan iborat: 1- fotostabilligining pastligi; 2-birnecha obyektlarni birvaqtda ko‘rish uchun har xil bo‘yoqlardan foydalanish zaruriyati; 3-bu bo‘yoqlarni fluoressensiyasini kuchaytirish uchun tegishli bo‘lgan yorug‘lik manbalarini tanlash zaruriyati.

Organik fluoroxromlarni bu kamchiliklarini qanday qilib yo‘qotish mumkin? Bu muammo kvant nuqtalari yoki noorganik fluoroxromlar ishlatish orqali yechilgan.

Kvant nuqtalar – yarimo‘tkazgich nanokristallar hisoblanadi. Biologik tadqiqotlarda CdSeni ZnS bilan qoplanadi. ZnS kvant nuqtalarni oksidlanishga chidamliligini oshiradi va fluoressensiyani intensivligini birnecha marotabaga oshiradi.

Nanokristallarni o‘lchamini o‘zgartirish orqali optik spektrni hohlagan joyiga o‘rnashtirilgan, fluoressensiyaga ega bo‘lgan fluoroxromlar olish mumkin. Ammo, CdSe/ZnS ni nanokristallari juda past gidrofillikga ega bo‘lganliklari sababli, ularni biologik sistemada ishlatilishi chegaralangan. Kvant nuqtalarini solyubilizatsiya qilish (suvli muhitga o‘tkazish) usullaridan biri, ularni sirtida polimer qavat hosil qilish hisoblanadi. Keyin bunday polimerga antitelalar bog‘lash mumkin bo‘ladi. Bu esa, o‘z navbatida nanokristallni biologik nishonga spetsifik va yuqori darajada tanlab bog‘lash imkonini beradi.

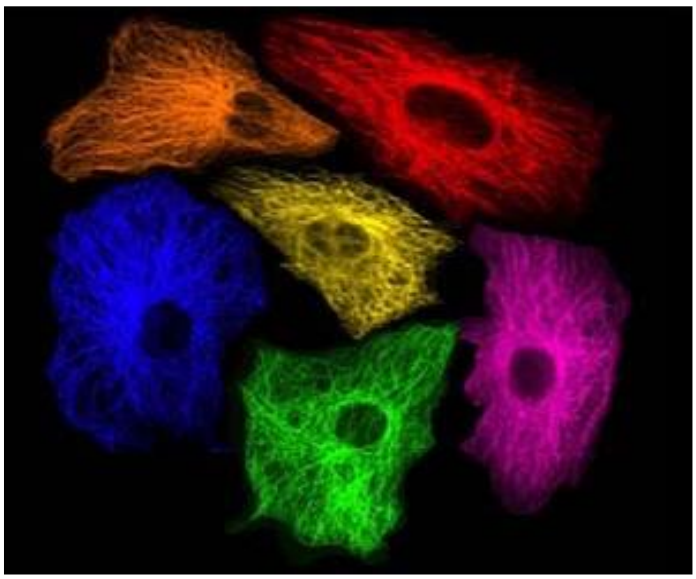



**90-rasm**. Kvant nuqtani tuzilish chizmasi. a) polimer bilan qoplangan; b) antitelolar bilan qoplangan. 1- yadro (CdSe), 2-ZnS qavat (obolochka), 3 – polimer, 4 – antitana(antitela)

Har xil o‘lchamga ega bo‘lgan kvant nuqtalar keng diapozonli optik spektrga ega bo‘lgan (ultrabinafshadan – yaqin infraqizil qismgacha) nurlarni yuta oladi. Bu esa, bir manba yordamida nanokristallarni har xil rangga kirib tovlanishini ta’minlaydi.

Nanokristallar organik fluoroxromlarga qaraganda, yuqoriroq fotostabillikka va qisqa spektrli fluoressensiyaga ega. Nanokristallarni yuqori darajada fotostabilligi (bu xususiyat, organik fluoroxromlarga nisbatan birnecha daraja baland), ularni konfokalli mikroskopiyada ishlatish imkonini beradi.

Demak, elektron mikroskopni ko‘rish imkoniyati, yorug‘lik mikroskopiga qaraganda 100000 marta kattaroq. Zamonaviy elektron mikroskop kattaligi 0,1-0,7 nm ga teng bo‘lgan jismni ko‘ra oladi, agar biologik obyekt bo‘lsa, bu raqam 2 nm atrofida bo‘ladi.



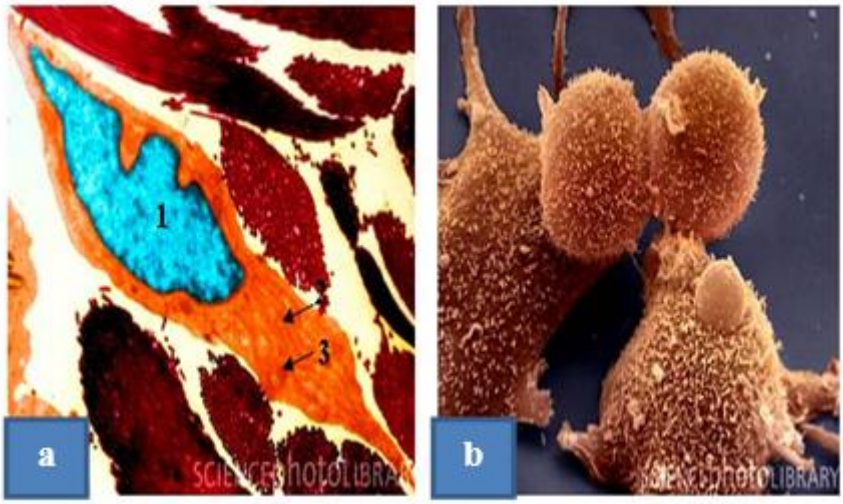
**91-rasm**. Konfokal mikroskopiya usulida fibroblastlarda kvant nuqtalar yordamida α - tubulin oqsilini topilishi

Hozirgi vaqtda, biologiyada transmission (yoritib ko‘rish) va skanirlovchi elektron mikroskoplardan ko‘proq foydalaniladi.Tranmission elektron mikroskop yordamida o‘rganiladigan obyektni ikkalamchi tasviri olinadi.



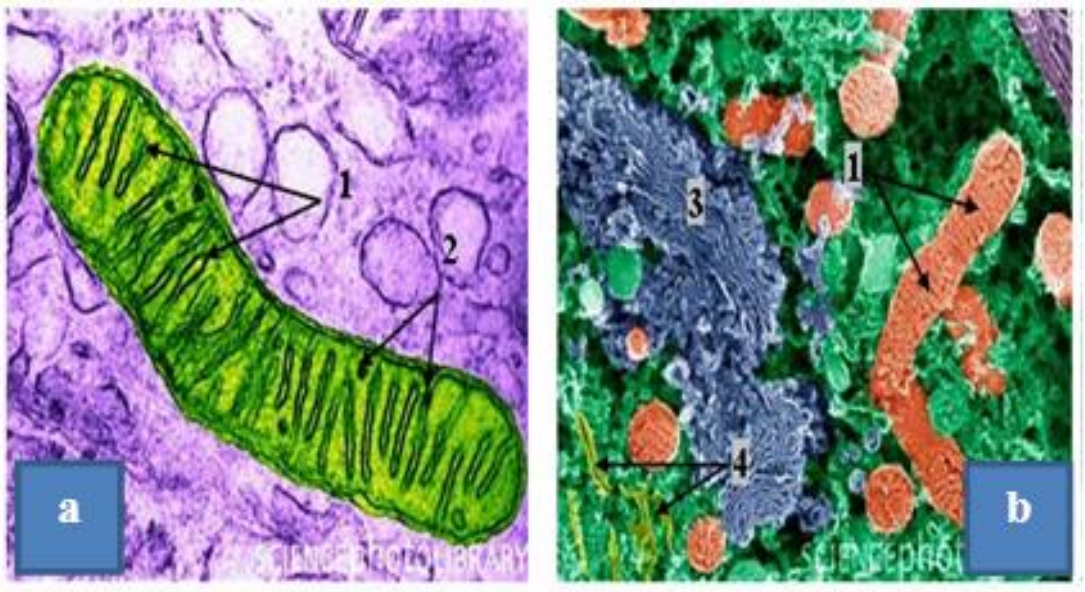
**92-rasm**. Biologik tadqiqotlarda ishlatiladigan transmission (yoritib ko‘rsatadigan) elektron mikroskoplarni ko‘rinishi

Transmission elektron mikroskopiyada biologik obyektlarni ultranafis (yupqa) kesmalaridan (qalinligi 0.1 mkm ga teng bo‘lgan) foydalaniladi va ularni kontrastligi og‘ir metallar yoki ularni tuzlari yordamida kuchaytiriladi.




**93-rasm**. Fibroblastni yorituvchi (a) va skanirlangan (b) elektron mikrofotografiyalar:1 – yadro; 2 – endoplazmatik to‘rning donador (granula) kanallari; 3 – lizosoma ×10000

*Elektron mikroskopiya* yordamida obyektni fazoviy tasvirini olish mumkinmi? Bunday kuzatishlarni olib borish uchun skanirlovchi elektron mikroskop yaratilgan. Obyekt tasviri shakllanishida, obyekt qaytargan elektronlar qatnashadi. Buning uchun obyekt sirtini elektron o‘tkazadigan qilish kerak. Ko‘p holatlarda bu nusxa sirtiga nafis metall kukunlarini purkash orqali amalga oshiriladi. Bu usulni eng katta ustuvorlik tomoni – katta aniqlikka egaligi hisoblanadi. Ammo uni ko‘rish imkoniyati (biologik obyektlar uchun 3-5 nm ga teng) transmission elektron mikroskopga nisbatan ancha past.



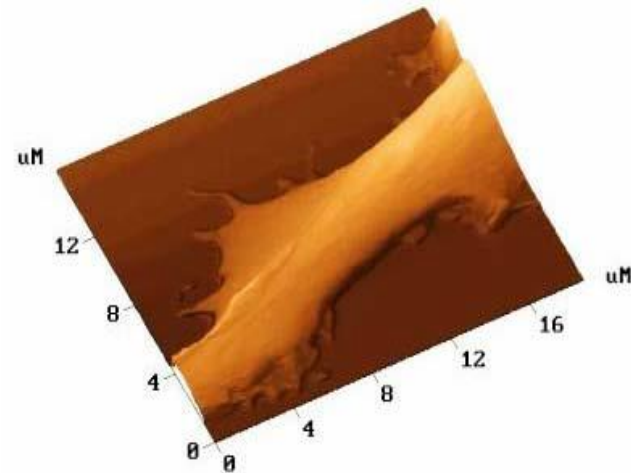

**94 –rasm**. Hujayra organoidlarini transmission (a) va skanirlangan mikrofotografiyalari: 1 – mitoxondriya kristallari. 2- mitoxondriya matriksidagi granulalar; 3- Goldji apparati, 4- endoplazmatik to‘rning kanallari ×20000 marotaba kattalashtirilgan




**95-rasm.** O‘quv – ilmiy laboratoriyalardagi skanirlovchi–zondli mikroskoplar ko‘rinishi

Skanirlovchi elektron mikroskopiyani kamchiligi obyektga metallar kukuni bilan ishlov berish zarurligi bo‘lib, u hujayra qobig‘idagi ba’zi strukturalarni tasvirini aniq chiqmasligiga olib keladi. Bundan tashqari, tadqiqot uchun tayyorlangan nusxalarni hujayralari metallar ta’sirida o‘lib qoladilar.

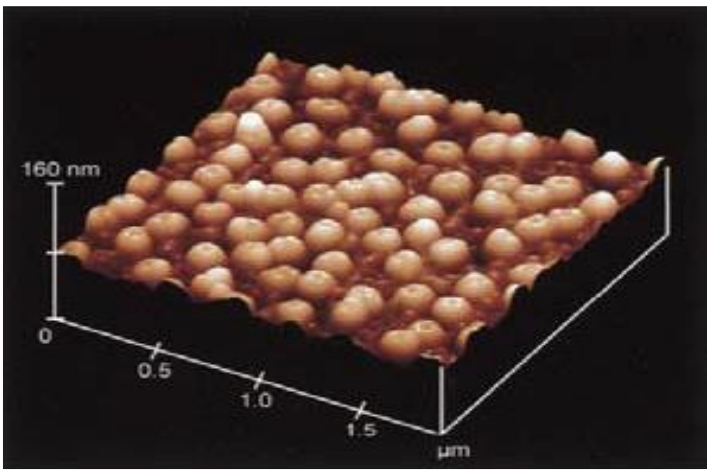
Biologik strukturalarni, tabiiy holatga yaqinroq bo‘lgan sharoitda kuzatishni qanday ta’minlash mumkin? Bu muammo skanirlovchi zondli mikroskop yaratilishi bilan o‘z yechimini topdi. Bu mikroskop o‘zini ko‘rish imkoniyatlari bo‘yicha elektron mikroskopdan kam emas.




**96-rasm**. Skanirlovchi–zondli mikroskop yordamida olingan fibroblastlarni bir qismini tasviri

*Atom-kuchli mikroskopiya*. Zamonaviy biologik tadqiqotlarda atom kuchli mikroskopiyadan keng foydalanib kelinmoqda. Bu mikroskopni o‘ziga xos tomoni nima? Atom kuchli mikroskopni ishlashini asosida zond bilan o‘rganiladigan obyektni sirti orasida sodir bo‘ladigan o‘zaro ta’sirni har xil turlaridan foydalanish

yotadi. Ular orasida Van-der-Vaals kuchlari, elektrostatik, kapilyarli, kimyoviy o‘zaro munosabatlar va boshqalar bor. Bu usul nusxani murakkab yo‘llar bilan tayyorlashni talab qilmaydi, xususan elektron mikroskopiyada ishlatiladigan obyektni kontrastligini metall yordamida oshirishni keragi yo‘q. Bu usul yordamida nusxalarni nafaqat havoda, balki suyuqlikda ham o‘rganish mumkin. Atom-kuchli mikroskopiyani ustuvorligi uni ko‘rish imkoniyatlari: u atomlar va molekulalar darajasida uchlamchi tasvirni olish imkonini beradi.




**97-rasm**. Atom-kuchli mikroskop yordamida yadro oqsillarni kompleksini ko‘rinishi

Hozirgi vaqtda, bu usul hujayra membranalarini o‘rganishda, hujayra va viruslar orasidagi o‘zaro ta’sirni o‘rganishda, bakteriyalarni identifikatsiya qilishda keng ishlatiladi. Bu usul, shuningdek nuklein kislotalarni o‘rganishda va DNK ni strukturasini aniqlashda katta samara beradi. Bu mikroskopdan foydalanish shish hujayralarni sirtini o‘rganishda katta samara bilan ishlatilmoqda. Shish hujayralar normal hujayralardan strukturasi, biokimyoviy va fizik – kimyoviy belgilari bilan farq qiladi. Shuning uchun, organ hujayralarini mexanik xossalarini o‘zgarishi, yomon sifatli o‘zgarishlarni aniqlashda marker sifatida ishlatiladi.

**Nanobiotexnologiyani rivojlanishini asosiy yo‘nalishlari.** Nanotexnologiya sohasidagi fundamental tadqiqotlar nanodunyoning biologik, kimyoviy va fizikaviy xossalari va hodisalarini o‘rganishga yo‘naltirilgan. Bundan tashqari, ular yangi materiallar ishlab-chiqarishda va yangi texnologiyalar yaratishda, mana shu xossa va xususiyatlarni mujassamlashtirishni maqsad qiladi. Nanotadqiqotlar asosida erishilgan yutuqlar biotexnologiyada, tibbiyotda, elektronikada, transportda, qishloq-xo‘jaligida, atrof-muhit muhofazasida va iqtisodiyotning boshqa sohalarida muvaffaqiyat bilan ishlatilib kelinmoqda. Nanotexnologiyalar tabiiy fanlarni barcha yutuqlarini birlashirib, yangi inqilobiy texnologiyalarga asos solib kelmoqda. Yangi inqilobiy texnologiya – moddalar bilan ishlash jarayonlarida alohida atomlar, molekulalar va ularni komplekslari yordamida manipulyasiya qilishni ko‘zda tutadi.

Nanobiotexnoligiyaning rivojlanishini asosiy yo‘nalishlarini uch guruhga yig‘ish mumkin:

– laboratoriya va ishlab-chiqarish sharoitlarida tirik sistemalarni nanohodisalari va nanomexanizmlarini modellashtirish va qayta tayyorlash;

– tirik organizmlar ishtirokida nanobo‘lakchalar va nanomateriallar olish;

– tirik organizmni o‘rganish, uni holatiga tashxis qo‘yish va davolash maqsadida nanostrukturalar va nanojarayonlardan foydalanish.

Hozirgi zamon nanobiotexnologiyasining aniq vazifalari quyidagilar:

– an’anaviy sitologik va sitokimyoviy usullar yordamida yechilmagan fundamental biologik muammolarni yechimini topish (biologik jarayonlarni modellashtirish, tirik hujayralarni atom-molekulyar komplekslarini va biomolekulalarni holatini analiz qilish);

– genetik injeneriyasining yangi usullarini yaratish maqsadida nanobo‘lakchalarni DNK molekulasi bilan o‘zaro munosabatlarini tadqiq qilish;

– nanobo‘lakchalar yordamida moddalarni biologik membranalar orqali transporti mexanizmlarini o‘rganish va dori – darmonlarni yo‘naltirilgan holda manzilga yetkazish nanotexnologiyasini yaratish;

– atrof muhit tarkibida yoki odam organizmida ma’lum moddalarni aniqlash, shuningdek mutatsiyani aniqlash maqsadida biologiya va tibbiyot uchun biosensorli sistema yaratish;

– tibbiyotda ishlatish uchun yangi nanomateriallar sifatida nanobo‘lakchalardan foydalanish imkoniyatlarini o‘rganish: organizmdan va uni sirtidan keraksiz va zaharli moddalarni chiqarib tashlash uchun sorbentlar (metabolizm mahsulotlari, og‘ir metallar, radionuklidlar, ksenobiotiklar) yaratish;

– kasallikni diagnostika qilish va eng boshlang‘ich bosqichida samarali davolash uchun yuqori sezgirlikka ega bo‘lgan va ishlatishga qulay bo‘lgan sistemalar yaratish;

– nanobo‘lakchalar asosida oqsillarni ajratish, ularni modifikatsiya qilish va ularni preparatlarini katta miqdorda ishab-chiqarish uchun samarador bo‘lgan nanomateriallar va nanotexnologiyalar yaratish;

– bioanaloglar – bakteriyalar, viruslar, eng sodda hayvonlar asosida o‘z-o‘zini ishlab-chiqara oladigan sistemalar yaratish;

– nanobo‘lakchalarni murakkab tuzilgan organizmlar, jumladan hayvon va odam organizmiga ta’sirini o‘rganish;

– nanotexnologiyalar asosida dorivor moddalarni yangi avlodini yaratish;

– tirik organizmga ko‘chirib kiritish maqsadida biologik mos bo‘lgan (organizm chiqarib tashlamaydigan) meditsina materiallari yaratish;

– immun tizimni qo‘zg‘atmaydigan (provakatsiya qilmaydigan), organizmdagi kasallangan joyni tuzata oladigan nanorobotlar ishlab chiqish.

## 25§. EKOBIOTEXNOLOGIYA

Ekologik biotexnologiya (yoki ekobiotexnologiya) ekologik muammolarni hal qilishda biotexnologik jarayonlar, obyektlar va mahsulotlardan foydalanishga asoslangan ilmiy-tadqiqot va amaliy faoliyat yo‘nalishi hisoblanadi. Ekobiotexnologiya oqava suvlarni biologik tozalash (aerotanklar, biofiltrlar), organik chiqindilarni qayta ishlash (kompostlash, konstruksiyali reaktorlarda qayta ishlash,

ozuqa qo‘shimchalari va bioo‘g‘itlar olish) kabi bugungi kungacha yaratilgan texnologiyalar va usullarni o‘rganadi, ishlab chiqadi va amaliyotda qo‘llashga tavsiya etadi. Shuningdek, ushbu fan gazlarni deodorizatsiya qilish, ifloslangan tuproqlarni (tuproq bioremediatsiyasi) yaxshilash, cho‘kindilarni, suv havzalarini tozalash, yer unumdorligini tiklash, “ekologik toza” polimerlar, faol va foydali xususiyatlarga ega boshqa materiallar va birikmalarni olish hamda o‘zgartirish uchun ishlatiladigan biotexnologik jarayonlarning mohiyatini ochishga harakat qiladi.

Atrof-muhitning ifloslanishi muammosi 5000 yil oldin odamlarni tashvishga sola boshlagan. Hattoki, Qadimgi Rimda Tiber suvlari iste’molga yaroqsiz edi, shuning uchun aholini chuchuk suv bilan ta’minlash uchun suv o‘tkazgichlar qurilgan, oqava suvlar kanalizatsiya kanallari orqali dengizga chiqarilgan. Yevropaning ko‘plab shaharlari uchun bu muammo O‘rta asrlarda dolzarb bo‘lib qoldi. Charlz VII farmoniga ko‘ra, kanalizatsiyaga oqava suvlarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri Sena daryosiga quyish ta’qiqlangan. 1388-yilda Angliyada suv sifatini himoya qilishga qaratilgan birinchi qonun qabul qilindi. O‘sha paytda Londonda maishiy va sanoat chiqindilari olib chiqilib, Temzaga tashlandi, holat daryoning sezilarli darajada ifloslanishiga olib keldi. Qabul qilingan qonunga ko‘ra, chiqindilarni shahar ichiga tashlab yuborish ta’qiqlangan. XVIII asr oxirida Moskvada hunarmandchilikni rivojlantirish va sanoat korxonalarini qurish qulay bo‘lgan Moskva, Neglinnaya, Yauza daryolari havzalari oqava suvlar muntazam to‘kilganligi sababli ifloslangan. Bu davrda Moskva aholisi garchi bir nechta mahalliy suv quvurlari allaqachon ishlayotgan bo‘lsa ham daryolar, suv havzalari va quduqlardagi suvdan foydalangan. 1767-yilda Ketrin II farmon chiqardi, unda “... hech kim Moskva daryosiga va shahar bo‘ylab oqib o‘tadigan boshqa suvlarga axlat tashlamasligini qat’iy taqiqlash va tinimsiz nazorat qilish” Natijada, XVIII asrning ikkinchi yarmida Moskvada birinchi markazlashtirilgan suv ta’minoti tizimini qurish boshlandi. Uydan tashqarida hojatxona qurish XIX asrning oxirigacha inson najasidan qutulishning eng keng tarqalgan usuli bo‘lib qoldi. U yerdan ichimlik suviga drenajlar, ayniqsa, hojatxonalar va ichimlik quduqlari bir-biriga yaqin joylashgan shaharlarda kasalliklarni keltirib chiqardi. Suv bo‘ronli drenajlarga yo‘naltirilgan yuvilgan hojatxonalar paydo bo‘lishi bilan kanalizatsiya chiqindilari to‘g‘ridan-to‘g‘ri tabiiy suv havzalariga tashlandi. 1870-yillarning oxiriga kelib, sanoati rivojlangan shaharlardagi ko‘plab suv havzalari baliqlar o‘liklarga to‘ldi, holat inson salomatligi uchun jiddiy xavf tug‘dirardi. 1907-yildagi hujjatlardan biriga ko‘ra, Grinvich hududidagi Temza suvi past toshqin paytida, yog‘lar va aralashmalardan tozalanib, hidini yo‘qotib, shunchalik kuchli ichimlikka aylandiki, hatto dengizchilarni ham oyoqlaridan yiqitdi. V.L.Omelyanskiy 1928-yilda yozganidek: “Angliyaning yirik sanoat shaharlaridan biri - Bredforddan o‘tadigan daryoning suvi zavod va shahar chiqindilari bilan shunchalik ifloslanganki, uni tekshirgan sanitariya komissiyasi siyoh sifatida foydalanib, o‘z hisobotini yozgan”. Chiqindilarni tozalash, oqava suvlarni tozalash va shaharlarda kanalizatsiya tarmoqlarini qurish usullarini tizimli tashkil etish faqat XIX asrning o‘rtalarida boshlangan. O‘sha paytda Lui Paster va boshqa mikrobiologlar ko‘plab yuqumli kasalliklarni oqava suvlarda mavjud bo‘lgan bakteriyalar keltirib chiqarishini va suv

havzalariga oqizilgan tozalanmagan oqava suvlar infeksiyalarning tashuvchisi ekanligini aniqladi.

Rossiyada 1884-yilda sanoat, savdo va kommunal obyektlarni sanitariya nazoratini amalga oshiruvchi muassasa tashkil etildi. 1891-yilda professor F.F.Erisman Moskvada Rossiyada birinchi sanitariya-epidemiologiya stantsiyasini ochdi. Shuningdek, u Moskvada suv ta'minoti va kanalizatsiya qurilishining sanitariya masalalarini ishlab chiqdi. 1891 va 1892-yillarda Birinchi gidrokimyoviy va gidrobiologik tadqiqotlar o'tkazildi, hisobotlarda suvning zavod va maishiy oqava suvlar bilan ifloslanishi qayd etildi.

Yevropa va Shimoliy Amerikada sanoat inqilobi boshlanishi bilan fuqarolarning salomatligi va hayotiga tahdid soluvchi suvning ifloslanishi, ayniqsa, keskin sur'atlarda o'sishni boshladi.

Shunday qilib, XX asr boshlariga kelib suv havzalarini ifloslantirish va shahar (maishiy va sanoat) oqava suvlarini tozalash muammolari ayniqsa muhim ahamiyat kasb etdi. Chiqindilar miqdorining o'sishi, ayniqsa, qattiq maishiy chiqindilar oshib borish tendesiyasi XX asrda kuzatildi. Holat, eng sanoati rivojlangan mamlakatlarda yiliga bir necha yuz ming tonna qattiq chiqindilarni qayta ishlash usullarini ishlab chiqishga olib keldi.

Aholi sonining ko'payishi va shaharlarning rivojlanishi bilan tabiiy sharoit o'zgarib, o'ziga xos shahar landshaftlari shakllandi. O'simlik va hayvonot dunyosi kuchli o'zgarishlarga uchradi, o'rmonlar qisqardi, qishloq xo'jaligiga yaroqli yerlarning katta qismi shudgor qilindi. Ekstensiv dehqonchilikning oqibatlari XVIII asr oxiri XIX asr boshlarida paydo bo'la boshladi. Natijada unumdorlikning pasayishi va tuproq eroziyasining kuchayishi kuzatildi hamda haydaladigan tuproqlarda chirindi miqdori doimiy ravishda kamaydi.

Hosildorlikni saqlab qolish uchun organik o'g'itlarni muntazam ravishda qo'llash kerak edi. XVIII-XIX asrlarda tuproq unumdorligini ilmiy asosda oshirish yo'llari bo'yicha tadqiqotlar boshlandi. Qishloq xo'jaligining rivojlanishi va shaharlarning o'sish fonida, foydali rudalar va foydali qazilmalarning olib qo'yilishi, o'rmonlarning kesilishi, dalalarning shudgorlanishi, to'g'on va kanallarning qurilishi, ifloslanish miqdorining ko'payishi, tuproqning o'zgarishi tobora kuchayib bordi. Holat yer usti qatlami va tuproq xossalarini tiklash (meliorativ, reabilitatsiya, melioratsiya) usullarini ishlab chiqishni taqozo etdi .

Iste'mol qilinadigan qazib olinadigan yoqilg'ilar hajmining o'sishi, temir yo'llarning, avtotransportning paydo bo'lishi va sanoatning rivojlanishi atmosferaga ko'p miqdorda zararli chiqindilar, jumladan, gazlar (birinchi navbatda oltingugurt va azot oksidi, uglerod oksidi) va zarrachalar (chang) ning ko'p miqdorda chiqarilishiga olib keldi.

XX asr o'rtalariga kelib, eng yirik sanoat shaharlarida atmosferaning ushbu zararli aralashmalar bilan ifloslanishi kritik chegaraga yetdi, bu esa gazlar va gaz-havo chiqindilarini tozalash usullari, shu jumladan biologik tozalash usullarini rivojlantirishni rag'batlantirdi.

Sanoat va qishloq xo'jaligining rivojlanishi, shaharlarning o'sishi bilan insoniyat muhitini yaxshilash choralarini ko'rish zarurati yaqqol namoyon bo'ldi.

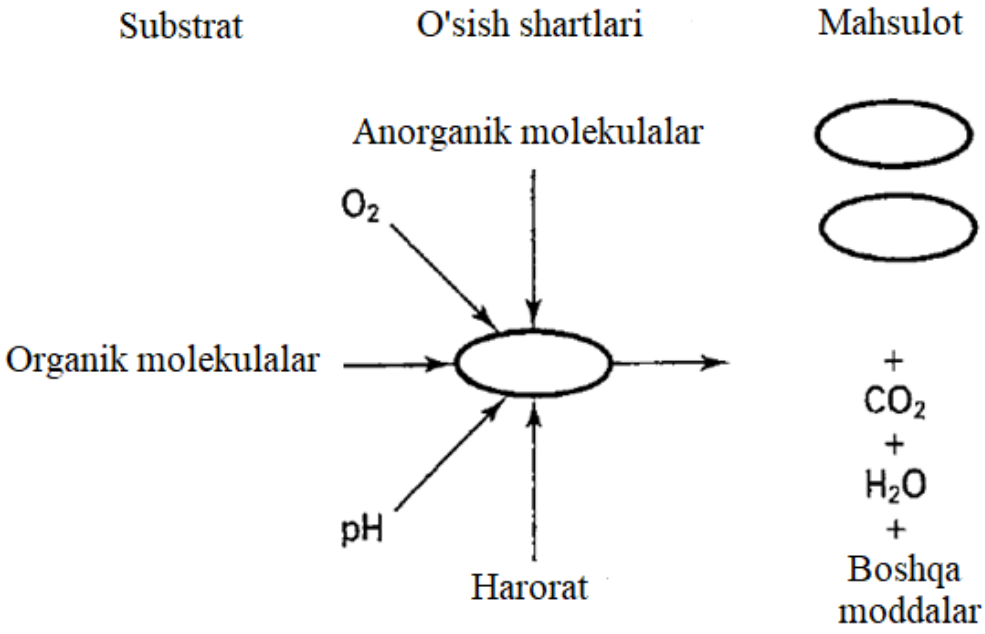
XIX asr oxiriga kelib, fan va texnikaning holati ifloslanish va chiqindilarni olib tashlash muammolarini hal qilish imkonini berdi. Shahar kommunal xo‘jaligini rivojlantirish va oqava suvlarni tozalashga katta e’tibor qaratildi. AQShda o‘sha vaqtga kelib yomg‘ir va kanalizatsiya aralashmasini ifloslanishdan tozalash usullari ishlab chiqilgan va birinchi suv tozalash inshootlari qurilgan. Kanalizatsiya tozalash inshootlariga bo‘lgan ehtiyoj e’tirof etildi va yomg‘ir hamda oqava suvlarni alohida yig‘ish kerakligi e’tirof etildi, chunki ularning umumiy hajmini tozalash imkonsiz edi. XIX asr oxirida, kanalizatsiya tizimini qurish, shuningdek, oqavalar va yomg‘ir suvlarini olib ketish uchun tizimli kanalizatsiyadan foydalanish Moskvada ham boshlandi. 1917-yilga kelib uy xo‘jaliklarining 28% kanalizatsiyaga ega edi. Bular asosan shahar markazida joylashgan uylar edi. Kanalizatsiya inshootlari kuniga 90 ming $m^3$ miqdorida kanalizatsiya oqardi. Dastlab, yoqimsiz ifloslantiruvchi moddalar bilan oqava suvlar ochiq ariqlar bo‘ylab oqardi va cho‘kma hovuzi (kanalizatsiya hovuzi) ko‘rinishidagi mexanik tozalash inshootlarida oqava suvdagi qattiq moddalar cho‘ktirilgan, shu orqali kanalizatsiya tiqilib qolishi hamda chirigan mahsulotlarning paydo bo‘lishining oldi olingan.

Zararsizlantirish uchun maxsus tayyorlangan dalalarga (sug‘orish maydonlariga) yetkazib beriladigan oqava suvlar qumloq tuproqdan o‘tib, filtrlanadi va tozalanadi. Bu usul Germaniyaning ko‘plab shaharlarida o‘nlab yillar davomida qo‘llanilgan. Rossiyadagi shakar zavodlarida bu usul 90-yillarda qo‘llanila boshlandi. Moskvada kanalizatsiya dastlab Lyublin sug‘orish maydonlariga yetkazib berilgan, uning ostida 76 gektar yer moslashtirilgan. Keyinchalik, Lublin maydonlarida qo‘shimcha ravishda, Lyubertsy filtrlash maydonlari yaratildi. Ularning umumiy quvvati 250 ming $m^3$/kun edi. Sug‘orish maydonlari, tozalash havzalari bugungi kungacha o‘z ahamiyatini yo‘qotgani yo‘q. Ulardagi oqava suvlarni tozalash tabiiy sharoitlarga yaqin sharoitlarda amalga oshiriladi.

1865-yilda A.Muller oqava suvlarni bakterial tozalashni taklif qildi, bunda u ta’kidlaganidek, “turli xil - asosan mikroskopik jihatdan kichik hayvonlar va o‘simlik organizmlari o‘z hayotini ta’minlash uchun organik bog‘langan energiyadan foydalanadi”. Mullerning oqava suvlarni tozalash usuli lavlagi qand zavodlarida qo‘llanilgan.

Oqava suvlarni biologik tozalash usullari bosqichma-bosqich takomillashtirildi. Taxminan bir vaqtning o‘zida tomchilatib filtr yordamida suvni organik moddalardan tozalash usuli qo‘llanildi. Bakteriyalar ko‘pincha qum qatlami bo‘lgan tashuvchi muhitda rivojlangan va saqlanib qolgan. Birinchi biofiltrlar 1893-yilda Angliyada, 1908-yilda esa Rossiyada paydo bo‘lgan. Kislorod ventilyatsiya yoki tabiiy oqim orqali ta’minlangan. Oqava suvlar kuniga 6 soat hovuzga quyilgan, qolgan kunlarda suv berilmagan. Ushbu usul yordamida 1 ga qumli qatlam uchun kuniga taxminan 1000 $m^3$ oqava suvni tozalash mumkin edi. O‘sha paytda uni London kabi yirik shaharda oqava suvlarni tozalash uchun ishlatish uchun taxminan 800 gektar mos yer kerak bo‘lar edi. Keyinchalik tomchi filtrlash (yoki perkolatsiya qatlami) usuli modernizatsiya qilindi, qum o‘rniga boshqa filtr materiallari va filtr konstruktsiyalari qo‘llanildi hamda keng tarqaldi.

Tomchilatib yuboruvchi filtrli tozalash tizimini yaratish bilan bir qatorda, tozalangan suvda mikroorganizmlar suspenziyada bo‘ladigan tizim ishlab chiqildi. Bunday tozalash uchun birinchi tizimlar sifatida biologik hovuzlar yoki lagunalardan foydalanilgan. 1914-yilda faollashtirilgan loy bilan aerob biologik tozalash tizimi taklif qilindi. Yangi usulga ko‘ra, oqava suvlarni ifloslantiruvchi moddalarni oksidlash uchun zarur bo‘lgan vaqt bir necha soatgacha qisqartirildi. Innovatsion usul majburiy shamollatish bo‘lib, bu oqava suvlarni tozalash samaradorligini sezilarli darajada oshirishga imkon berdi. Dastlab, faollashtirilgan loydan foydalangan holda partiyaviy jarayonlar qo‘llanildi, ular hozirgi vaqtda cheklangan foydalanishni saqlab qoldi. Keyinchalik uzluksiz tozalash tizimlari ishlab chiqildi, bunda hosil bo‘lgan loyning bir qismi (qayta ishlangan, qaytariladigan loy) ozuqa suvi bilan aralashtirish uchun tozalash tizimiga qaytarildi va ortiqcha loyning bir qismi tozalash tizimidan olib tashlanadi.

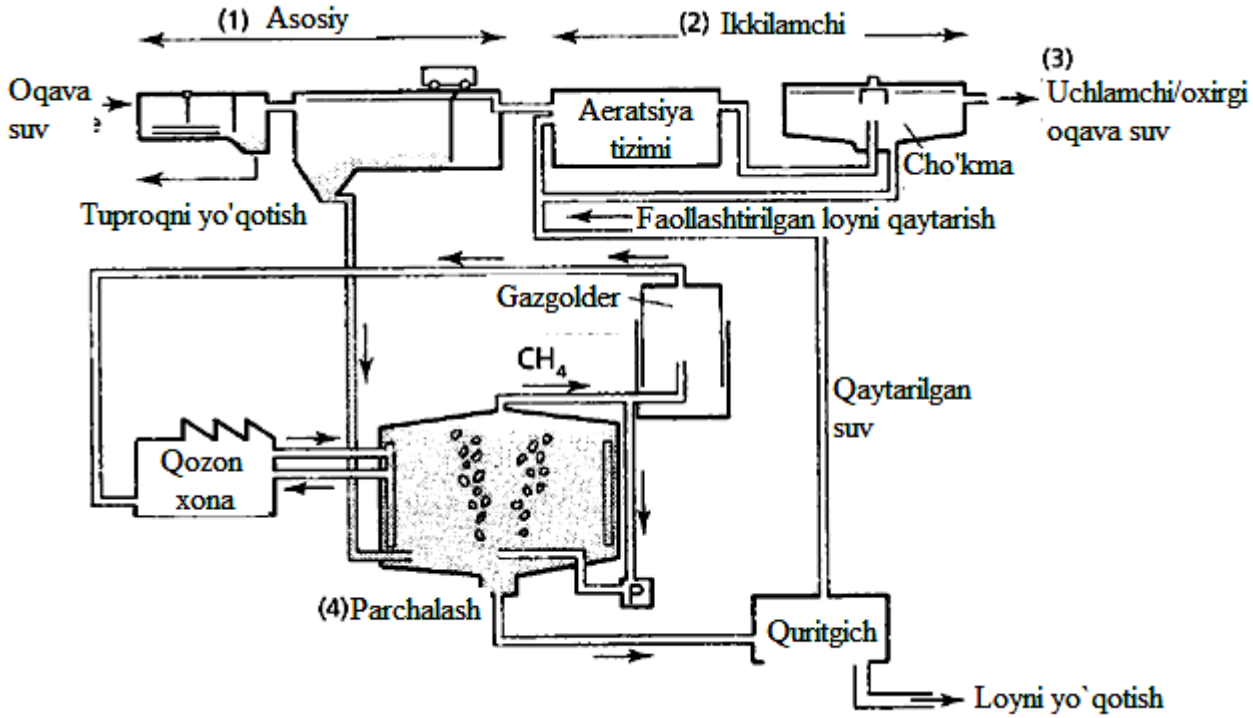



**98-rasm**. Organik moddalarning tabiiy mikrobiologik parchalanish jarayonining umumiy mexanizmi

XX asr boshidan jadal rivojlanib borgan boshqa biologik tozalash usullari orasida kanalizatsiya, loy va qattiq chiqindilarni anaerob usulda parchalash , organik loy va qattiq chiqindilarni kompostlash usuli mavjud bo‘lib, ular qadim zamonlardan beri fermerlar va bog‘bonlarga ma’lum edi. Lekin sanoat miqyosida faqat 1925-yilda (Hindistonda) foydalanila boshlandi. Arzon kompost sanoat tizimlarida havo va chiqindi gazlardan hidlarni yo‘qotish uchun ham ishlatilgan. Biroq, bunday filtrlarning past mahsuldorligi va foydalanish muddatining kamligi keyinchalik ilg‘or usullarni ishlab chiqishga turtki bo‘ldi. Maishiy gazni tozalash uchun filtrlar yaratildi, ular garchi o‘sha paytda ularning ishlash tamoyillari noma’lum bo‘lsada juda samarali bo‘lib chiqdi. Bu usullarning barchasining o‘ziga xos xususiyati biologik

jarayonlardan foydalanish edi, ular avval o‘z-o‘zidan, keyin ongli ravishda qo‘llaniladi.

XX asrning birinchi yarmida ishlab chiqilgan usullar hali ham u yoki bu shaklda qo‘llaniladi. Keyingi yillarda ular hech qanday tub o‘zgarishlarga duch kelmadi va ularning rivojlanishi yangi uskunalar konstruktsiyalarini yaratishga hamda tozalashning intensivligi, sifatini oshirish, xarajatlarni kamaytirish uchun maqbul sharoitlarni ta’minlashga qaratilgandi. Shu bilan birga, AQSH kabi sanoati rivojlangan mamlakatda 1960-yillarning oxirlarida oqava suvlarning taxminan uchdan bir qismi hali ham tozalanmagan holda daryo suvlari bilan birga tabiiy suv havzalariga oqizildi. Yana uchdan bir qismi avval faqat birlamchi tozalashdan o‘tgan. Hatto yaxshi sanitariya tizimiga ega bo‘lgan shaharlarda ham, hech qachon markazlashtirilgan shahar tizimiga ulanmagan uylarning oqava suvlari uchun ko‘plab axlatxonalar mavjud edi.




**99-rasm**. Anaerob parchalanishni o‘z ichiga olgan tizimda oqava suvlarni tozalash bosqichlari

XX asrning ikkinchi yarmida yer yuzida inson faoliyati deyarli barcha tabiiy yashash joylariga ta’sir ko‘rsatdi va o‘zgartirdi. Antropogen ta’sirning kuchayishi bilan birga atrof-muhitni muhofaza qilish tadbirlari ko‘lami ham kengaydi. 70-yillarning o‘rtalaridan boshlab atrof-muhit sifatining yomonlashuvi bilan bog‘liq mahalliy muammolar global muammolarga aylandi (ozon qatlamining yemirilishi, iqlim o‘zgarishi, biosferaning radionuklidlar va zaharli kimyoviy birikmalar bilan ifloslanishi, biologik xilma-xillikning kamayishi).

Bu davr atrof-muhitni muhofaza qilish choralarini ishlab chiqishni belgilovchi uchta tendentsiya bilan tavsiflanadi:

yangi turdagi zararli ta’sirlarning paydo bo‘lishi, masalan, radioaktiv ifloslanish, doimiy organik moddalar bilan kimyoviy ifloslanish va boshqalar;

tabiiy muhitni himoya qilish, tozalash, tiklashning turli usullaridan faol foydalanish;

tabiiy muhitning o‘zgarishida tirik materiyaning o‘rni va ta’sirining kengligi to‘g‘risida xabardorlik, biologik jarayonlar va ulardan paydo bo‘lgan ekologik muammolarni hal qilishda foydalanishni tobora batafsilroq tushunish.

Masalan, Ikkinchi jahon urushi arafasida qishloq xo‘jaligida pestitsidlardan keng foydalanish boshlandi. 1950-yildan 1970-yilgacha butun dunyo bo‘ylab eng turg‘un va kuchli pestitsidlardan biri bo‘lgan 4,5 million tonnaga yaqin DDT ishlatilgan. DDT dan foydalanish ko‘plab hududlarda bezgakni yo‘q qilish, ekinlarga katta zarar etkazuvchi fitofaglardan xalos bo‘lish imkonini berdi. Biroq, DDT dan nazoratsiz foydalanish, uning atrof-muhitda barqarorligi 1970-yilga kelib, mutaxassislarning hisob-kitoblariga ko‘ra, tabiatda 450 ming tonnaga yaqin DDT to‘planishiga olib keldi. DDT, boshqa organik pestitsidlar, xlororganik birikmalarning xavfliligi, shuningdek, oziq-ovqat zanjirlari bo‘ylab harakatlanayotganda ularning tirik organizmlarda (ayniqsa, yog‘li to‘qimalarda) to‘planishi va kontsentratsiyasi bilan bog‘liq.

Ekotizimlarning neft bilan ifloslanishi holatlari keng ko‘lamli bo‘ldi. Rossiya Federatsiyasida faqat neftning yillik to‘g‘ridan-to‘g‘ri to‘kilishi (neft mahsulotlarini atrof-muhitga chiqarilishi bundan mustasno) 1-2 million tonnaga baholanadi.

So‘nggi o‘n yilliklarda sanoat rivojlangan mamlakatlarda tuproq va pastki cho‘kindilarning ifloslanishining kuchayishi jiddiy muammoga aylandi. Uzoq vaqt davomida tuproqda chiqindilarni saqlash xavfsiz amaliyot deb hisoblangan, chunki unga kiradigan ifloslantiruvchi moddalar tabiiy jarayonlar bilan parchalanishi mumkin. Biroq, atmosfera, dengiz va okeanlar, yer usti suvlari va yer osti g‘ovak muhitlari (tuproqlar, suvli qatlamlar) ifloslanishining doimiy o‘sishi turli xil tuproq muhitlarida zararli moddalarning to‘planishi hajmi va darajasining oshishiga olib keladi. Natijada qishloq xo‘jaligi mahsulotlarida, bu qishloq xo‘jaligi paydo bo‘lgandan beri insoniyat oldida turgan tuproq sifatini yaxshilash, unumdorligini oshirish muammolariga yangi mazmun bag‘ishlaydi.

Biologik remediatsiya (bioremediatsiya) sohasida nazariy va amaliy tadqiqotlarning rivojlanishi 1970-yillarda boshlangan. Shimoliy Amerika va G‘arbiy Yevropada mavjud va yangi sanoat texnologiyalaridan foydalanishga asoslangan tuproqni qayta ishlash usullarini amaliy qo‘llash 1980-yillarning boshidan boshlab amalga oshirilgan.

Tiklashning birinchi tajribasi an’anaviy texnologiyadan foydalanishga asoslangan bo‘lib, ifloslangan tuproqni nazorat qilish, yo‘qotish va almashtirish, yer osti suvlarini yig‘ish, infiltratsiya quduqlari va xandaqlarni qurish, ifloslangan hududlarni izolyatsiya qilish usullarini o‘z ichiga olgan. Biroq, amaliyot shuni ko‘rsatdiki, masalan, tuproqni yo‘qotish, qisqa vaqt ichida ifloslangan materialni yo‘qotishni ta’minlashi mumkin bo‘lsa-da, ko‘pincha tuzilmalarni demontaj qilish, tuproqni tashish, uni saqlash va keyinchalik kimyoviy yoki fizik-kimyoviy usullar bilan qayta ishlash bilan bog‘liq juda yuqori xarajatlarni talab qiladi.

Tabiiy muhitni tozalashning tejamkor, samarali, ekologik toza va xavfsiz usullariga amaliy ehtiyojning ortib borishi biologik usullarni ishlab chiqishni va tirik organizmlarning ifloslanishni konsentratsiyalash va parchalash qobiliyatiga asoslangan biotexnologiyalardan foydalanishni rag‘batlantirdi.

Hozirgi vaqtda sanoati rivojlangan mamlakatlarda ifloslangan muhitni tozalash va qayta tiklash muammolarini hal qilish uchun biologik usullar tobora ko‘proq foydalanilmoqda. Ilgari biodegradatsiyaga chidamli deb hisoblangan ko‘plab ifloslantiruvchi moddalarni samarali parchalashi mumkin bo‘lgan mikroorganizmlar topilgan, tanlangan yoki genetik muhandislik usullari bilan yaratilgan; atrof-muhit ifloslanishini turli konsentratsiyalarda, yetarli miqdorigacha tanlab va tezkor aniqlash imkonini beruvchi biologik test tizimlari ishlab chiqilgan; muhandislik sohasidagi yutuqlar yuqori samarali bioreaktorlarni, samarali va tanlab ajratish usullarini yaratishga imkon berdi; bioreaktorlarda xavfli moddalarni parchalash uchun genetik modifikatsiyalangan bakteriyalardan foydalanish texnologiyalari faol rivojlanmoqda.

Nisbatan yangi tadqiqot yo‘nalishlariga boyitish zavodlari tomonidan tuproqni og‘ir metallardan tozalash ( fitoremediatsiya ); suv o‘tlari, bakteriyalar, zamburug‘lar va ular asosida yaratilgan biosorbentlar yordamida ifloslantiruvchi moddalarni olib tashlash; o‘ziga xos biologik mahsulotlar yordamida tabiiy muhitni ifloslanishdan tozalashni misol sifatida keltirish mumkin.

Qattiq , suyuq, gazsimon chiqindilarni qayta ishlash, utilizatsiya qilish, ularni foydali mahsulotlarga mikrobiologik aylantirish usullaridan kompostlash, faol loyni, kanalizatsiya loyini va pastki cho‘kindilarni turli usullar bilan qayta ishlash hamda zararsizlantirish, vermikultivatsiya qilish sohasida qo‘llaniladi.

Immobilizatsiyalangan fermentlar va mikrob hujayralari asosida chiqindi gaz-havo oqimlarini zararli va yomon hidli moddalardan (spirtli ichimliklar, merkaptanlar, aldegidlar, ketonlar, organik kislotalar) tozalash va deodorizatsiya qilish uchun biokatalizatorlar yaratilmoqda. Atmosferaga metan, oltingugurt oksidi va azot chiqishini kamaytirish uchun ham biotexnologik usullardan foydalanish mumkin.

Melioratsiya, tuproqni diversifikatsiya qilish, hududlarni reabilitatsiya qilish, landshaftni yaxshilash, qurilish inshootlari va muhandislik inshootlarini muhofaza qilish, hududlarni ko‘kalamzorlashtirish, tuproq eroziyasidan himoya qilish, qirg‘oqlar, tuproqning sho‘rlanishi va kislotalanishiga qarshi kurash, kichik daryolarni saqlash va tiklashda bioinjeneriya texnologiyalaridan tobora ko‘proq foydalanilmoqda.

AQSH, Fransiya, Germaniya, Avstriya va boshqa iqtisodiy rivojlangan mamlakatlarda biologik dehqonchilik mashhur bo‘lib, uning mohiyati yerning kamayishi va degradatsiyasining salbiy oqibatlarini minimallashtirish maqsadi “o‘simliklarni emas, balki tuproqni boqish”dir. Unda mahsulot yetishtirishning ekologik usullari va texnologik usullari, jumladan, ratsional almashlab ekish, yashil o‘g‘itlardan foydalanish, mulchalash, mikroorganizmlarning hayotiy faolligini rag‘batlantirish, tuproq unumdorligini saqlash va oshirishga yordam berish, gumus qatlamini saqlash; minimal maydondan kerakli minimal mahsulot to‘plamini olish uchun tuproqni ishlov berish; biologik kompostlash va vermikompostlash; tabiiy

tuproq jarayonlari va tuproq ekotizimining tuzilishi va faoliyatini saqlab qolish va shu asosda o‘simliklarning barqaror hosilini ta’minlash maqsadida o‘simliklarni himoya qilishning biologik vositalaridan (bioregulatorlar, bioo‘g‘itlar , biopestisidlar) kengroq foydalanishga asoslangan o‘simliklarni kompleks himoya qilish usullari qo‘llaniladi.

Ekobiotexnologiyani qo‘llashning yana bir sohasi - bu mikrobiologik korroziya va biologik zararga qarshi kurash, bioxavfsizlik, shuningdek, yangi samarali biotsidlarni yaratishdir. Biologik material trofik oziq-ovqat zanjirlariga, chiqindilar hosil bo‘lmagan moddalarning tabiiy aylanishiga kiritilgan. Ko‘pgina fizik yoki kimyoviy usullardan farqli o‘laroq, biologik usullar organik ifloslantiruvchi moddalarni to‘liq minerallashtirishga imkon beradi, jarayonlar yumshoqroq sharoitda davom etadi va ko‘p qirrali yoki selektivligi bilan ajralib turadi.

Ekobiotexnologiyaning asosiy maqsadi – tabiiy ekotizimlarni antropogen va texnogen ta’sirlardan himoya qilishning usullarini tanlash va amaliyotga joriy etishdan iboratdir.

# X bob. BIOTEXNOLOGIYA VA XAVFSIZLIK. BIOTEXNOLOGIYA VA TA’LIM

## 26§. BIOTEXNOLOGIYA VA BIOXAVFSIZLIK

Biotexnologiya va uning fundamental, strategik yadrosi bo‘lgan biomuhandislik-tirik organizmlarning asosiy xususiyatlari avloddan-avlodga o‘tish, o‘zgaruvchanlik, moslashuvchanlik, chidamlilik, energiya va massa almashinuvi, hosildorlik va sifat singari xususiyatlarini hosil bo‘lish mexanizmlarini o‘rganadi va shu mexanizmlarga tayanib ish tutadi. Biologik obyektlarni xususiyatlarini o‘zgartirish maqsadida ularni genetik tuzilishiga tashqaridan “ta’sir ko‘rsatish”, ularni modifikatsiya qilish yo‘lidagi harakatlar obyektlarning tuzilishi va asosiy vazifalarini qayta qurilishiga olib keladi. Bunday o‘zgarishlar oldindan bashorat qilib bo‘lmaydigan voqealarga sabab bo‘lishi mumkinligi, ko‘pchilik insonlarni tashvishga solib kelmoqda. Tabiatni, qolaversa, insoniyatning har xil genetik o‘zgartirilgan, o‘simliklar, hayvonlar va mikroorganizmlardan himoya qiluvchilar harakati yildanyilga ko‘payib borishi biotexnologiyaning, ayniqsa, uning strategik yadrosi bo‘lgan biomuhandislik fanining rivojlanishiga salbiy ta’sir ko‘rsatishi, iqtisodiy zararga olib kelishi mumkin. Biotexnologiya va biomuhandislik fani erishgan yutuqlarni hamda XXI asrda amalga oshirilishi lozim bo‘lgan loyihalarni bu yo‘nalishda sodir bo‘ladigan hatti-harakatlarni qiyosiy o‘rganish natijasida dunyoning ko‘pchilik olimlari ilmiy va iqtisodiy asoslangan, real voqeylikka ega bo‘lgan ishonch bilan, biotexnologiya - bu XXI asrda rivojlanishi zarur bo‘lgan, insoniyat uchun xizmat qiladigan asosiy fanlardan biri ekanligini xitob qilmoqdalar. Bu haqda zamonaviy biotexnologiya va biomuhandislik fanlari paydo bo‘lgandan beri o‘tgan yarim asr davomida erishilgan yutuqlar ham guvohlik berib turibdi. Shunday ekan, bundan keyin biotexnologiya va biomuhandislikni rivojlantirish hamda bu rivojlanish natijasida insoniyat va atrof-muhit uchun xavf tug‘ilmasligiga qanday ilmiy asoslar bor? Tabiiy, texnologik va boshqa omillar inson va uni o‘rab turgan muhitga doimiy ravishda ta’sir ko‘rsatib turadi. Bunday ta’sir foydali yoki zararli bo‘lishi mumkin. Fan, jamiyat, davlat, inson va atrof muhitga salbiy ta’sir ko‘rsatuvchi omillardan himoya qilishni har tomonlama asoslangan tizimini ishlab chiqishi va undan unumli foydalanmog‘i lozim. Inson, jamiyat va davlat borligi hamda ularning faoliyati har qanday ichki va tashqi ta’sirlardan muhofaza qilinmog‘i kerak. Har qanday jamiyat va davlatni oldida turgan asosiy vazifalardan biri ana shundan iboratdir. Mana shu umumiy holatlardan inson, jamiyat va davlat xavfsizligining asosiy tushunchasi va undan har bir inson, jamiyat va davlat qiziqishlarini tashqi va ichki xavfdan himoya qilish zarurligining asl ma’nosi kelib chiqadi. Xavfsizlikning bosh mezoni bu-insondir. Inson xavfsizligini, uning hayot faoliyati, inson yashab turgan jamiyat xavfsizligini, atrof-muhitni himoya qilmasdan turib, to‘laqonli ijtimoiy-iqtisodiy faoliyatni amalga oshirib bo‘lmaydi.

Xavfsizlikning asosiy prinsiplaridan biri-inson, jamiyat va davlat o‘rtasidagi o‘zaro javobgarlikdir. Xavfsizlikka erishish - bu hayotiy zarur qiziqishlarni ichki va tashqi xavfdan mustahkam muhofaza qilishga qodir bo‘lgan tizimni ishga solishdir.

60-jadval

**Biotexnologiyani harbiy bo‘lmagan xavfsizlik aspektlariga ijobiy ta’siri**

| Iqtisodiyot tarmoqlari | Qo‘llanilish yo‘nalishlari |
|---|---|
| Sog‘likni saqlash | dori-darmonlar, vaksinalar, diagnostika preparatlari |
| | inson reproduksiyasidan foydalanish (sun’iy urug‘lantirish), irsiy kasalliklarni oldindan diagnostika qilish va boshqalar |
| | gen orqali davolash |
| | ksenotransplantologiya |
| Oziq-ovqat | Oziqa mahsulotlarining sifatini yaxshilash, parhez va oziqa preparatlari ishlab chiqish (qandsimon moddalar, aminokislotalar, vitaminlar va h.k. |
| | Oziq-ovqat sanoatida (non, pishloq, vino, pivo, ta’m va hid beruvchi moddalar) foydalanish |
| Qishloq xo‘jaligi | o‘simliklar va hayvonlarni himoya qilish vositalari, biologik o‘g‘itlar |
| | oldindan xususiyatlari belgilangan, transgen o‘simliklar va hayvonlar yaratish |
| | yem xashak sifatini yaxshilovchi mahsulotlar ishlab chiqarish |
| | hayvonlarni sun’iy urchitish va embrionlarni ajratish |
| | elita o‘simliklarni tezlatib o‘stirish, virussiz o‘simlik ko‘chatlarini yetishtirish |
| | qishloq xo‘jalik, sanoat va maishiy xizmat chiqindilarini qayta ishlash |
| Ekologiya | sekin parchalanadigan, ifloslantiruchi mahsulotlar (neft, pestitsidlar, polimerlar dan tozalash |
| | atrof-muhitni ifloslantiruvchi moddalar o‘rnini bosadiganlarini (biopestitsidlar, plastmassalar) tez parchalanuvchi mahsulotlar yaratish |
| | har xil sohalarda o‘rinbosar (alternativ) texnologiyalar yaratish |
| | yopiq zanjirli chiqindisiz texnologiyalar yaratish |
| | biologik xilma-xillikni, noyob o‘simliklar va hayvonlarni asrash, populyatsiyalarini qayta tiklash |
| Tabiiy resurslarni qazib olish muammolari | qazilma boyliklardan foydalanish, shuningdek, tashlandiq materiallar va chiqindilar (biometallurgiya, neft quduqlarini tiklash). |
| | bioenergetika (biogaz, texnik spirt, vodorod) |
| | tabiiy mahsulotlardan kimyoviy moddalar ishlab chiqarish |

Xavfsizlik - inson, jamiyat, davlat va butun borliqqa tegishli biologik, ekologik, ijtimoiy, iqtisodiy, oziq-ovqat, harbiy va boshqa omillar bo‘lishi mumkin. Xavfsizlikni har xil turlari va ularni biotexnologiyaga ta’sirini T.Ye.Popova tomonidan yaratilgan quyidagi jadvalda ko‘rish mumkin

**Biomuhandislik va transgenozda biologik xavfsizlik hamda genetik xavf.** Retsipiyent (asosiy qabul qiluvchi) hujayra DNK siga begona (donor) genni qo‘shilishi ma’lum qiyinchiliklar bilan amalga oshadi. Qiyinchiliklarni eng asosiysi genni yoki genlarning kerakli manzilga joylashishi, hamda ularni normal faoliyat ko‘rsatishi-ekspressiyasini ta’minlashdir. Bu muammo doimo bor va uning yechilishi hozircha ko‘proq tasarruf bilan bog‘liq. Yana bir katta muammo - bu ham bo‘lsa inson hayoti uchun zaharli bo‘lgan toksin yoki allergen moddalar sintez qiluvchi mutantlarni paydo bo‘lishi bilan bog‘liq bo‘lgan genetik xavfdir. Asosiy hujayraga kiritilgan begona genning faoliyati bilan bog‘liq muammolar hamisha bo‘lishi mumkinligini taxmin qilish unchalik muammo emas.

Eng avvalo, bunday muammo genlarni bir-birlariga o‘zaro ta’siri yoki o‘zaro almashinuvi jarayonida paydo bo‘ladigan pleyotrop ta’sir natijasida paydo bo‘ladi. K.G.Gazaryanni fikricha transgenozda genom mu’tadilligini buzilishi, nafaqat dastlabki genomni yangi genlar bilan to‘yinishi yoki kiritilgan yangi genlarni mutantlik xususiyatlari bilan, balki rekombinatsiyadagi endogen tizimni kuchayishi va “uxlab yotgan” genlarni faolligining uyg‘onishi bilan ham bog‘liqdir. Bularning barchasi transgenozda inson hayotiga xavf soladigan genotiplar paydo bo‘lishi mumkinligini ilmiy asoslashga imkon yaratadi. Bunday xavf, ayniqsa, xususiyatlari oldindan belgilangan o‘simlik, hayvon hujayra va to‘qimalari hamda, mikroorganizmlarni mutantlarini olishda sun’iy genlardan foydalanganda kuchayadi. Mana shuning uchun ham ko‘pchilikni transgen organizmlar yaratish, ayniqsa, ular yordamida inson uchun oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarishga qarshi chiqishlari, hech bo‘lmaganda, genetikasi o‘zgartirilgan o‘simliklardan, hayvonlardan yoki mikroorganizmlardan olinadigan mahsulotlarni alohida belgilar (nishonlangan) orqali sotish uchun qo‘yish haqidagi talablari to‘g‘riday ko‘rinadi.

Bulardan tashqari, bir o‘simlik gul changidan gen-modifikatorlarini (o‘zgartiruvchilarni) boshqa o‘simlikka o‘tishi, ularni uchinchi genotip genlari bilan o‘zaro ta’siri natijasida inson va atrof-muhit uchun zararli bo‘lgan yangi genotiplarni paydo bo‘lishi ham o‘ta xavflidir. Ma’lumki, fanda va jamiyatda biologik xavfsizlik muammosini dastlab, fanning yangi yo‘nalishi-biomuhandislikni asoschilarining o‘zlari ko‘tarib chiqqanlar. 1974-yilda gen muhandisligi fanining otasi hisoblangan, DNK ning rekombinat molekulasini yaratgan amerikalik olim P.Berg boshchiligida gen muhandisligi bo‘yicha o‘n bir nafar dunyoning eng yirik olimlari “Science” (ilm, fan) jurnali orqali, rekombinat DNK yaratish borasidagi ilmiy izlanishlarini toki shu muammoga bag‘ishlangan butun-jahon kongressi o‘tkazilgunicha to‘xtatib turish lozimligi to‘g‘risidagi ochiq xat bilan chiqadilar. Ammo, bir yil o‘tar-o‘tmas 1975-yil Asilomar (AQSh) da o‘tkazilgan xalqaro konferensiyada olimlar gen muhandisligi bo‘yicha olib borilayotgan ishlar boshqa, shunga o‘xshash ishlardan xavfli emasligi,

faqatgina biologik xavfsizlikni saqlagan holda nazorat o‘rnatilishi (o‘tkazilishi) lozim - degan fikrga keldilar.

1976-yilda AQShda rekombinat mikroorganizmlar bilan olib borilayotgan tadqiqotlarni bir qolipga solish bo‘yicha dastlabki qoida qabul qilindi. Bu qonunga asosan rekombinat mikrooorganizmlar laboratoriyadan tashqariga chiqmasligi haqida ko‘rsatmalar berilgan. 1970-yillarni oxiriga kelib, ko‘plab mamlakatlarda bu sohaga oid qonunlar yaratildi. Sekin-asta bu qoidalar, dastlabki qo‘yilgan qattiq talablarni yumshatish tomoniga o‘zgartirib borildi. Dunyoda 30 yil mobaynida eng yangi biotexnologiya-gen muhandisligi sohasida olib borilgan ilmiy izlanishlar bu yo‘nalishni xavfsiz ekanligini tasdiqladi. Inson va tabiatni zaharlovchi moddalar yaratishga mo‘ljallangan ilmiy izlanishlardan tashqari, ilmiy laboratoriyalarda gen muhandisligi yo‘li bilan inson hayotiga xavf soluvchi birorta ham mikroorganizm shtammi, o‘simlik navi yoki hayvon turlari yaratilmagan. Olimlar mikroblar, bakteriyalarning virulentligini oshirish yoki kamaytirish, mamlakatni bakteriologik qurol va agressiyadan muhofaza qilish bo‘yicha maqsadga yo‘naltirilgan ilmiy izlanishlar olib bormoqdalar. Afsuski, jahon terrorizmi o‘zlarining qonli jinoyatlari uchun har qanday jirkanch harakatlardan qaytayotganlari yo‘q. Shu maqsad yo‘lida bioresurslardan ham foydalanib kelmoqdalar. Shunday bir paytda dunyo hamjamiyati oldida terroristlarni biologiya fani yutuqlaridan foydalanishga yo‘l qo‘ymaslikdek eng muhim vazifa turibdi. Buning uchun gen-muhandisligi bo‘yicha olib boriladigan tajribalar davlat nazoratida bo‘lmog‘i lozim. Ko‘pchilik ko‘zga ko‘ringan olimlarni fikricha transgen hayvonlarni yaratish bo‘yicha olib boriladigan tajribalar unchalik mukammal emas. Begona genlarni ko‘chirib o‘tkazish oqibatida bashorat qilib bo‘lmaydigan natijalarga erishish mumkinligi, chorvachilikda gen muhandisligi fani yutuqlaridan kengroq foydalanishni chegaralab kelmoqda. Balkim, biomuhandislik markazlari olimlari, bu fanning usullari, asbob-uskunalari, texnologiyasi, biologik xavfsizlik kriteriyalarini sifatini, ularni aniqligi va sezgirligini oshirishi bo‘yicha bosh qotirishlari lozimdir.

Fikrimizcha faqatgina shu asosda mazmunan yangi, hosildor, tezpishar, sho‘r va boshqa zaharli moddalarga boy bo‘lgan tuproqlarda hosil beraoladigan o‘simlik navlarini yaratishlari mumkin.

**Genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olinadigan mahsulotlarni biologik xavfsizlikka ta’siri**. Genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olinadigan mahsulotlarni biologik xavfsizlik nuqtai nazaridan baholashni eng asosiy bosqichlaridan biri - ularni sanitariya-gigiena ekspertizasidan o‘tkazishdir. Mamlakatimizda bunday markazlarga hozircha ehtiyoj sezilgani yo‘q. Bunga asosiy sabab, yuqorida aytib o‘tilgan maqsadlarning yo‘qligidir. Rossiyada bu vazifani Rossiya tibbiyot akademiyasiga qarashli Oziq-ovqat instituti bajaradi. Bunday ixtisoslashgan markazlar barcha rivojlangan mamlakatlarda (AQSh, Angliya, Fransiya, Kanada, Germaniya, Italiya, Xitoy) tashkil etilgan bo‘lib, ularning asosiy vazifasi quyidagilardan iborat:

- birlamchi transgen o‘simliklarni kimyoviy tarkibini o‘rganish;

- genetik modifikatsiya qilingan o‘simliklar va ulardan olingan mahsulotlarning biologik bahosini va organizmda so‘rilish xususiyatlarini taqqoslab o‘rganish;
- ularni allergik xususiyatlarini va inson immun tizimiga ta’sirini o‘rganish;
- ularni zaharliligini, konserogenligini va mutagenligini o‘rganish;
- ularning inson va hayvonlarni avlod qoldirish xususiyatlariga ta’sirini o‘rganish.

Bundan tashqari, Rossiyada genetik modifikatsiya qilingan organizmlarning biologik xavfsizligini ta’minlash maqsadida, har bir yangi shtamm, tur yoki navlar Rossiya qishloq xo‘jalik akademiyasiga qarashli Fitopatologiya institutida va O‘simliklarni himoya qilish institutida hamda Rossiya Fanlar Akademiyasiga qarashli Biomuhandislik markazida sinovlardan o‘tkaziladi. Bu ilmiy markazlarning asosiy vazifalari:

- o‘simlik genomiga kiritilgan DNK ni o‘rganish;
- yangi kiritilgan gen boshqa organizmlarga o‘tish yoki o‘tib ketmasligini sinovlardan o‘tkazish;
- mazkur xususiyatga ega bo‘lgan o‘simlikni keyingi avlodlarga o‘tish o‘tmasligini nazorat qilish;
- yangi o‘simlikni kasallikka munosabati va tuproq mikroflorasiga ta’sirini o‘rganishdan iboratdir.

Genetik modifikatsiya qilingan organizmlardan olinadigan oziqovqat mahsulotlari, albatta, meditsina-biologiya baholash tizimidan o‘tkazilishi shart. Buning uchun, eng avvalo maxsus uslubiy ko‘rsatmalar ishlab chiqarilishi lozim. Bunday uslubiy ko‘rsatmalarda gigiena ekspertizasidan o‘tkazish tartiblari va genetik modifikatsiya qilingan organizmlardan olingan mahsulotni davlat ro‘yxatidan o‘tkazish tartiblari keltirilgan bo‘lishi zarur. Misol uchun, Rossiyada genetikmodifikatsiya qilingan organizmlardan olingan oziq-ovqat mahsulotlarini tibbiy-gigienik, tibbiy-biologik, klinika sinovlaridan o‘tkazish uslublari yaratilgan bo‘lib, mamlakat Sog‘liqni Saqlash Vazirligi hamda tegishli adliya va huquq organlari tomonidan tasdiqlangan.

**Gen muhandisligi, genetik o‘zgartirilgan organizmlar va ulardan olingan mahsulotlar ustidan davlat nazorati hamda boshqaruvi.** Rivojlangan gen-muhandislik infratuzilmasiga ega bo‘lgan barcha mamalakatlarda hozirgi vaqtda o‘zining zamonaviy biotexnologiya va biomuhandislik bo‘yicha amalga oshiruvchi ishlarni huquq va me’yorini belgilab beruvchi qonunlari va boshqa davlat hujjatlari qabul qilingan. Bunday xujjatlarni tayyorlashda ko‘pchilik mamalakatlarda BMT, FAO va boshqa xalqaro birlashmalar tomonidan tayyorlangan xalqaro talablar asos qilib olingan. Shuning uchun ham, bunday qonun va qonun ostidagi hujjatlar har-xil mamlakatlarda qabul qilinganligiga qaramasdan, bir-birlariga juda o‘xshab ketadi. Qonunlarda u yoki bu mamlakatda gen-muhandislik faoliyatini amalga oshirishda davlat boshqaruvi hamda xavfsizlik tizimining asosiy vazifalari belgilangan. Masalan, Rossiyada 1996-yil 5-iyunda qabul qilingan “Gen muhandisligi faoliyatida davlat boshqaruvi haqida” deb atalgan qonunda 4 bosqichdan iborat taxminiy xavf

borligi va shuning uchun ham gen muhandisligi bo‘yicha ish olib borayotgan xodimlar bu qonun doirasida ish yuritishga majbur ekanligi ko‘rsatib o‘tilgan:

Birinchi bosqich (xavf) - inson salomatligiga zarar yetkazish ko‘rsatkichi bo‘yicha patogen bo‘lmagan mikroorganizmlar bilan ishlash xavfiga to‘g‘ri keladi.

Ikkinchi bosqich - inson salomatligiga uncha ko‘p bo‘lmagan (jiddiy bo‘lmagan) xavf keltirib, u shartli patogen mikroorganizmlar bilan ish olib borayotgan xodimlar uchun tug‘iladigan xavfga to‘g‘ri keladi.

Uchinchi bosqich - xavf sekin asta, ammo doimiy ravishda xavf solib kelayotgan ishlarga to‘g‘ri kelib, uni xavfi yuqumli kasalliklar qo‘zg‘atadigan mikroorganizmlar bilan ishlashga tengdir.

To‘rtinchi bosqich - xavf inson organizmi uchun juda xavfli bo‘lib, uning ko‘rsatkichi o‘ta xavfli kasalliklarni qo‘zg‘atadigan mikroorganizmlar bilan ishlayotgan xodimlar xavfiga tengdir**.**

Ochiq tizim sharoitida gen-muhandisligi uchinchi va to‘rtinchi bosqich xavfiga to‘g‘ri keladi. Ushbu qonun gen-muhandislik muammolari bilan shug‘ullanadigan xodimlar oldiga maxsus talablar qo‘ygan:

Birinchisi - majburiy mutaxassislik, tayyorgarlik va genmuhandislik faoliyatiga to‘g‘ri keladigan salomatlik holati;

Ikkinchisi-tajriba olib boriladigan xonalarni qoida talablariga to‘g‘ri kelishi;

Uchinchi-xavf bilan ishlaydigan ishlar uchun albatta ruxsatnoma (litsenziya) bo‘lishi shart.

Qonunda gen muhandislik mahsulotlarini standartlash va sertifikatsiyalashdan o‘tkazish bo‘yicha talablar aniqlangan. Bunday mahsulotlar ekologik xavfsizlik talablariga, sanitariya me’yorlariga, farmakologiya bandlariga hamda davlat standartlash talablariga to‘liq javob berishlari kerak. Gen muhandislik usullari bilan modifikatsiya qilingan organizmlardan olingan mahsulotlar va bu beriladigan xizmatlar albatta sertifikatlangan bo‘lishi, ular albatta sifat sertifikati va o‘xshashlik belgisiga ega bo‘lishi shart. Biologik xavfsizlik ustidan Davlat nazorati shuningdek, genetik modifikatsiya qilingan va boshqa biologik obyektlardan yangi oziqa mahsulotlari, materiallar va buyumlarni ishlab chiqarish va ishlatishni ham qamrab oladi.

AQSh biotexnologiya, xususan, biomuhandislik bo‘yicha yetakchi o‘rinda turadi. Eng avvalo bunday holat gen muhandisligi, biomuhandislik borasidagi ilmiy hamda ilmiy ishlab chiqarish ishlarini Davlat tomonidan kuchli muhofazasida ekanligi bilan tushuntiriladi. Bundan tashqari, bu mamlakatda gen modifikatsiya qilingan organizmlardan ishlab chiqarishda foydalanish bo‘yicha kongress qonunlari va prezident farmon va farmoyishlari qabul qilingan. AQShda ekiladigan soyaning yarmi, makkajo‘xorining $^{1}/_{4}$ qismini transgen o‘simliklar tashkil etadi. AQSh genetik modifikatsiya qilingan mahsulot ishlab chiqarish bo‘yicha birinchi o‘rinda turadi.

AQShning gen modifikatsiya qilingan organizmlarni yaratish va ulardan foydalanishni Davlat tomonidan nazorat qilish tizimi boshqa mamlakatlardan (masalan, Rossiyadan) tubdan farq qilmasada o‘ziga xos bo‘lgan tomonlari bor. AQShda genetik modifikatsiya qilingan organizmlarni Davlat ro‘yxatidan o‘tkazish uch vazirlikka, ya’ni Sog‘liqni saqlash, Qishloq xo‘jaligi va Ekologiya vazirliklari

javobgarligiga topshirilgan. Bunday organizmlarni ro‘yxatga olish yoki olmaslikni aytib o‘tilgan vazirliklarning har-biri mustaqil ravishda, bir-birlarining ishlariga aralashmasdan hal qilishlari mumkin. AQShning Qishloq xo‘jalik departamenti (USDA), uning veterinariya va o‘simliklarni himoya qilish (APHIS) inspeksiyalari tasdiqlangan shartlar va tartiblarga binoan (notifikatsiya), genetik modifikatsiya qilingan organizmlarni shtatlar orasida yuritishiga, ularni importi yoki atrof-muhitga chiqarish haqida ruxsat beradi. Bu shartlar AQShda 1993-yilda ishlab chiqilgan va hozirgacha o‘z kuchini yo‘qotgani yo‘q.

AQShda biotexnologiya va biomuhandislik bo‘yicha aniq va ravshan me’yoriy huquqiy hujjatlarni o‘z vaqtida ishlab chiqarilishi va ularni faoliyat ko‘rsatishini ta’minlanishi, mamlakatda bu sohani rivojlanishiga olib keldi. AQShda biomuhandislikni bosh yo‘nalishisoya, g‘o‘za, makkajo‘xori, qand lavlagi, kartoshka, pomidor, raps va boshqa o‘simliklarni raundap (glifosat) nomli gerbitsidga, zamburug‘ kasalliklariga va hasharotlarga chidamli bo‘lgan navlarini yaratishga qaratilgan. Shuningdek, bu mamlakatda bug‘doyning virusli kasalliklariga chidamli gibrid navlarini yaratish bo‘yicha faol ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Chidamli gibridlar va navlar yaratish bo‘yicha katta muvaffaqiyatlarga Missuri shtatidagi Sent-Luis shahrida joylashgan “Monsanto” firmasi erishgan. Bu firma mahsulotlari butun jahonga yaxshi tanishdir.

Shuni ham aytib o‘tish lozimki, AQSh fermerlari gibridlarni ekish, ulardan hosil olish, urug‘larini yoki ulardan ishlab chiqariladigan mahsulotlarni sotish bo‘yicha hech qanday muammoga duchor bo‘lmaydilar. Gibridlardan foydalangan fermerlar gerbitsid va pestitsidlarga ketadigan xarajatlar hisobidan juda katta foyda topadi. AQShda genetik modifikatsiya qilingan va gibridlardan olinadigan oziqa mahsulotlarini maxsus belgilar bilan belgilab qo‘yish bo‘yicha qarorlar qabul qilinmagan. Xaridorlarning xohish istaklaridan kelib chiqqan holda, belgilarni hohlagan vaqtda, hohlagan sotuv tarmoqlarida qo‘yish mumkin. AQShda biotexnologiya bo‘yicha maxsus targ‘ibot markazi tashkil etilgan va faoliyat ko‘rsatib kelmoqda. Bu markazning asosiy vazifasi eng yangi axborot tizimidan foydalanib, biotexnologiya va biomuhandislik bo‘yicha axborotlarni izlash, yig‘ish va saqlashdan iboratdir. AQShda biotexnologiyani rivojlantirish bo‘yicha Milliy qo‘mita va genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olingan mahsulotlarni baholash bo‘yicha ekspert kengashi ham faoliyat ko‘rsatib kelmoqda. Shuningdek, AQSh hukumatida biotexnologiya muammolari va yutuqlarini muhokama qilish, bu sohaga yordam ko‘rsatishda Milliy strategiya ishlab-chiquvchi maxsus komissiya faoliyat ko‘rsatadi. Bu komissiyaning a’zolari qilib, qishloq xo‘jaligi, savdo-sotiq, mudofaa, energetika vazirlari, shuningdek, oziq-ovqat mahsulotlari va dori-darmonlar komiteti raislari, ekologiya agentligi rahbari, milliyilmiy fond direktori, qator ilmiy tekshirish institut direktorlari, har-xil departamentlarning bo‘lim boshliqlari hamda biotexnologiya sohasi bo‘yicha yirik olimlar kiritilgan.

Komissiya, hukumatning biotexnologiya va biomuhandislik bo‘yicha dastur va umumiy faoliyatini o‘rganib, kerak bo‘lganda mamlakat Prezidenti hamda kongressga o‘z fikr-mulohazalari bilan chiqish huquqiga ega. AQSh, Rossiya va boshqa mamlakatlarda biologik xavfsizlik bo‘yicha xalqaro Kartogen Protokoliga

asosan (Cartogena Protocol of Biosafety) hamda Monrealdagi biologik xilma-xillik konvensiyasi doirasida genetik modifikatsiya qilingan organizmlar va ulardan olingan mahsulotlarni transportirovka, marketing qilish va ulardan foydalanish bo‘yicha kelishuv tayyorlanishi va rotifikatsiya qilishi lozim. Amerika va Yevropaning qator mamlakatlarida genetik modifikatsiya qilingan organizmlarni ko‘pgina o‘simlik va hayvonlar mahsulotlarini harakatini nazorat qilish tizimini monitoring qilish bo‘yicha komissiya faoliyat ko‘rsatib kelmoqda. Biotexnologiya va biomuhandislik ishlarida biologik xavfsizlikni ta’minlash borasida yagona xalqaro tizim tashkil etilsa va uni doimiy ravishda mukammallashtirib borish asosida zamonaviy talablarning sharoitlariga moslashtirib borib, barcha mamlakatlarda bir-biriga o‘xshagan qonun va qonunosti hujjatlar qabul qilinsa, chiqarilgan davlat hujjatlarini hayotga tadbiq etilishini nazorat qiluvchi va ularni amalga oshiruvchi tegishli tashkilotlar tashkil etilsa maqsadga muvofiq bo‘lar edi.

**Biotexnologiya va biomuhandislikda standartlash, butun dunyoda biotexnologiya va biomuhandislikning rivojlanish tendensiyalari.** Mamlakatga kiritilgan yoki shu mamlakatda ishlab chiqarilgan, shu jumladan, genetik modifikatsiya qilingan organizmlar ishtirokida ishlab chiqilgan yoki ulardan olingan mahsulotlarni tayyorlash va sotuvga qo‘yish, albatta standartlashtirilgan bo‘lishi shart. Rossiya Davlat standarti “Genetik modifikatsiya qilingan manbalardan oziq-ovqat mahsulotlari ishlab chiqarish va sotish muammolari” nomli davlat dasturi zarurligi haqidagi taklif bilan chiqdi. Bu hujjatni asosiy vazifasi gen modifikatsiyasi orqali ishlab chiqarilgan oziqa mahsulotlari va xomashyolari sifatini hamda genetik xavfsizligini standartlashtirish hujjatlari, ishlab chiqarishni nazorat qilish, sinov, saqlash va sotish usullarini, shart-sharoitlarini belgilab beruvchi tegishli me’yoriy va me’yoriy-uslubiy hujjatlar orqali ta’minlashni belgilab beradi. Rossiya Davlat standarti bu sohadagi ilmiy izlanishlarning asosiy ustivor yo‘nalishi “Genetik modifikatsiyalangan mahsulotlarni standartlash konsepsiyasi” bo‘lishi kerak deb hisoblaydi. Konsepsiyaning asosiy mazmuni me’yoriy hujjatlar, sinov usullari va uslublariga o‘zgarishlar kiritish, ularga genetik soflikni aniqlash, markirovka qilish ishlari bo‘yicha qo‘shimchalar lozimligi ko‘rsatib o‘tilgan.

Yevropa iqtisodiy hamjamiyatining (EES) bir qator mamlakatlarida, biotexnologiyaga, ayniqsa, genetik modifikatsiya qilingan organizmlar yaratishga nisbatan salbiy qarashlar paydo bo‘lgan. Yevroparlament va YeES hukumati genetik modifikatsiya qilingan o‘simliklarni yaratishni cheklab qo‘yish, hatto bunday ishlarni taqiqlab qo‘yish bo‘yicha maxsus hujjatlar qabul qilganlar. Shunday bir vaqtda, AQSh, Buyuk Britaniya, Fransiya va Sharqiy Yevropa mamlakatlarida bu sohani yanada tezroq rivojlantirish bo‘yicha qator hujjatlar qabul qilingan va ularni hayotga tadbiq etish bo‘yicha Davlat dasturlari qabul qilinib, unga katta miqdorda mablag‘lar ham ajratilgan. Rossiyada gen muhandislik faoliyatini boshqarish bo‘yicha qonun va qator me’yoriy-huquqiy hujjatlar qabul qilingan. Gen muhandislik ishlariga qarshi turganlar orasida olimlar yo‘q. Ularning ko‘pchiligi muxbirlar, siyosatchilar va ishbilarmonlardir. Bunday ishlarni zararini ko‘rsatib beradigan ilmiy asoslangan fikrlar ham yo‘q. Transgen organizmlar muammosiga oid ilmiy asoslangan bashoratlar jamoatchilik tomonidan bu masalaga nisbatan salbiy qarashlar oxirlashib

borayotganligiga guvohlik qilmoqda. Ko‘zga ko‘ringan biotexnolog mutaxasisslarning fikricha bu masalaga qarshilik qiladigan mamlakatlar iqtisodiy inqirozga uchrashlari aniq, chunki dunyo bo‘yicha transgen organizmlardan olinadigan mahsulotlarni miqdori yildan-yilga oshib bormoqda va oshib boraveradi ham, biotexnologiya fani rivojlanmagan mamlakatlar esa bu mahsulotlarni valyutaga sotib olishga majbur bo‘lmoqdalar. Insonlarni va xatto ba’zi-bir mamlakatlarning biotexnologiyaga, ayniqsa, transgen organizmlarga bo‘lgan munosabatlari nima uchun qaramaqarshi ekanligini tushuntirib, Nobel mukofoti sovrindori “Yashil revolyutsiya” ning mualliflaridan biri, Texas universiteti Xalqaro qishloq xo‘jaligi kafedrasi professori Norman Berlauk shunday deydi:

“Ba’zi bir mamlakatlarda noto‘g‘ri axborotga ega bo‘lgan, atrof muhitni muhofaza qiladigan kishilar chuqur tushunmasdan turib, fan va texnologiyaga hujum qiladilar. Bunday odamlarning fikricha qishloq xo‘jaligida yuqori hosildor texnologiyalar jumladan, genetik modifikatsiya qilingan o‘simliklardan olinadigan mahsulotlar ularni ist’emol qilgan kishilarni go‘yoki zaharlar emish. O‘z-o‘zidan savol tug‘iladi, nima uchun ko‘pgina bir ko‘rinishda “savodxon” bo‘lib ko‘ringan kishilar fanga nisbatan savodsizlik ko‘rsatadilar? Balki, bunday kishilarda fan, ayniqsa tez rivojlanib borayotgan fan texnika yutuqlari oldida qandaydir qo‘rquv hissi paydo bo‘ladi. Biz bunday boshi berk ko‘chadan chiqishimiz lozim. Biz dunyoda tez orada to‘planadigan 10-11 milliard odamlarni boqish yo‘lini topmog‘imiz kerak. Bunday insonlarning ko‘pchiligi, balki, shu jumladan, biz bilan yashab turgan kishilarning ko‘pchiligi kambag‘alchilikdan hayotlarini boshlagandir. Bugungi kunda bizning avlodimiz 10 milliard insonni boqishga mo‘ljallangan texnologiyani yaratganlar yoki uni yaratishga juda ham yaqin turibdi. Bugungi kunning eng dolzarb masalasi, yaratilgan texnologiyalardan fermerlar foydalana oladimi yo‘qmi degan masala”.

Bu so‘zlarni xitob qilgan Norman Berlauk birinchi navbatda oziq-ovqat va qishloq xo‘jalik biotexnologiyasini hisobga olgan edi. Darhaqiqat, bugun insonlarni ko‘pchiligi transgen g‘o‘zadan olingan paxtadan kiyim kiyib, transgen soya, bug‘doy, lavlagi va boshqa qator o‘simliklardan olinadigan oziq-ovqat mahsulotlarini (yog‘, oqsil, uglevod va h.k.) iste’mol qilsalarda, shu tufayli kasallangan yoki zarar ko‘rgan insonlarni misol qilib ko‘rsata oladigan, ilmiy asoslangan ko‘rsatkichlar yo‘q. Shunday ekan, fan, ayniqsa butun Sayyoramiz insonlari umid bilan qarayotgan biotexnologiya fanini, ayniqsa oziq-ovqat biotexnologiyasini rivojlantirish va uning yutuqlarini hayotga tadbiq etish yo‘lida bosh qotirib, xizmat qilishimiz lozim.

## 27§. BIOTEXNOLOGIYA VA TA’LIM

Biotexnologiya izlanishlarni rivojlanishi, ularni ishlab chiqarishga tadbiq etilishi va biotexnologiyaning boshqa tarmoqlarida ro‘y berayotgan yuksalishlar natijasida yuqori malakali kadrlarga ehtiyoj sezilib qoldi. Bu muammoni dastlab biologiyaning har xil sohalaridan (mikrobiologiya, genetika, molekulyar va hujayra biologiyasi, enzimologiya, hujayra fiziologiyasi, immunologiya, farmakalogiya) kadrlarni taklif qilib yechishga harakat qilindi. Bulardan tashqari bu sohaga muhandis

kadrlar, xususan: muhandis (injener) kimyogar, biokimyo muhandisi hatto agronomlar ham taklif qilindi.

Ko‘rsatib o‘tilgan mutaxassislar ilmiy laboratoriyalarda yangi ixtisoslik asoslarini o‘rganishga o‘qidilar; oqibatda kimyogar-muhandis biokimyoni, mikrobiologlar esa tibbiyot uchun zarur bo‘lgan preparatlarni katta masshtablarda ishlab- chiqarish texnikasi va jarayonlarini o‘rganib olishga erishdi. Birinchi biotexnologik kompaniyalarni ilmiy tekshirish bo‘limlari boshida eng yirik olimlar, jumladan, Nobel mukofoti sovrindorlari turdilar. Bu faoliyatni olimlar universitetlar laboratoriyalarida ilmiy izlanishlar olib borish, kafedralarda ma’ruzalar o‘qish bilan birga olib bordilar. Yirik kompaniyalar orasida eng yaxshi mutaxassislar va olimlarni taklif qilish bo‘yicha ochiq raqobatlar boshlandi. 1981-yilning oktabr oyini oxirida Buyuk Britaniyada ilmiy va muhandislik tekshiruvlar kengashida yangi direktorat tashkil etildi. Kengashni asosiy vazifasi qilib, ishlab-chiqarish bilan biotexnologiya sohasida ishlaydigan akademik institutlar orasidagi aloqani kuchaytirish masalasi qo‘yildi. Kengashni yana bir vazifasi har xil sabablarga ko‘ra mamlakatni tark etib ketayotgan angliyalik olim va mutaxassislarni saqlab qolish deb belgilandi. Direktoratning tashkil bo‘lishi, yirik olim Spiksni “Yangi ishlab-chiqarish texnologiyalarini yaratishda malakali muhandis kadrlarni tayyorlash qiyinligi haqida” nomli ma’ruzasini tayyorlab topshirishni tezlashtirdi. Gap shundaki, dastlab mikrobiologlardan farqli o‘laroq, muhandislar biotexnologiya sohasida ishlash taklifiga unchalik qiziqish bilan qaramas edilar. Shuning uchun ham yangi tashkil bo‘lgan direktorat angliyalik mutaxassislar va muhandislarni faoliyat ko‘rsatishlari uchun imtiyozli imkoniyatlar yaratib berishni, iloji boricha chet el kompaniyalarida ishlaydigan angliyaliklarni ham mamlakatga taklif qilish o‘rinli ekanligini tushuntirib bera oldi. Kadrlarni mamlakatdan chiqib ketishi qirollik jamiyatini ham bezovta qilgan edi. Jamiyatning ishchi guruhi 1980-1990 yillarda Angliya biotexnologiyasi uchun qo‘shimcha 1000 nafar oliy ma’lumotli mutaxassis va 4000 muhandis kerakligini asoslab, maxsus ma’ruza e’lon qildi. Bu jamiyatni fikricha, bakalavrlar uchun biotexnologiyadan maxsus kurs o‘qitish, magistrlar uchun qo‘shimcha o‘qitishni saqlab qolish, bunda ko‘proq biologiya va muhandis kimyogar mutaxassislar tayyorlash bo‘yicha fanlarga e’tibor berish masalalari ko‘rsatib o‘tilgan edi. Qirollik jamiyati Spinksni ma’ruzasidagi Angliya universitetlarida eng kamida 20 ta yangi o‘quv-izlanish markazlari tashkil etish haqidagi fikrlarini maqulladi.

1978-yilda Fransiyada biotexnologiya muammolari bilan ishlaydigan bor-yo‘g‘i 200 nafar mutaxassis bor edi, xolos. Mamlakatda malakali mutaxassislar tayyorlash orqali, AQSh va Yaponiya mamlakatlari bilan bo‘lgan raqobatni muvaffaqiyatli yengib o‘tish uchun chora tadbirlar ishlab chiqish imkoniyati yaratildi. Bu intilishlar bekorga ketmadi, bugungi kunda Fransiya fundamental tadqiqotlar va ular asosida biotexnologik jarayonlar yaratish bo‘yicha Yevropada yetakchi o‘rinda turibdi. Hattoki ba’zi–bir muhandislik maktablarida, bioindustriyaning gurkirab rivojlanishiga asosiy sabab, biotexnologik kurslarni tashkil etilishi bo‘ldi. Bundan tashqari, mamlakatda ixtisoslashgan markazlar tashkil etildi. Masalan, Tuluzadagi amaliy izlanishlar bo‘yicha Milliy institut, Kompendagi texnologik universitet, Lilldagi milliy oliy sanoat maktabi (u agronomik izlanishlar milliy instituti bilan hamkorlikda faoliyat yuritadi) shular jumlasidandir.

Germaniyada Berlin, Gettigen, Tyuringenda faoliyat ko‘rsatib kelgan umumiy va amaliy mikrobiologiya laboratoriyalaridan tashqari, 1974-yildan boshlab, yangi institutlar va universitetlar qoshida bo‘limlar tashkil etila boshlandi. Bunday markazlar Myunster, Xogenxeym, Boxum va Zigen shaharlarida tashkil etildi. Markazlar faoliyati asosan biotexnologiya muammolari bilan shug‘ullanadigan ilmiy va texnik xodimlar tayyorlashga yo‘naltirilgan edi. Kadrlarni oldindan rejalab qo‘yish albatta o‘ziga xos qiyinchiliklar tug‘dirdi. Bunga asosiy sabab, biotexnologiya yangi soha bo‘lganligi, uning yo‘nalishlarini oldindan belgilash imkoniyati yo‘q edi. Bu masalada nafaqat tayyorlanajak xodimlarning sonini oshirish, balki, doimiy ravishda o‘zgarib turadigan sharoitga kadrlarni o‘z vaqtida moslana olishi bilan ham bog‘liq edi. Mana shunday o‘zgarib turadigan sharoitga tezkorlik bilan oliy darajada moslashish Yaponiyaga xos bo‘ldi. Chunki bu mamlakatda, inson faoliyatini naqadar xilma-xilligi, kompaniyalarni rivojlanish qonunlari ustivorligi, oziq-ovqat sanoatidan faoliyat ko‘rsatib turgan yetakchi ilmiy va mutaxassis xodimlarni yangi soha bo‘lgan - mikrobiologiya sanoatiga kirib kelishini ta’minlay oldi. Bu mamlakatda hozirgacha oliy o‘quv yurtlarida ta’lim olayotganlarni ko‘pchiligini mikrobiologiya va enzimologiya bo‘yicha mutaxassislar tashkil etadi. Shuni ham aytib o‘tish lozimki, Yaponiyaning Kioto, Osaka va Tokio shaharlarida bu soha muammolari bo‘yicha 1910-1920 yillardayoq shug‘ullanish boshlab yuborilgan edi. Yaponiyadagi universitetlar bilan sanoat kompaniyalari orasidagi uzviy bog‘liqlik tufayli, 1981 yilga kelib, bu mammlakatda 12000 dan ko‘proq oliy ma’lumotli mikrobiologlar tayyorlangan edi. Ulardan 70 foizi xususiy biotexnologik firmalarda, 20-25 foizi universitetlarda va xususiy ilmiy tekshirish laboratoriyalarda faoliyat ko‘rsatsalar, 10-15 foizi esa hukumat institutlarida (1970-1980 yillarda Yaponiyadagi ilmiy xodimlarni umumiy soni 158000 dan 272000 ga ko‘tarilgan yoki 72% ga oshgan) xizmat qilar edilar.

AQShda biologiyani o‘qitish quyidagicha tashkil etilgan: talaba, asosiy kursni o‘tib bo‘lganidan keyin yoki tibbiyot yoki shaklsevtika sanoati bo‘yicha ixtisoslashgan kurslarda ta’lim olishlari mumkin. Shuningdek, bir sohadan ikkinchi sohaga o‘tishga ham ruxsat etilgan. Buning ustiga oliy ta’lim bilan sanoat kundan – kunga yaqinlashib borayotganligi sababli, o‘qish davomida talabalar o‘ziga ma’qul yo‘nalishni tanlash imkoniyatiga ham ega bo‘ladilar. Shunga qaramasdan, mamlakatda fermentatsion jarayonlarni ilmiy ishlar darajasidan, ishlab-chiqarishga tadbiq eta oladigan darajaga ko‘tara oladigan injenerbiokimyogarlar soni juda ham kam. Ixtisoslashgan kompaniyalarda biologlarni soni injenerlar soniga qaraganda juda ham ko‘pchilikni tashkil etadi. 1980 yilgacha AQShda biotexnologlar tayyorlaydigan kurs bo‘lmagan. Shuning uchun ham bu mamlakatda dunyoni har tomonidan taklif etilgan yetakchi olimlar va mutaxassislar shartnoma asosida faoliyat ko‘rsatadilar. 1981-yildan boshlab ba’zi-bir universitetlar, shular jumlasidan Baltimor universiteti ham bo‘lajak magistrlar dasturiga biotexnologiya darsligi asosida o‘qitishni kiritishdi. Malakali kadrlar tayyorlash ilmiy xodimlar va injenerlar tayyorlash bilan chegaralanib qolmadi. Bular qatori, biotexnologik jarayonlarda ishlatiladigan asbob-uskunalarni ishlatishdan boshlab, ularni yangi konstruksiyalarini yarata oladigan texnik ma’lumotga ega bo‘lgan xodimlar ham kerak. Aynan shunday mutaxassislarning malakasi, keng ma’noda biotexnologik jarayonlarning rivojlanishi va uning istiqbollarini belgilab beradi.

Rivojlangan mamlakatlarda biotexnologiyaning rivojlanishi ilmiy dargohlar bilan ishlab-chiqarish orasida yangicha munosabatlar bo‘lishi zarurligini taqqoza qildi. Bu esa, o‘z navbatida akademik institutlarni vazifalari, ularning tutishi lozim bo‘lgan o‘rni va ularni biznes olamiga butunlay qaram bo‘lib qolmasliklari haqida munozaralar olib borishni keltirib chiqardi. Munozaralarda bir-biriga qarama-qarshi fikrlar, ya’ni uzviy aloqalardan boshlab, faoliyat doirasini aniq ajratib olishgacha bo‘lgan fikrlar aytildi. Mana shuning uchun ham, endi rivojlanib kelayotgan sanoat tarmog‘ida ishlash uchun ko‘zga ko‘ringan olimlar taklif qilingan edilar. Natijalar ishlab-chiqarish bilan akademiya olamini simbiozda faoliyat ko‘rsatishi har ikkala tarmoqni rivojlanishi uchun ham foydali ekanligini ko‘rsatdi. Nima bo‘lganda ham, ishlab-chiqarish bilan fundamental fan orasida qandaydir oraliq bo‘lishi shart, chunki fanning rivojlanishi o‘zining ichki mantig‘iga ega bo‘lib, o‘ziga xos dinamikaga egadir. Boshqacha qilib aytganda, fan muammolari faqatgina ishlab-chiqarish talablaridan kelib chiqmasligi kerak. Shuning bilan birga ilmiy izlanishlar fanni o‘zi aniqlagan, uni qiziqtirgan masalalardan boshlab, tashqaridan keladigan vazifalarni ham yechadigan holatda bo‘lmog‘i lozim va uning rivojlanishi mana shu maqsadga yo‘naltirilgan bo‘lishi kerak. Biotexnologiya mana shunday murakkab vazifalarni muvoffiqiyatli yechish imkoniyatini yaratadi.

Ikkinchi jahon urushigacha amerikalik olimlar o‘zlari yaratgan patentlarini o‘z hohishlariga qarab ishlatish xuquqiga ega bo‘lsalarda, ustivorlik yangilik yaratilgan institutga ko‘proq imtiyoz berilar edi. Bu fikrni tasdig‘i uchun quyidagi misollarni keltirish mumkin: 1970-yilda Berklidagi Koliforniya universitetining fizikaviy-kimyo mutaxassisligi bo‘yicha professori Kottrell «Dyupon» firmasining kimyo zavodlari oqava suvlarini tozalash usulini yaratgan edi. Olim mana shu yangilik bo‘yicha barcha xuquqlarni Koliforniya universitetiga bermoqchi bo‘lganida, qandaydir sabablar bilan bu maqsad amalga oshmasdan qoldi. O‘shanda professor Kottrell universitetini qoldirib, o‘zlarini ilmiy g‘oyalarini ishlab-chiqarishga tadbiq etmoqchi bo‘lgan olimlarni xizmatini qiladigan ilmiy tekshirish korporatsiyasi tashkil qildi va o‘zi yaratgan patentni bu korporatsiyaga topshirib, Garvord, Stanford, Kaliforniya universitetlari hamda Massachusetining texnologiya instituti bilan quyidagicha shartnoma tuzdi: “universitetlar o‘zlarida yaratilgan patentlarini o‘zlari hoxlagan korporatsiyaga beradilar va ular patentlarni ishlab-chiqarishga joriy qilinishdan keladigan daromadga sherik bo‘ladilar”. 1945-yilga kelib, 50 dan ortiq institutlar keng miqyosli raketa qurilishidan, vitaminlar sintezigacha bo‘lgan ilmiy loyihalari uchun yordam mablag‘ (subsidiya) olishga erishdilar. Yana bir misol: Viskonsin universiteti biokimyo fakulteti, professori Stinbok tarkibi D vitamini bilan boyitilgan oziqa mahsulotlarini tayyorlash bo‘yicha patent yaratdi. Olim o‘zi yaratgan patentdan kelib tushgan mablag‘ni bir qismini universitetga berish istagini bildirdi. Stinbok yaratgan yangilik, margarin tayyorlash uchun o‘ta zarur bo‘lib, shu patent asosida tayyorlangan yangi mahsulot o‘zining sifati va xususiyatlari bo‘yicha sariyog‘dan ham baland turar edi. Shuning uchun ham patentdan foydalanish tobora kengayib ketdi. Bu yangilikni ishlashini nazorat qilish uchun maxsus fond – “Viskonsin alyumni risyorch fond” tashkil etildi. Fondni 1930-yilda topgan bir yillik toza foydasi 100000 AQSh dollariga teng bo‘ldi. Kelib tushgan mablag‘ hisobidan biokimyo fakulteti kengaydi. 1951-yilga kelib, amerikalik biokimyogarlarni 30% ni Viskonsin

universitetini tugatgan mutaxassislar tashkil etar edi. 1981-yil fond universitetda, fundamental tadqiqotlarni qo‘llab - quvatlash uchun 100 mln. dollar mablag‘ ajratdi. Bu mablag‘ universitetni boshqa sanoat korxonalari bilan aloqa qilish imkoniyatlarini yanada kengaytirdi. Oqibatda Viskonsin universiteti M.Edison markazidagi o‘ziga tegishli yerda xususiy firmalarni buyurtmalarini bajaruvchi ilmiy tekshirish laboratoriyasi qurib ishga tushirdi.

Amerikalik olimlarni universitetlarda o‘zlari yaratgan yangiliklarini ishlab-chiqarishga joriy qilish orqali qo‘shimcha haq olishni har xil yo‘llari bor. Amerikadan farqli o‘laroq (Angliyada patent egalari o‘zlari yaratgan yangiliklarni ishlab chiqarishga joriy qilish uchun ilmiy izlanishlarni rivojlantirish bo‘yicha milliy korporatsiya(hozir bu korporatsiya Britaniyaning texnologiya guruhiga qo‘shilib ketgan)ga murojat qilishga majbur). AQShda yangilik yaratgan olimlar bevosita korporatsiyalar bilan shartnomalar tuzish imkoniyatiga egadir. Amerikaning yirik universitetlari, masalan Stanford yoki LosAndjelesdagi Koliforniya universiteti o‘z shtatida yuqori malakali yuristlar saqlaydilar. Yuristlarning vazifasi shartnomalarni to‘g‘ri tuzish, ayniqsa ko‘proq foyda keltiradigan ishlanmalar asosida shartnomalar tuzilganda, yilma-yil qanday qo‘shimchalar olinishini adliya nuqtai-nazaridan to‘g‘ri tashkil qilib berishdir. AQShda federal byudjetdan moliyalashtirilgan har qanday izlanishlar natijasida keltirilgan foydadan qo‘shimcha daromad olish kongres tomonidan ruxsat etilgan.

Davlat tomonidan moliyalashni kamaytirilishi, universitetlarni boshqa moliya manbalarini axtarishga majbur qildi. Bunday manbalardan eng yaqini ishlab–chiqarish firmalari edi. Amerika davlatining xukumati bunday yaqinlashishga e’tiroz bildirmagan bo‘lsada, olimlarni fikri bu masalada har xil bo‘lib chiqdi. Masalan, «Biogen» kompaniyasini direktori Veyssmanni fikricha u boshqarayotgan Syurix universiteti genetika fakultetini interferon ishlab-chiqarish bo‘yicha dastlabki gen muhandisligi ishlarini mustaqil olib borish imkoniyatlari bor, ammo bu ishni sanoat miqyosida yo‘lga qo‘yish uchun albatta “Biogen”ga o‘xshagan yirik biotexnologik kompaniyalarni million dollarlab yordami kerak bo‘ladi. Koen ta’kidlaganidek, bunga o‘xshash hamkorlik kerak albatta, ammo bitta kompaniyaga muhtoj bo‘lib qolmaslik uchun universitetlar bir necha kompaniyalar bilan aloqa qilishlari kerak. Rokfeller universitetining professori Sinder universitet fanini har qanday ishlab-chiqarish korxona yoki kompaniyalari tomonidan moliyalanishiga tanqidiy fikr bildirdi. Uning o‘xshatishicha “hamkorlik asosida olingan mablag‘ bamisoli virusga o‘xshaydi, u avvalo o‘z xo‘jayinini semirtiradi, oqibatda o‘limga olib keladi”. Olimlar bilan ishlab – chiqarish kompaniyalari orasidagi hamkorlik qator muammolarga olib kelishini ham inkor etib bo‘lmaydi. Eng avvalo bu ilmiy izlanishlar natijasini yashirish (sir saqlash), ustivorlik uchun kurash, fundamental tadqiqotlar va ishlab-chiqarish bo‘yicha faoliyat ko‘rsatadigan xodimlar orasida kelishmovchilik, ularni maoshlari orasidagi tafovut, ularni yordamchi studentlar bilan ta’minlanishi bo‘yicha farq. «Govord Xyuz medikal instityut» tomonidan homiylik qilinib turilgan San-Fransiskodagi Kaliforniya universitetining genetika fakultetini bo‘linib, ketishi bunga yaqqol misol bo‘la oladi. Shu universitet professori Yamamotoning fikricha bunday hodisalar fakultet uchun juda katta salbiy ta’sir ko‘rsatishi muqarrar, chunki har qanday ilmiy izlanishlar, g‘oyalar va tajriba natijalari erkin, ozod o‘rtaga tashlanib, muhokama qilingandagina boyiydi va o‘z

maqsadiga yetib boradi. Keltirib o‘tilgan dalillar qaytarilmasligi uchun Garvard universitetida nizo komissiyasi tuzilgan. Komissiya, xodimlarni chetdan keladigan buyurtmachilar oldidagi faoliyatini ochiq-oydin ko‘rsatish lozimligini, bu faoliyat uchun ish vaqtining 20% ini sarflashi kerakligini ma’lum qilgan. 1980 yillar o‘rtalarida Garvardda gen muhandisligi bo‘yicha universitetda qilingan ishlarni yaratilgan yangiliklarni ishlatish bo‘yicha maxsus kompaniya tuzish zarurligi masalasi ko‘rib chiqildi. Bunday taklif bilan fibroblastli interferonni klonlashni yangi usulini yaratgan (Kanagushi bilan hamkorlikda *E.coli* dan ekspressiya qilish orqali klon ajratib olgan), biokimyo va molekulyar biologiya bo‘yicha professor Ptashne chiqdi. Ptashne o‘z fikrini Garvardga qo‘shimcha mablag‘ zarurligi bilan hamda o‘zining kasbdoshi Nobel mukofoti sovrindori Uolter Gilbertni “Biogen” kompaniyasini tashkil qilishda qatnashganligi, bu kompaniya eng yirik ishlab-chiqarish bazasiga aylanib ketganligi bilan asosladi. Ammo, Garvard universiteti prezidenti bu fikrni ma’qullamadi va shu tufayli kompaniya ochilmasdan qoldi. Amerika tarixida bunday misollar ko‘plab uchraydi. Nima bo‘lganda ham bu mamlakat biotexnologiya sohasida ham eng yirik mamlakat bo‘lib qoldi.

**Tirik mikroorganizmlarni patentlash mumkinmi**? AQSh ning patent to‘g‘risidagi qonuni Tomas Djefferson tomonidan ishlab chiqilgan bo‘lib, hozirgacha katta o‘zgarishlarga uchragani yo‘q. Bu qonunga asosan, patentga asos bo‘lib, har qanday yangi va foydali jarayonlar, mashinalar yoki fabrikada chiqadigan mahsulotlar xizmat qilishlari mumkin. 1930- va 1970-yillarda Amerika kongressi madaniy o‘simliklarni har xil turlarini yangilarini patentlash to‘g‘risida qonun loyihasini qabul qilgan. 1980-yil iyunda AQSh oliy sudi hukmi quyidagilarga asoslangan edi: patentlash uchun manbalarni tirik yoki tirik emasga bo‘lish emas, balki ularni insonlarni ixtirochilik faoliyati natijasida yaratilgan tabiiy mahsulotlarga ajratish kerak deyilgan. Chakrabarti ajratgan bakteriya oliy sudning ko‘pchilik a’zolarining fikricha, insonni maqsadga yo‘naltirilgan faoliyati natijasi bo‘lganligi uchun ham u patentga loyiq deb topildi. Shuni ham eslatib o‘tmoq lozimki, bu mikroorganizmlar uchun berilgan dastlabki patent emas edi (birinchi patent 1873-yil Lui Pasterga  pivo achitqilari uchun berilgan). Sudni bu xukmiga norozi bo‘lganlar ham bo‘lgan. Ularni fikricha guyoki tiriklikni patentlash mumkin emas emish. Oliy sud xukmiga tanqidiy nuqtai nazar bilan qarashni asosiy sababi, mikroorganizmlarni patentlanishi gen muhandisligi usullaridan kommersiya uchun foydalanish tezlashib ketishidan havotirlanish bilan bog‘liqdir. Ba’zilarda Oldos Xaksli bayon qilgan “Ajoyib yangi dunyo yaqinlashib qolganligi, bu dunyoda qonunlar himoyasida, ilmiy laboratoriyalarda hayotni har xil o‘zgarishlarga olib kelishi muqarrar” - degan fikrlardan qo‘rqinch hissi yotsa, boshqalarda oliy sud, tiriklikga yengiltaklik bilan qaraganligi, hayotga fizik–kimyoviy jarayon sifatida qaraydiganlarning fikrlariga qo‘shilganligidan norozilik paydo bo‘lgan edi. 1946-yilda fizikadan Nobel mukofoti sovrindori Shryodinger “biologik materiya boshqa barcha shakldagi materiyalardan farq qiladigan xossalarga ega” - degan edi. Molekulyar biologiya fanini rivojlanishi, genetik tizimda axborot uzatishni chuqur o‘rganilishi, bu fikrni qanchalik to‘g‘ri ekanligini ko‘p martobalab isbot qildi. Ammo, AQShning patent xizmatini Oliy sud xukmi bilan bog‘liq bo‘lgan boshqa bir narsa qiziqtirar edi, u ham bo‘lsa patentlanadigan mikroorganizmlarni qanday xarakterlash lozim: o‘sish sharoitlari,

metabolik xossalari yoki sintez qiladigan mahsulotlari asosidami? O‘zo‘zidan paydo bo‘layotgan yoki tashqi ta’sir natijasida hosil bo‘ladigan, qanday qilib bo‘lsa ham mikroorganizmlarni foydali xususiyatlarini o‘zgartiradigan mutatsiyani qanday qilib hisobga olmoq kerak? Patentlanadigan mikroorganizmlarni mutlaqo yangi ekanligiga, ular avval patentlanmaganligiga kim javob beradi? Bu savollar nafaqat AQSh Patent xizmatini, boshqa mamlakatlarni ham qiziqtirib kelgan va hozir ham shundayligicha qolmoqda.

1973-yildagi Myunxen konvensiyasiga asosan patent xuquqiga ko‘pgina muhim o‘zgartirishlar kiritilgan. 1978 yil 1 iyunda bu konvensiyani Yevropaning 11 mamlakati ratifikatsiya qilgan va undan keyin qator rivojlangan mamlakatlar mana shu konvensiya asosida o‘z patent qonunlarini yaratganlar. O‘zbekistonda ham mustaqillikka erishgandan keyin bu sohada anchagina ijobiy ishlar qilindi. Mamlakat mustaqil patentlash muassasasiga ega. Mikroorganizmlarni yangi shtammlarini, shu jumladan o‘z-o‘zidan yoki mutagen faktorlar ta’sirida paydo bo‘lgan, xususiyatlari o‘zgargan shtammlarni patentlash yo‘llari ham ishlab chiqilgan. Buning uchun shtammni xususiyatlariga qarab, ularni saqlash imkoniyatlariga yoki xuquqlariga ega bo‘lgan institutlarga barcha kerakli xujjatlar bilan birga topshirilib, bu haqda ma’lumotnoma tegishli xujjatlarga qo‘shib patent byurosiga topshirilgandagina, bu iltimosnoma ko‘rib chiqiladi. Patentlash alohida fan bo‘lganligi sababli yuqorida biz biotexnologiyaga oid ba’zi misollar keltirish bilan chegaralandik. Bu soha bilan qiziqqan talabalar uchun ushbu bobni oxirida maxsus adabiyotlar ro‘yxati keltirilgan. Ulardan hamda internet tarmog‘ini patent yangiliklari qismidan foydalanish orqali barcha qiziqtirgan savollarga javob topiladi degan umiddamiz.

Biotexnologiyani rivojlanishi natijasida yaqin kelajakda amalga oshirilishi lozim bo‘lgan eng dolzarb masalalar quyidagilardan iborat:

- oziq-ovqat va oziqa mahsulotlari ishlab chiqarishda barcha zaruriy talablarga javob beradigan biotexnologiyalarni ishlab chiqish va amaliyotga joriy etish;
- zararkunanda xasharotlar va kasalliklarga, suvsizlik va sho‘rga chidamli, ertapishar, serhosil, azotfikatsiya qilish xususiyatiga ega bo‘lgan va boshqa qator nodir xususiyatlarga ega bo‘lgan yangi o‘simliklar yaratish;
- ba’zi bir genetik kasalliklarni davolashda (masalan, o‘roqsimon – hujayra va anemiyasi) gen terapiyasidan foydalanish;
- nefteximikatlarni o‘rnini bosa oladigan mahsulotlar sintez qiladigan bakteriyalar yaratish;
- gerantologiya (organizmning tuzilishi va umrni uzaytirish muammolari bilan shug‘ullanadigan fan) ni yanada rivojlanishi;
- immunologiya jarayonlarini yanada chuqurroq tushunish.

Adolat nuqtai nazaridan shuni ta’kidlash lozimki, ba’zi bir ishlanmalarni laboratoriya sharoitidan ishlab-chiqarishgacha o‘tishi shubhasiz bajarilishi mumkin bo‘lgan masalalardir. Rivojlanib kelayotgan mamlakatlar uchun, jumladan bizning mamlakatimiz uchun ham bioenergiya (metan, etanol, atseton), chiqindilarni fermentatsiya orqali qayta ishlash, vaksinalar chiqarishga o‘xshash biotexnologiyalarni joriy qilish unchalik ko‘p mablag‘ sarf qilmasdan, katta daromad beradigan jarayonlar sirasiga kiradi. Boshqa sohalarda, masalan, farmatsevtika

sohasidagi ishlar ko‘proq vaqt (uzoq vaqt sinash jarayonini o‘tishi sababli) va katta mablag‘ talab qiladi. Misol tariqasida AQShda bir dona farmatsevtika preparatini patentlash uchun 3 yildan 8 yilgacha vaqt ketadi. Chunki, sog‘liqni saqlash sohasida ishlatiladigan preparatlarga qo‘yiladigan talablar yildan-yilga mukammallashib bormoqda.

Interferon misolida yangi biotexnologik jarayonlarni tibbiyotga tadbiq etishda qanchalik qiyinchiliklarga to‘g‘ri kelishni ko‘rsatib o‘tish mumkin. 1980-1982 yillarda turli mamlakatlarda bu preparat shishga qarshi vosita sifatida sinab ko‘rilganda, qator kamchiliklardan xoli emasligi sezilib qoldi. Ba’zi bir olimlarni qiziqqonlik bilan tezlatib chiqargan fikriga qarshi o‘laroq sog‘liqni – saqlash organlari biroz shoshmasdan ish tutishga chaqirdi. Uzoq davom etgan muhokamalar natijasi sifatida hech qanday triumf (tantana) ga o‘rin yo‘qligi, shu yo‘lda eng qattiq sharoitda, chuqur kuzatishlar va tekshirishlar orqali olingan natijalar asosidagina fikr qilinishi lozimligi aytib o‘tildi. Bu preparatni sinov jarayonida qator muammolarga duch kelindi:

Birinchidan, preparatni juda ham qimmatligi (ishlab – chiqariladigan interferon miqdorini kamligi bilan tushuntirildi) alohida kasallarni davolashga to‘sqinlik qildi va shu tufayli katta, keng hajmda nazorat tajribalari o‘tkazishda qiyinchilik tug‘dirdi. Masalan, 1978-yilda Finlyandiyaning barcha laboratoriyalarida ishlab-chiqarilgan interferon miqdori bor yo‘g‘i 0,1 g ni tashkil etgan edi. Bu miqdor atigi 200 nafar virus bilan surunkali og‘rib turgan kasalni davolashga yetar edi, xolos. 1980-yilda butun dunyoda interferon bilan davolanib turgan onkologik bemorlarni umumiy soni 150 nafardan oshmas edi. Agar rakni davolash uchun 500 mln.dan – 1 mlrd gacha birlikdagi interferon zarurligini, har bir bemorni davolash uchun faqatgina interferon uchun 20000 dan 40000 gacha amerika dollari kerak bo‘lishini hisobga olinsa, har qanday bemorda ham bunday preparatdan foydalanish imkoniyati yo‘qligi yaqqol namoyon bo‘ladi.

Ikkinchidan - onkologik kasalliklarni interferon bilan davolashda tez-tez salbiy natijalar kuzatib turilgani, bu preparatni faqatgina tajriba preparati deb qarashga, hamda u bilan davolashni ixtisoslashgan kasalxonalardagina katta nazorat ostida olib borish zaruriyatini taqoza qildi. Interferon oddiy preparat emas, bu nom tagida qator moddalar yotganligi, ulardan bir nechtasigina to‘lig‘icha o‘rganib chiqilganligini ham eslab qolish zarur.

Uchinchidan - interferon ishlab-chiqayotgan hujayralarda, hamda shu hujayra tashqarisida interferonni fiziologik vazifasi nimalardan iborat ekanligi hozirgacha to‘liq o‘rganilganicha yo‘q. Adolat nuqtai nazaridan interferon eukariot hujayralarda virus replikatsiyasini boshqarishda ma’lum vazifalarni bajarishi aniqlanganligini eslatib o‘tish o‘rinli bo‘ladi.

Interferonni ikkinchi darajali ta’siri nimalardan iborat ekanligi ham oxirigacha o‘rganib chiqilgani yo‘q edi. Onkologik bemorlarni davolashda ximoterapiyaga nisbatan kamroq zarar keltirishi aniqlangan edi, xolos.

Mana shunday sharoitda sog‘liqni-saqlash organlari oldida tanlov turar edi: yoki interferonni rakka qarshi preparat sifatida bozorga chiqarishga ruxsat berish yoki uni terapevtik ta’sirini chuqurroq o‘rganish. Yaxshiyamki, ikkinchi yo‘l tanlanib, uning ta’sir mexanizmini aniqlash maqsadida qo‘shimcha mablag‘ ajratildi.

Bunday misollarni ilmiy adabiyotlarda ko‘plab uchratish mumkin. O‘zbeklarda “yetti o‘lchab, bir kes” degan maqol bor. Fan yutuqlarini ishlab-chiqarishga joriy qilishda hech ham shoshma – shosharlikga yo‘l qo‘ymaslik kerak. Har tomonlama, chuqur o‘rganish asosida qilingan fikrni, yaratilgan texnologiya yoki preparatning umri boqiy bo‘ladi.

Fanda tavakkalchilikka hech ham o‘rin yo‘q. Xo‘sh shunday ekan, tavakkalchilikni oldini olish uchun nimalar qilmoq kerak? Ma’lumki, gen muhandisligi usullari, oddiy patogen (kasal qo‘zg‘atuvchi) mikroorganizmlarni manipulyatsiya (o‘zgartirish) qilishdan biroz farq qiladi. Bunga asosiy sabab barcha gen – muhandisligi usullari inson ichagida faoliyat ko‘rsatuvchi, tabiatda keng tarqalgan bakteriya - ichak tayoqchasida – *E.coli* asosida yaratilgan. Shuning uchun ham yangi yaratilgan shtammlar tez tarqalib, jiddiy oqibatlarga olib kelishi muqarrar. Shuning bilan birga barcha boshqa texnik yangiliklar kabi, gen-muhandisligi ham, ijobiy yoki salbiy natijalarga olib kelishini esdan chiqarmaslik lozim. Masalan, mikroorganizmlar yordamida azot yutuvchi genni boshoqlilarga o‘tkazish, faqat foyda keltirishi hech kimda shubha uyg‘otmaydi, ammo bunday mikroorganizmlarni tuproqda ko‘payib ketishi boshqa o‘simliklarni ham rivojlanib ketishiga olib keladi, bu esa o‘z navbatida ham o‘simliklar orasidagi biologik muvozanatni, hamda hayvonlar orasidagi biotsenozni buzilishiga olib kelishi mumkin. Boshqa tomondan, ba’zi – bir biologik preparatlarga bo‘lgan nisbiy taqchillik (masalan, gormonlar) transgen mikroorganizmlar yordamida ko‘plab chiqrilishi mumkin, bu esa preparatlardan asossiz foydalanish imkoniyatini yaratadi.

Buning oqibatida nima bo‘ladi? Shunday tavakkalchilikni oldini olish maqsadida 1974-yilda ko‘pchilik olimlar gen muhandisligi bo‘yicha olib boriladigan eksperimentlarni chegaralash taklifi bilan chiqqan edilar. Ammo, oradan ko‘p o‘tmay 1975-yil fevralida Koliforniyaning Asilomar shahrida o‘tgan konferensiyada 140 nafar ilmiy-izlanuvchilar o‘zlari qabul qilgan moratoriyani bekor qilish taklifini kiritdilar. O‘shandan boshlab, AQShda bunday ishlar alohida nazorat ostida bo‘lsa ham, tobora kengaytirilib kelinmoqda.

**Odob va kasbga doir muammolar**. Biotexnologiya masalalari bilan shug‘ullanuvchi ilmiy-tekshirish guruhlari, hamisha kommersiya va ilmiy nuqtai – nazarlar bir-birlari bilan chambarchas bog‘lanib ketgan raqobat atmosferasida yashab ijod qiladilar. Fundamental fan bilan ishlab-chiqarish va kommersiya o‘rtasida ikkilanib turadigan holatni egallab turgan ilmiy xodimlar qator muammolarga duch keladilar: bir tomondan ilmiy xodimlar olgan ilmiy natijalarini tezroq chop etishga intilsalar, ikkinchi tomondan ular patent doirasida olingan natijalarni sir saqlashlari zarur. Shuning uchun ham hamkasblardan orqaga qolib ketmaslik maqsadida, ko‘pchilik ilmiy xodimlar davriy nashrlardan foydalanmaydilar. Boshqa bir xil ilmiy xodimlar o‘zlari olgan ilmiy natijalarni hamkasblaridan bekitishga harakat qiladilar (interferon haqida uzoq vaqt xabar bermaslik mana shunga misol bo‘la oladi).

Ilmiy tekshirish institutlari (Fanlar akademiyasi, universitetlar, ilmiy markaz, labarotoriyalar) bilan ishlab-chiqaruvchi yoki fan yutuqlarini ishlab chiqarishga joriy qiluvchilar orasida hamisha ham ochiqdan-ochiq fikr almashuvchilar bo‘lavermaydi. Buning uchun yangilik yaratgan olimni yoki uni targ‘ibot qilgan korxona yoki shaxsni qiziqishlarini himoya qiluvchi maxsus qonunlar yaratilmog‘i kerak. To‘g‘ri

bunday holatlar xo‘jalik shartnomalari, shartnomalar yoki har ikkala tomonni vazifalarini belgilab beruvchi boshqa xujjatlarda aks ettiriladi, ammo bunday hujjatlar ma’lum bir vaqt chegarasida belgilanadi, masalan bir yilga, ikki yilga va h.k. Xo‘sh undan keyinchi? Ilmiy laborotoriyalarda yaratilgan texnologiyalarni ma’lum korxonalarda ishlab chiqarishni yo‘lga qo‘yib, uni yaxshilab o‘rganib olgan ba’zi bir shaxslar, har xil bahonalar qidirib topishi turgan gap. Bir tomondan institut yoki alohida olingan olim, ikkinchi tomondan kommersiya qiluvchi firma, tuzilgan kelishuvlar asosida bemalol g‘oyalar almashish mumkinmi? Albatta yo‘q, chunki bozor iqtisodi davrida o‘sib borayotgan raqobat mavjud. Rivojlangan mamlakatlarda (AQSh, Yaponiya, Italiya, Fransiya, Germaniya) biotexnologiya muammolari bilan shug‘ullanadigan universitetlar bilan ishlab-chiqarish korxonalari orasidagi o‘zaro aloqalarni belgilovchi ba’zi bir prinsiplar ishlab chiqilgan. Afsuski, bu masalada mamlakatimizda maxsus hujjatlar qabul qilinmagan. Shuning uchun o‘z –o‘zidan quyida keltirilgan muammolar kelib chiqishi muqarrar. Fanlar akademiyasining institutida, yoki universitetlarning ilmiy laboratoriyasida ishlab turgan ikki olim, bir vaqtda ikki kommersiya firmasiga maslahatchi bo‘lsa nima bo‘ladi? Yoki bir-biri bilan fikr almashib, yurgan ikki olim, bir-biriga raqobat asosida faoliyat yuritib kelayotgan ikki firmaga konsultantlik qilishsachi? Yoki ilmiy laboratoriyada yaratilgan yangilikni, yaratilishiga moliyaviy yordam ko‘rsatgan firma orqali patentlamoqchi bo‘lsa nima qilish kerak? Yangilik yaratgan olim, yangiligi uchun patent olgan, ammo ba’zi-bir sabablarga ko‘ra o‘sha universitetda ishlamasa-yu, universitet bu patentdan foydalanib, qo‘shimcha mablag‘ topsa, olim nima qilish kerak? Ko‘plab boshqa savollar javobsiz qolaveradi. Shuning uchun ham barcha hamkorlik haqida ilmgohda to‘la axborot bo‘lishi shart (biror bir firma bilan hamkorlik qilayotgan olim bu haqida o‘zini asosiy ishidagi hamkasblarini xabardor qilishlari kerak); faqatgina mana shu yo‘l bilan ilmiy izlanishlarni o‘ziga xos bo‘lgan xarakterlarini saqlash, hamda har xil muammo tug‘diruvchi tortishuvlarning oldini olish mumkin bo‘ladi.

Bu joyda ham savol tug‘iladi: kim va qanday holatda bunday axborotni olishi kerak? Agar fakultet rahbarlari yoki institut direktorlari axborot yig‘ishga mas’ul bo‘lsalar, ular olgan axborotlarini boshqalarga yetkazishlari va shu orqali olimlarni qo‘shimcha qiziqishlarini uyg‘otishlari mumkinmi? (masalan Kaliforniya universitetida quyidagi odat qabul qilingan: sanoat kompaniyalaridan qo‘shimcha haq oladigan barcha ilmiy guruh bunday aloqani mazmunmohiyatini, oladigan qo‘shimcha haqni boshqa kompaniyalardan ko‘ra tuzukroq ekanligini asoslab berishlari shart. Shuningdek, ular o‘zlarining ilmiy loyihalarini universitet qo‘mitasiga tadbiq etishlari ham shart).

Ishlab-chiqarish bilan universitetlar (ilmiy markazlar) orasidagi muammolar barcha fanlar uchun umumiy bo‘lsada, biotexnologiyada biroz o‘ziga xoslik kuzatilib turiladi. Fikrimizni dalili sifatida bir misol. Biologiya fanlari nomzodi N.M.Labutovani o‘z ilmiy kuzatishlari natijasida yozgan bir maqolasining mazmuniga murojaat qilamiz. Yaponiyalik olimlar qishloq xo‘jaligi uchun ajoyib bir biotexnologiyani ixtiro qilganlar. Bu biotexnologiyani asosida 80 dan ortiq mikroorganizmlar assotsiatsiyasi, shunga qarab ular iste’mol qiladigan oziqa muhitlari, mikroorganizmlarni bir-biriga zararsiz bo‘lgan miqdoriy munosabatlari va bir qator, faqatgina ixtirochilar biladigan “Nau-Xau” yotadi. Bu preparatni Rossiyani

bir guruh “ishbilarmonlari” Moskvaning “Yem – texnologiya” deb nomlangan firmasi “Baykal” nomi bilan chiqarib, ishlab-chiqarishga tadbiq qilmoqchi bo‘ldilar. Bu preparat afsuski, bizning mamlakatimizda ham ming tonnalab harid qilindi. Ammo, hech qanday samara bermadi. Xo‘sh bunga sabab nima? N.M.Labutovani fikricha “Baykal”da nafaqat 80 ta, balki 10 ta ham mikroorganizm yo‘q. Buning ustiga preparat tarkibida topilgan mikroorganizmlar achitqilar, sut achituvchi bakteriyalar xolos. Albatta bunday preparatni tuproqqa solish nafaqat foyda keltirmasdan qolmay, balki zararli hamdir. Biotexnologik ishlanmalarni kommersalizatsiya qilish boshqa sohaga qaraganda biroz kamroq vaqt egallaydi, masalan kimyoviy muhandislikga nisbatan. Ikkinchi tomondan, universitet ilmiy laboratoriyalarida bajarilgan ilmiy ishlanmalar sanoat rivojlanishi uchun ulkan xissa qo‘shishi mumkin, bunday holatda mana shu yo‘nalishda ishlagan olimlar o‘zlarining ulushlari asosida qo‘shimcha moliyaviy yordam olishlari muqarrar.

Bunday holatda universitet bilan sanoat korxonasi orasidagi kelishuvni ochiq muhokama qilinishi, har xil tarmoq orasidagi gapso‘zlarga yo‘l qo‘yilmasligi, universitetga nisbatan bo‘lgan an’anaviy ishonchni yo‘qotmaslik va ilmiy ishda qatnashganlarni universitetga nisbatan munosabatini o‘zgartirmaslik katta ahamiyatga egadir. Yana bir masala, u ham bo‘lsa yildan-yilga rivojlanib kelayotgan biotexnologiyani kommersiya bilan aralashib ketishi, asosiy mexanizmlarni tushunishga qiziqmaydigan, muayyan maqsad uchun muhandislik ishlari bilan ko‘proq band bo‘lgan, “yangi avlod biologlarning yetishib chiqishiga olib kelmaydimi? Xuddi shuningdek, xayot haqidagi fanning qo‘llanilishi jarayonida fanlar yoki fan va ishlab– chiqarish oralig‘ida yangi fanlar paydo bo‘lishi mumkinligi haqida fikr yuritish ham ortiqcha bo‘lmasa kerak!

Fikrimizcha, mamlakatda ishlab-chiqarish masalalarini yechish maqsadida biologlar va muhandislardan iborat bo‘lgan biotexnologlar uyushmasini tashkil etish zaruriyati paydo bo‘ldi. Shuningdek, fundamental vazifalarni yechish imkoniyatiga ega bo‘lgan biomuhandislik guruhini tashkil etish ham maqsadga muvofiqdir.

Rivojlanib kelayotgan biotexnologiya, fan oldiga “evolyutsiya va biologik izlanishlar” kabi muhim bir muammoni qo‘ydi. Boshqa fanlar kabi (fizika, kimyo va boshqalar) yaqin kelajakda biologik izlanishlarni ham yangi shakllari kelib chiqishi, izlanishlar bilan ishlab-chiqarish orasida yangi aloqalar paydo bo‘lishi, fanni o‘ziga xos tarmog‘i bilan shug‘ullanuvchi yangi laboratoriyalar tashkil etilishi zarur bo‘lib qolsa ajab emas.

Fanning bir sohasi ikkinchisiga nisbatan jadalroq rivojlanmoqda. Biologik tadqiqotlarni evolyutsion rivojlanishi eng avvalo biolog olimlarni o‘zlariga bog‘liq. Sanoat korxonalarining moliyalashtirishi hisobidan fan sohasidagi butun boshqaruvni o‘z qo‘llariga oladilarmi, yoki olimlar ilmiy izlanishlarni ustivorligiga erishadilarmi, fundamental tadqiqotlarni rivojlanishiga bo‘lgan xuquqni saqlab qoladilarmi, yo‘qmi? – bu savolarga javobni faqat biologlarni o‘zlari beraoladilar.

# XOTIMA

Biotexnologiya bugunning o‘zidayoq katta iqtisodiy va ijtimoiy ahamiyat kasb etmoqda. Qo‘lingizdagi darslikning asosiy vazifasi, fanning rivojlanish istiqbollarini tahlil qilib chiqish va yangi biotexnologiyani mexanizmlarini tavsiflashdan iborat.

Hozirgi davrda biotexnologiyaning yutuqlaridan quyidagi sohalarda foydalanish istiqbolli hisoblanadi:

Oziq-ovqat sanoati, farmatsevtika, kimyoviy va neft-gaz sanoati sohalarida-yangi moddalarning biosintezi va biotransformatsiyasi jarayonlarida, xossalari (xususiyatlari) oldindan belgilangan bakteriyalar, achitqi va mitselial zamburug‘larning transgen shtammlaridan foydalanish;

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

Chorvachilikda – o‘simlik, mikrob massalari va qishloq-xo‘jaligi chiqindilari asosida samarali oziqa 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, diognostika uchun preparatlar, vaksinalar, immunobiotexnologiyani rivojlanishiga xizmat qiluvchi raqobatbardosh biopreparatlar yaratish;

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

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, 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 muhandisligi. Darhaqiqat, bu ikki yo‘nalish ushbu murakkab va ko‘plab fanlar oralig‘idagi 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 muhandislik preparatlari, insonni o‘stirish gormoni, interferonlar, interleykinlar,

eritropoetin, to‘qima plazminogenlarining aktivatori, qator monoklonal antitellalar va vaksinalar ishlab chiqarishning sanoat texnologiyasining yaratilganligidir.

Zamonaviy biotexnologiyaning usullaridan foydalanib, dorivor moddalar ishlab chiqarish bo‘yicha ilmiy va amaliy ishlar AQSh, Yaponiya va G‘arbiy Yevropaning ba’zi mamalakatlarida faol olib borilmoqda. Bu malakatlarda biotexnologiyani rivojlantirish uchun ajratilgan mablag‘ning uchdan ikki qismi sarflanmoqda. Bu mamlakatlarning deyarli barchasida, biotexnologik loyihalarni qo‘llab-quvvatlovchi davlat dasturlari qabul qilingan va muhim fundamental tadqiqotlar hamda yangi biotexnologik mahsulotlarni 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 mablag‘lardan foydalanib, eng yirik mutaxassislarni jalb etib, qisqa muddatda tibbiyot uchun qator oqsil mahsulotlari 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 mahsulotlari yaratish sohasida, ularni rivojlantirishga kirishilgan. Bu maqsadda Yaponiyaning rivojlanishi uchun an’anaviy yo‘l tanlangan, ya’ni ilmiy-texnikaviy axborotdan amaliyotda foydalanish va gen muhandisligi 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 muhandisligi bo‘yicha o‘zlarining ilmiy va amaliy ishlarini kengaytirishga ham alohida e’tibor berilgan.

AQSh va Yaponiya qatori, biotexnologiya G‘arbiy Yevropa mamlakatlarida ham tezkorlik bilan rivojlanib bormoqda. Bu mamlakatlar yaqin kelajakda biotexnologik mahsulotlar bozorida katta ta’sirga ega bo‘lishlari kutilmoqda. Shuningdek, biotexnologiya Gollandiya, Italiya, Daniya, Shvetsiya va boshqa mamlakatlarda ham juda tez sur’atlarda rivojlanib bormoqda.

Biotexnologik jarayonlardan foydalanish keyingi yillarda ayniqsa, Xitoy va Hindistonda 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. Biotexnologik usullar asosida dori-darmonlar (antibiotiklar, vitaminlar, organik islotalar), oziqa oqsillari ishlab chiqarish yo‘lga qo‘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 va yetuk malakali biotexnologlar kerak bo‘ladi. Bu borada, Sizlarga omad tilaymiz!

***Mualliflar***

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR VA MANBALAR RO‘YXATI


1. Brown T.A. Essential molecular biology. Oxford: JRL press, 1991.
2. Davranov Q., Alikulov B. Nanobiotexnologiya. Darslik. Samarqand. - “SamDU nashriyoti”, 2019., 282 bet.
3. Campball J.M. Biomass, catalusts and linuid fuel. Wheaton and Sons, 1983.
4. Erust L.K. et.al. Transgenic rabbits with antisense RNA gene targeted a adenovirus AS.. Theriogenology, -C. 37, 8, 1311-1316., 1992.
5. Hardy K.G., 1981. Bacterial Plasmids, Van Nostrand Reinhold, London.
6. Price N, Stevens I. Fundamentals of enzymology. Oxford: Univ.press, 1996.
7. Prise N., Stevens L. Fundamentals of enzymology. Oxford: Univ.press,1996.
8. Safin M., Ro‘ziyev YU., Alikulov B. Biologik faol va dorivor moddalar biotexnologiyasi. O‘quv qo‘llanma. Toshkent. - “Fan”, 2015., 180 bet.
9. Smith J. Biotechnology/ Cambridge: Univ. press. 1996. 236p.
10. Spaink H., Kondorosi A., Hookaas P.J.J. The Rhizobiaceae. Dordretch, Boston, London: Kluwer Acad. Publ. 1998. 566 p.
11. Stacey G., Burris R.H., Evans H.J. Biological Nitrogen Fixation. New York, London Chapman and Hall. 1992. p. 755.
12. Vorabjeva L.J. Propionibacteria. Dordrecht etc.: Kluver, 1999, 300p.
13. Авакянц С.П. Биохимические основы технологии шампанского. М., 1980.
14. Альбер Сассон. Биотехнология: сверщения и надежды. М. «Мир», 1987. 115 с.
15. Артамонов В.И. Биотехнология агропромыщленному комплексу. М., наука, 1989. 165 с.
16. Баев А.А. – Биотехнология. М., Наука, 1984.
17. Бартошевич Ю.Е. и др. Современное состояние и перспективы биокатализа в производстве β-лактамных антибиотиков. – Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1986. - № 2. – С 101.
18. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. М:, «Агропромиздат» 1991. 240 с.
19. Безбородов А.М., Квеситадзе Г.И. Введение в биотехнологию М.: 2002.
20. Беккер М.Е. – Введение в биотехнологию. М., Пищевая промыщеленность, 1978
21. Белая книга по нанобиотехнологии / под ред. В.И. Аржанцева и др. – М: Изд-во ЛКИ, 2008. – 344 с.
22. Березов Т.Т. Применение ферментов в медицине / Т.Т. Березов. // Соросовский образовательный журнал. – 1996.- №3 –с.23-27.
23. Биология термофильных микроорганизмов / Отв. ред. А.А. Имшенецкий. Москва : Наука , 1986. 270 с.

24. Биотехнология – сельскому хозяйству/ Под ред. Лобанка А.Г. – Минск: Ураджай. – 1988. – 198с.
25. Биотехнология / под ред. А.А. Баева. – М.: Наука, 1984.
26. Биотехнология лекарственных средств. Учебное пособие/ Под ред. Быкова В.А. и Далина М.В. – М.: Медбиоэкономика. - 1991. – 303с.
27. Биотехнология. Принципы и применения. – Пер. с англ./ Под ред. И.Хиггинса, Д.Беста, Дж. Джойса. – М.: Мир. – 1988.
28. Биотехнология: принципы и применение. Под. ред. И.Хитинса и др. М:. Мир. 1988. 473 с.
29. Биотехнология: Учебное пособие для ВУЗов. В 8 кн./ Под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М.: Высшая школа. – 1987.
30. Бич Г., Бест Д., Брайерли К и др. Биотехнология, Принципым приложения. М., Мир, 1988.
31. Бронштейн Л.М., Шифрина З.Б. Наночастицы в дендримерах: от синтеза к применению // Российские нанотехнологии. – 2009. – Т.4, №9-10. – С.32-55.
32. Будников Г.К. Биосенсоры как новый тип аналитических устратств / Г. К. Будников // Соросовский образовательный журнал. – 1996 № 12. – С. 26 – 32.
33. Бунин В.Н. Микробиологичкский синтез витаминов. М., 1972.
34. Бурьян Н.И., Тюрина Л.В. Микробиология виноделия М., 1979.
35. Вакула В.Л. Биотехнология, что это такое? М.: Молодая гвардия – 1989. – 301с.
36. Варфаломеев С.Д., Калюжный С.В. Биотехнология: Кинетические основы микробиологических процессов М., Высшая школа, 1990.
37. Верма А.М. Генотерапия / А.М. Верма // В мире науке. – 1991. - №1.с.26-34.
38. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология: Учебник для вузов. – М.: МГУ. – 1989. – 293с.
39. Гассер И.С. Трансгенные культурные растения / И.С. Гассер, Р.Т. Фрейли // В мире науке. – 1992. №8. – с. 24-30.
40. Глеба Ю.Ю. Биотехнология растений / Ю.Ю. Глеба // Соровский образовательный журнал. – 1998. - №6. – с. 3-8.
41. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение: пер. с англ. / Б. Глик, Дж. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
42. Говорун. В.М. “Системных подход ” к живому / В.М. Говорун (Режим доступаhttp:// nanosvit. com/ publ/15-1-0-113).
43. Гордон А. Контрол воспроизводства сельскохозяйственных животных. - М. ВО «Агропромиздат» 1988.
44. Грачева И.М., Гаврилова Н.Н., Иванова Л.А. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жыров. М.: Пищевая пром-сть. 1980. 448 с.
45. Грин Н. Биология: в 3 т: пер с анг./ Н. Грин, У. Стаут, Д. Тейлер: под ред. Р. Сопера. – М. : Мир, 1996.
46. Давранов К.Д. Микроблар дунёси. Тошкент. ТошДАУ нашриёти. 2002 й. 298 б.

47. Давранов К.Д., Хужамшукуров Н.А. Умумий ва техник микробиология. Ташкент, 2004. 208 с.

48. Давранов Қ. Биотехнология: илмий, амалий ва услубий асослари. Ташкент, Изд. Патент пресс. 2008, 504 б.

49. Дубяга В.П. Нанотехнологии и мембраны (обзор) // В.П.Дубяга, И.Б.Бесфамильный // Критические технологии. Мембрана. – 1999. №1 – с. 11-16.

50. Евдокимов Ю. М. Нуклеиновые кислоты, жидкие кристаллы и секреты наноконструирования / Ю.М. Евдокимов // наука и жинь. 2005. – №4 (Режим доступа http:// www. nkj/ ru/ archive/ articles/604).

51. Егоров Н.С. Биотехнология. Проблемы и перспективы. – М.: Высшая школа. – 1987.

52. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. – М.: Изд-во МГУ. – 1994. – 512с.

53. Егорова Т.А. Основы биотехнологии: учебное пособие для высш. Пед. Учеб. Заведений / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина – М.: Издательский центр “Академия”, 2005.- 208 с.

54. Еликов П.П. Основы биотехнологии. Санкт-Петербург. Иф. «Наука», 1995.

55. Ешков Н.П. Основы биотехнологии. – СПб.: Наука. – 1995.

56. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика / И.Ф. Жимулев.– Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2006. – 479 с.

57. Заварзин Г.А. Микробиология-двадцатому веку. М: наука. 1981. 190 с.

58. Зеленин А.В. Генная терапия: этические аспекты и проблемы генетической безопасности // А.В. Зеленин // Генетика.- 1999 – Т 35 – с. 1605 – 1612.

59. Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология / П. Зенгбуш. – М: Мир, 1982. – Т.1. – 367 с.

60. Иванов В.И. Как работают ферменты / В.И. Иванов // Соровский образовательный журнал. – 1996.- №9 –с.25-32.

61. Иммобилизованные ферменты. Современное состояние и перспективы/ Под ред. Березина И.В., Антонова В.К., Мартинека К. – Т. 1,2.- М.: Изд-во МГУ. – 1976.

62. Использование “управляемых” бионанотрубок для внутриклеточной доставки лекарств. Сборник новостей физики Новосибирского гос. Университета. 2005. – вып 3 (Режим доступа http:// www. nsu. ru / asf/phnews/digest 2005 1020/ Bio Nan tech/html.

63. Кандыбин Н.В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика. М:. Агропромиздат, 1989, 172 с.

64. Кантере В.М. Теоритические основы технологии микробиологических производств. М., «Агропромиздат», 1990.

65. Квеситадзе Г.И. Безбородов А.М. Введение в биотехнологию. М.: Наука, 2002.

66. Кирпечников М.П. О развитии нанобиотехнологии / М.П. Кирпечников, К.В. Шайтан// Инновации. -2007. - №12 (Режим доступа http://

www. Vechnayamolodost.ru/orticle_nanotechnologii/O/o-razvti-nanobiotechnologii.html).

67. Кобаяси Н. Введение в нанотехнологию: пер. с ЯП. /Н. Кобаяси. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. -134 с.

68. Кольтовер В.К. Эндоэдральные фуллерены: от химической физики к нанотехнологии и медицине / В.К. Кольтовер // Вестник РФФИ. – 2008. - № 3 (59). – С.54-71.

69. Коничев А.С. Молекулярная биология / А.С. Коничев., Г.А. Севастьянова – М.: Академия, 2005 – 400 с.

70. Костина Л. Изучение особенностей структурной организации дельтаэндотоксинов Bacillus thuringiensis подвидов gallerial и israelensis// Автореф. Канд. Диссер. М., 1989. 18с.

71. Красота В.Ф., Завортяев Б.П. и др. Биотехнология в животноводстве. М., Колос, 1994.

72. Кретович В.Л. Биохимия усвоения азота воздуха растениями. – М.: Наука, 1994.

73. Кретович В.Л. Усвоение и метоболизм азота у растений. М.: Наука, 1987

74. Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1974.

75. Лещинская И.Б. Генетическая инженерия / И.Б. Лещинская // Соровский образовательный журнал.- 1996. - №1. - с.32-39.

76. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н. и др. Генетика развития растений / Под ред. С.Г.Инге-Вечтомова. – СПб.: Наука, 2000.

77. Мастеров В.Ф. Физические свойства фуллеренов / В.Ф. Мастеров // Соросовский образовательный журнал. – 1997. - №1. – С.92-99.

78. Мирошниченко О.И. и др. Получение трансгенных кроликов геном асРНК против EIA области аденовируса AS. Доклады ВАСХНИЛ, 1988, №5, - С.31-37.

79. Мишустин Е.Н. Биотехнология. Сб.: Знание. – 1988. – 64с.

80. Мишустин Е.Н., Шильникова В.К. Клубеньковые бактерии и инокуляционный процесс. – М.: Наука, 1973.

81. Моисеенко В.М. Моноклональные антитела в лечении злокачественных опухолей / В.М. Моисеенко // Практическая онкология. – 2003. – Т. 4, № 3. – С.148-156.

82. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии/ Под ред. Инге-Вечтомова С.Г. – Л.: Наука. - 1986.- 256с.

83. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств

84. Нанотехнологии в биологии и медицине / Под ред. Шляхто Е.В. (http://prostonauka.com).

85. Неттелбек Д. Вирусы: оружие против рака / Д. Неттелбек, Д. Карел// В мире науки. – 2004. – № 1.

86. Общая биология: Учеб.для 10-11 кл./ В.Б.Захаров, С.Г.Мамонтовстр.181-189.

87. Орешкин К.Н. Технология средств защиты растений. М:. Технологический ин-т пищевой промещленности. 1989. 245с.

88. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина Т.С. – СПб.: СПХФИ. – 1997. – 44с.

89. Пол У. Иммунология: в 3 т.: пер. с англ. / У. Пол, А. Сильвертайм, М. Купер и др. – М.: Мир, 1987-1988.

90. Проворов Н.А. Генетико-эволюционные основы учения о симбиозе. Журн. Общ. Биол. 2001, Т., 62 №6, с. 472-495.

91. Прокофьев М.И. Достижения и использование эмбриологии в животноводстве. Международный сельскохозяйственный журнал. № 3. -С. 43-50, 1987.

92. Прокофьев М.И. Регуляция воспроизводства крупного рогатого скота. -М. Московский рабочий. 1989.

93. Прокофьев М.И. Регуляция размножения сельскохозяйственных животных. -Л. Наука 1983.

94. Рахов Э.Г. Миробы на службе нанотехнологии / Э.Г.Рахов // Химия. Издательский дом “Первое сентября”. – 2004.- №7 Режим доступа http:// www. him.|september.ru).

95. Ройт А. Иммунология: пер. с англ. / А Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. – М.: Мир, 2000. – 592 с.

96. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. – Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов. М., Россельхозакадемия, 2000.

97. Сассон А. Биотехнология: Свершения и надежды / под редакцией В.Г.Дебябова. М.Мир.: 1987 с.411

98. Седых Н.В. Контроль качества биотехнологической продукции. – Рига.: Зинатна. – 1990.

99. Сергеев В.А. – Вирусные вакцины. Киев., Урожай, 1993.

100. Симаров Б.В. Генетические основы селекции клубеньковых бактерий. – Л.: Агропромиздат, 1990.

101. Синицин А.П., Райнина Е.И., Лозинский В.И., Спасов С.Д. Иммобилизованные клетки микроорганизмов. – М.: Изд-во МГУ.- 1994.- 288с.

102. Скрябин Г.К., Головлева Л.А. Использование микроорганизмов в органическом синтезе. М.: Наука, 1976.-336с.

103. Стакишкис. Оптимизация управления биотехнологическими процессами. – Вильнюс.: Мокалос. – 1984.

104. Тихонович И.А., Проворов Н.А. Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. – СПб.: Наука, 1998.

105. Тромфименков В.Н., Ореовский В.И., Дубинина Т.П., Расницын А.С. Физиологические, биохимические и инсектицидные свойства Bacillus thuringiensis var. israelensis// биотехнология, 1990 №1 с.21-25.

106. Тутов И.К, Ситьков В.И. Основы биотехнологии ветеринарных препаратов – Ставрополь, 1997.

107. Физические основы и способы микрофильтрации и ее применение в технологии производства ветеринарных иммунобиологических препаратов Ч. IV. «Микрофильтрация» (Воронин Е.С, Тихонов И.В и др) М., МГАВМи Б.им.К.И. Скрябина, 2000.

108. Хужамшукуров Н.А. Создание инсектицидного биопрепарата на основе мутантных штаммов энтомопатогенных бактерий Bacillus thuringiensis

против колородского жука (Leptinotarsa desemlineata say L) Авт. канд. дисс. Ташкент. 2002 г. 22 с.

109. Шевелуха В.С. и.др. «Сельскохозяйственная биотехнология» -М. Изд. «Высшая шқола», -С.469., 2003.

110. Шлегель Г. Общая микробиология: перевод с немецкого. - М.: Мир, 1987.-567с

111. Экологическая биотехнология/ К. Форстер. – Л.: Химия. – 1990.-320с.

112. Эллиот В., Элиот Д. Биохимия и молекулярная биология. М.: НИИ Биомед. Химии РАМН, 1974.

113. Эрнест Л.К., Прокофьев М.И. Биотехнология сельскохозяйственных животных. -М. Колос, 1995.

