

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА  
ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ  
ТОШКЕНТ КИМЁ ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ**

**ФЕРМЕНТЛАР  
ВА  
ҲУЖАЙРА ИНЖЕНЕРЛИГИ**

**ФАНИДАН МАЪРУЗА МАТНЛАРИ**

**ТОШКЕНТ - 2005 й.**

йўналиши: 5522900 - Биотехнология

ТУЗУВЧИ: ТКТИ, “Биотехнология” кафедраси катта ўқитувчиси, биология  
фанлари номзоди, Н.А.ХЎЖАМШУКУРОВ

ТАҚРИЗЧИ: ТошКТИ, “Қанд ва бижғиш маҳсулотлари технологияси”  
кафедраси мудири, доцент, ХАСАНОВ Х.Т.

Маъруза матни «Биотехнология кафедраси» мажлисида муҳокама  
қилинган ва факультет Илмий-услубий Кенгашида кўриб чиқиш учун тавсия  
этилган. Баённома № \_\_, “ \_\_ ” \_\_\_\_\_ 2005 й.

Кафедра мудири,  
профессор

М.С.ТОШМУХАМЕДОВ

Маъруза матни «Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси» факультети  
Илмий-услубий Кенгашида кўриб чиқилган ва чоп этиш учун тавсия этилган.  
Баённома № \_\_, “ \_\_ ” \_\_\_\_\_ 2005 й.

Илмий услубий Кенгаш раиси,  
доцент

Т.Т.ТУРСУНОВ.

## 1-қисм. ФЕРМЕНТ ИНЖЕНЕРЛИГИ

1-мавзу. Ферментлар ва уларнинг халқ хўжалигидаги аҳамияти (2-соат).

Режа:

1. Ферментлар (ýŇşïëäð) хақида тушунча;
2. Ферментлар классификацияси;
3. Äëïêîşïäåçà va pãêTiNaçaëäð;
4. İöÎTâиНаça va àïëåçàëäð
5. Ферментларнинг халқ ххжалигидаги ахамияти.

Ферментлар (ýНҗиëаӊ) - õиëìа-õиë áииëѝ,Виé Ва êѝ,Виé ɔ́ааëöиүëаӊНи  
àìäëа îиѓĐВ÷и îкпие ТаáиaТиãа ýãа áýëãаН áииêаТаëиcаТìðëаäиӊ.

[illegible]

ÌìèðîðäàНисçìèаđ Ферментлар иðèаá ÷икаđóВ÷и ìаНáа ñиФаТиáа аèìиáа қисикиø уйғотади, ÷óНèи óèаđ адçìН ìóхиТáа Таç ўñаáиèаđ. ИðèаТиèаáиáаН ìçóқа Таðèиáиáа қадаá, èáдаèèи ферментНи, ðîðèаáаН÷а Таé,ðèаø иìèìНиүТиНи áадаáиèаđ. ÁóНиНã óñТиáа èўìиНа ììèðîðäàНисçìèаđ ФерментларНи ўç хóæаèда кíаикèадиáаН Таðқадиáа ÷икадаáиèаđ, áó ўñа ììèðîðäàНисçìèадаáаН ўНаáа Фаìèðìқ ФìèáаèаНиø иìèìНиүТиНи ўдаТаáи.

ÌàТаáîеиçìНиНā ēаТТа иНТāНñиВëиāиāаН Таøқади ìиēðîðāаНиçìēаð  
 áîîñāññāñиНи ŷñиø Таçëиāи æóāā ēаТТаāиð. Áó қиñқа ВақТ îðëиқиāа аēдиì  
 ВақТëади 24-72 ñîаТ и÷иāа фермент аēðаТиø ó÷óН æóāā ēаТТа ìиқāîðāа хаì-  
 аø, îëиø îóîëиН, óНи хаéВîН Ва ŷñиîëиê òîи аø,ëади áиëаН ñîëиøТидиā  
 áŷëиāëи.

Êÿtëää iieðñðåaHиçìëaðHиHã iõxì òõñõñiÿTëaðиåaH ÿHa áиди óëað içóka ñиFаTиåa хаð òиë ÷иқиHåиëaðåaH ФíëååëHиá ÿñиø кíáiëиÿTиåa ÿååиðëað (õåëpëiça, HåФT óåëBîãñðîëëaðи, iåTaH, iåTaHиë Ba áiçkaëað). ÌieðñðåaHиçìëað ФíëååëHa iëåиåaH аëди òñ-aø,ëað iåaì Ba хаëBîHëað ó÷OH çахаðëиäиð. ØóHåå ÿëaH iieðñðåaHиçìëað Ферментлар ñиHTåç киëиø áиëaH áид каTиðåa, aTðìФ-iõxиT iõxìFаçаñи ó÷OH хаì òиçiаT киëåиëað.

[illegible]

Рқіѣиāа ТаіѣиāѣаНāаНиāāѣ ѣўї иіѣѣѣѣаНиѣїѣаѣ ѣаТТа іиқāиѣаа ѣѣѣТѣѣаѣ  
іѣхиТāа ѣиқāиѣиāаН Ферментлар хїпїѣ қиѣаїиѣаѣ. Аѣ Ферментлар аїпїаН

ікпііе, ёдаоіае, оаёерёіса, ,геаџни Ва аіџқа пóВāа ўдиіаеāиāН іāāаеаџни іаџ÷аеаеāиāН āиāџіеасаеаџā Таіёóкёиāиџ. Аиџ қан÷а Ферментлар Фақат іиёџіџдāаНиçіеаџāаиНа о÷џаеāи. Ііеāёóеа хіеиāаи асїТāаН аіиāе хіпиё қиёиџāа иџТиџіе ўТаāиāаН НиТџіāāНаса ферменти асїТни ўсёаџТиџиџ кїāиёиўТиāа ўāа аўеāаН āаеТāџиўеаџāаиНа о÷џаџи аНиқеāНāаН.

Аеџи āаеТāџиўеаџниНā хаџаеТāџеи оóпóпиўТеаџиāаН ўНа āиџи оёаџниНā аНіџāаНиё пóāпТџаТеаџни: аіиāеНи, НиТџиТеаџни, пóёўФиā Ва іеТиНāоāóџТни аіџқа āиџиёіаеаџни, Ва џóНāа ўџџаџ иёеи ВаёāНТџи Таіиџни іēпиāеаџ кїāиёиўТиāиџ. ÁóНāае хаџа, Нēаџни āаеāа іџиџи іиёџіџдāаНиçіеаџāа аеіхиāа ФерментларниНā іаВæóāеиāи āиеāН боғлиқāиџ. Аиџ қан÷а āаеТāџиўеаџ Ва пóВ ўТеаџи ііеāёóеа хіеиāаи Вīāиџіā хіпиё қиёиџи хаіāа іēпиāеаНиџ-қаеТāџиёиџ дāаёиўеаџни іеиā āиџóВ÷и æгиāџіāāНаса Ферментлари пāкёаџи аНиқеāНāаН.

Ёўи÷иёиё āаеТāџиўеаџ оёаџā іāТаН, іāТаНіё, іāТиёеāНāаН аиНēаџни, оāеāџіā іēпиāиНи Ва аіџқа āиџи оāеāџіāеи āиџиёіаеаџāаН пóāпТџаТ пниФаТиāа ФіеāаеāНиā, ўпиџ Ва џиВīæеāНиџāа ,џāаі āāџāиāаН Ферментларни пниНТāсёаџ кїāиёиўТиāа ўāа. АТџіФ іóхиТни, óНи иФёіпēаНТиџóВ÷и āиџ қан÷а іāāаеаџāаН Тісāеаџ іиёџіџдāаНиçіеаџ иџеāа ÷иқаџāиāаН Ферментлар хипīāиāа āаеāа іџиџиёаи, оёаџ іēапТіāпна, іāпТиџиāеаџни Ва аіџқа сáаџеи іóџаеēāā āиџиёіаеаџни іāиё Таџеиāиё қипīāа іаџ÷аеāā рāиџāиёаџ.

Ферментлар еēаппиФиēаџиўпи. қаáбё қиёиНāаН еēаппиФиēаџиў тизимиāа āиНīаН хаіāа Ферментлар іеТи пниНФāа аўеиНаāи:

ІēпиāиџāоёТāсāеаџ;

ТџаНпФāџасāеаџ;

Āиāџіеасаеаџ;

Ёиāсāеаџ;

Иçпīāџасāеаџ;

Ёиāсāсāеаџ (пниНТāТāсāеаџ).

ЕāНā іиқāиџāа қўеēаНиēаāиāаН іиёџіџдāаНиçіеаџ ферменти - āиāџіеасаеаџ пниНФиāа еиџóВ÷иёаџāиџ (āеиёіçиāасāеаџ, іāпТиāасāеаџ Ва аіџқаеаџ).

Áóеаџ āеиёіçиā, іāпТиā, ўФиџ Ва аеџи аіџқа āігеāџāа пóВ иџТиџіеиāа Таўпиџ қиēаи. Āиāџіеасаеаџ еўиН÷а хóæаеџа Таџқаџипниāаи (ўеçіāāН) Ферментларāиџ. хóæаеџāаН ÷иқиā, оёаџ ёóёўТóџае іóхиТāа ТўїеāНāи. Áó Ферментларни іеиџ хóæаеџа и÷иāаи (ўНāиāāН) Ферментларни аеџаТиџāа НипīāаТаН қóеāе Ва аџçіНāиџ.

Āеиёіçиāасāеаџ. Āеиёіçиāасāеаџ -āеиёіçиā āігеāџни āиāџіеиç қиёóВ÷и Ферментлардир. Áóеаџ еўи ВақТеаџāаН āāџи ўџāаНиēаи Ва иџеāТиēаи. Áó āóџóхāа ёдаоіаеНи āиāџіеиç қиёóВ÷и аиёіеиТиё Ферментлар, β-āиēасāеаџ Ва āеиёіāиēасāеаџ еиџāи. Ёўи іиёџіџдāаНиçіеаџ α-āиēасā хіпиё қиēаи, β-āиēасā пниНТāси ўна еāи еуçаТиēаи.

Аіāиё іакпāāеаџāа қўеēаНиēаāиāаН α-āиēасāНи аеџаТóВ÷и Bacillus licheniformis, Bac.amyloliquefaciens, Aspergillus oryzae Ва аіџқа

и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇а̇и̇д̇. α-а̇и̇е̇а̇са Ваc. licheniformis ааН и̇е̇и̇На̇а̇и̇а̇аН а̇о̇аа р̇к̇и̇д̇и ха̇д̇и̇да̇Та̇а ÷и̇а̇а̇и̇е̇и Ва е̇да̇о̇и̇а̇е̇Ни 100<sup>0</sup>Ñ аТ̇д̇и̇Фи̇а̇а̇и ха̇д̇и̇да̇Та̇а а̇и̇а̇д̇и̇е̇иç қи̇е̇иø қ̇и̇а̇и̇е̇и̇у̇Ти̇аа у̇а̇а̇и̇д̇. И̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇Ни̇Н̇а у̇е̇ñТ̇д̇а̇и̇а̇е̇ øа̇д̇и̇Та̇а Та̇да̇қ̇и̇е̇ қи̇е̇иø қ̇и̇а̇и̇е̇и̇у̇Ти̇Ни, у̇у̇Ни и̇а̇ñТ Ва р̇к̇и̇д̇и ха̇д̇и̇да̇Та̇а, и̇е̇а̇е̇о̇е̇у̇д̇ е̇и̇ñе̇и̇д̇и̇а̇ и̇аВ̇а̇о̇а̇ а̇у̇е̇и̇а̇аН̇аа, и̇ø̇к̇и̇д̇е̇и Ва е̇и̇ñе̇и̇Та̇е̇и iòхи̇Та̇а, Т̇у̇çНи р̇к̇и̇д̇и е̇и̇Н̇о̇а̇НТ̇да̇о̇и̇у̇ñи̇аа у̇ñи̇и̇и е̇у̇и̇иН÷а о̇е̇а̇д̇Ни̇Н̇а Ферментлари ха̇да̇е̇Та̇д̇и а̇и̇е̇аН аНик̇е̇аН̇а̇и̇.

ØóН̇а̇а̇е̇ қи̇е̇и̇а̇, ðóе̇и̇ñа қи̇е̇и̇а̇ øóНи а̇е̇Ти̇ø iòи̇е̇иН̇е̇и, и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇аа а̇о̇аа р̇к̇и̇д̇и Фа̇и̇е̇ фермента̇Ти̇В̇ д̇а̇а̇е̇о̇и̇у̇ и̇е̇и̇а̇ а̇и̇д̇иø қ̇и̇а̇и̇е̇и̇у̇Ти̇ и̇аВ̇а̇о̇а̇, и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇, а̇и̇øқа е̇у̇е̇е̇а̇д̇ а̇и̇е̇аН а̇и̇а̇е̇аа iøи̇д̇и̇а̇ а̇у̇е̇и̇а̇е̇а̇и̇а̇Н а̇о̇аа е̇у̇и̇ а̇а̇да̇, Н̇е̇а̇д̇Ни у̇çе̇а̇ди̇Ни̇Н̇а и̇а̇ññøñ Ферментлари ТóФа̇е̇е̇и а̇и̇а̇е̇аа iøи̇д̇иø и̇и̇е̇и̇Ни̇у̇Ти̇аа у̇а̇а̇е̇а̇д̇.

И̇а̇е̇д̇и̇- Ва и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇аа а̇и̇д̇ ðи̇е̇ ФóН̇е̇о̇и̇у̇е̇и Ферментлар, у̇çе̇а̇ди̇Ни̇Н̇а ðи̇ññа Ва ðóññøñи̇у̇Т̇е̇а̇ди̇ а̇и̇ха̇Ти̇а̇аН ха̇д̇ ðи̇е̇ а̇у̇е̇и̇и̇и iòи̇е̇иН Ва и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇аа у̇çи̇Ни Фа̇и̇е̇е̇и̇а̇и̇Ни р̇çа̇аа ÷ика̇ди̇и̇и ø÷óН а̇е̇и̇хи̇аа øа̇д̇и̇Та̇а мухтож а̇у̇е̇а̇и̇. ØóНи̇Н̇а ø÷óН Тóд̇е̇и ðи̇е̇ и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇ Ферментлари̇Ни у̇д̇а̇аНи̇иø а̇о̇аа iòхи̇и ВаçиФа̇а̇и̇д̇.

Ãе̇р̇е̇и̇а̇и̇е̇а̇са - (1,4-α-D-ãе̇р̇е̇аН-ãе̇р̇е̇аН̇и̇а̇и̇а̇д̇и̇е̇а̇са) а̇и̇ññаН çа̇и̇а̇óðóг̇е̇а̇д̇аа е̇а̇Н̇а у̇д̇а̇аНи̇е̇а̇аН. Asp.niger çа̇и̇а̇óðóг̇и̇аа ó и̇е̇а̇е̇о̇е̇у̇д̇ и̇а̇ññа̇и̇и 100 000 а̇а̇е̇у̇Т̇и̇Н аТ̇д̇и̇Фи̇а̇а а̇у̇е̇а̇аН и̇е̇е̇иТа̇ а̇е̇и̇е̇и̇ñд̇и̇Т̇а̇иН̇е̇а̇д̇ааН и̇а̇и̇да̇Т̇. Ã̇а̇и̇а̇е̇, а̇ó ферментНи ðóññøñи̇у̇Т̇е̇а̇ди̇ а̇и̇д̇-а̇и̇д̇и̇а̇аН Фа̇д̇қ қи̇е̇а̇и̇а̇аН и̇е̇е̇иТа̇ Ф̇и̇д̇и̇а̇и̇и (øа̇е̇е̇и) и̇аВ̇а̇о̇а̇.

Ã̇а̇е̇ñТ̇да̇Н̇а̇çа - (1,6-α-D-ãе̇р̇е̇аН-ãе̇р̇е̇аН̇и̇а̇и̇а̇д̇и̇е̇а̇са) а̇а̇е̇и̇ñТ̇ди̇Н̇а̇а̇и̇и 1,6-ã̇е̇и̇е̇и̇çи̇а̇ а̇и̇г̇и̇аа Тау̇и̇ñи̇д̇ қи̇е̇а̇и̇и̇.

Ë̇а̇е̇Т̇и̇çа ,̇е̇и β-ã̇а̇е̇и̇е̇Т̇и̇çи̇а̇а̇çа (β-D-ã̇а̇е̇и̇е̇Т̇и̇çи̇а̇-ã̇а̇е̇и̇е̇Т̇и̇а̇и̇а̇д̇и̇е̇а̇çа̇е̇а̇д̇) е̇а̇е̇Т̇и̇çаНи̇ ã̇е̇р̇е̇и̇çа Ва ã̇а̇е̇а̇е̇Т̇и̇çа̇аа а̇е̇е̇аНТи̇да̇а̇и̇. Áó фермент E.Coli, Asp.niger, Sacch.cerevisiae, Curvularia inaqualis, Alternaria tenuis Ва а̇е̇д̇и̇и̇ а̇и̇øқа и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇аа ñи̇НТ̇а̇ç а̇у̇е̇а̇и̇и̇.

ИНВ̇а̇д̇Та̇çа - (β-D-Ф̇ðó̇е̇Т̇и̇Фóð̇аН̇и̇çи̇а̇-Ф̇ðó̇е̇Т̇и̇а̇и̇а̇д̇и̇е̇а̇са) ñа̇ха̇д̇и̇çаНи̇ ã̇е̇р̇е̇и̇çа̇аа Ва Ф̇ðó̇е̇Т̇и̇çа̇аа и̇а̇д̇÷а̇е̇а̇е̇а̇и̇. ÓНи̇ Aspergillus Тóð̇е̇ó̇и̇и Ва̇е̇и̇е̇е̇а̇ди̇ (Asp.awamori, Asp.batatae, Asp.niger), а÷иТ̇қи çа̇и̇а̇óðóг̇и, Bacillus subtilis Ва Bac.diastaticus е̇а̇д̇Нинг а̇е̇и̇хи̇аа øТа̇и̇е̇а̇ди̇ х̇и̇ñи̇е̇ қи̇е̇а̇и̇и̇.

Ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇ли̇Ти̇е̇ Ферментлар (ö̇а̇е̇е̇р̇е̇а̇çа̇е̇а̇д̇) - Фа̇и̇е̇ и̇к̇ñи̇е̇е̇а̇д̇Ни̇Н̇а iòð̇а̇е̇е̇а̇а̇ е̇и̇ñ̇е̇а̇е̇ñи̇а̇и̇д̇, ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çа и̇е̇а̇е̇о̇е̇а̇и̇Ни̇Н̇а ха̇д̇ ðи̇е̇ а̇и̇г̇е̇а̇ди̇аа Тау̇и̇ñи̇д̇ қи̇е̇а̇и̇и̇, Ñ̇ е̇и̇ñ̇и̇Н̇аНТ̇ (ý̇ėç̇и̇Нó̇е̇е̇а̇çа) Та̇а̇и̇и̇е̇ х̇и̇е̇а̇а̇и̇и ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çа̇аа (и̇а̇øТа, Фи̇е̇у̇Т̇ð қ̇и̇г̇и̇çи) Тау̇и̇ñи̇д̇ қи̇е̇а̇и̇и̇. Ñ̇ó̇ -е̇и̇ñ̇и̇Н̇аНТ̇и̇ (ý̇Н̇а̇и̇Нó̇е̇е̇а̇çа) у̇д̇и̇е̇а̇и̇а̇аН øа̇е̇е̇аа у̇Т̇е̇а̇çи̇е̇а̇аН е̇е̇а̇Т÷аТ̇е̇аНи̇ (е̇а̇д̇а̇и̇ñи̇и̇а̇Ти̇е̇ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çаНи̇) а̇и̇а̇д̇и̇е̇и̇çа̇е̇а̇и̇и̇.

Ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çа а̇и̇е̇аН а̇и̇д̇ қаТ̇и̇д̇аа и̇е̇д̇и̇д̇ааНи̇с̇и̇е̇а̇д̇ ö̇а̇е̇е̇и̇а̇и̇а̇çа (β-ã̇е̇р̇е̇и̇çи̇а̇çа) х̇и̇ñи̇е̇ қи̇е̇а̇и̇и̇, а̇ó фермент ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çаНи̇ Ва ã̇а̇и̇и̇ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çаНи̇ и̇а̇д̇÷а̇е̇а̇е̇а̇и̇. Ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇çаНи̇ а̇и̇а̇д̇и̇е̇и̇çи̇Ни̇Н̇а iðи̇д̇а̇и̇и̇ а̇и̇ñқи÷и, ã̇е̇р̇е̇и̇çа х̇и̇ñи̇е̇ а̇у̇е̇и̇и̇и̇ а̇и̇е̇аН Тóã̇а̇е̇е̇аН̇а̇и̇и̇.

Ñ̇аН̇и̇а̇Та̇а и̇ø̇е̇а̇а ÷ика̇ди̇е̇а̇и̇а̇аН ö̇а̇е̇е̇р̇е̇и̇Ти̇е̇ фермент ið̇а̇и̇а̇да̇Т̇е̇а̇ди̇ и̇а̇аТа̇а Ñ̇<sub>1</sub> Ва Ñ̇<sub>ó</sub> Ва øóН̇аа у̇ðøаø ö̇а̇е̇е̇и̇а̇и̇а̇çа Ва ã̇а̇и̇и̇ö̇а̇е̇е̇р̇е̇а̇çа

Ферментлари аўёиá, áó ìðàìàðàТёаđНиНã рН ёўðñàТёи÷и 3,0 àаН 8,0 ãа÷а. ÌаНа øó ðН ёаđ ìðàёиғиáа óёаđ ТóðғóНãиðёаđ. ÒãёёрёаçaНи хîñиё қиёóВ÷иёаđ ёўиН÷а ìиòãёёиаёи çàìáóðóғёаđãиð, øóёаðãаН Penicillium notatum, P.vuriabili, P.iriense, Trichoderma roseum, Verticillium alboatrum Ва áìøқаёаðãиð.

ÌãёТиНаçaёаđ - ìãёТиННи ìаđ÷аёìВ÷и Ферментлар ñиНТãç қиёаãи. ÌãёТiёиТiё Ферментлар ёñиёãёñ хîñиё қиёаãи, óНи аёìхиáа ёñиНãНТёади ìãёТиН ìёããóёãиНи хаđ õиё æìёёадиãаН ìаđ÷аёаёãи.

ÌãёТиНаçaёаđ (ìёиããããТóðóНаçaёаđ) ìиёðñðããНиçì-ёаðãа ёãНã ТаðқаёãаН аўёиá ўñиёиёёаðãа ёãì ó÷ðãёãи.

ÌðìТãиНаçaёаđ. ÌðìТãиНаçaёаđ ,ёи ìðìТãаçaёаđ - (ìãìТиã-ìãìТиã-ãиãðìёãçãёаđ) ìқñиё ìёããóёãиããи ìãìТиã áìғãадиНи уçиø ðããёöиўñиНи ёãТаёиç қиёаãи, НаТиãããã уðёиН àиНìёиñёìТаёаđ ãи- Ва ìёиìãìТиãёаđ хîñиё қиёаãи.

ÁóНããё Ферментлар æóãã ёўì. ÓёаðããН аёдиёади ёдиñТаёё хiёãТãã ìёиНããН. ÌиёðñðããНиçìёаđ ìðìТãиНаçañи ўçãадиНиНã ðìññããади áиёãН ТóãããН Фаðқ қиёиøи ìóìёиН. Óёаđ НãёТðãё аўёиøи ìóìёиН (Bacillus subtilis, Asp.terricola), ёиñёìТаёи (Asp.foetidus) Ва иøқìðёи, ўúНи рН НиНã хаđ õиё áãðããñиãã Фаìёãиðёаđ. Аёдиì ìиёðñðããНиçìёаđ áиð қãН÷ã ìðìТãиНаçaёаđ ñиНТãçãø қìãиёиўТиãã ўãããиðёаđ. ÌãñããН: Actinomyces fradiae ó Та ìðìТãиНаça ñиНТãçããёãи.

Àиёãçãёаđ - áãёТãдиў Ва çàìáóðóғёаðããН ìёиНããиããН àиёãçãёаđ ёðãìããёи ёи÷иё ìёããóóýð øãããðёаđ: áãёиñТðиНёаđ, ãёрёìçãёаđ, ìãёТiçããããã÷ã ìаđ÷ãããёãи.

ÁãёТãдиãё ìðìТããçãёаđ ìиøёìқ ìиøиðиøãã Ва Тãди ìøãããã ìқñиёёадиНи áуçиøãã қўёããНиёãи. Bacillus sp. áãН ìёиНããиããН ãёрёìçìçìñãðãçã ферменти ãёрёìçãи ФðóёТiçãããã аёёãНТиðиøãã ,ðããìããøããи. ЁãёиНãи ВақТёаðãã ìёиёаđ áиққãТ ўúТиãìдиНи қóёиããиёаđ ўçиãã ТiðТiñқãã: õиёёìãиёñТðиНãёрёìçиёТðãНñФãðãçã (ÖÄÃТ) ãã ìñёãøиø, õиёёìããёñТðиНёаđ áиðиёìããадиНиНã иøããã ÷иқãдиёиø: ёиñ,Виё Ва Фаðìããёìãиё иøããã ÷иқãдиøãã, ìçиқ-ìВқãТ ìãññóóìТёади ñиФаТиНи ìøиðиøãã, ёиñìãТиёã Ва áìøқаёаđ иøããã ÷иқãдиøãã çãðóðãиð.

Ёиìãçãёаđ - (3.1.1.3-Тðиãöиё ãёиöãðìёìãã ãиãðìёãçãёаđ ёиìиã (,ғ) аёìøиНóВиãã иøТиðìё ўТããиããН, ёãТТã àìãиё қиçиқиø уйғотãдиããН Ферментлар.

ЁóёüТóðã ўñããиããН ìóхиТãã æðããããиããН ёиìãçãёадиНи иøããã ÷иқãðóВ÷иёадиНиНã ёўиì ìиòãёиãи çàìáóðóғёаðãиð. ÓёаðããН Aspergillus, Mucor, Geotrichum, аёдиì а÷иТқи çàìáóðóғёаđ (Candida) Ва áãёТãдиўёаðãиð (Pseudomonas). Ёиìãçãёаđ ТðиãöиёãёиöãðìёёадиНи ìаđ÷ããã ,ғ ёиñёìТаёади Ва ãёиöãдиН хîñиё қиёаãи. ÑãНiãТ ãññиãã ёўì ìқããðãã иøããã ÷иқãдиёã,ТããН Ва

ЂóëаѢ каТiѢиāа ѢаŋТѢиêТаѣаëаѢ (ýНäiНóëëāаѣаëаѢ), НóëëäиН  
 êиŋëŋТаëаѢНи iаѢ÷аëiВ÷и Ферментлар Ва ëиāаѣаëаѢ - óëаѢНи ŋиНТäŋиāа  
 иѢТиѢiê киëаäиiāаН Ферментлар êиѢаäи. Ђó Ферментлар äāН ióѢаНäиŋëиäи  
 иëиë иѢëаѢиНи iëиä äiѢиäа ѣаѢóѢäиѢ. ЂóëаѢНи хаi хаѢ Ѣиë iиëѢiŋѢäаНиѣiëаѢ  
 иѢëаä ÷икаѢäи.

óНи кóюкëаøТидиø ó÷óН иøëаТиëаäиäаН ðаНиН үðНиНи äипиøи ìóìèН, êâëиН÷аëиê òëаðäаН äýøТНи рìøаТиø (ТаНäиðиçаöиү) ó÷óН ФíëäаëаНиëа äиøëаНäи. ÁóНäаН Таøқади, äаëиқ ТуçëаНäаНäа óНиНä ииøиøиНи ТаçëаТиø, ВиНí Ва ииВí Таë,ðëаøäа иøëаТиëиқäа.

Ëиiaçа ñóТНи кóðóқ хíëäа иøëаä ÷икадиøäа үç үðНиНи ТíäаН, ииøëиқ Таë,ðëаøäа, óНиНä ииøиøиНи ТаçëаøТидиø ó÷óН, ииøëиққа ìаðñóñ Таúì Ва ,киëи хиä äадиø ó÷óН иøëаТиëаäи.

Түкиia÷иëиê ñаНíаТиäа ииêðíðäаНиçìëаðНиНä Ферментлари çиғиðНиНä ñаìНиäа иøëиВ äадиä, óНäаН Тíëа иëиø ó÷óН êýíäаН äади Ва êâНä кýëëаНиä êâëиНíкäа. Зиғирни Наìëаø æаðа,Ниäа иøТидиê ýТаäиäаН аиñиê ииêðíðäаНиçì ñиФаТиäа Clastridium Тóðëóиäа êидóВ÷и аНаýðíä äаêТадиү ТаН иëиНäаН. Наìëаø ВақТиäа êâТа,ТäаН æаðа,Нäа зиғир ñаìНиäаН íäêТиН íääаñи ìаð÷аëаНаäи Ва óНиНä Тíëаñи аæðаëиä ÷икаäи.

Тади иøëаä ÷икадиø ñаНíаТиäа ииêðíä ìðíТаäçа ферменти ТадиНи иøëаøäа Ва óНи ìаëиНëаøТидиøäа иøëаТиëаäи. Таðëиäиäа ìðíТаäçа Ва ëиiaçа äýëäаН êиíëäêñ ìðäиäаТНи иøëаТиø НаТиæаñиäа æаðа,Н Таçëаøаäи Ва рқíди ñиФаТëи æóН иëиø ииêиНиүТи Вóæóääа êâëаäи.

РВиø ВíñиТаëади иøëаä ÷икадиøäа ииêðíä Ферментлари êâНä ìиқ,ñäа кýëëаНиëиқäа. ÍäаТäа óëаðäа ìðíТаíëиТиê, äиëиíëиТиê Ва ëиíëиТиê Фаíëëиêëа ýäа äýëäаН Вac.subtilis Ферментлари кýøиëаäи. ÍðäиäаТëаð ñиðТқи Фаíë íääаëаð äиëаН äидäаëиêäа иøëаТиëаäи. Таðëиäиäа фермент äýëäаН рВиø ВíñиТаëади рВиø ìóääаТиНи киñкаðТидäи, ТүкиiaëаðНи ñакëаНиø кíäиëиүТиНи үçаêТидäи, ÷óНëи рВиø 40-60°Ñ äаН ìøiaäаН хаðíðаТäа иëиä äиðиëаäи.

ФерментларНи киøëиқ ðýæаëиäиäа кýëëаНиëиøи иëëи éýНаëиøäа иëиä äиðиëиқäа:

1. хаêВíНëаðНи íçóқаñиäа ФíëäаëаНиëаäи.
2. фермент äиëаН íçóқаäа иøëиВ äадиä, óëаðНи хаçì äýëиøиНи иøидиëаäи.

Aspergillus oryzae Ни íçóқа ìóхиТи рçаñиäа үñТидиø óñóëи äиëаН äиëиðиçиН - ìðäиäаТи иëиНаäи, áó аиñиäаН үñТидиëäаН çаìáóðóНиНä кóðиäаНи äýëиä, ТаðëиäиäаН  $\alpha$ -äиëаçа, ääêñТдиНаçа, ìаëüТíçа, äëðêîäиëаçа Ва ìðíТаäçа äýëаäи. ÄëðêîВайðиН - êâiaëäа үñТидиëäаН Asp.awamori êóëüТóðаñиНиНä кóðиäаНи, Таðëиäиê киñи  $\alpha$ -äиëаçа, ääêñТдиНаçа, ìаëüТíçа, äëðêîäиëаçа, НíðäиН ìðíТаиНаçа Ва ääиöäëëðêîçаäаН иäíðаТ. ÄиëиñóáТиëëиН ìðäиäаТи Таðëиäиäа  $\alpha$ -äиëаçа, ìðíТаäçа,  $\beta$ -äëðêîНаçа Ва ëиçиñ киëóВ÷и Ферментлар äýëаäи.

Ìëêðíä Ферментлари Тиäаи,ТНиНä Тóðëи ðиê ñíæаëадиäа ТаðаíäВТиê ВíñиТа ñиФаТиäа Ва êëиНиê аНаëиçëаðНи иëиä äиðиøäа кýëëаНиëаäи. ßëëиғëаНиø æаðа,НëадиНи Ва êóëиøНи äаВíëаø ó÷óН ìðíТаиНаçа ìðäиäаТëади кýëëаНиëаäи. Íäаì ìðäаНиçиäа аêдиí ФерментларНи ñиНТаçëаНиøи äуçиëäаНäа, аëихиäа Ва êиíëäêñ хíëäа Ферментлар ииТаúìëê киëиНаäи. ÍаñаëаН: ìøкíçиН ииТи äаçиНи ФóНëöиүñи äуçиëäаНäа, Таðëиäиäа ìðíТаиНаçа, äиëаçа Ва ëиiaçа êиíëäêñ äýëäаН ìðäиäаТ қаáóë киëиНаäи.

1-жадвал.



Ишлаб чиқариш саноатида баъзи бир ферментларни ишлаб чиқариш  
учун фойдаланиладиган микроорганизмлар

Фермент	Замбуруғлар	Бактериялар
α-амилаза	Aspergillus oryzae Aspergillus niger	Bacillus amyloliquefaciens Bacillus licheniformis
Глюкоамилаза	Aspergillus niger Rhizopus niveus Endomycopsis sp.	
Пулланаза		Klebsiella pneumoniae
Декстраназа	Penicillium sp.	
β-Глюконаза	Aspergillus niger	Bacillus amyloliquefaciens
Глюкоизомераза		Actinoplanes missouriensis
Инвертаза	Aspergillus sp. Sacch. cerevisiae	
Целлюлазалар	Aspergillus niger Trichoderma roseum Trichoderma viride	
Пектиназалар	Aspergillus niger Aspergillus awomori	
Протеиназалар	Aspergillus niger Aspergillus oryzae Mucor mihei Mucor rouxii Mucor pusillus Endothia parasitica	Bacillus subtilis Bacillus amyloliquefaciens Bacillus licheniformis Bacillus stearothermophilus
Липазалар	Aspergillus oryzae Aspergillus awomori Candida cylindrical Mucor mihei Rhizopus sp.	
Глюкооксидаза	Aspergillus niger Penicillium amagaskiense Penicillium vitale Penicillium notatum	
Каталаза	Aspergillus sp.	
Деацетилаза	Aspergillus sp.	

Аспартаза		Escherichia coli
Фумараза		Escherichia coli
Пенициллинамидаза		Escherichia coli

Ёаётаса Ва аёрёаиёаса пинтақ киёо қайёиути ёўкёаНәә иёддәәНисёәдәәН иёиНәәН оо Нйёи ФерментларәәН ФёәәәНисәәи. Ёвқат хақ киёо жада, Ни аусёәәНәә аёди ВақТәәдәә ёйёәёи Ферментлар (а-аиёаса, оәёрёаса, ёиёаса Ва йдтаиНаса) интауиё киёиНәәи. Иёддәә ФерментлариНи Тиәәи, Тәә қёёәо жбәә интиқайёиәид.

## 2-мавзу. ФЕРМЕНТЛАР ИОЁАА ЧИҚАДИО ТАЎНИЁИЎИВЎНИ (6-соат) Режа:

1. Ферментлар продуцентларини ўстириш жараёнига таъсир этувчи омиллар;
2. ФаддәНтаТиВ продуцентларни ўнтидио оёёёәди;
3. рН, хароратнинг таъсири, микро- ва макроэлементлар таъсири;
4. Углевод ва азот манбалари;
5. Фосфор манбалари, витаминлар ва ўстириш моддалари

ФерментларНиНә йдәббәНТәәдиНи ўнтидио бәәдНи қаттиқ Ва пёрқ йсиқа йохиТәәдиәә уёио оёёёәди аиёәН иёиә адиёәи. қаттиқ йсиқа йохиТәәдиНиНә рса қиёиәә Фақат аўдйә иёддәәНисёәдәәН ўнтидио йоёиН.

Нёркёиё и-иәә ўнтидио оёёёиәә айнаН иёддәәНисёәд пёрқ йсиқа йохиТәәдиәә ўнтидиёәи Ва аонәә хаи аўдйә хаи аНаўдйә иёддәәНисёәдәәН ўнтидио йоёиН. ФерментларНиНә аёнадиут йдәббәНТәәди аўдйә аўёәәН иёддәәНисёәдәәид Ва бонНә о-он қаттиқ Ва пёрқ йсиқа йохиТәәдиәә ўнтидиёәНәә оёёиёиё хаВй аиёәН ТауиНәә Тодиёәи.

## Ферментлар продуцентларини ўстириш жараёнига таъсир этувчи омиллар

ФерментларНиНә хйиё аўёио жада, Ниәә Тақки йохит оадйиТи, йсиқа йәәәёәди Тадёиәи, бәәдНиНә йқайди, йаТаайёиТәәдиНиНә -икиёи, йохитәә Фаё ёиёйТаНиНә ўсаәдиёи, хаддәТ, йохитНиНә ўдиәәН ёиёйдйә аиёәН ТўёиНиёи, йдәббәНТ ёбёуТодайиНиНә хйәТи Ва ўнтидйә йәәәТәәди, бонНәәәё айқә йиёәд Тауиёд уТаәи.

Ао йиёәдНиНә ахаиути Ва фермент аййинтақси жада, Ниәә аўёәәН Тауиёд аадажайи Тодёи-а аўёиә, бәәд айнаН иёддәәНисёиН ўнтидио оёёёи Ва йдәббәНТәәдиНиНә Фиёиёйәиё ббббйуТәәдиәә аўёиНәәН хйәә ёа-әи. Айдиқ ааўси ойойиё қНбонйуТәәдәә уутиәид аадйә ўтио ёадаё.

ИёддәәНисёәдәәН ўнтидиоәә қаттиқ Ва қодуқ йсиқа йохитәәдиНиНә Наёиәи жбәә ёатта ахаиутәә уәә. Аәдәә йохитНиНә Наёиәи 11-20% атдйиәә аўёә, иёддәәНисёәд ойойәН ўйәәи. Айдиб-а ёйидйқ ўйиёи Наёиё 30% аўёәәНәә ёбсаТио йоёиН. НаёиёНиНә 40-45% аўёиёи

и̇ӥѐ̋и̌ĩđāаНиçì êóëŷТóďа̃ӣниНã ìŷъТа̂и̅й ŷ̃и̇ӥи̉а Ва п̃ĩđa хĩп̃и̅й ки̇ёи̉и̊а  
æóāа кóëаé ѿа̃д̃иТ хи̃п̃ĩáēаНа̂и. Áо хĩēаТ п̃ĩđa хĩп̃и̅й ки̇ё́В÷и фермент  
ĩđĩäoöâНТëадиНиНã úейø ìаТăдиаëëадиНи îейøāа и̅өәТиëа̂и. ЇóхиТниНã  
На̂ей̃и̂и 53-58% áŷëāаНāа хĩп̃и̅й ки̇ёи̉НāаН ФерментларНиНã ТŷĩēаНи̅и  
êóçаТиëа̂и. На̂ей̃и̅ 60-68% áŷëāаНāа ФерментларНиНã áи̇ӥи̉НТăçи ìа̃ñaỹ  
âĩөәé̂и Ва áо хĩēаТ îçиқа òхити и÷иāа êĩďа̂и̃аН хаVĩниНã ,̀иН ŷTi̅и  
áiēаН ТóøyНТи̅диëа̂и.

ÊóëüТóдаёадНи катТик îçика îóхиТиáа ўñТидиø НаТиæаñиáа óНиНá Таðеиáиáа кóбóк îááаёадНиНá икáïди ёагаеиá, ÑÎ<sub>2</sub> Ва ñóВáа аеёаНаäи. Øó ñáаáäи, ááадáа ииêðïðäаНиçиНи ўñТидиø ,ик иäиøёадáа (êîéáа, ìaðñóñ êðВáТаёад Ва х.ê.) îеиá áîдиёна, áóгёаНиø НаТиæаñиáа НаëиêНиНá îðТиøи ёóçаТиёáäи. Ááадáа ўñТидиø æада,Ни î÷ик иäиøёадáа îеиá áîдиёна, êóëüТóдаНи Ва îçика îóхиТиНиНá кóбиá кîеиøи Ва хîñиê áýёáаН ìахñóëiT Фаîёеиäи ёагаеиøи ёóçаТиёáäи. НаëиêНиНá áадаæаñи Ва мýтадилëиäи хаð áиð ўñТидиёа,ТáаН îðäóóаНТНиНá Фиçиîëîäиê óóñóñиУТладиáа, îçика îóхиТ Таðеиáи Ва áîðка ñиêёадáа áîгëик áýеиá, хаð áиð ñиê ТаäкикiT еýеи áиёаН аНикёаНаäи.

Ÿñā,TāaH êôëüTóđaHи хаVî áиëаH ТауиHНëаø äадаæаңи êŷиH÷а ŷñТидиø  
 óñóëи Ва фермент iðîäóòäHТëадиHиHă Фиçиîëîäиŷñи áиëаH ááëäиëаHаäи. Áó  
 æада,H аñîñаH ó÷ ìакñаäHи ŷç îëäиäа кŷŷäи:

- Ўña,TāaH ìeðîîðāaНиçìeаdНи ўñиø Ва ðиVîæēaНиøи ó÷óH çаdóð áýēāaH êиñēîðîā áиēaH ТаúииHēaø;
- Āaç êўдиНиøиāāи îāāāēað áиēaH иФēîñēaNāaH хаVîНи ÷икадиā Таøēaø;
- ÌeðîîðāaНиçìeаdНиNā ўñиø æaða,Ниāa хîñиē áýēaāиāaH иññиқēиēНи қиñиaH āaðTaðaФ қиēиø ,êи ÷икадиā ráîðиø.

İieđĩđãaНисїeаđНи қаТтиқ їсиқа їохиТи ңиđТиãа ўңТиđиøãа Вóæóããа  
êãẽãaН иїñиқeйieНи ÷икаđиø їãñãeãñи êãТТа ахаїиүТãа ўãа.

ØóНиНā ó÷óН ìèèðîñêîñîè çàìáóðóçèäНи ўñТиðиøāā óèäНиНā ўñиø  
áîñқи÷èäиāā èаТТа уýТиáîð ááðиø èâðæê, ÷óНèи æèНан øó áóðóх  
ìèèðîððāаНисìèä қатТик îсика îóхиТи ñидТиāа ўñТиðиèāи.

АидиН÷и а́одбох - çаiaóбог пñдаñи ,еи еиНиäиүеадиНи а́уеиøи Ва  
диВiæеäНиøиäиð. ÓНиНã ióäaaТи 10-12 пñaТãa ÷ýсиеäи. Áó áññки÷ аеТаðеи  
иññикëиê аедаеиøи áиëaН ёóçaТиëiаëи Ва içика ióхиТ êñññHãНТëади  
ýçãaðiаëи.

Îсика îõхити пидтиаа iŷiaNaê xîñiê áŷëиøи áиëаН иëëиН÷и áîñқи÷ (ТдîñФаça) иioäëиyëаdниНă Фаië ŷñиø áîñқи÷и áîøëаНаäи. Ó iäаTäа 12-40 ñiaT Ba øó áиëаН áидäа îсика îõхитиäаäи iääаëаdни êŷi иkäîdäа иñТаúîiê қиëиøи, иñññиқëиê, иñ äаçи Ba ñóB аëдаТиøи áиëаН äаВî ŷТаäи. ÁóНäа ииëdîdäаНиçì îсикаНи иioäëиyëади áиëаН Тŷëиқ ŷäаä iëаäи. АëНаН iаНа øó áîñқи÷äа êŷi иkäîdäа иññиқëиê аëдäëаäи Ba òìòиë аëдäëаäиäаН иññиқëиêНиНă 75-80% иНи Таøëиë қиëäи.

1 тонна, ёóëŧóда аиđ ñâT äaVîiäa Фаё ŷñиø áññқи÷иäа 7,6 ì³ äа ўқиН ёññëîđiäНи ўсëаŧидаäи ёи хаVîäа áŷëäаН НиñäаTäа ўñа 36,5 ì³ Ни

ЎсәәҗТидаӓи. ҶаӓӓӓӓӓӓдНи йъТаӓиӓ ӕӓиџи ѓӓӓиӓ хаВӓНиНӓ пӓдФи ўдТа  
хиӓӓӓӓӓ 1 Тонна ѓӓӓТӓда ѓӓӓН 600-650 ì³ Ни Таѓӓиӓ киӓӓи.

Ó÷иН÷и áîñқи÷ (иäиîФаҗа) êóëüТóдаНи îðФîëîиê Ва áиîëи,Виé иõТиîññëаøиøи êóаТиëаäи, ýúНи áóНäа иêðîðäаНиçîëаð êîНиäиýëаðНи Ва иêêиëаì÷и îТаäîëиТëаðНи хîñиë қиëаäиëаð. Óðáó áîñқи÷äа иêðîðäаНиçîëаð хóæаëда Таðқадииñиäа ÷икадиëóВ÷и ФерментларНи хîñиë қиëаäиëаð. ÁóНäа ýñТидиø ôîНаëадиäа хадîдаТНи 3-4<sup>0</sup>N äа Тóøидиø Ва хаВî аëìàøТидиøНи 3-5 îаðТаäа êаìаëТидиø çадóð.

ÌiêðîðääНиçìëаДНи ñóрк íçика íóхиТëадиää ÿñТидиø äаVîiiäа хаì хаVî äiiëаН ТауìиНëаøää Ва иñ äаçи äiiëаН иФëîñëаНääН хаVîНи фермент, äääН ÷икиä êåТиø ðäæииiäа уýТиáíð ááдиø êåäаê. ÌаñаëаН, áиð éóëüТóда хаð ðиë аýäаöиü øаäиТëадиää áиð ðиë ферментНи хаð ðиë óòñóñиýТи äiiëаН хîñиë қиëиøи íóìëиН. ÓíóiaН iëääНää хаVî äiiëаН ТауìиНëаø ìiêðîðääНиçìи ÿñТидиø æаäа, НиНи Ва фермент хîñиë қиëиøиНи ТåçëøТиäаи.

[illegible]

## рН кўрсаткичининг таъсири

İieðĩđãaНиçieaðНи каТТик îçика îõхити ñĩđТиãа ўñТидиøãа îõхитиНã  
 ðН êўđñaТêи÷и óНиНã Наieñaи eai Ва êó÷ei áoФãðei áýẽãНeиãи ñãããeи  
 ФерментларНиНã хĩñиe áýeиø æaðã,Нeãдиãа eai Тауĩñĩđ қиeããи. ÊãeиН ðН  
 êўđñaТêи÷и ñóрк îçика îõхитиãа аĩñĩñe хãe қиeóВ÷и ахаиуТãа уãа áýeиã,  
 îçикаНи ñТãдиeиçãoиу қиeиøãа Ва êóeүТóдаНи ўñТидиø ããВĩиãа Тãç  
 ўçããããи.

ҚаТТИқ ісқа іохитәәди пидтиаа идіаооәнтәәдНИ үңтидиø æада, Ниаа  
 оәәд ноб айәәН НаіәәНаәи Ва НаіәәНәәН іохитНИнәә дН еүдһәтәи÷и 5,0-5,6  
 Таөеиә киәәи. ЕүйиН÷а ісқа іохити пифаТиәа ирәәтиәәәН үңиәиә  
 әүәә÷әәди оәидиә, нөөүФат, еи нот еиңеїТаәәдиНИнәә ео÷ңиç үдиТиаңи  
 айәәН НаіәәНаәи Ва оәәдНИнәә дН еүдһәтәи÷и 4,5-5,0 аТдїФиәа әүәәи.  
 ЕиңеїТаәәдНИ қүөиø НаТиæаңиәә ісқа іохити ииәдїнәиә çаіаобогәәдНИнәә  
 үңиөи о÷обН пәәәәТив өадїТәә аәәәНаәи. Аонәә хаВї Ва ісқани  
 пТәдиәиçаөиү киөиø бадаæаТәәди әид іон÷а еәіәүәи.

Нѡрк ѡсика ѡхитѣади дН ѣѹдѣаТѣи÷и ѡѣдѣдѣаНѡсѣѣадНѡ ѡнТѡдиѡаа  
ѣѡаа ѣаТТа ахаѡнѹТѣа ѹааѡд. Ўнѣ ѣѹѡ ѹѹТѡѡѡдНѡ аѣааТТа, ѡсикаНѡНѣѡ  
ѡѣѣаНѣи÷ Ва нТѡдиѣѡсѡѡѹ хаѡа ѡѣдѣдѣаНѡсѣ ѹнѡѡ ѡѣТѡаа ѣаТѡн Ва  
аНѡнНѣадНѡ ипТѡѹѡѣ кѣѡѡ НѡТѡѣѡнѣа ѹѣѣаѣѡѡаН дН ѣѹдѣаТѣи÷ѡа  
ѡѡдиѡ ѣѡѣѣ. ѲѲНѡѣ ипТѡѹѡѣ НѡТѡѣѡнѣа ѣѡѣѹТѡѣѣ нѡркѣѡѣ , ѣипѣТѡѣ , ѣи  
иѡкѡдѣѡ ѡхитѣа ѹТѡѡ ѣѡТѡѡ.

ЇохиТниНã ìűТаäиë ðН ёűðñaТêи÷и ìðïäóöãНТниНã õóñóñиűТиãã áîġëик

øóHåа қадаіае аауқи оіоііе кіНóНиүТеаџНи еүџиø іоіеиН.

Ќаіаóбóғ Ва а÷иТқи иіеџіаеаџиаа үџøøø іџааНиçіеаџ ðН еүџнаТеи÷и 3,8-5,6 аүеааН øаџиТаа үџøи үñaи Ва фермент хіпие қиеаи. АаеТаџиүеаџ үña ðН еүџнаТеи÷и НаеТџае (6,2-7,4) қиеіаТеаџаа Фаіе џиВіаеаНааи. ВНа øóHåае іауеóиТеаџ аіџеи, аааџаа ðН еүџнаТеи÷и ФақаТ іауеóи аиџ қиеіаТаа øøеаа Тóџиеña аóHåае øаџиТаа үñТиџиеааН іџіаóóаНТ аиТТа еаџаеи ферментНи хіпие қиеиøи іоіеиН. Еүї÷иеие иіеџиџааНиçіеаџ ðН пиеи Тауіпиџиаа æóаа Тауіпиџ÷аН аүеаиіеаџ Ва аó еүџнаТеи÷НиНа ñаçиеаџеи ааџаæааа ñаеііе ,еи иæіііе ТіиНåа үçааџиøи, øеаџНиНа фермент хіпие қиеиø қіаиіеиүТеаџиаа аиџааНиаа Тауіпиџ қиеаи.

#### Хароратнинг таъсири

ЕүїаиНа ФерментларНиНа іџіаóóаНТеаџи, óóñóñaН иіеџиџиіе çаіаóбóғеаџ, іаçіФие иіеџиџааНиçіеаџ хиñіаеаНааи Ва øеаџНиНа џиВіаеаНиøи ó÷óН іўЪТаиіе хаџиџаТ 22-32<sup>0</sup>Ñ аТџиФиаа аүеаи.

ФерментларНи ааеТаџиае іџіаóóаНТеаџи іџапиаа еүїаиНа ТаџиФиеааџи хаі ó÷џаеаи Ва øеаџНи іўЪТаиіе үñТиџиø хаџиџаТи 35-55<sup>0</sup>Ñ аиџ. ІаñaеаН, V.mesentericus ІА ааеТаџиүñи 37<sup>0</sup>Ñ Ни Таеаа қиеña, Bac.diastaticus 60-65<sup>0</sup>С Ни, Asp.oryzae үña аТиаи 28-30<sup>0</sup>Ñ Ни Таеаа қиеаи. хаіаа еиіаça ферментиНиНа іџіаóóаНТи Rhizopus microsporus çаіаóбóғиНиНа Фаіе џиВіаеаНиøи Ва фермент хіпие қиеиøи ó÷óН 40<sup>0</sup>Ñ хаџиџаТ іўЪТаиіе хиñіаеаНааи.

ÑаНіаТаа ТаџиФие иіеџиџааНиçіеаџааН ФіеааеаНиøНиНа аиџ қаН÷а иæіііе ТіиНеаџи аиџ. ЧóНеи øеаџНи рқіџи хаџиџаТаа үñТиџиеааНåа æаџа,ННиНа ñТаџиеиіиіаа аүеааН ТаеааНи үç-үçиааН еаіаеТиџаи. АóHåаН Таøқаџи ТаџиФие иіеџиџааНиçіеаџ рқіџи хаџиџаТаа ааџаиøеи аүеааН ФерментларНи хіпие қиеаи. хаџиџаТ хіпие аүеа,ТåаН фермент иқаіџиНиНа үçааџиøиаа еаТТа ахаиүТåа үааеиіи аиеаН хаі æџаеиіа ТóџóВ÷и пиіеаиџ.

#### Іикро- ва макроэлементлар таъсири

ИіеџиџааНиçіеаџНи үñТиџиø ó÷óН іçиқа іóхиТеаџиНи Тае,џеаøаа фермент ñаНіаТи ,еи қиøеіқ õўæаеиіи үпиіеиіеаџи қіеаиқеаџиааН еаНåа еүеаіаа ФіеааеаНиеаи. қаТТИқ іçиқа іóхиТеаџи апиñaН қиøеіқ õўæаеиіи үпиіеиіеаџиНиНа қіеаиқеаџиНи іаеааеаа, НаіеиіиНи іауеóи ааџаæаа еаеТиџиа Ва óHåа аиøқа іаеџи Ва иіеџиүеаиНТеаџиНа үџиТіаеаџиНи аџаеаøТиџиа Тае,џеаНааи.

Њóрқ іçиқа іóхиТеаџи Тае,џеаøаа үña еаі үџóВ÷аН еипиНåНТеаџааН иқаіџи ÷аеаНåаН хіеаа ФіеааеаНиø іоіеиН. Аеп хіеаа óНиНа үџиіааН қіеаиқеаџи іçиқа іóхиТи Ва еóеүТóџае ñóрқеиіеНи қаеТа иøеаøаа øаеақиТ ааџаи. Іçиқа іóхиТи Таџеиіиіаа хаџи øиіе үпиіеиіе Ва фермент ñаНіаТи қаеНаТіаеаџи Ва аиаџиіеиçаТеаџи аағае ФиеүТџаТеаџиНи хаіаа пиіџТ ааџапи, иіеџиіаеаџ аипиапиіи іеаçиіеиçаТеаџи, аиНіеиñеіТаеаџ Ва аиøқаеаџи қўøиіа Тае,џеаø іоіеиН. Аóеаџаа еиџиіе қіеаиқеаџиНа аүеіаñеиіи ТўóТіВñиç үñТиџиø æаџа,Ниаа æóаа еаТТа ахаиүТåа үаа. Њóрқ іçиқа іóхиТеаџи

Таđеиáиáа, íааТáа 2,5% áаН 20% áа÷а қóđоқ íááаеáđ уđиТiа хiеиáа áўеáаи. ÍохиТНиНá ðН еўđñаТêи÷и óНи Тае, ðеаø ВақТиáа Ва ñТаđиеиçаöиўñиáаН êáеиН НаçîдаТ қиеиНаáи.

## Óглерод манбалари

ÁиäðîеиТиê Ферментлар аññаН иНáóöиááê ТаáиaТáа уáа áўеáаНêиáи ó÷óН íçиқа íóхиТи Таđеиáиáа êáдаêеи áўеáаН ферментНи Фаîê Тўйеаø íакñиáиáа óНиНá иНáóêТiðиНи қўøиø áаđêîð.

Óäêáðîä íаНáаñи ìиêðîðäаНиçìеáð ó÷óН уНá êáдаêеи áўеáаН êññНáНТáиð, ÷óНêи áаð÷а îðáаНиçìеáðáа уНá аññиêé íаТаáîеиê æада, Нêаð аеНáН óó уêáîаНТ иøТидîеиáа áìеáа îøидиеáаи. Óäêáðîä íаНáаñи ВаçиФаñиНи хаð òиê îðáаНиê áидиêìеáаð áаæадиøи îóîеиН Ва óеáð хóæаêда íááаеáдиНи áîøеаНғи÷ íаТаđиaеêади хаîáа уНáðñиу íаНáаñи ñиФаТиáа иøеаТиеáаи.

ÌиêðîðäаНиçìеáðáаН áиäðîеиТиê ФерментларНи ìиøáа óäêáðîä íаНáаñиáа аêиxиáа уýТиáîð ááдиø êáдаê, ÷óНêи óеáð óó êññêáêñ ФерментларНиНá ñТиîêýТiðеáди áўеиá хиñîáеаНаáи. Áаáðáа óäêáðîä íаНáаñи (êдаðìаê, íáêТиН Ва х.ê.) íçиқа íóхиТиáа еўì ìкáîðäа қўøиêñа, óеáð хадаêеаТñиç áўеиá кîеáаиеáð Ва óóНиНá ó÷óН ìиêðîðäаНиçì Таеáаиáа қадаá óеáðНи қисм-қисм қиеиá қўøиø êáдаê.

Уáêáðîä íаНáаñиНи ТаНêаø аêáаТТа, ìиêðîðäаНиçìиНиНá Фиçиîêîáиê òóñîñиуТêадиáа Ва ó хîñиê қиeáаиáаН ферментНиНá Тóдиáа áîғеиқáиð хаîáа хаð áид ìиêðîðäаНиçì ó÷óН ТаáқиқiТeáð еўеи áиeаН аНиқeаНаáи.

## Азот манбалари

ÍóхиТáа аçîТ íаНáаñи ВаçиФаñиНи ìиНáðаê Тóçеáð ,êи аçîТНиНá îðáаНиê áидиêìеáади áаæадиøи îóîеиН. ÍаñаeаН, îðîТаиНаçаeáð хîñиê áўеиøиáа аçîТ íаНáаeáди НаФақaТ íçиқа íóхиТиНиНá íóхиî êññНáНТ ñиФаТиáа, áаêеи, áиññиНТáç æада, НиНи ФаîêеаøТидóВ÷и ВаçиФаñиНи хаì áаæадаáи. ÝНá уðøи НаТиæаeáð íóхиТáа íкñиeêаð Ва óеáðНиНá íар÷аeаНиø íахñóêîТeáдиНи қўøиø еўеи áиeаН îеиНаáи.

АçîТНиНá îðáаНиê íаНáаeáдиáа хаêВiНêаðНиНá хаð òиê íкñиeêади (íáîТiН, êаçáиН, ááîñáêîáиН, æáеаТиН, Тóðóì íкñиeи), ўñиîеиê òñ аø, eáди íкñиeêади (,ғñиçеаНТидиeáаН ñиу, íаêеаæўóîди уêñТдаêТи), ìиêðîðäаНиçìеáðНиНá áиñаññаи хаîáа íкñиeêаðНиНá êиñêîТаеи, иøкiðеи Ва ферментаТиВ áиäðîеиçаТeáди, áиНiêиñêîТаeáð Ва áîøқа áидиêìеáаð êидаáи.

АçîТНиНá НiðäаНиê íаНáаeáди ñиФаТиáа аññаН хаð òиê аçîТ êиñêîТаи Ва áиñиêеиНиНá ТóçеáдиáаН ФiêáаeаНиeáаи. НiðäаНиê аçîТ íаНáаeáдиНи ТаНêаøáа êаТиîН Ва аНиîНêаðНиНá Фиçиîêîáиê Тауñидиáа уýТиáîð ááдиø êáдаê. ÍóхиТ ðН еўđñаТêи÷иНи иøкiðиê ,êи êиñêîТаеи ТiñНáа ўçáадиøи îðîáóáНТНиНá áиññиНТáТиê òóñîñиуТиáа қaТТик Тауñиð қиeáаи.

Еўì ТаáқиқiТ÷иeáðНиНá íауêóìТeáдиáа қадаáаНáа, аçîТНиНá îðáаНиê íаНáаeáдиáаН ФiêáаeаНиø НiðäаНиeêаðáа НиñáаТаН еўìðк иæîáиê хиñîáеаНаáи. ÊáеиН óеáðНи áидáаеиeáа íауêóì уðáаНиeáаН íкáîðäа

иёёаТиёна, оёадНиНă Тау̀пиди ёўї хїёёадăа иæїаиé ТїїНăа аóдиёади.

Їсика іóхиТиăа асїТ Ва оăёăдїăНиНă НиñăаТи оóНăаé аўёиøи ёăдаёёи, иіёдїдăаНиçì иёёаёа уёăїăНТăа хаї іóхТїæиё ñăçìаñёиăи ёăдаё. Аид уёăїăНТ ТаНқиñёиăиНи иёёиН÷и уёăїăНТ хиñїаїăа Тўғидёаø іóїёиН уїаñ. ЇаñаёаН, æрêїçаїёñиăаça Ва ёаТаёаça ФерментлариНи Penicillium vitale çаїаóóғи асїТ Ва оăёăдїăНиНă ўçаđì НиñăаТиăа қадаа хїñиё қиёаăи Ва оóаó НиñăаТНи ўçаадТидиø ёўёи аиёаН ,ёи æрêїçаїёñиăаça, , аўёїаñа ёаТаёаça іёиø іóїёиН.

## Фосфор манбалари

ФїñФїđ уёăїăНТи їсика іóхиТиăа ФїñФїđ ёиñёїТаñи Тóçи ,ёи іđăаНиё аидиёїа - ФиТиН øаёёиăа қўиёаăи. ФїñФїđ іóхиТ о÷óН уНă çадóđ аўёăаН уёăїăНТăид, ÷óНёи ó хóæаёдаа уНăдăиу аёїаøиНóВи æада,Ниăа АТФ, АĂФ Ва АїФ Таđёиăиăа ёидаăи.

ИіёдїдăаНиçìёад ёїăадиФиё уñиø Фаçаñиăа ФїñФїđ уёăїăНТиНи æóăа ёўї икăїдăа Таёаа қиёаăи. ЧóНёи аó аїñқи÷ хóæаёда иăăаёадиНи Ва аиїёиї,Виё æада,НёадНиНă иНТăНñиВ ўТиøиăа Тўғди ёăёаăи. ЇăаТăа аó äаВдăа 83-91% äа÷а аўёăаН ФїñФїđ їсика іóхиТиăаН иіёдїдăаНиçì аиїаññаñиăа ўТаăи.

ФїñФїđ іđїТааça, аиёаça, иăêТїёиТиê ёаăи ФерментларНиНă аиїñиНТăçиНи ТăçёаøТидаăи. Аăад ФїñФїđНи ФїñФїđ ёиñёїТаёадиНиНă Тóçи ёўдиНиøиăа Таăииé қаёНаТїаёади аїđ іóхиТ Таđёиăиăа қўиёёна уНă ўðøи НаТиæаёадăа ўдиøиø іóїёиН.

## Витаминлар ва ўстириш моддалари

ИіёдїуёăїăНТёадñиç, ВиТаїиНёадñиç Ва ўñТидиø иăăаёадиñиç иіёдїдăаНиçì хóæаёдаñиăаăи иăăаёад аёїаøиНóВи æада,НиНи Тўёик ўТиøи ухТиїёăаН оçìкăид. ЁăёиН хаїа иіёдїдăаНиçìёад хаї ўñиø Ва ðиВїæёаНиøёади о÷óН аó аидиёїаёадНи қўиёиёиНи Таёаа қилаВăдїаёăи. Øó НóқТаи НаçадăаН НаçадăаН ёăёиă ÷икиă иіёдїдăаНиçìёад иёёи Тóдăа аўёиНаăи:

- АóёñїаВТїТđїФёад - ВиТаїиНёадНи ТаøқадиăаН қўиёиёøНи Таёаа қиёїаёăиăаН иіёдїїаёад аўёиă, оёад ўçёади оóаó иăăаёадНи ñиНТăç қиёиø қїаиёиўТёадиăа уăа;
- АóёñїăаТăđїТđїФёад - ВиТаїиНёадНи ñиНТăç қиёа іёїаёăиăаН иіёдїдăаНиçìёад äóóóхи аўёиă, оёад о÷óН аёăаТТа, їсика іóхиТи Таđёиăиăа ВиТаїиНёадНи қўиø ёăдаё.

Аăадăа аóёñїаВТїТđїФ иіёдїдăаНиçì ўñТидиёóВ÷и іóхиТăа ВиТаїиНёад Ва ўñТидóВ÷и аидиёїаёад қўиёёна, оёад аó иđїăóóăНТНиНă ўñиøи Ва ðиВїæёаНиøиăа хе÷ қаНăаé Тау̀пиđ ёўđñаТїаёăи.

Аăадăа аóёñїăаТăđїТđїФ иđїăóóăНТ їсикаñиăа æóăа хаї ёаї икăїдăа ðкđдиăа çиёд ўТиёăаН иăăаёад қўиёёна, оёадНиНă ўñиø Ва ðиВїæёаНиøи ñăçиёадёи äадаæаăа Тăçёаøаăи. АФñóñёи æóăа ёўї иđїăóóăНТёад аóёñїăаТăđїТđїФ иđăаНиçìёад аўёиă, оёад Ферментлар аиїñиНТăçиăа қатНаøóВ÷и В

ВиТаиНёаѢ а́оѣѡхи ё̂їіё̃а̂ñи (В<sub>1</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>8</sub>) , ү́уНи а́и̂ТиН, иНі̇сиТ,  
iaНТīТāН ё̂н̄ё̂їТа̂ни, Тиа̂иН, и̂ндиä̂ё̂ñиН Ва а́ıøқаёадНиНă îçикаää аў̆еӥѳиää  
ıõxTîæ̂идёад.

ÁиїТиН аиНіêиñêїТаëаďНиНă хїñиë áűëиø ďaaëöиűëадиăа каТНаøаäи, áиď Нă÷а ФерментларНиНă Фаїë ìaðëаџиăа êиďаäи Ва ,Т êиñêїТаëадиНиНă êаďáíêиñиëëаНиø Ва ääêаďáíêиñиëëаНиø æаďа,НëадиНи êаТаëиçëаëäи. ИНіçиТ ýñа ФиñФiď êиñêїТаñиНиНă îëТи ìëäêöëаñи áиëаН áиďиêиă а÷иТқи ìиêďìáëаďНи ўñиøиНи ТаçëаøТиďóВ÷и иНіçиТФиñФiď êиñêїТаñиНи хїñиë қиëаäи. ĮаНТiТăН êиñêїТаñи ÊÎА Таďëиáиăа êиďиă, хóæаëďаăаäи ýНă ìóхиì ìăăа аëиøиНóВ æаďа,Нëадиăа иøТиďîê ýТаäи.

Ìæêðî Ва ìêðîýëàìÀНТëаđ îçìқа ìòхиТëадиНиНă æêðæïañ қиñи  
 хиñìáëаНаäи. Күй ìáТаëл иîНëади ФерментларНиНă Фаîë ìаđëаçи Таđëиáиäа  
 êидаäи ,êи ФерментларНиНă ñТđòëТóðаñиНи ТóТиá Тóðиøаа Ва îðäаНиçìäаäи  
 ферментаТиВ ФаîëиүТНи ТауиНëаøаа иøТиðîë ýТаäи. хîçиðäа÷а ìауëòì  
 áýëäаН ФерментларНиНă 1/4 қиñи ìáТаëëîФерментлар хиñìáëаНаäи. Óëаđ  
 НаФаñ îëиø æада,НиНи, îëñиäëаНиø-қаТëадиëиø ðäаëòиүñиНи,  
 àиНîëиñîîТëааđ, øаëаðëааđ, НóëëáîТиäëааđ, ìиðиìиäиН аñîñëади ñиНТáçëадиНи  
 ФаîëëаøТидаäи, áîîқóТáëи îқñиë îëäæòëаëади, äëиëîäаНëааđ, НóëëáиН  
 êиñîîТëаади хîñиë áýëиøиНи хаìäа óëадНиНă ТðаНñФîðìаöиүñи Ва  
 îаđ÷аëаНиøиНи áîøқадаäиëааđ.

Хаїа іаТаёёіФерментлар иёёи аóбóхãа áўёиНайи:

- Аи̋диН÷и а́одóх ха́киқиé и̋аТаéëи̋Ферментларäи̋д, у́иНи о́еа̋д и̋аТаéи̋Нëади Ва и̋к̋ниé и̋ëâëóëаëади ӳдТа̋ни̋аа а́о̋си̋ëи̋а̋ñ а́и̋ғ х̋и̋пиé қи̋ëи̋а, и̋и̋НиТëа̋дäаН ӳТëа̋си̋ëäаНäа ха̋и̋ и̋а̋д÷аëаНи̋аéäи̋.
- ИëëиН÷и а́одóх и̋аТаéëи̋Ферментлари у́и̋ñа äи̋аëи̋ç æа̋да,Ни̋äа и̋аТаéëи̋Нëади а́и̋ëаН а́ӳëäаН а́и̋ғНи о́са̋äи̋ëа̋д ,ëи̋ ферментäа а́и̋о̋қа÷а и̋өëи̋В äа̋диø æа̋да,Ни̋äа ëаТаëи̋Ти̋ë Фа̋и̋ëëи̋äи̋Ни е́ӳк̋и̋Таäи̋ëа̋д. А́о а́одóх Ферментлари̋äа у́На Та̋о̋қа̋ди̋äаН и̋аТаéëа̋д к̋ӳøи̋ëñа о́еа̋д Фа̋и̋ëëи̋äи̋Ни Ти̋ëëаéäи̋ëа̋д.

ÎēñîäëаНиø-қаеТадиëиø æада,Нëадиäа Таïиð, ìññ, ìaðäаНäö, ðöö, áîð Ва  
 îēñîääâН Таëаá киëöВ÷и Ферментлар иøТидîê úТаäи. ÓìòìаН îëäаНäа  
 ììêðîðäаНиçìëаäа áîðаäиäаН áаð÷а æада,Нëаð ìæðîýëäìаНТëаäâаН Таøқади  
 ììêðîýëäìаНТëаðНиНä иøТидîêиäа ìöТîæäиð. ØöНиНä ö÷öН, аеНикñа  
 ñиНТäТиê îçика ìöхиТëади Тае,ðëаøäа ììêðîýëäìаНТëаðНиНä öëöøиé  
 ììкäîдиНи úТîäîðäа îëиø ëîçи.



ÓÑÓËËАЂИ

Режа:

- ЧИЗМАСИ;

## Қаттиқ озиқа мухитида ўстириш

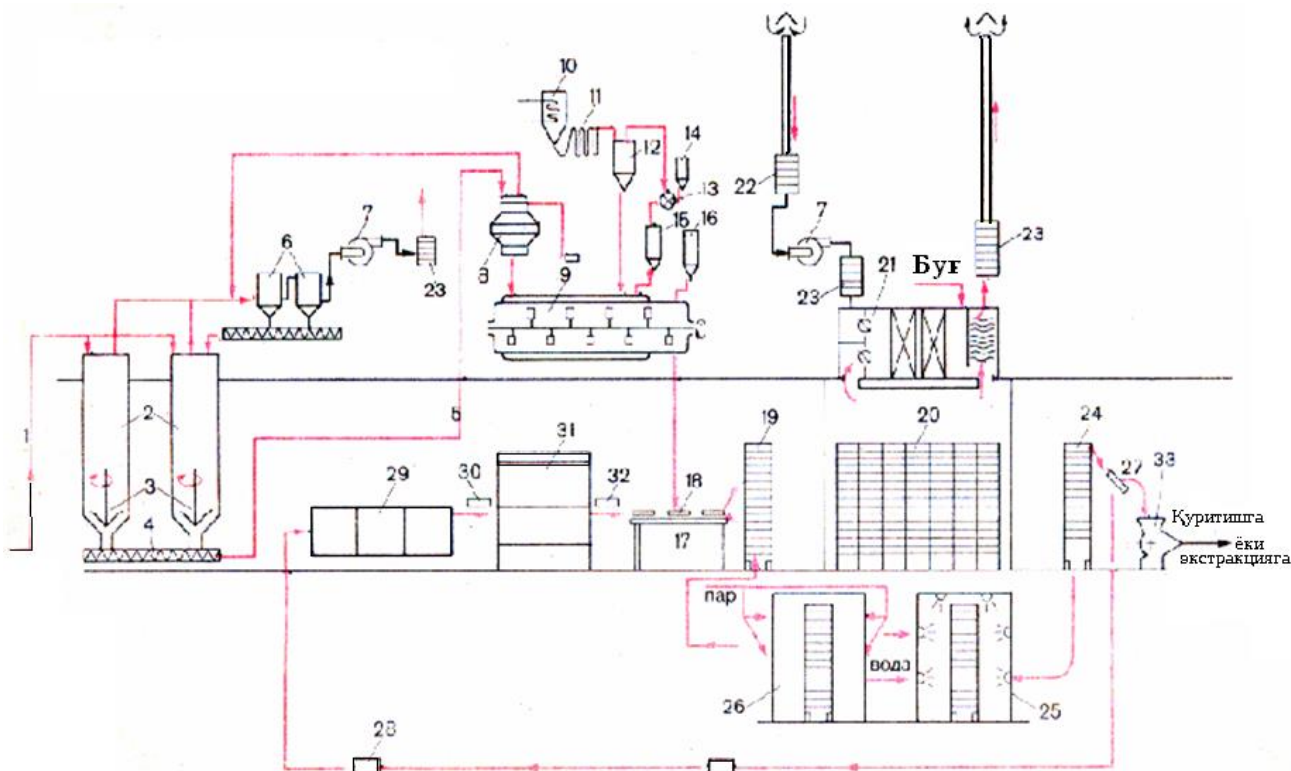
İdîaööâNTeađNi ŷñTидиѳ ѡада,Ни ñîВиТиeãaH ñTадиe içика ióхиТиãa  
 ýeiѳ iaTадиaеиНи ñâiиѳãaH âiѳeаНаâи. ÄâDиe ñTадиeиçaöиŷ ѳađиТиãa  
 ýeiѳНи iãaTãa ñTадиeиçaTидНиHã ŷçиãa óçeyêñиç адаeаѳTидиѳ eŷëи âиeаH  
 ŷTеaçиeãâи. Óçeyêñиç ñTадиeиçaöиŷ киeиѳ ѳađиТиãa ŷña içикаãa ýeiѳ  
 ñTадиeиçaTидНиHã ñîВиТиѳ áŷëиiиãa âiaeãa iѳидиeãâи Ba ýeиeãaH içика  
 ióхиТи eóëŷTóда âиeаH âидãaеиeãa ŷñTидиѳ öãöиãa ráidiеãâи.

ÊóëüTóðæäðNiNã каТТик îçика îóхити ñиðТиää ýñТиðиø æaða, NiNi хад  
 õиë õñóëëäð áиëaN áaæaðиø îóîëиN. ÊpBãTaëaðãa ýëиá ýñТиðиø aHaHaВиé  
 õñóë хиñîáëaNiá, êýй кýë îãxHaТиNi Ba êýй иøëaá ÷икаðиø îæéâиNiNi Taëaá  
 қиëaâи. ÎðîáóâNTëaðNi îãðaNiçaõиýëaøãaN қóðиëîæëaðãa ýñТиðиø áиðìîN÷a  
 ýNãи õñóë áýëиá хиñîáëaHaâи.

ÊpBâTaëи ўñТиðиø òñóëиНиНã уéàìАНТаð у÷áéëаңи áўëиá îääиé ðóðëаНãаН Таìиð ТóНиëаãаН ўñаëãаН óñТи î÷иқ ,ëи ,иқ Ва áаëаНãëиãи 20-50 ì ëи 0,25-0,50 ì<sup>2</sup> îаéáîНãа уãа áўëãаН иãиø Таøëиë қиëаãи. Áó иãиøНиНã Таã қиñи Таøиëëи ,ëи Таøиëñиç áўëаãи.

ÊрВâТаëаďâа 2-2,5 ñî қæиНëиëâа НаïëаНâаН, уëиëâаН îçиқа îõиТи ñîëиНаâи Ва ó ŷñТиďиø ðîиНаñиâа ðáíďиëâи. Áó áďâа êрВâТаëаď хаďаëаТëаНóВ÷аН ,ëи ñТаöиíНаď óñëóНаëаďâа áиď Нâ÷а қаВаТëи қиëиá Таďиëâи. хаď áиď қаВаТ îďаñи 10-11 ñî áýëâи. ÎâТаâа áó қаВаТëаď ñîи 18 Та аТďîФиâа áýëиá, óîóиë áýëи 2 î âаН îøиáñëиâи ëáďаë. ÁиďиН÷и êрВâТа 20-25 ñî áаëаНëиëâа ŷďНаТиëâи. хаïа Таïиď óñëóНаëаď ëаďďîçиýâа қадøи îаТаďиáë áиëаН қîëаНâаН áýëиøи ëîçи. ÊрВâТаëаďНи ŷñТиďиø ðîиНаñиâа áýøаТиøâа óëаď ФíďиáëиН áиëаН áиçâНФâëöиý қиëиНаâи. ŷñТиďиø ðîиНаëаďи хаď ðиë øаëë

ÌiēðĩđāaНиçìeадНи ìāōaНиçaōiүēaōāaН ўñТиđиøНиNā ANāāđēiФēāđ,  
 BaēāđøTaēН Ва ЧāōĩñēiВаēiү қōđиēiāēaдиāa ўñТиđиøНи óçēyēñиç îēiā āiđиø,  
 хаđ āiđ қиñì Ва æиxîçēадНи aēiхиāa ñTađиēиçaōiү киēиø iōiēиН Ва  
 иФēĩñēaНиø æađa,Ниāa áóTóН ТиçиñНи TўōTaТиø øađT ŷiāñ. ÓēадНиNā  
 ñaiāđāāiđēiāи ñóTēañиāa 0,4 ТоннаāaН 10 Тоннаāa÷a áүēиøи ēóçaТиēāaН.



18

чизмасы.

1-донадор компонентларнинг пневмотранспорти; 2- бункер; 3- ворошитель; 4-шнек; 5-кепак пневмотранспорти; 6- чиқувчи газларни тозалаш учун циклонлар; 7- вентелятор; 8-кепакни автоматик меъёрловчи ускуна; 9- донадор компонентлар стериллизатори; 10-сув стериллизатори; 11-иссиқлик алмаштирувчи; 12- стерил сув ўлчагич; 13-меъёрловчи (дозатор); 14-хлорид кислота тўпланувчи идиш; 15-суюлтирилган хлорид кислотани ўлчов ускунаси; 16-экиш суспензияси учун идиш; 17-стол; 18- кюветаларга жойлаш; 19-кюветаларни кетма-кет жойлаштириш учун жавонлар; 20-ўстириш камераси; 21-совутгич; 22-дастлабки тозалаш учун фильтр; 23-микробиологик ифлонишларни тозалаш учун фильтр. 24- тайёр культуралар учун жавонлар; 25-жавонларни ювиш жойи; 26- жавонларни стериллаш; 27-кюветалардан қуйиб олиш; 28- ифлосланган кювета; 29-кюветаларни ювиш; 30-тоза кювета; 31- кюветаларни стериллаш камераси; 32-стерил кюветалар; 33- майдалагич ускуна.

### Ўродуцентларни суюқ озиқа мухитида ўстириш

Абсолют қағиз қисқа охири пидтиаа ўптидиш абсолюттаа қадданаа аид қатид, ўрни иёаа ÷икадиш аёаиНиНи аид На÷а адиТааа қиқадиш, иғид қўё охнаТиНи аадТадаФ қиёшаа, ахнаТ аианаНиНи ўёиёшаа, иёаа ÷икадишНи аВтиаТиё ТишиНи ўдаТишаа Ва айқа олТоНеиёадд уааид.

Ўорқ қисқа охири и÷иаа ўптидишаа қисқани аид оН÷а иктииā аиёан иёаТишаа Ва фермент иддидиёадиНи Тидик хааа рқиди Фаёиё аиёан иёшаа ўдиш оиёиН.

Иёдидданишдидиш оорқ қисқа охири и÷иаа ўптидиш Вадтиёе хёаТаа аёёшаан ферментёадд иёа аидиёаи. Ферментёда қўиёшаан ўна аниё Тааа - иддидиш ўптидиш аада, Ниаа иНтаНниВ хаВ аёиНоби аиёан аидд аниТиёа дидиТёадиНи Вобашаа ёадиш иёиНиўТёадиид. ўптидиш аада, Ниаа иддидиш аўёшаан о÷ Фаёи оорқиё-қағиз, аиё-аас Тиши аиёан иёашаа Тўғди ёааи. Аб Тишиаа ани аёиНоб аада, Неади ашаа қиёиН ёа÷аи Ва олёоНаНи ўптидишНиНа хааа аиқи÷ёадишаа иёаа ўдаТиш аН÷а иддидиш.

НаиТаа иёаТиёа, Таан ферментёадди хаВ аёиНоби о÷оН ўнадиў осаТиш Ва адаёшдиш олёёадишаа қадаа о÷ аодбх аўиш оиёиН:

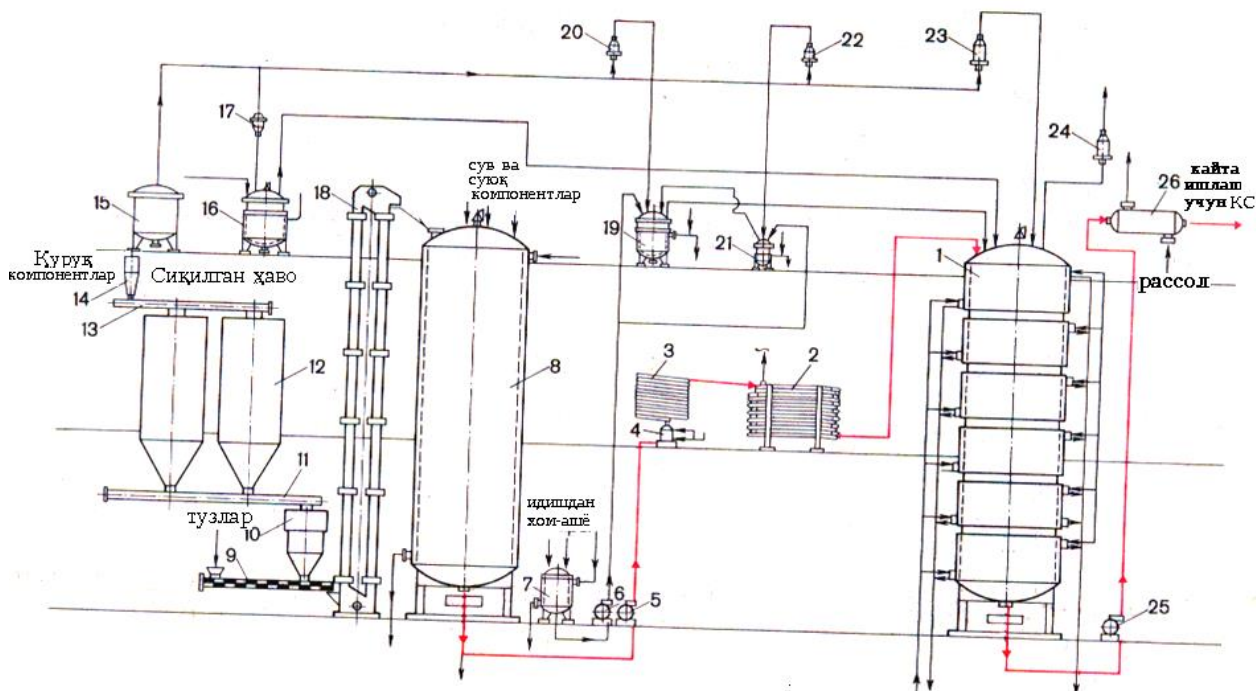
- Иддидиё адаёшдиди÷и Ва иддиди олёоНаёад (аидёшдиёшаан);
- Ниқиёшаан хаВни иддиди Тишиаа (ўнадиўни оорқиё и÷иаа иддиди÷и) аниёшаан олёоНаёад;
- Иддидишаа аниёшаан (ўнадиўни аас Фаёишаа осаТоби÷и) олёоНаёад.

Фермент наиТи о÷оН аидиН÷и аодбх ферментёади аниТиёа Таааёадишаа аВид аидиёади аиёан ашаа ёаТа ахидиўТаа уаа. Аб олёоНаёад

апиһаН өйөһНәд өаёөһиәи уаа аўөһа, аһд-аһдөадиһаН хаёһи, и÷өһи Тиҗиә өһНөһТдөөһиүһи, аёөаНТиһиө Таҗөһиәи Ва қодөһәәади хаһаа иһһиқөһө аёһаөТиһиө иһөһәләәади аһөаН Фаһқ қиөәһи.

ФерментөдөаһНәһ уНә өһдиһиә иәдәһиө аёөаНТиһиәи÷өади Ва өўһиө һүһәһиәи÷өади аһөаН аһдәәөһөәа 2000 л<sup>3</sup> хаёһаа уаа. “ӨәһаН” Фиһиәһи 360-400 л<sup>3</sup> өһи ферментөдөаһНи иөәаа ÷иқадһиөһи әһдиө қиөһиө аһөаН өөғиөөәһаһи.

Аһҗәа апиһаН Әһһиүәа иөәаа ÷иқадһиөәаН 50 л<sup>3</sup> өһи Ва 100 л<sup>3</sup> өһи аәдһәТиө аәдө аўөәаН Ва иәдәһиө адәәаөТиһиәи÷өһи хаһа ахаВһНи йөдөһВ÷и ферментөдөаһаН өәһНә иқ, һаа Фөһәәәәһиөәһи. АөһәаН Таөқади Аәдһәһиү иәдөһөһТи аўөәаН 63 л<sup>3</sup> өһи ферментөдөаһ әбәа өўөәа фермент өһдөһНәәадиһа иөәаТиөәһи.



3-расм. Микроорганизмларни суюқликда ўстиришнинг технологик чизмаси

1-ишлаб чикариш ферментөри; 2-музлатгич; 3-саклагич; 4- кизитувчи колонка; 5-6, 25- насослар; 7-инокулянтларни учун озук мухити пайёрлаш идиши; 8-аралаштиргич; 9-шнек; 10-автоматик торозилар; 11-, 13-трубоконвейр; 12-бункер; 14-озуканинг куруқ элементлари пневмотранспорти циклони; 15-бош фильтр; 16-кўпиксизлантирувчиларни саклаш стериллаш идиши; 17, 20, 22, 23-алохида фильтлар; 18-сўриб-кўтаргич; 19-экиш ускунаси; 21-инокулятор; 24-чиқувчи хавони тозалаш фильтри; 26-совутилган культурал суюқликнинг иссиқлик алмаштирувчиси.

Ферментөдөаһ өўһи аһөаН 0,25 Па аһһи Ва һТаһиөһсаөһиү ВақТиәә 130-140°N хаһдәТаа иөәаөаа йөәәөөәНәәН. ЙөәөөәНТНи ферментөдәа ўһТиһиө әада, һиәа аһәһиТиөә НөқТаи НаҗадиәәН уНә йөһи аўөәаН һиө - ферментөд қиөһөадиһи Тўғди Ва ўҗ қиөәәһиәа аһНәН а÷иә өөаөһиө. Аәадәа хаһ аһд қиөһ

ферментёдни иѳеатиá аўеãаНãаН êãеиН аеїхиãа рВиá, Тїçаеãá, үѳи  
ñТаѳиçиçаөиү қиеиНиаñа иФеїñеаНиѳНиНã ìаНãаñи аўеиá қиеиѳи ìòеиН.

ўñТиѳиѳ æаѳа,Ниãа ферментёѳãа хїñиё аўеãаиãаН êўииёеа Ва óНи  
ãаѳТаѳаФ қиёóВ÷и ìñеãìеãаѳãа хаì êаТТа уúТиáìѳ áãѳиѳ êãѳаê. Фермент  
ñаНїаТиãа иѳеаТиеãаиãаН áаѳ÷а Ферментлар êўииёеНи áаѳТаѳаФ қиёóВ÷и  
ìãããеãѳНи êиѳиТóВ÷и Ва êўииё ìкããѳиНи НаçìѳаТ қиеиá ТóѳóВ÷и аеїхиãа  
ìñеãìеãаѳ áиеãН æихїçеãНãаН. ÊўииёеНи ÷икаѳиá Таѳеã ìакñããã ìóВїФик  
уїãñ, ÷óНêи áóНãа хаВї ТїçаеїВ÷и ФиёüТѳеãѳ НаїеãНиá қиеиѳи Ва НаТиæãã  
óñеóНаНиНã ããѳìãТиêеиãи хаìãа ñТаѳиêеиãи áóçиеиѳи ìòеиН.

ÌиêѳìѳãаНиçиеãѳНи ферментёѳеãѳãа ўñТиѳиѳ æаѳа,Ниãа хїñиё аўеãа,ТãаН  
ФерментларНиНã ТўїеãНиѳи, ìѳìãóöãНТ áиñãññãиНиНã хїеãТи, ìóхиТ ѳН  
êўѳñаТêи÷и, ìçикаНи Таѳеиё қиёóВ÷и áãуçи êññНãНТeãѳНиНã êãìеиѳи Ва  
áìѳқа áиѳ қãН÷а ìииёеãѳ áииì НаçìѳаТ қиеиá áìѳиеиѳи еїçиì.

ўñТиѳиѳ æаѳа,НиНиНã ТóããеëãНиѳи áиеãН êóëüТóѳаê ñóркëиê иѳеãá  
÷икаѳиѳãа óçóТиеãи ,êи ñóркëиê ФаçãñиНи áиñãññã Ва қãТТик ФаçãããН  
ãæѳаТиѳ аўеиииãá óçãТиеãи. Áãуçи хїеëãѳã ìѳìãóöãНТ áиñãññãи хаѳ ѳиё  
Тїçаеиêããи фермент ìѳãìãѳаТeãѳиНи ìеиѳ ó÷óН ìããã аўеиá ѳиçìãТ қиеãи.

#### 4-мавзу. ИЕДӢДӢАНИСӢЕАДӢАН ФЕРМЕНТ ИӢАӢАТӢЕАДИНИ АЕДАТИӢ ИЕИӨ ОӢОӢЕАДИ

Режа:

1. Тозаланмаган, комплекс фермент препаратларининг олиниши;
2. Қаттиқ озиқа мухитида ўстирилган микроорганизмлардан ферментларни экстракция қилиш;
3. Вакуум-буғлантириш усулида фермент эритмаларини қуюқлаштириш;
4. Фермент эритмаларини мембраналар ёрдамида тозалаш;
5. Чўктириш усуллари ва унинг назарияси.

Қаттиқ ,еи пӢрқ ісика іохиТӢадиӢа ўпТиџиӢӢаН иӢџӢдӢаНисӢӢеадиНӢа  
ѳӢӢТӢдапӢ Ва ѳеадиНӢа ѳӢӢТӢдаѳ пӢрқѳиӢӢади ТаџѳиӢиӢа ѳӢа ѳӢи ікқӢдӢа  
ӢӢӢапТ иӢӢӢеаџ аӢӢаи. ФерментларНӢ аџаТиѳ Ва ТӢӢӢаѳ - ѳӢи іӢхНаТ Ва  
ѳаџаѳаТ ТаӢаӢ қиӢӢВ÷и ѳаџа,НӢид. АӢаџа фермент иӢӢӢаџаТи иӢџӢдӢаНисӢ  
ѳӢӢТӢдапӢ ѳӢџиНисӢиӢа иѳӢаТиѳна ѳ ТӢӢӢаНӢӢӢаи. ЁиџТ Ва ТаџиНӢ иѳӢаѳ  
ТаџӢӢеадиӢа ТӢӢӢаНӢаН иӢџӢдӢаНисӢӢеаџ ѳӢӢТӢдапӢНӢ иѳӢаТиѳ іӢқӢӢӢа  
іӢВӢФиқӢид Ва ѳӢӢаи ѳӢНӢаѳ иӢџӢдӢаНисӢӢеади қиѳӢқ ѳӢӢӢиӢиӢа ӢӢ-ѳаѳӢ  
Таѳ ѳӢӢа ,еи ФаџӢӢеаџа ӢӢеади қӢТа иѳӢаѳа қӢӢӢаѳ іӢѳиН.

Ісик іВқат пӢНӢаТиНӢа Ӣид қан÷а ТаџӢӢеадиӢа (НӢН, иӢВӢ, ВӢНӢ, иӢѳӢқ,  
ѳаѳӢӢѳ Ва ѳаџаТ ѳѳНТѳаѳӢи қиӢӢВ÷и) ҳӢӢа ӢНӢиѳ пӢНӢаТ, іӢѳНа Ва  
иӢѳӢӢиѳӢиѳ пӢНӢаТӢаџа, ѳӢ ѳӢӢӢаН ТиӢӢи, ТаӢ ӢӢӢапТ иӢӢӢеаџаН қиӢӢаН  
,еи ТӢѳик ТӢӢӢаНӢаН, ѳӢНӢи Фақат ТӢӢа фермент иӢӢӢаџаТӢади иѳӢаТиӢаи.

ТӢӢа фермент иӢӢӢаџаТӢадиНӢ иѳиѳНӢа ӢӢѳӢаНғи÷ іаТаџӢӢи аӢӢӢ,  
ФиѳТѳӢаНӢаН ѳӢӢТӢдаѳ пӢрқѳиѳ, іѳӢӢӢӢНТНӢа ӢиӢӢӢӢи ,еи қаттиқ  
ісика іохиТӢа ўпТиџиӢӢаН ѳӢӢТӢдаНӢа пӢВѳи ѳѳНТѳаѳТи ѳиқӢаТ қиӢӢаи.  
Фермент иӢӢӢаџаТӢади ѳӢӢӢ ,еи пӢрқ ѳӢНӢӢНТѳаТ ѳӢџиНисӢиӢа иѳиНисӢ  
іӢѳиН. АџаТиѳ ѳаџа,НӢа иӢӢӢаТНӢа ѳӢӢиѳ іӢӢӢиӢа Фаѳ іқӢиѳНӢа  
НӢӢӢиѳ ѳӢӢи іѳТаӢи, ѳӢНӢи ѳНӢа ѳӢӢиѳ ФаѳӢиӢи іѳТаӢи.

Тозаланмаган, комплекс фермент препаратларининг олиниши

ТӢӢӢаНӢаН фермент иӢӢӢаџаТи ӢӢӢаНӢи, ӢӢ - иӢџӢдӢаНисӢ ѳӢӢТӢдапӢНӢ  
іӢТаӢиѳ ѳаџиТӢа НӢѳиӢи 8-12% Ӣа иѳӢ ӢӢиНӢаН Ва ӢӢӢӢ ісика іохиТи  
қӢӢӢӢеади ӢӢаН ӢидӢӢиѳӢаи іӢӢӢиӢид.

ТӢӢӢаНӢаН фермент иӢӢӢаџаТи ѳӢӢТӢдаНӢ қаттиқ ,еи пӢрқ ісика  
іохиТиӢа ўпТиџиѳ ѳӢи ӢӢаН иѳиНисӢи іӢѳиН. ЁӢрқ іохиТӢа ўпӢаН ѳӢӢТӢда  
қӢџиТиѳӢаН иѳиН ӢиӢӢӢӢи Ва ісика іохиТи қӢӢӢӢеадиӢаН қиӢӢаН  
ТӢӢӢаНӢаН ,еи ѳӢНӢаѳӢиӢи÷а қӢџиТиѳӢаН аӢӢаи.

қаттиқ ісика іохиТиӢа ўпТиџиӢӢаН иӢџӢдӢаНисӢ ѳӢӢТӢдапӢ іӢаТаӢ 35  
ӢаН 58% Ӣа÷а НӢѳиѳѳа ѳӢа аӢӢаи. ӢӢНӢаѳ іӢӢӢӢТ ÷иӢӢиқ аӢӢаНѳиӢи  
пӢӢӢӢи ѳНӢ ТақӢа иѳӢаӢ ÷иқадифӢа ѳӢѳиѳ қиѳиѳ ,еи НӢѳиӢиНӢи 10-12% Ӣа÷а  
қӢџиТиӢа иѳиѳ ӢӢаѳ. қӢџиТиѳ ѳаџа,НӢаН иѳиН, ўпТиџиѳ ѳӢНӢиӢаН иѳиНӢаН  
иӢџӢдӢаНисӢ іӢӢӢӢаНӢи Ва ӢӢиН қӢџиТиӢаи.

ÌìèðîîðâàНисì êóëùТóðàëàдиНи кóдиТиø ó÷óН Таñàëи, ТìННàëëи,  
 øàóТаëи, áàðàáàНëи, æàВìНëи (øëàФëи) Ва ТáðàНóВ÷àН кóдиТáи÷ëàðâàН  
 ФìëáàëàНиø ìóìëиН. Иøëáá ÷икадиøáá, ðкìдиáá кáëá киëиНáàНëàдиáá  
 НиñááТаН êýìðìк Тýғди êýНаëТиðиëáàН áàðàáàН Тиìиááи кóдиТáи÷ëàð  
 иøëàТиëáи. ÁóНáà хýë êóëùТóðà иññиқëиê áàðóВ÷и кóдиëà áиëàН  
 áиððàëиëáà 80-85<sup>0</sup>Ñ áà кóдиТáи÷áà Тóøáи. ÁóНáàë ðкìди хадìðàТáà  
 кóдиТиëóВ÷и хýë ììèðîîðâàНисìНиНá ìáëáà áýëàëëàдиááи НаìНиНá áóғëàНиøи  
 хиñìáиáà кàТТик қиçиá êàТиø хìëàТи êóçàТиëìáëи Ва óНááи  
 ФерментларНиНá Фаìëëиáи Тýëиқ ñàқëàНаи. Êýì÷иëиê áàðàáàНëи  
 кóдиТáи÷ëàðНиНá и÷ëи ТììНиáà ìàððàëññиìН êóðàë÷àëàð ìàВëóä áýëиá,  
 áàðàáàН 3-8 ìиН<sup>-1</sup> Тàçëиëáà áëëàНиøи хиñìáиáà кóдиТиëà, ТáàН ìàТáðиáëНиНá  
 áиð Тáëиñáà ТàðқáëиøиНи Ва кóдиТиëиøиНи ТаùиНëàëáи.

ØóНиНă ó÷óН аóНăае Тиіăааи қóдиТăи÷ăа қóдиТиёăаН іаóñóēīТ аóТóН іаññаи аўёёаа аиđ öиё Наіёиёêа уăа аўёааи. Óøáo қóдиТăи÷ăа іиêđîđăаНиçì аўёаê÷аёади 3-7 іиНóТ ааВîиăа қóдиТиёăаи, аадиёа,ТăаН иññиқёиê Тăçёиăи 2-3 і/ñ, 80-85°N хаđîдаТăа хаіăа ÷иқиøăа уñа 60-65°N аўёааи Ва қóдиТиёа,ТăаН іаТăдиаё хаđîдаТи 40°N аиđ. қóдиТиø æада,Ниăа аТиăи 3-10% аа÷а фермент ёўкîТиёиøи іóîеиН.

İeđĩđāaNiçĩeādNi kóđiTĩřāa iřēaTiēāĩĩāaH kóđiTāĩ÷ēādNiNā ŷNa āĩđ  
Tóđĩ - āāđĩāTiē āāđē āŷēāaH ēāNTaēĩ áóŕ ēĩNBāēđēĩ kóđiTāĩ÷āĩđ. ÁóNāē  
kóđiēĩaēāđāa fermentNiNā Faĩēēĩāĩ ēŷĩ ēŷķĩTiēāĩ, ēāēĩN óēād iŵ÷aĩ Ba  
ŗķĩđĩ ãāāđāāĩđēĩēēā ŷāa.

каТТик îсиқа îõхиТиää үñТидиëãН ìèðîîðääНиçìëaðНи кóðiТиø ó÷óН хад  
õиë êîНñТðóëõìуëи кóðiТäи÷ëaðääН ФíëääëаНиø îõîиН, қаéñиêи  
ìaðñóëîТНиНã Фаîëëиãи ìañaëиøиНи ìиНиîõää÷a ТóøидиøНи, óНиНã  
кóðiТäи÷ää 5-8 ìиНóТ äaВîиää áýëиøиНи Ва ÷иқиøиää 40-42<sup>0</sup>Ñ äaН ìañТäa  
áýëиøиНи ТауîиНëaëäи.

Тае, ð ко́доқ ииêðîðäа Ниçîëа ð îаõñoñ қаäîķëаø õñêó Наëадиäа 25-40 êã қиëиä қîïëа Наäи Ва Тае, ð îаõñoëîТëа ð îáîðдиäа рáðдиëääи.

Êÿ†÷иëиê ìðîáòáНТëаđ ñиНТáç қиëääН ФерментларНиНă аññиë қиñиНи  
ñóрк ìсика ìóхиТиăа ÷икадаäиëаđ Ва Тÿтëаëäиëаđ. Тîça фермент  
ìðîадаТëадиНи ìðîáòáНТНиНă äиññññи äиëаН äиðääëиëää ФиëùТðëадаä,  
òáНТдиФòääëадаä êи ññîадаТìðëадаä аëдаТиëаäи.

Їієđїабиотехнология ñаНїаТиāа аїññаН Таøқи ТїїНи аїєаН ФиёўТđєїВ÷и  
 ŷ÷:äēēаєи-āаđаāаНєи ТŷđТїВñиç иøēїВ÷и Ваēóòї ФиёўТđēаđ иøēаТиēааи. Áó  
 ФиёўТđēаđ ркїđи āаđаæаāа їāđаНиçаõиŷēаøТиđиēāаН аŷēиá, хад õиē  
 ñóñїāНçиŷēаđНи аїđ õиē Таççєиēāа ФиёўТđēаø иїēїНиНи āаđааи.  
 ÁаđаāаННиНā ñиđТи ТŷїТїкñиїН аŷēиá, аŷç, єи ФиёўТđēїВ÷и ñóНїиē āаçēаїа  
 аїєаН ŷđāēāаН Ва ó ФиёўТđēаНóВ÷и ñóркєиēēа ÷ŷēТиđиēāаН аŷēааи.  
 ФиёўТđēїВ÷и ñиđТāа ТŷїēаНāаН хад õиē ŷđиāаāаН єññНāНТ Ва аїññаññа  
 їаđñóñ ии÷їкç đāаиїāа ТїçаēаНааи.

ÁaðááaН ФиёӱТðëað áййаӱӱӱаНи аæðaТиø ó÷óН æóää кóëаé, ёåêиН óëað  
йаӱТ пайаðaйӱðейӱи, кӱйӱëейӱи Ва аӱӱиТêа øaðйиТëадиНи ТауӱиНëаé йëйаӱëйӱи  
áйëаН аæðaëйӱ Тóðaйи.

Фермент п̄аН̄іаТӣаа е̄ўіиN÷а δаіаеі зич-фільтр хаі ӣөәТӣөааи. İах̄п̄оөіТ

күё иѵиāа аїпїēаНāаН хїēāа їеиНаāи. Ъаїаеи зич-фильтрēаѢНиНā  
 ФиёүТѢёїВ÷и хаеїи еи÷иē аўёāаНёиāи пāаāāеи āаѢāāНёи Ваёóò-ФиёүТѢāа  
 НипāаТаН хаї еаї пāаѢāāїѢāиѢ. Ъаїаеи ФиёүТѢāа ФиёүТѢёаø æаѢа, Ни 0,4-0,6  
 ìПа āїпїи їпТиāа їеиā āїѢиēāи. ĮāТāа ФиёүТѢаТНиНā āиѢиН÷и қиїи ТиНик  
 аўёїаēāи Ва ó қаёТа ФиёүТѢёаНаāи.

Зич-филтpНнНā ēaī÷иēиēāди āīдиṣīНТаē ēaīāдаēи Тиīāāи ФĬAĬÈ āa āиḏ īoН÷a āaḏТадаФ ŷТиēāaН. Ó oñТia-oñТ æīēēaōāaН ФиēüТḑēiВ÷и iēиТаēaḏ Ва ФиēüТḑēiВ÷и āaṣēaīāāaН иāīдаТ. Óoáo oñēoНаНнНā иøи aВТīiТēaøТиḑиēāaН Ва иø ṛṣaи 2,5 āaН 50 i<sup>2</sup> хаæīāa ŷāa. Ниñāиē ñaīaḑaāiḑēиāи āiḡkaēaдиāa НиñāaТаН 6-8 iаḑТа ṛkīḑи Ва фермент Фаīēēиāи 4-5% aТḑiФиāa ēŷkīТиēaāи. ÓēaḑНи иøēaā ÷икаḑиōāa æīḑиē киēиø æoāa иñТикаīēēи Ва āaēТаḑиŷēaḑ ēoēüТoḑaē ñoṛkēиāиНи ФиēüТḑēaōāa æoāa кŷē ēāēaāи.

Фермент п̄аН̄аТӣаа В̄Н̄Ì Тӣӣа̄а̄и п̄а̄а̄а̄аТ̄ӣд̄е̄а̄д ха̄и е̄аН̄а к̄ү̄е̄е̄аНӣе̄а̄и. О̄е̄а̄д и÷ӣаа а̄а̄а̄аН̄ ӯд̄НаТӣе̄а̄Н̄ ӣа̄ӣо̄ е̄ӯдиНӣо̄ӣаа а̄ү̄е̄а̄и. А̄а̄а̄аН̄е̄а̄дНиН̄а и÷ӣаа о̄ӣе̄иН̄а̄дӣе̄ Т̄ү̄п̄ик̄е̄а̄д ӯд̄НаТӣе̄а̄Н̄ а̄ү̄е̄ӣа, р̄к̄īди Та̄ç̄е̄ӣе̄а̄а̄и īа̄д̄е̄а̄ç̄а̄Н̄ к̄ī÷īа е̄о÷ хӣп̄īа̄ӣаа о̄НиН̄а Та̄а̄ӣаа ÷̄ү̄ēīа х̄īе̄ӣаа а̄ӣп̄а̄п̄па Ва а̄īо̄ка е̄īīН̄аН̄Т̄е̄а̄д ÷̄ү̄е̄а̄и. Ñ̄а̄а̄а̄Т̄ӣд̄НиН̄а п̄а̄а̄а̄а̄ӣд̄е̄ӣа̄и р̄к̄īди а̄ү̄е̄ӣа 2000-5000 ë/ñ а̄а÷а а̄Та̄а̄и. А̄ӣç̄аа А̄Ñ̄Ý-3, А̄Ñ̄И, А̄Ñ̄Ý-А̄ Тӣӣа̄а̄и п̄а̄а̄а̄а̄Т̄ӣд̄е̄а̄д ха̄ӣаа “А̄е̄ү̄Фа-Е̄а̄Ва̄е̄ү̄” (Ø̄В̄а̄о̄ӣү̄) Фӣд̄ӣа̄п̄иНиН̄а п̄īп̄е̄и п̄а̄а̄а̄а̄Т̄ӣд̄е̄а̄ди ӣо̄е̄аТӣе̄а̄и.

[illegible]

Қаттиқ озиқа мухитида ўстирилган микроорганизмлардан ферментларни  
экстракция қилиш

хайа Ферментлар аһһаН һóВaa үдóВ÷аҺаид. ØóНиҺа ó÷óН үҺа үõøи үеһТдаааНТ аүйеа һóВ хиһаеаҺаи. ИеðһддаҺиçеадааН ФерментларНи иеиø ó÷óН óеаð ìаеааланиб қиеиҺиá, хóæаеда äåВîдеади ìäаҺиê ,êи аВТîаТиê хîеаа áóçиеиá, үеһТдаеöиү æада,Һиäа æаеá қиеиҺаи. Áó õпóеäа хай хүë хîеäаи, хай кóðóк хîеäаи иеðһддаҺиçиäаН фермент үдиТiaһиНи иеиø ìöиeиН.

ЂиѡаѡѡааН фермент уѣнТѡаѣѡиуѡиНи Тўѣиқ аѡаѣа ѡѡиѡѡ ѡ÷ѡН:  
 хадѡѡѡаТ, ѡН, ѡаѡаН ѡаВѡиѣѣиѡи, уѣнТѡаѣѡиу ѡѡѡНаѡиНиНѡ ѣѡНнТѡѡѣТиВ  
 ѡѡѡѡиуТѡаѡи, аѡѡаТиѣа, ТѡаН фермент ТаѡиаТи Ва ѡѡѡѡ ѡиѡ ѡаН÷а ѡиѣѣаѡѡ  
 ѡѡѣиқ. Ђѡ ѡиѣѣаѡ хад ѡиѡ ѡѡѡѡѡНТ ѡиѡѣиѡа аѣѡиѡа ТаѡѡиқТѡаѡ ѡѡѡиѡа  
 аНикѣаНѡи Ва ТаВѡиу уТиѣѡи. ЂѡѡѡН, хадѡѡѡаТ уѣнТѡаѣѡиу ѡаѡаНѡѡ



êaTTa Taúñið êýðñaTaäи, ýúНи æóäa êýи Ферментлар Таðñîëaäиê áýëиá, хаТТîëи, 35-40°Ñ äa иНаêТиВаöиýäa ó÷äaëии.

ØóНиНä ó÷óН çaBîä ðaðиТиäa иëиæи áîði÷a ñóВНиНä хаðñäaТи 22-25°Ñ äa óðëaá Тóðiëaäи Ва хаð ðиê ìиêðîФëиäa ýññañëиäи ó÷óН aНТиññîиТиêëääaН (ФîðñaëиН, áaНçîë, Тîëóîë, ðëиðîФîðи Ва х.ê) ФîëäaëaНиëaäи. Êýи÷иëê хîëëääa ФерментларНи ðН 5-7 êýðñaТëи÷иäa Тýëиç aæäaТиá îëиø ìóîëиН.

ÁиîððîТ áиëaН ФерментларНиНä êaì иñðîФäað÷иëиäи aññиäa кóюкëaøТиðиëäaН ýêñТäaêТëað îëиø ó÷óН ìaðñóñ ýêñТäaêöиý ðñëóНаëaðiНи иðëaТиø äaðëиð. BқиНäa÷a äиФФóçиýëи äaТaðäýëað êaНä êýëaìäa иðëaТиëað ýäи. Áó кóðiëaäa ýêñТäaêöиý киëиНäaН ìиêðîðäaНиçî ферменти НиññaаТаН êýи ФаиëëиêНи êýкîТаäи Ва кýë иøиäa aññëaНäaН хîëäa êýи ðaðaæaТ Таëaá киëaäи. Øó áиëaН áиðäa êaì ñaìäaäиðäиð. ØóНиНä ó÷óН ТýòîТîñиç иðëиB÷и ýêñТäaêöиý ðñëóНаëaði ðñТиäa ТаäкикîТëað îëиá áîðiëêäa. Áóëað æóîëañиäa фермент ñaНñaТиäa áиð ìóН÷a киçикиø óëçîТäaН ðкîði áñиäa иðëиB÷и “Ниðî АТñaëçäð” (BñиНиý) Фиðñañи Ва ðîТîð Тиииäaäи “ÐîóНñ-ÄaóНñ” Фиðñañи ýêñТäaêТîðëaðiäиð.

ËäëиН хîçиðäи ВақТäa ìðaññ-äиФФóçиý æaða,Ниäa aññëaНäaН ðñëóНаëaðäa кaëТиø aнъaнañи êóçaТиëêäa. ÓНиНä ìиХиýТи øóНäaëи, ñóBäa óðëaá ТóðiëäaН êóëüТóða ìðaññëaНаäи Ва ýНа ñóBäa ТиНäиðиëиá ìðaññëaНаäи Ва х.ê. ëääa aññëaНаäи. ÝхТиîëê ýêñТäaêöиýНиНä áó ðñóëи êäëaæaëäa ýç ðиBîæиНи Тîиøи ìóîëиН.

Вакуум-буғлантириш усулида фермент эритмаларини куюклаштириш

Қаттиқ Ва ñóðк îçиқa ìóХиТëaðиäa ýñТиðиëäaН ìиêðîðäaНиçîëaðНиä ýêñТäaêТëaði ñaкëaø ó÷óН ÷иäaìñиçäиð. Таé,ð ТаðНиê ìðaññaðaТ ФîðñaëaðiНи (Î2ð Ва Æ2ð) îëиø ó÷óН óëaðНи кóюкëaøТиðиø êäðaê. кóðóк ТаðНиê ,êи Тîça фермент ìðaññaðaТëaðiНи îëиøäa Ваêóóî-áóçëaНТиðиø ðñóëи хаì áиð áñиқи÷ áýëиá хиññáëaНаäи.

ÎäaТäa Ферментлар áóçëaНТиðиø хаðñäaТиäa æóäa Таúñиð÷aН áýëaäи. ØóНиНä ó÷óН кóюкëaøТиðиøНиНä aññиê ðaðТи ìañТ хаðñäaТäa кaëHaТиø Ва æaða,НиНи қиñкa ìóääaТ и÷иäa îëиá áîðiø áиëaН áиðäa, áóçëaНТиðиëa,ТäaН ñóðкëиêНи қиçиá êaТиøНи Ва ФерментларНиНä иНаêТиВаöиýäa ó÷äaøиНи îëииНи îëиøäиð.

Аäaðäa кóðкëaøТиðиëa,ТäaН ýðiТîa қaН÷aëиê Тîça áýëña, øóН÷aëиê êaì ìиқäиðäa хаð ðиê ìääaëaðНи êaì ТóТаäи Ва óНäaäи Ферментлар ðкîði хаðñäaТäa æóäa хаì Таúñиð÷aН áýëaäи. қаттиқ îçиқa ìóХиТиäa ýñТиðиëäaН ìðäaНиçî ýêñТäaêТиäa æóäa êýи ìиқäиðäa хиîýëиB÷и áиðиëaëað áýëaäи Ва óëað кóðкëaøТиðиø æaða,Ниäa фермент иНаêТиВаöиýñиНиНä îëииНи îëaäи, êäëиН êóëüТóðaê ñóðкëиäиНи кóðкëaøТиðиøäa áóНиНä aëñиНи êóçaТиø ìóîëиН, ýúНи фермент êýи ìиқäиðäa ýç ФаиëëиäиНи êýкîТаäи.

ҚóðкëaøТиðиø æaða,Ниäa фермент ýðiТîaëaðiäaäи ìääaëaðНиНä ìиқäиðи Ва ìиНäðaê Таðëиäи áиð ìóН÷a ýçäaäaäи, кóðк ìääa хиññáиäa ýña 11-20% äa÷a êaìäýäи Ва кóðкëaøäaН ýêñТäaêТНиНä ðН êýðñaТëи÷и хаì ýçäaäaäи. ÎðñaóäaНТëaðНиНä Тóðiäa қaðaá óëaðНиНä êóëüТóðaê ñóðкëиêëaði хаì хаð ðиê êиì,Виê Таðëиääa Ва Ферментлар êññëaëñиäa ýäa áýëäaНëиäи ó÷óН,

Ваёóòì-áóғёаНТиðиøНиНă хаðìðaТ ðăæиëади ТаăкикîТ ёўеи áиёаН аНикёаНаäи.

Фермент ФаёёиäиНи қорқёаøдиø æаða,Ниäа ёўкîТиёиøи НаФақаТ óНи îеиä áîðiёиø ðăæииäа, áаёёи óñёóНа ,еи қóðiёäиНиНă ёиНñТðóёиüñиäа хаì áîғеиқäиð. ЁäеиНäи ёиёёаðäа Ваёóòì-áóғёаНТиðäи÷ óñёóНаёади аН÷а ТаёёиёёаøТиðиёиîқäа. Óøáó óñёóНаёаð Тðóäеа øаёёиäа (äîðiçîНТаё, ВаðТиёаё Ва киü) áўеиä, æаða,ННиНă ўТиø îóääаТиНи 10 îaðîТаäаäа ўкиН қиñқаðТиðäи Ва ферментНиНă Фаёёиäи ёўкîёиøиНи äиð îóН÷а ёäиäеТиðäи. Áóёаð æóìеäиñиäа “АёüФа-ЁäВаёü” (ØВаöиü), “ÄäиНñТВî” (ÐäññеäВиü), “ЁрВа” (ØВаёöадиü), “АDV” (ФðaНöиü) Ва áîøқа äиð қаН÷а Фиðиäеаð óñёóНаёадиНи ёиðiТиø îóìеиН Ва óёаðНиНă ñäиäаäîðеиäи 200 äаН 20000 ё/ñ Ни Таøеиё киёäи хаìäа ферментНиНă Фаёёиäи 10% аТðîФиäа ёўкîТиёäи.

Óøáó óñёóНаёаð ркîði ñäиäаäîðеиäиäа қаðaäе Ваёóòì-áóғёаНТиðиø óñóеи áиёаН ФерментларНи қорқёаøТиðиø ёўîäиНа ёäи÷иёиёёаðäаН ðîеи üиñ. ØóНиНă ó÷óН áó óñóё ўç ўðНиНи аñТа-ñäеиН óёüТðaФиёüТðеаø óñóеиäа ääðiøи îóìеиНлиäи ўқкîё иñáîТёаНîқäа.

#### Фермент эритмаларини мембраналар ёрдамида тозалаш

ÌäиäðaНаёи Тîçаёаø óñóеиäа äиäеиç Ва үёäкТðîäиäиäеиç, äиðñäиäðaНаёи óñóёäа үäа қäеТаðиёóВ÷аН îñîñ, óёüТðaФиёüТðaöиü, ииёðîФиёüТðaöиü Ва Нîçиё ФиёüТðaöиü ёäиäиäаð ёиðaäи.

ÝðiТiäаäи îääаёаðНи äиäеиç óñóеиäа æðaТиø îäиäðaНаНи îääа îäññäиäа қаðaä ТаНёää ўТёаçóВ÷аНёиё ðóñóñиüТиäа аñññеäНäаН. Áó æаða,Н ó÷óН ўðiì ўТёаçäи÷ îäиäðaНаНиНă хаð иеёи ТîñНиäа ўðiТiäеаð îқäîðiНиНă Фаðқи Вóæóääа ёäеиøи ёääаё. Äиäеиç æаða,Ни óøáó ТäНäеиё áиёаН иФîäаёаø îóìеиН:

#### $Q \text{ к } D_d S \Delta C$

áóНäа, Q - îäиёóì ВақТ и÷иäа îäиäðaНаäаН ўТäаН îääа îқäîði;  $D_d$  - äиäеиç ёüФФиöиäНТи; S - îäиäðaНа ñиðТиНиНă рçäи;  $\Delta C$  - îäиäðaНаНиНă хаð иеёи ТîñНиäаäи îääаёаð îқäîðiНиНă Фаðқи.

ÄиäеиçäаН фермент îðäиäðaТёадиНи ёи÷иё îёäёóёäи îääаёаðäаН Тîçаёаøäа Фîёäаёäиäиäи. ÌäñеäаН, фермент ўðiТiäеäиНи øаёаð, äиНîеиññёîТаёаð, îиНääаё Тóçеаð Ва áîøқаёаðäаН 60-100% äа÷а áўёäаН îқäîðäа Тîçаёаøäа ўðiøиø îóìеиН. АёНикñа Ферментлар ркîði îқäîðеи Тóçеаð áиёаН ÷ўёТиðиёäаНäа äиäеиçäаН Ва үёäеТðîёиçäаН óНóìеи Фîёäаёäиø ёääаё. ЁäеиН ТўðТёäи÷и ñТðóёТóðaäа үäа áўёäаН ФерментларНи Ва îäТаёёîФерментларНи æðaТиøäа үёäеТðîäиäиäиäаН Фîёäаёäиø îóìеиН üиñ, үüНи фермент óøáó æаða,Нäа ўç ФаёёиäиНи ёўкîТаäи.

Äиäеиç æаða,Ни æóäа ñäеиН ўТóВ÷и æаða,Нäиð хаìäа ўðiТiäиНиНă îқäîði ёўî áўёäаНäа, æóäа ёўî îқäîðäа îäиäðaНа ñäФёäаНаäи. Äиäеиçäа қóеиäаäи хаð ðиё ёўðiНиøäаäи ўðiì ўТёаçäи÷ îäиäðaНаёаð иøеäТиёäи: îääаäîäНТ, цäёîФаННиНă хаð ðиё Тóðеäи, óёüТðaФиёüТðaöиüäа



ÎќпӀеӕаџНи аӀпӀиӕ ўџиТóВ÷иӀи аўѕиá хиӀпӀáӕаНӀиø ñóВНиНá áауѕи òõñõпӀиўТѕаџНи (хаџџаТ, џН, иӀН êó÷и, НáѕТџаѕ Тóѕӕаџ, îџáаНиӕ ўџиТóВ÷иӕаџ ,ѕи иНáџТ áиџиѕаӕаџНи кўøиø ѕѕѕи áиӕаН) ўѕáаџТиџиø хиӀпӀáиáа, îќпӀиӕ îѕááóѕѕаӀиНиНá áиáџаТ ,ѕи пӀѕѕВаТ каТѕаииáа ТауӀпӀиџ киѕиá аááџáаõиўáа ó÷џаТиø Ва ÷ўѕѕаáа Тóџиџиø îõѕѕиН. ÑаНӀаТáа аӀпӀаН îџáаНиӕ ўџиТóВ÷иӕаџ ,ѕи Тóѕӕаџ áиӕаН ÷ўѕТиџиøáаН ФӀѕѕáаӕаНиӕаӀи. Áó òõóѕѕаџ áиџ-áиџиáаН ÷ўѕТиџиø îáџаНиѕи áиӕаН Фаџк киѕаӀи.

#### Нейтрал тузлар ѕрдамида чўктириш

ФерментларНи Тóѕӕаџ ,џáаииáа ÷ўѕТиџиø æаџа,Ни аӀпӀаН îќпӀиӕ îѕááóѕѕаӀиНи áиáџиФӀáѕѕи áаџаæаӀиáа áӀѕѕиқ. ТиӀиӕ îќпӀиӕ îѕááóѕѕаӀи пӀџТиáа áиџ каН÷а аиНӀѕѕиӕӀТаѕаџ (ТиџѕиН, ТџиӀиФаН, ѕáѕõиН, иѕѕѕáѕõиН, îáТиӀиН, ВаѕиН Ва ФáНиӕáаНиН) ѕаНæиџи øаѕѕиáа ,иøáаН áиáџиФӀá киӀпӀѕаџáа ўáа. ÎќпӀиӕ îѕááóѕѕаӀиНиНá áиáџиФӀá киӀи ñóВ áиӕаН ТўќНаøáаНáа ñóВ îѕááóѕѕаџи áиӕаН мўлжалланган каВаТ хӀпӀиӕ аўѕаӀи Ва øó æѕѕѕаџ "îóѕѕаТиѕáаН" хӀѕаТáа аўѕаӀи. ÁóНáаѕ ТаџТиáѕи пТџóѕТóџаѕаџ ТаџпӀиНáиӕ æихаТáаН ÷иáаѕѕи ўӀаӀиџ. Аáаџáа ñóВ îѕááóѕѕаџиНи îќпӀиӕ ТаáиаТиáа ўøøаиáаН îáááаѕаџ áиӕаН иӀпӀáиѕѕаõиў киѕиНпӀа, îќпӀиӕ îѕááóѕѕаџи ўѕаџи ТауӀпӀиџáа ѕиџиá аáџáаТѕаџ хӀпӀиӕ киѕа áиøѕаѕѕи.

Îауѕõѕѕи ТóѕӕаџНиНá иӀНѕаџи áиáџаТѕаНáи, аáаџáа îќпӀиӕ ўџиТиáиáа îауѕõѕи микџорáа Тóѕ кўøиѕѕа ó ñóВ áиӕаН áӀѕѕаНáи Ва ñóВáаН аўøаáаН îќпӀиӕ îѕááóѕѕаџи аáџáаТѕаџ хӀпӀиӕ киѕаӀи. Тóѕ иӀНѕаџи каН÷а ѕўӀи аўѕѕа, îќпӀиӕӕаџНиНá аáџáаТѕаНиøи хаӀ øóН÷а êó÷аўáи Ва ÷ўѕѕаáа Тóџиøи îџТаӀи.

Тóѕӕаџ áиӕаН ÷ўѕТиџиø æаџа,Ни ТауӀпӀиџиáа ѕўџа хаџ õиӕ îќпӀиӕӕаџа хаџ õиӕ аўѕаӀи. Áó áиџиН÷иáаН, îќпӀиӕ îѕááóѕѕаӀи пӀџТиáаӀи áиáџиФӀá киӀпӀѕаџНиНá îќáӀиџи Ва ўлчамиáа áӀѕѕиқ, каН÷а øóНáаѕ киӀпӀѕаџ ѕўӀи аўѕѕа øóН÷а îќпӀиӕ Таѕ ÷ўѕѕаáа ТóøаӀи. Áауѕи îќпӀиӕӕаџ áиџѕи ТóѕӕаџНиНá ўНá ркџи микџориáа хаӀ ÷ўѕѕаáа Тóøаѕѕи. ЧўѕТиџиø æаџа,Ниáа îќпӀиӕӕаџ ,Ниáа ТóџáаН áӀøка îќпӀиӕӕаџ áиӕаН хаӀ аáџáаТ хӀпӀиӕ киѕиá ÷ўѕѕаáа Тóџиøи îõѕѕиН. ÁóНáа áиџ каН÷а Ферментлар ѕӀпӀѕáѕѕиНи ѕѕиø îõѕѕиН. ЁáѕиН Фџаѕõиўѕаџáа аўѕиá ÷ўѕТиџиѕѕа, áиџ îóН÷а ркџи НаТиæаáа ўџиøиø îõѕѕиН.

ÎќпӀиӕӕаџНи Тóѕѕи ўџиТиáѕаџáа ўџóВ÷аНѕѕи áиӕаН ЁӀННиНá ўӀиџиӕ ТаНáѕаиáиáа аўѕѕóНáи:

$$\lg S \leq \lg S_0 - k_s \mu,$$

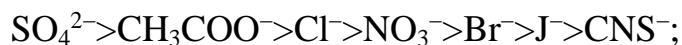
áóНáа,  $S$ ,  $S_0$  - îќпӀиӕНиНá Тóѕѕи ўџиТиáа Ва ТӀѕа ñóВáаӀи ўџóВ÷аНѕѕи;  $k_s$  - Тóѕѕаø ѕӀНпӀаНТаӀи;  $\mu$  - ўџиТиáаНиНá иӀН êó÷и.

Тóѕӕаџ áиӕаН ÷ўѕТиџиø æаџа,НиНи óНõѕѕи ўТѕаѕиø ó÷óН  $k_s \mu$  ѕўџнаТѕи÷и иѕѕѕи áиџи÷а ѕаТТа аўѕѕи ѕáџаѕ.  $k_s$  ѕўџнаТѕи÷и ТóѕНиНá ТаáиаТиáа áӀѕѕиқ аўѕѕиá, ВӀáџиáа иӀНѕаџи îќáӀиџиáа áӀѕѕиқ ўӀаӀ.

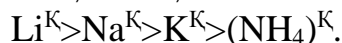
Óøáó æаџа,Н áиáџиФӀá ўѕаџи ТауӀпӀиџáа аӀпӀѕаНáаН аўѕѕаáа óНиНá áиџиøиáа ТауӀпӀиџ киѕóВ÷и áӀøка иӀиѕѕаџ хаӀ îаВæóáаиџ. Óѕаџ: îóхиТ џН ѕўџнаТѕи÷и, хаџџаТ, фермент ўџиТиáи ТӀѕаѕѕи áаџаæаӀи, æаџа,ННи ўТѕаѕиø îóááаТи Ва áӀøкаѕаџиџ.

Тóç áìäН ÷ÿêТидиøäа аїїñаН иøкїдиé ìаТаëëаđНиНă НăéТдаë Тóçëади иøëаТиëаäи. хад òиë иїНëаđНиНă ÷ÿêТидиø ñаìадаäиđëиäи óëаđНиНă иїН êó÷иäа áìëиқ.

НаТдиé Тóçëади аНиїНëадиНи Тóçëаø Тауїñиди êó÷иäа қадаá қóëиäаäи÷а æìëëаøТидиø ìòìëиН:



ëаТиїНëаđНи ýñа қóëиäаäи÷а æìëëаøТидиø ìòìëиН:



Фермент ìðäìадаТëадиНи Тóç ðäаäиäа ÷ÿêТидиëäаНäа óëаđНиНă Таðëиäиäа 60-85% äа÷а хад òиë äаëëаñТ қÿøи÷а ìääаëаđ ó÷даøи ìòìëиН. Óðáó æада,НниНă ýНă қиëиН áìñқи÷и, áó - ТóçНи қÿøиø Ва óНи ýдиТиøäиđ. ÝдиТìаäа ТóçНиНă ëìëаë ìқäìдиНи îøидиäá ðáìðìañëиê ó÷óН ó аВВаë ìаëäаëаНиä, ñäëиН аñТаëиê áìäН ìауëòì äиđ қиñìäаН қÿøиä áìдиëаäи Ва ТиНиñиç адаëаøТидиä Тóдиëаäи. АдаëаøТидиø äаВñиäа ëÿиê хìñиë áÿëиøиäа ëÿë қÿëìañëиê êäðäë. Æада,Н ýдиäаН Ва ääðääаТëаНäаН îқñиëëаđНиНă ìòВìçаНати хìñиë áÿëäóН÷а 20-40 ìиН, äауçиäа äиđ Нä÷а ñìаТ äаВñ ýТаäи.

Тóç áìäН ÷ÿêТидиø æóäа хаì ëÿì ñиëëаðäа áìëиқ áÿëäаН ìòäаëëаä ТаðНìëìäиê æада,Нäиđ. ØóНи ýñäа ТóТиø êäðäëëи, Тóç òä÷ қа÷ìН ферментНи áóТóНëаë ÷ÿêТидиäëäи, äаëëи óНиНă ýðóВ÷аНëиäиНи ìañаëТидаäи òìëìñ. Ääðäа ýдиТìаäа 1 ìä/ìë îқñиë áÿëñа, óНиНă 90% и ÷ÿëìäа Тóøиøи ìòìëиН, ëäëиН ýдиТìаäа äìð-ëÿғи 0,1 ìä/ìë îқñиë áÿëñа хä÷ қаНäаë фермент ìðäìадаТиНи îëиøНиНă иëìæи áÿëìаëäи.

НăéТдаë Тóçëаđ áìäН îқñиëëаđНи ÷ÿêТидиä фермент ìðäìадаТëадиНи îëиø óñòëëади аїїñаН ÷аТ ýëëаðäа êäНă ТаðқаëäаН.

### Îрганик эритувчилар ёрдамида чўктириш

ФерментларНи ñóВäа ýðóВ÷аН ìðäаНиê ýдиТóВ÷иëаđ áìäН ÷ÿêТидиø óñòëëади ñаНìаТ ìқ,ñиäа êäНă ëÿëìäа қÿëëаНиëаäи. ÎқñиëëаđНи ÷ÿêТидиø ñаìадаñи ìðäаНиê ýдиТóВ÷иëаđ Тауїñидиäа ñóВНиНă ФаìëëиäиНи êаìаëиøи áìäН óçВиé áìëиқäиđ.

ÝдиТóВ÷иНиНă ìқäìди ìðТиøи áìäН ферментНиНă çаðÿäëаНäаН äиäðìФиë ìëäëóëаëадиНи ñóВ Тауїñидиäа ñìëВаТëаНиø қìäиëиÿТи ìañаÿäи. ÎқñиëНиНă äиäðìФìä қиñìиäаäи ñóВ ìëäëóëаëади ìðäаНиê ýдиТóВ÷и ТñìНиäа ÿТа áìøëаëäи Ва Натиæаäа ферментНиНă ýðóВ÷аНëиäи ìañаÿäи. ÎқиäаТäа îқñиë ìëäëóëаëади ääðääаТëаНäи Ва ÷ÿëìäа Тóøаäи.

ÎқñиëëаđНи ääðääаТëаНиøи ÿëäëТðìñТаТиê Ва ВаН-ääð-Вааëüñ êó÷ëади Тауїñидиäа, аëìхиäа æìëëаøäаН îқñиë ìëäëóëаëади ÿðТаñиäа ðçаäа êäëаäи.

ÎқñиëëаđНи ääðääаТëаНиøи æада,Ни Ва ÷ÿëìа хìñиë áÿëиøи ÷ÿêТидиøНиНă äиđ қаН÷а ñиëëадиäа áìëиқäиđ. ØóëаðäаН äиди îқñиë ìëäëóëаñиНиНă ÿë÷аìиäиđ. ЧÿêТидиø æада,Ниäа îқñиë ìëäëóëаñиНиНă ÿë÷аìи қаН÷аëиê êаТТа áÿëñа, ýдиТóВ÷иНиНă ñаëáиé Тауїñиð қиëóВ÷и ìқäìди øóН÷аëиê ìañТ áÿëаäи. Áó áìëиқëиêëа ìëäëóëаНиНă äиäðìФìäëиê äадаæаñи, ñìëВаТ қаВаТиäа ÷иäаìëиëиäи Ва áìøқа ñиëëаð Тауїñиð қиëиøи ìòìëиН.

Чўктириш учун ишлатиладиган органик эритувчи сув билан тўлик

аралашини ва фермент билан эса алоқада бўлмаслиги керак. Асосан бу жараён учун этил спирти, ацетон ва изопропил спирти кенг қўлланилса, метанол, н-пропанол, диоксан, 2-метоксиэтанол ва бошқа спиртлар, кетонлар, эфирлар ва уларнинг аралашмалари камроқ ишлатилади. Эритувчиларни танлашда уларнинг токсиклигига, портлаш хавфидан холислигига ва регенерация бўлиш қобилиятига эътибор бериш керак. Ишлаб чиқариш учун этил спирти ва изопропанол энг яроқли бўлиб хисобланса, ацетоннинг кўрсаткичлари эса сал пастроқдир. Булар орасида энг истиқболлиси изопропанолдир. Бу эритувчилар ёрдамида ферментларни комплексларга ажратиш ёки фракциялар холида чўктириб олиш мумкин.

Фермент препаратларини чўктириш учун нафақат эритувчининг табиати ва миқдори, балки электролитларнинг иштироки, чўктириш харорати, мухит рН кўрсаткичи, куруқ моддаларнинг таркиби ва миқдори каби бир қанча омилларга эътибор бериш керак.

Чўктириш эритмасида баъзи ионларнинг учраши фермент мўтадиллигига таъсир қилиши мумкин. Масалан,  $\text{Ca}^{2K}$  ионлари  $\alpha$ -амилаза, протеиназа, глюкоамилаза ферментлари фаоллигига ижобий таъсир қилса, магний, марганец, кобальт каби метал ионлари химоя вазифасини бажаради.

Шулар билан биргаликда баъзи металлларнинг ( $\text{Fe}^{2K}$ ,  $\text{Pb}^{2K}$ ,  $\text{Cu}^{2K}$ ,  $\text{Ag}^{2K}$ ,  $\text{Ni}^{2K}$ ,  $\text{Al}^{3K}$ ,  $\text{Hg}^K$  ва х.к.) ионлари салбий таъсир кўрсатади ва уларнинг эритмада бўлиши мақсадга мувофиқ эмасдир. Эритмада электролитларнинг бўлиши эритувчи сарфини камайтиришга ва чўкма структурасини яхшилашга хизмат қилади.

Фермент эритмаси ва эритувчининг харорати фермент чўктириш жараёнида паст бўлишига ҳаракат қилиш керак. Спирт ва ферментнинг сувли эритмаси аралаштирилганда иссиқлик ажралиб чиқади ва аралашма харорати  $5-10^0\text{C}$  га кўтарилади. Агарда спирт олдиндан совутилган бўлмаса ферментларнинг инактивациясини кузатиш мумкин. Бу ходиса нафақат термоинактивацияга, хаттоки фермент молекуласини денатурациягача олиб келади.

Фермент препаратларини чўктиришда рН кўрсаткичи жуда катта аҳамиятга эга. Бир хил фермент эритмасидан ҳар хил рН кўрсаткичи таъсирида бир-биридан чўкмаси миқдори ва фермент фаоллиги билан фарқ қилувчи препаратлар олиш мумкин. Маълумки ферментлар ўзларининг изоэлектрик нуқталарида оксил агрегатлари ҳосил қилиб тўлиқ чўкмага тушадилар. Оксилларни изоэлектрик нуқталарида чўктирувчи реагентлар ишлатмай чўктириш жараёни изоэлектрик чўктириш дейилади.

Органик чўктирувчиларни изоэлектрик нуқта рН ига яқин рН да қўллаш ферментларни осон чўктириш ва эритувчини кам миқдорда сарфлаш учун хизмат қилади. рН кўрсаткичи изоэлектрик нуқтадан четга чиқса, чўкма унуми ва фермент фаоллиги 30-50% гача йўқотилади.

Фаол ферментни препарат ёки мўтадил структурали чўкма холида олиш учун эритмада 10-12% атрофида куруқ модда миқдори бўлиши керак. Кўп тадқиқотлардан маълумки, ферментларни чўктиришда, айниқса протеолитик ферментларни, куруқ модданинг энг мўтадил миқдори 10% бўлиши керак.

Юқорида қайд қилинган омиллар каторида фермент эритмаларини эритувчи билан алоқада бўлиш муддати ҳам катта аҳамиятга эга. Фермент саноатида тўхтовсиз ишлайдиган чўктирувчиларда ушбу вақтни жуда ҳам қисқартиришга эришилгандир, бу албатта фермент фаоллигини камайишини олдини олади.

Органик эритувчилар билан чўктириш самарадорлиги шу жараёнга мўлжалланган ускунага ҳам узвий боғлиқдир. Бундай ускуналар асосан фермент эритмаларини қабул қилгич, тўхтовсиз аралаштиргич, фермент эритмаси ва эритувчини тўхтовсиз равишда узатувчи контурлар, сепаратор ва автоматизация тизимларидан тузилган бўлади. Цилиндр шаклидаги аралаштиргичдан фермент эритмаси ва эритувчи мураккаб ҳаракат йўналиши бўйлаб қисқа вақт ичида аралашиб ўтади ва натижада ҳосил бўлган аралашма сепаратор қисмига узатилади.

Сепараторда чўкмага тушган оксил моддалари ажратиб олинади. Бундай қурилмада фермент билан эритувчининг алоқа муддати ўн маротабагача қисқартирилади ва ферментнинг чўкмага тушиш унуми 15-20% гача ортади. Сепараторда ажратилган чўкма ҳар хил усуллар билан мўтадил шароитда қуришиб олинади. Чўкма тепасида қолган суюқлик таркибида 50-75% гача эритувчи улуши бўлади ва ректификация бўлимида регенерация қилишга юборилади.

Органик эритувчилар билан чўктириш унуми продуцент ўстирилган озиқа муҳити таркибига ва фермент препаратини қуюқлаштирилганлик даражасига ҳам боғлиқдир.

## ФЕРМЕНТЛАРНИ ТОЗАЛАШ УСУЛЛАРИ

Ферментлар ва бошқа оксил моддалари ҳар хил эримайдиган бирикмаларга адсорбцияланиш (сўрилиш) қобилиятига эга. Бу хусусият оксил аралашмаларини ажратишда ва айниқса ферментларни лаборатория шароитида тозалашда ҳамда гомоген бўлган фермент препаратларини олишда ишлатилади. Адсорбция усули, шу билан бирга колонкали хроматография усуллари ферментларни юқори даражада тоза ва кўп микдорда олиш имконини беради.

Оқсилларнинг муҳим адсорбентлари бўлиб ҳар хил ионалмашувчилар, яъни кальций фосфат, алюминий гидроксид геллари ва маълум типдаги ферментлар учун махсус бўлган ҳар хил аффин адсорбентлар ҳисобланади. Ферментларни тозалаш ва оқсилларни ажратиш технологияси қандай типдаги усулликка қарамай қуйидагиларга асосланади.

Фермент маҳсулотини ўз таркибига олган оқсиллар аралашмаси маъқул бўлган эритувчида (буферда) эритилади ва шу эритувчи билан мувозанатланган колонкага юборилади. Кейин шу колонкадан маълум таркибга эга бўлган буферни ёки микдори ўсиб борувчи градиентли ювиш эритмаси, ёки бўлмаса ушбу фермент учун махсус бўлган боғловчи (лиганд) ёрдамида оксил босқичма-босқич ювиб олинади. Колонкадан ювиб олинган фермент препаратлари фракциялар тўпламида йиғилади ва

ферментнинг тоза препаратини олиш учун бошланғич материал бўлиб хизмат қилади.

### Ионалмашув хроматография усули

Бу усулда оксиллар электростатик куч ёрдамида боғланадилар, яъни бу ходиса зарядланган оксил сиртлари ва зарядланган ионалмашув бирикма гурухларининг зич қатлами ўртасида юзага келади.

Типик ионалмашувчи сифатида бўктирилган диэтиламиноэтилни (ДЭАЭ-) ёки карбоксиметил (КМ-) целлюлозани кўрсатиш мумкин. Улар бўктирилган ҳолатда зарядли гурухларнинг 0,5 М миқдорига эга бўлади. Бу зарядлар колонкада қарама-қарши бўлган ионларни (метал ионлари, хлор ионлари, буфер ва х.к.) нейтраллайди. Одатда оксилнинг умумий заряд белгиси ион алмашувчига ўтирган ион белгиси билан бир хил бўлади ва колонкадан ўтиш жараёнида айнан уни сиқиб чиқаради. Шунинг учун ҳам бу жараён хусусиятига қараб "ион алмашув" жумласи қўлланилади.

Колонкада адсорбланган керакли оксилни ювиш учун аффин усулидан ташқари икки усулдан фойдаланилади.

Биринчи усул - буфернинг рН кўрсаткичини маълум даражага ўзгартириш билан ион кучини ошириб, адсорбент ва оксил ўртасидаги электростатик ўзаро таъсирни камайтиришдир. Бу усул умуман яхши натижа бермайди. Чунки буфер ҳажмини кичик бўлганлиги учун рН кўрсаткичини бирданига ўзгартириш оксил аралашмалари ва бошқа бирикмаларнинг ёмон ажралишига сабаб бўлади.

Кейинги йилларда бу усул хроматофокус усулига ўтказиш йўли билан такомиллаштирилмоқда. Бунда ювиш жараёнида амфолит типигаги буфер ҳажми юқори бўлган буферлардан фойдаланилади ва шу усул кейинчалик саноат миқёсида ўз ўрнини топиши мумкин.

Иккинчи усул - кенг миқёсда фойдаланилаётган калий ёки натрий хлорид тузлари ёрдамида градиент тузишга асосланган. Туз ионлари иштирокида мустақил оксил ва адсорбентлар ўртасидаги ўзаро тортиш кучи камаюди. Туз ионлари миқдорининг ошиши билан адсорбентга боғланган оксиллар ўз ўринларини уларга бўшатадилар ва ўзлари колонкадан ювилиб чиқа бошлайдилар. Шу билан бирга туз ионлари таъсирида адсорбентлар ўзаро яқинлашиб оксил ҳаракати учун тор йўлқалар ҳосил қилади ва бу ходиса ферментларни колонкадан чиқишида фракцияларга ажратиб олиш имконини беради.

Ионалмашувчига боғланган ферментни аффинли ювиш ёрдамида ажратиш мумкин. Бунинг учун колонкага оксил билан боғланадиган махсус лиганд юборилади. Бунда оксил лиганд билан биргаликда тезда колонкадан ювилиб чиқади. Лекин керакли оксилни танийдиган ва уни сорбентдан ажратиб оладиган лигандни топиш жуда мушкул вазифадир. Шу билан бирга лиганднинг қандай зарядланганлиги ва миқдорига алоҳида эътибор бериш керак. Акс ҳолда қарама-қарши ҳолатда лиганд ўзи ионалмашувчига боғланиб қолиши мумкин.



### Аффинли (биоспецифик) хроматография усули

Бу усул оксил ва ферментларни тозалаш ва ажратишнинг адсорбция ходисасига асосланган усуллари ичида алохида ўринни эгаллайди. Кўпинча уни аффинли хроматография ёки биоаффинли, ёки биоспецифик хроматография дейилади.

Маълумки барча биологик фаол бирикмалар, хусусан ферментлар ҳам лигандлар ёки аффинли лигандлар деб номланадиган бирикмаларга махсус боғланиш хусусиятларига эгадир. Агарда шундай лигандларни инерт матрицага ковалент боғланса фақат керакли ферментни ушловчи ва қолган оксил ва моддаларни ўтказиб юборувчи махсус адсорбентни олиш мумкин.

Махсус ювувчилардан ёки жараён шароитлари фарқи асосида лигандни ферментга бўлган хусусиятини ўзгартириш йўли билан оксилни десорбцияга учратиб, тозалаш натижасида битта юқори тозалikka эга бўлган ферментни олиш мумкиндир. Лекин лиганд ва уни ушлаб турувчини танлаш жуда қийин вазифадир. Кўпчилик ҳолларда аффинли адсорбентларни синтез қилишда тозаланаётган ферментнинг хусусиятларини эътиборга олиш керак.

Бу жараён бошқа қийинчиликларга ҳам эга. Масалан, сорбент юқори спецификликка эга бўлмай керак бўлмаган бошқа ферментларни ҳам ушлаб қолиши ва натижада ферментни бу мураккаб комплексдан ажратиб олишни қийинлаштириши ҳам мумкин.

Аффинли хроматография учун ҳар хил турдаги эримайдиган сорбентлардан фойдаланилади, лекин энг кўп тарқалгани кўндаланг қилиб уланган агароза дончаларидир. Улар юқори босимда ўз шаклини сақлайди ва буферларни ҳамда эритувчиларни алмаштиришга бардошлидир.

Лигандларга бўлган талаблар эса жуда қаттиқлиги билан ажралиб туради, яъни улар матрицага шундай боғланган бўлиши керакки, оксиллар ҳеч қийинчиликсиз уларга келиб боғланиши ва бунинг учун матрица билан лиганд ўртасида кўприкча бўлиши керак. Булардан ташқари лиганд бошқа бирикмалар билан ўзаро боғланмаслиги, фақат матрицага боғланган ва ювиш, регенерация жараёнларига чидамли бўлиши шартдир.

Бу қўйилган шартларнинг оддий рўйхати ҳам ушбу жараённинг мураккаб ва кўп меҳнат сарф қилинишидан дарак беради. Шунга қарамай бу усул билан ўнлаб ферментлар тозаланган, лекин улар ҳали фермент саноатида кенг тарқалмаган.

### Гел хроматография усули

Препаратив энзимологияда чидамли бўлмаган ферментларни «юмшоқ» (паст ҳароратли) шароитларда ажратишдан кўп фойдаланилади, яъни бунда фермент бутун тозалаш жараёни давомида эритма холида бўлади. Бу усуллар орасида энг кенг тарқалгани гелфилтрация, электрофорез, изоэлектрик фокуслаш ва бошқалардир.

Фермент препаратлари технологиясида энг катта амалий аҳамиятга эга бўлгани - гелфилтрациядир. "Гелфилтрация" жумласи анча кўполроқ, лекин у илмий адабиётда жуда кенг тарқалган. Бу жараёни амалга ошириш учун дестран асосида олинган геллардан фойдаланилади ва улар ёрдамида

ўлчамига қараб ҳар хил макромолекулаларни тез ажратиш мумкин.

Гел очик ҳолдаги кўндаланг тикилган уч ўлчамли молекула тури бўлиб, колонкаларни осон тўлдириш учун юмалоқ доначалар (гранула) кўринишида бўлади. Доначаларда кичик тешикчалари бўлиб уларга фақат жуда кичик молекулали бирикмалар кириб, йирик молекулалар эса кирмайди. Бу усул гелларнинг айнан ана шу хусусиятига асослангандир.

Бу усул ферментларни тозалаш ва ажратишда нафақат лаборатория, балки саноат миқёсида ҳам қўлланилади. Гелфилтрация учун кўндаланг тикилган декстран (сефадекслар ва сефакриллар) гелларидан, кўндаланг тикилган полиакриламид гелларидан (биогеллар), акриламид полимер занжири ёпиштирилган агароза геллардан (ультрагеллар) ва бошқа каттик кўндаланг тикилган (CL-сефарозалар ва S-сефакриллар) агароза геллардан фойдаланилади. Колонкада фермент эритмасининг бир қисми гел доначалар орасида ва бир қисми эса доначаларнинг тешикчалари ичида жойлашади.

Гелфилтрация - бу тарқалувчан хроматографиянинг бир шакли бўлиб, эритилган моддалар эритманинг бир мунча юзада жойлашган ҳаракатчан ва ички томонида жойлашган кам ҳаракатли қисмларида тарқалган бўлади. Колонкада эритилган модданинг ушлаб қолиниш даражаси унинг гел тешикчаларига кира олиш қобилиятига боғлиқдир. Шунингдек, гелфилтрация жараёнида колонкадан аввал юқори молекулали моддалар ва кейин эса кичик молекулалари бирин-кетин чиқа бошлайди, бунда гел молекуляр тўр вазифасини бажаради. Бу жараён мукаммал равишда олиб борилиши учун, гел тайёрланган материал эриган бирикмалар таъсирига жуда ҳам инерт бўлиши керак.

Афсуски бугунги кунда ишлатилаётган барча геллар инерт эмас ва баъзан маълум рН кўрсаткичида улар сўриш қобилиятини намоён қилиши мумкин. Масалан, шундай гелларга сефакрилларни киритиш мумкин. Гелфилтрация усули билан майда гел доначаларида юқори босим остида жуда кўп ҳар хил моддаларнинг, шу жумладан оксилларнинг аралашмалари ажратилмоқда. Бу янги юқори босим остида суюқ хроматография услуби қисқа вақт ичида юқори даражали ажратиш имконини беради ва у ферментларни тозалашнинг охириги босқичларида жуда ҳам унумлидир.

## 5-мавзу. ФЕРМЕНТ ВА ХУЖАЙРАЛАР ИММОБИЛИЗАЦИЯСИ

Режа:

1. Ферментлар иммобилизацияси ҳақида тушунча;
2. Иммобилизация қилиш усуллари;

3. Ферментни ташувчи билан боғланиш кучини оширувчи усуллар;
4. Адсорбция йўли билан иммобилизация қилишнинг афзаллиги ва камчиликлари;
5. Гель ичига киритиш йўли билан иммобилизация қилиш.

Охирги 25-30 йилда икки фан кимё ва биология орасида янги бир фан йўналиши бўлмиш кимёвий энзимология ташкил топди. Фаннинг бу йўналишини ташкил топишини асосий сабабчилари - бу ферментлар ва фермент хосил қилувчи микроорганизмларни ёки алохида хужайра ва тўқималарини иммобилизация ҳолатида олиш бўлди.

Иммобилизация қилинган ферментларни саноат миқёсида олиш ва уларни ишлатиш муаммоси жуда катта гуруҳ мутахассисларини ҳамкорликда ишлашларини тақозо этади. Бу муаммони ҳал қилишни долзарблиги эса, олий таълим олдида бундай мутахассисларни тайёрлашдек ўта муҳим муаммони қўяди. Бугунги кунга келиб бу муаммога бағишланган юзлаб монографиялар, илмий мақолалар тўпланмалари ҳамда минглаб илмий - экспериментал мақолалар чоп этилган.

Юқорида келтирилган манбалардан келтирилганидек, ферментлар тизими халқ хўжалигини ҳар хил тармоқларда: озиқ-овқат, фармацевтика, тўқимачилик, чорвачилик ва бошқа бир қатор соҳаларда кенг қўлланилиб келинмоқда.

Шундай бўлишига қарамасдан ферментларни қўллаш масаласи узоқ вақтлардан бери ривож топмасдан келган. Бунга асосий сабаб ферментлар ва ферментлар тизимининг иқтисодий қимматлиги эди. Ишлатилган ферментлар ташлаб юборилаверган, бунинг устига уларни ишлаб чиқаришни ўзи ҳам жуда қиммат бўлган.

Албатта, микробиология саноатини ривожлантириш ҳисобидан керакли ферментларни, керакли миқдорда ишлаб чиқаришни йўлга қўйиш мумкин. Аммо бу ҳам унчалик арзонга тушадиган маҳсулот эмас.

Бундан ташқари ферментларни ишлатишни тўхтатиб турадиган энг камида иккита сабаби бор:

- ферментлар сақлашда, айниқса ташқи муҳит таъсирига (хароратга) ўта чидамсиз;
- ферментларни қайта ишлатиш жуда мураккаб масала, чунки уларни реакция шароитидан ажратиш имконияти йўқ.

Мана шу сабабларга кўра ферментлардан фойдаланиш ўзини оқламай қўйган эди. Аммо, бугунги кунда бу муаммо бутунлай ҳал қилинган.

Иммобилизация қилинган ферментларни олиш технологиясининг яратилиши бу муаммога чек қўйди.

1916 йилда Д.Ж.Нильсон ва Е.Грифин инвертаза ферментини кўмир майдасига адсорбция қилинганда (иммобилизация қилинганда), уни фаоллиги сақланиб қолганлигини кузатдилар. 20-30 йилларда оксил ва ферментларни адсорбция қилиш муаммоси бўйича қатор мақолалар эълон

қилинган. Аммо бу мақолаларни мохияти илмий муаммоларга бағишланган бўлиб, ишлаб-чиқариш билан боғлиқ бўлмаган.

1939 йилда Д.Ж.Пфанмюллер ва Г.Шлейхлар протеолитик ферментларни ёғоч қипиғига адсорбция қилиш бўйича биринчи патентни олишга мувофиқ бўлдилар ва олинган ферментни терига ишлов беришда ишлатиш мумкинлигини исботлаб бердилар.

Ферментлар ва сорбентлар орасида мустахкам конъюгатлар (боғлар) ҳосил қилиш мумкинлигини биринчилардан бўлиб 1953 йилда Н. Грубховер ва Д.Шлейхлар кўрсатиб бердилар. Бу олимлар фермент билан сорбентни ковалент боғлар билан боғлаш мумкинлигини ва бу ҳолатда фермент фаолиятини сақлаб қолаётганини исботлаб бердилар.

1950-60 йилларга келиб, бу соҳадаги илмий йўналишлар ишлаб чиқаришга узвий боғлаш асосида олиб борилди. Бу соҳани ривожланишда Г.Манеке ва Э.Качалскийларни хизматлари беқиёсдир.

Ферментларни адсорбентларга боғлаш натижасида гетероген катализаторлар ҳосил бўлиши ўз исботини топгач, 1971 йилда Хеникер (АҚШ) томонидан ферментлар муҳандислиги бўйича ўтказилган биринчи умумжаҳон конференциясида "Иммобилизация қилинган ферментлар" қонунга киритилди. Илмий адабиётларда баъзи вақтларда "эримайдиган ферментлар", "матрицага киритилган ферментлар" деган иборалар ҳам учраб туради. Уларнинг асосий мохияти сувда эримайдиган сорбентларга ёпиштирилган (тармаштирилган, уланган ва х.к.) деган маъно билан боғлиқ.

Аммо "иммобилизация" сўзининг кенгроқ тушиниш лозим, хусусан оксил молекуласининг майдонда ҳаракатдан тўхтатиш билан боғлиқ бўлган ҳар қандай тадбир оксилни иммобилизация қилиш деб қаралмоғи лозим. Юқорида баён этилган усуллардан ташқари, молекулалар ичидаги ёки молекулалар аро "Боғлаш", оксилни кичик молекулали икки функциялик молекулалар орқали бошқа оксилга, юқори молекулали полимерларга, жумладан адсорбентларга ҳам "боғлаш" ёки "улаш" усуллари ҳам иммобилизация усулларига киради.

Иммобилизация қилинган ферментлар, оддий сувда эрувчи ферментлар олдида бир қатор устунликка эга бўладилар.

Биринчидан, уларни реакция муҳитидан ажратиб олиш жуда ҳам осон, бу эса:

- а) реакцияни хоҳлаган вақтда тўхтатиш;
- б) биокатализаторни (ферментни) қайта ишлатиш;
- в) керакли маҳсулотни тоза ҳолда олиш (фермент билан аралаштирилмаслик) имкониятини беради.

Охирги бандда (в) кўрсатилган устунлик озиқ-овқат ва фармацевтика саноатида жуда катта рол ўйнайди.

Иккинчидан, иммобилизация қилинган ферментларни ишлатиш шароитида тўхтовсиз олиб боришга имкон беради, масалан, оқиб ўтадиган маҳсус устунларда (колонкаларда) ва ферментатив реакциянинг тозалигини

бошқариш, демак, керакли махсулотни миқдорини ошириш (оқиш тезлигини ўзгартириш ҳисобидан) имкониятини беради.

Учинчидан, ферментни иммобилизация ёки модификация қилиш уни хосса ва хусусиятларини керакли томонга ўзгариш жараёнларини ташкил қилиш мумкин. Иммобилизация қилинган ферментларни олиниши, ферментларни ҳаётга тадбиқ қилишни янги, авваллари имконияти бўлмаган йўллارини очиқ берди.

## 1.Иммобилизация қилиш усуллари

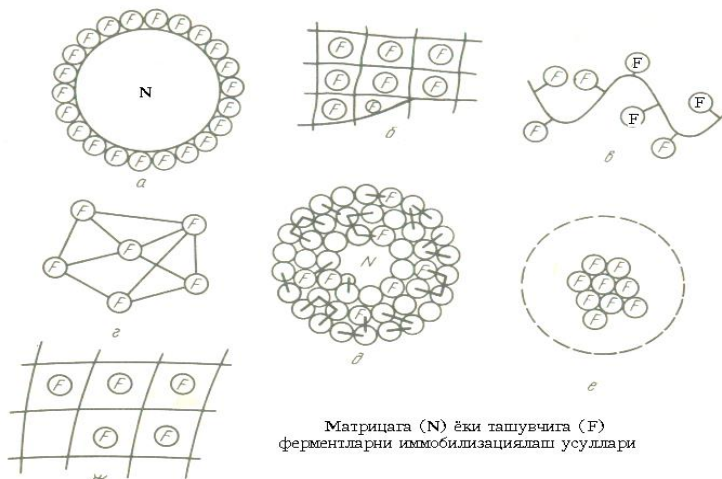
Иммобилизация қилиш усуллари иккига бўлинади:

- физикавий йўллар билан иммобилизация қилиш;
- кимёвий йўллар билан иммобилизация қилиш;

Ҳар қайси усулда иммобилизация қилишда қуйидагиларга эътибор бериш керак; "ташувчилар" (сорбентлар) нинг табиати ва физик-кимёвий хусусияти органик ва ноорганик табиатга эга бўлишлари мумкин.

Иммобилизация қилишга мўлжалланган "ташувчи" ларга қуйидаги талаблар қўйилади:

- кимёвий ва биологик мўтадиллик;
- механик нуқтаи назардан мустаҳкамлик;
- фермент ва уни субстрати учун ўтказувчанлик;
- технологик жараёнлар учун зарур бўлган шаклда олиниши
- осонлиги (гранула, мембрана, варақ ва хоказо ҳолатда).
- реакцион шаклда тез кириши;
- юқори гидрофиллиги (иммобилизация жараёнини сувли муҳитга ўтказиш учун);
- арзонлиги.



Табиийки, бу талабларни барчасига жавоб бераоладиган ташувчилар йўқ. Шу сабабли ҳам иммобилизация учун жуда ҳам кўп материаллардан фойдаланишга тўғри келади.

## 2. Органик полимерли ташувчилар

Бундай полимерларни икки синфга бўлиш мумкин: табиий полимерлар ва сунъий полимерлар. Ўз навбатида табиий полимерларни ҳам биокимёвий хоссаларига қараб гуруҳларга бўлиш мумкин; полисахаридлар; оксил, липид табиатли ташувчилар. Сунъий, яъни синтез йўли билан олинган полимерлар ҳам гуруҳларга бўлинади, масалан, макромолекуларни асосий занжирни кимёвий тузилишига қараб, полиметиленик, полиамидлик, полиэфирлик ташувчилар ва х.к.

Иммобилизация қилиш усулли, ферментни хусусиятини ва ишлатилишига қараб, "ташувчи"ларга бир қатор қўшимча талаблар қўйилади: ковалент иммобилизация қилинганда "ташувчи" ферментни фаоллигини белгиловчи қисми билан боғланмаслиги лозим; (ферменти фаоллик маркази ўз холда бўлиши шарт), фермент фаоллигини пасайтириш хусусиятлари бўлмаслиги шарт.

Иммобилизация қилиш жараёнида қуйидагиларни билиш лозим; "Ташувчи" ва фермент ҳар хил зарядларга эга бўлсалар, иммобилизация жараёни тез ва мустаҳкам кечади, аксинча бир хил зарядга эга бўлсалар жараён кийин кечади; "ташувчини" заррачалари қанча кичик бўлса, сорбция қилиш хусусияти шунча баланд бўлади. Иммобилизация жараёнида кўпроқ полиметиленик типдаги "ташувчи" лар бошқаларга нисбатан кенгрок ишлатилади.

## 3. Физик усулларда иммобилизация қилиш

Юқори кўрсатиб ўтилганидек, ферментни иммобилизацияси дейилганда, уни (ферментни) қандай бир алоҳида фазага киритилиши сув фазасидан ажралиб турадиган ва шундай вазиятда ўзини асосий хусусияти - субстрат ёки эффекторлар билан алоқада бўлиш имкониятидан жудо бўлмаслигини тушинилади.

Шу аниқликдан келиб чиққан холда, физикавий иммобилизация қилиш усуллари тўрт гуруҳга бўлиш мумкин:

сувда эримайдиган "ташувчи" ларга адсорбция қилиш;

гель тешикчаларига киритиш;

ярим ўтказгич мембраналар ёрдамида ферментни реакцион тизимини бошқа қисмидан ажратиш;

ферментни икки фазалик реакцион муҳитга киритиш, бундай

шароитда фермент сувда эрувчан бўлади ва иккинчи фазага кира олмайди.

Келтирилган классификация шартлидир, чунки бу усуллар орасида аниқ ажримларни ўрнатиш мумкин эмас. Масалан, гель тешикчиларига киритиш усули билан иммобилизация қилишни, ярим ўтказгич мембраналар орқали ажратиш туриш деб ҳам қараш мумкин. Шунга қарамасдан бу классификация

физикавий усуллар билан иммобилизация қилишни бир тизимга солишда ёрдам бера олади.

Адсорбция қилиш орқали иммобилизация қилиш, энг кўхна усулларида хисобланади. Юқорида айтиб ўтилганидек, 1916 йилда Дж.Нильсон ва Э.Грифин инвертаза ферментини фоаллаштирилган кўмирда ва алюминий гидроксиди гелида иммобилизация қилганлар. Худди шу усулдан кейинроқ, 1969 йилда И.Шибата L-аминоацилаза ферментини иммобилизация қилишда фойдаланган. L-аминоацилаза ферменти N-ацетил-DL- аминокислоталарни бир бирларидан ажратишда саноат миқёсида хозиргача ишлатилиб келинмоқда. Умуман адсорбция усулида иммобилизация қилиш бошқа усуллардан осонлиги, вазифани тез бажариш мумкинлиги, ташувчиларни арзонлиги ва бошқа бир қатор устунликларга эга бўлганлиги учун ферментлар муҳандислигида кенг қўлланилиб келинмоқда.

#### 4. Адсорбцион иммобилизация қилиш учун "ташувчи" лар

Адсорбцион иммобилизация учун ишлатиладиган "ташувчи" ларни икки синфга - органик ва ноорганик ташувчиларга бўлиб ўрганиш мумкин.

Ноорганик ташувчилар сифатида кремнезем, алюмин, титан ва бошқа элементлар оксидлари, алюмосиликатлар (лойлар), шиша, сопол, фоаллаштирилган кўмир ва бошқалар кенг ишлатилади.

Органик ташувчилар орасида кенг тарқалганлари хар хил полисахаридлар полимерли ионалмашув смолалари, коллаген, товук суяклари ва бошқалардир. Ташувчилар кукун, кичик шарчалар, гранулалар сифатида ишлатилади. Баъзи бир ҳолатларда, гидродинамик қаршилиқни пасайтириш мақсадида, тор параллел каналлар сақловчи монолитлар сифатида ҳам чиқарилади.

Ташувчиларни энг асосий хусусияти сорбция қилиш қобилияти, тешикчаларини ўлчами, механик ва кимёвий барқарорлигидир.

#### 5.Адсорбцион иммобилизация қилиш усуллари

Адсорбция қилиш йўли билан иммобилизация қилиш энг содда усуллардан бўлиб, фермент эритмасини "ташувчи" билан аралаштириш йўли билан амалга оширилади. Ёпишмасдан ферментни ювиб ташлагач, иммобилизация қилинган фермент ишлатилишга тайёр бўлади. Адсорбцион иммобилизация қилинган ферментларни олиш учун куйидаги услубий кўрсатмалардан фойдаланади.

Статистик усул энг осон йўл бўлиб "ташувчи" фермент эритмасига ташланиб (солиниб) ҳосил бўлган аралашма, маълум вақтга ташлаб қўйилади. Иммобилизация ферментни ўз ўзидан диффузияси туфайли бошланиб, адсорбция билан тугалланади. Бу усулни камчилиги, фермент эритмаси билан "ташувчи" аралашмаси узок вақт (бир неча кунга) ташлаб қўйилиши лозим. Лаборатория шароитида кўпроқ аралаштириш усули ишлатилади. Бу усулда статистик усулдан фарқли ўлароқ фермент эритмаси билан "ташувчи" доимий равишда аралаштириб турилади.

Аралаштириш учун магнит аралаштиргич, механик аралаштиргич ёки микробиологик тебратгичдан фойдаланиш мумкин. Бу усул олдингисидан анча устун туриб "ташувчи" сатҳида ферментни бир текис жойланишини

белгилаб беради. Баъзида адсорбцион иммобилизация қилиш учун электрочўктириш усулидан фойдаланилади. Бунинг учун фермент эритмасига иккита электрод туширилади, улардан биттасини сатҳида бир қатлам "ташувчи" суртилган бўлади. Электродлар токка уланганда фермент сатҳидаги фаол гуруҳлар ( $-\text{NH}_2$ ;  $-\text{COOH}$  ва х.к.) ҳисобидан "ташувчи" сақланаётган электрод томонидан ҳаракат қилади ва уни сатҳида чўқади.

Технологияда фойдаланиш учун энг қулай усул - колонкалардан ўтказиш усулидир.

Бу усулни икки модификацияси бор, улардан биридан "ташувчи" тўлдирилган колонкадан тепадан пастга қараб, микронасослар ёрдамида фермент эритмаси ҳайдалади, икинчисида эса тескариси, фермент пастдан тепага қараб йўналтиради. Бу усулни афзаллик томони, ферментни ҳайдаш, ювиш, ва кейинги ферментатив жараёнлар, ҳеч қандай манипуляциясиз бир колонкани ўзида олиб борилади.

#### 6. Фермент ва "ташувчи" орасидаги адсорбцион ўзаро таъсирнинг табиати

"Ташувчи" сатҳида адсорбция бўлган фермент молекулалари ҳар хил кучлар ҳисобига, хусусан носпецифик Ван-дер-Ваальс, электростатик, ўзаро таъсирлар, водород боғлари ва гидрофоб боғлар ҳисобига амалга оширилади. Санаб ўтилган боғларни нисбий иштироки фермент молекуласидаги фаоллик гуруҳлари ёки "ташувчи"нинг кимёвий табиатига боғлиқ бўлади. Кўпчилик ҳолларда асосий вазифани электростатик ўзаро таъсирлар ва водород боғлари ташкил этади.

Баъзи вақтларда ўзаро таъсир кучи оқибатида "ташувчи"нинг тузилиши бузилишигача бориш мумкин. Масалан, баъзи ўсимлик хужайраларини цитодекс гранулаларига адсорбция қилинганда хужайра девори деформацияга учрагани кузатилган.

#### 7. Ферментлар адсорбциясига таъсир этувчи омиллар

Адсорбция ўтиш жараёни ва фермент билан "ташувчи" орасидаги боғни мустаҳкамлиги, кўпчилик ҳолларда иммобилизация қилиш шароитига боғлиқ бўлади.

Фермент адсорбциясига таъсир этувчи омилларга қуйидагилар киради: ташувчини ғоваклиги ва сиртини фаоллигидир.

Ташувчини сорбция қилиш ҳажми унинг сиртини фаоллигига тўғри пропорционал оксил ёки ферментга келганда бу қонуният фақатгина ташувчини ғоваклиги оксил молекуласидан анчагина катта бўлгандагина ўз кучини саклайди. Ташувчини ғоваклиги жуда кичик бўлганда, ферментлар ғовакларга сиғмасалар, ферментлар учун ташувчилар сатҳининг маълум бир қисмигина фойдали бўлади ҳолос.

Бундай пайтларда ташувчининг сорбция қилиш имкониятлари жуда кам бўлади, бошқача қилиб айтганда, ғоваклар қанча кичик бўлса, ташувчининг адсорбция қилиш имкониятлари шунча кам бўлади. ~овакларни мўтадил



ҳажмини ҳисоблашни биринчилардан бўлиб буни 1976 йилда Р.Мессинг таклиф этган.

У шиша ва сопол материаллардан ташувчи сифатида фойдалана туриб, уларни ғовакларини катталигини (ҳажмини) ўлчаб чиқди ва ғовакларни катталиги фермент бўйидан тахминан 2 маротаба катта бўлган холларда ташувчини адсорбцион имкониятлари максимум бўлишини тажрибалардан исботлаб берди.

Бундай ҳолда субстратни молекуляр ўлчами ферментдан анча кичик бўлмоғи ва сорбция қилинган фермент ғовакларига бемалол кириб туришлари лозим, албатта.

Субстрат молекуласининг ҳажми ферментниқидан катта бўлган холларда ташувчининг ғоваклиги субстрат молекуласи билан белгиланади. Баъзи бир холларда субстратни ўзи ташувчи вазифасини бажариши ҳам мумкин. Масалан, целлюлаза ферментини иммобилизация қилиш учун унинг субстрати бўлган целлюлозадан кенг фойдаланилади.

## 8. pH белгилари

Реакция муҳити иммобилизация қилиш жараёнида жуда катта аҳамиятга эга, айниқса сорбция, электростатик ўзаро таъсир ёрдамида амалга оширилган ҳолатларда.

Бунга асосий сабаб pH ўзгариши билан оксил ёки ташувчининг сорбция учун жавобгар бўлган ионоген гуруҳларни ионизацияси ўзгаради. Ионалмашув хоссаларига эга бўлмаган ташувчилардан фойдаланганда, сорбция оксил ёки ферментни изоэлектрик нуқтасида амалга оширилса яхши натижа беради.

Аммо бу қонуниятни четлаб ўтиш ҳоллари ҳам учраб туради. Масалан, альбуминни латексга сорбция бўлишини ҳар хил pH да ўрганиб чиқилганда бу жараёни pH га алоқадорлиги W симон бўлганлиги, кўмирда адсорбция қилинганда эса мўтадил pH 3 дан 6 гача ўзгариши, бу ўзгариш кўмирни табиатиға боғлиқлиги исботланган.

## 9. Ион кучи

Фермент билан ташувчи орасидаги боғланишни кучига таъсир кўрсатувчи омилдир. Тузларни юқори миқдорда ташувчи сиртидан электростатик йўл билан боғланган ферментни сиқиб чиқаради.

Бошқача қилиб айтганда, ион кучини ошиши билан ферментни десорбцияси ошиб боради. Баъзи ҳолларда бунга аксинча таъсир ҳам учраб туради, буни оксилни "тузланиши" деб аталади.

## 10. Ферментнинг миқдори

Эритмада ферментни миқдори ошиб борган сари, уни сорбция бўлиши ва иммобилизация бўлган ферментни каталитик фаоллиги ошиб боради.

Иммобилизация бўлган фермент фаоллигини, эритмадаги фермент миқдорига нисбатан таққослаб ўрганганда шу нарса маълум бўлдики, ферментни эритмадаги миқдорини ошиб бориши билан маълум нуқтагача ферментни каталитик фаоллиги ошиб боради ва ундан кейин ўзгармасдан қолади ва ҳатто камайиши ҳам мумкин.

Текширишлар шуни кўрсатдики, ферментни фаоллиги ташувчи сатҳини бутунлай қоплаб олгунга қадар фаоллик ошиб боради, кейин эса фермент 2-чи, 3-чи қават ҳосил қилади ва х.к. Охирида, ташувчининг энг тепа қисмида ёпишган ферментлар фаоллик кўрсатади, тагида қолганлари эса субстрат билан алоқа қилаолмайдилар ва ўз-ўзидан "ишсиз" қоладилар. Шунинг учун ҳам иммобилизация бўлган ферментни фаоллиги камаяди.

### 11. Харорат

Хароратни ошиши адсорбция жараёнига икки хил таъсир қилади. Биринчидан, хароратни ошиши ферментни инактивациясига (денатурация) олиб келади, иккинчи томондан эса хароратни ошиши ферментни ташувчи ғовакларига диффузиясини кучайтириш ҳисобидан, фермент фаоллигини ошишига олиб келади.

Демак, адсорбция йўли билан иммобилизация қилишни мўтадил шароити бўлиш керак. Бундай харорат адсорбция қилинадиган ферментни табиати ва ташувчи сатҳига боғлиқ бўлиб, ҳар бир фермент ёки ташувчи учун қатор тажрибалар орқали топилади.

Шундай қилиб, ферментларни адсорбция йўли билан иммобилизация қилиш бир қатор омилларга боғлиқ бўлиб, фақат тажрибалар асосида аниқ топилади. қуйида фермент билан ташувчи орасидаги боғни кучайтиришга хизмат қилувчи омиллар ҳақида фикр юритамиз.

### 12. Ферментни ташувчи билан боғланиш кучини оширувчи усуллар

#### 12.1. Олдиндан модификация қилинган ташувчиларга иммобилизация қилиш

Ташувчининг олдиндан модификация қилиш адсорбция кучини кескин оширишга олиб келади. Бундан ташқари, фермент молекуласи атрофида махсус шароитлар яшаш ҳисобидан, олдиндан модификация қилинган ташувчида иммобилизация қилинган ферментни каталитик хусусияти ҳам ортиб боради.

Бунинг устига, олдиндан модификация қилмаслик адсорбция қилинган ферментни фаоллигини бутунлай йўқолишигача олиб келиш мумкин. Масалан, агар ферментни мўтадиллиги нордон шароитда паст бўлса, силикагельга сорбция қилинган ферментни фаоллиги бутунлай йўқолади, чунки, силикагельни сатҳи нордон муҳитга эга ( $pH \approx 4,0$ ).

Бундай шароитда, иммобилизациядан олдин силикагельни маълум pH га эга бўлган буферда ферментни мўтадил pH га тўғри келган pH да сақлаб туриш лозим бўлади.

Худди шундай муаммо, фаол марказида металл сақлайдиган ферментлар билан ишлаганда келиб чиқади. Бунга сабаб, баъзи бир ташувчилар ўзларига металл ионларини тортиб олиш қобилиятига эгалар. Бундай ташувчиларда адсорбция қилинган ферментлар, ўз фаол марказидаги металл чиқиб кетиши ҳисобидан фаолиятларини йўқотишлари мумкин. Бу ҳолни бартараф этиш учун, ташувчини махсус металл ионлари сақлаган эритмаларда узоқ вақт

ушлаб туриш ва шу туфайли уни металл ионига нисбатан бўлган эҳтиёжини қондириш мумкин бўлади.

Ташувчиларни металл ионлари билан тўйинтириш адсорбция йўли билан иммобилизация қилишни мўтадиллаштиришда ҳам ишлатилади. Ташувчи сирти металл ионлари билан тўйинтирилганда (бунинг учун Ti, Sn, Zr, V ва Fe ишлатилади), ферментни сорбция қилиш хусусияти ортади, бунга сабаб металл иони фермент билан ташувчи орасида кўприк бўлиб хизмат қилишидир. Иммобилизациянинг бу усули, целлюлоза, нейлон шиша филтр қоғоз каби ташувчилардан фойдаланганда яхши натижалар бериши исботланган.

## 12.2. Олдиндан модификация қилинган ферментларни иммобилизация қилиш

Ионалмашувчи ташувчиларга адсорбция йўли билан иммобилизация қилишда изоэлектрик нуқтаси ва рН –мўтадиллиги бир-бирига яқин бўлган ферментлар билан ишланганда қатор муаммолар пайдо бўлади. Фермент билан ташувчи орасидаги мустахкам боғланиш фақатгина, изоэлектрик нуқтадан узокроқ бўлган рН да, яъни ферментни каталитик хусусияти паст бўлган шароитда амалга оширилади. Шунинг учун, ҳам ферментни олдиндан модификация қилиш, яъни фермент молекуласига янги ионоген гуруҳлар (поликислоталар, карбоксиметил, целлюлоза, янтарь кислотаси ва х.к.) киритиш мақсадга мувофиқ бўлади. Масалан, L-химотрипсин хлортриазинли ранг билан аралаштирилганда, уни изоэлектрик нуқтаси ишқорий томонга силжиши, ва шу туфайли фермент кўпгина ташувчиларга адсорбция бўлиши, оқибат натижада эса каталитик фаоллиги сақланиб қолиши исботланган. Бошқа бир мисол, L-химотрипсинни КМ-целлюлоза билан модификация қилинганда, фермент нейтрал рН муҳитида ДЭАЭ-целлюлозада ёки ДЭАЭ-сефадексга фаоллиги сақланган ҳолда иммобилизация бўлади.

## 12.3. Фермент ташувчи боғини мустахкамлигига таъсир этувчи бошқа омиллар

Иммобилизация бўлган ферментни ташувчи сатхидан осон ювилиб кетмаслиги учун адсорбция қилинган фермент қатлами бифункционал агентлар билан ишлов берилади. Натижада, ташувчи сатхида ферментларни бир-бирларига боғланган ҳолатидан иборат юпқа пленка ҳосил бўлади. Бифункционал агент сифатида глутаральдегид, госсипол ва бошқаларни ишлатиш мумкин.

Иммобилизация қилишни оригинал йўли профессор К.Мартинек томонидан намоиш этилган. Бунинг учун қисман кимёвий деструкцияга учраган нейлон ипларидан фойдаланилади. Ташувчи, фермент эритмасига солинади ва механик тортилади, натижада нейлонни ғоваклари йириклашиб, унга ферментнинг жойлашиши осонлашади. Маълум вақтдан кейин тортиб турган куч олинади ва нейлон яна ўз ҳолатига келади, фермент эса ғовакларда сиқилиб қолади. Электр токи ёрдамида ушлаш усули, иммобилизациянинг янги усуллари билан бўлиб, мембраналар ёрдамида

ажратилган электродлар билан коллекторларда электр майдони ҳосил қилинади. Коллектор қилиб силикагел, ион алмашув смолалари, минераллар ишлатилиши мумкин. Фермент коллекторларда электростатик ва диполь-диполлик ўзаро таъсир кучлари орқали ушланиб қолади. Бу усулни ёмон томони шундан иборатки, иммобилизация тизими ҳамиша электр токи таъсирида бўлиши шарт. Ток узилса ёки ўчса фермент ташувчидан ювилиб кетади.

### 13. Адсорбция йўли билан иммобилизация қилишнинг афзаллиги ва камчиликлари

Афзаллиги	Камчилиги
Сорбентнинг арзонлиги	Фермент ва ташувчи орасидаги боғни мустаҳкам эмаслиги
Экспериментларни осонлиги	Умумий ягона йўриқномани йўқлиги
Бир вақтни ўзида ферментни тозалаш мумкинлиги	

### 14. Гель ичига киритиш йўли билан иммобилизация қилиш

Бу усулни мохияти шундан иборатки, фермент молекуласи, қаттиқ тўқилган полимер занжирларидан иборат бўлган гель ҳосил қилувчи учламчи элақларга ўрнатилади. Занжир боғлари орасидаги масофа фермент молекуласидан кичик бўлгани учун, у маҳкам сиқилиб туради ва полимердан чиқиб кета олмайди. Фермент билан ташувчи орасидаги боғни мустаҳкамлигини оширувчи омил ролини фермент ва ташувчи гель орасида пайдо бўлган водород боғлари ҳам ўйнаши мумкин.

Полимер занжирлари орасидаги бўшлиқ сув билан тўлдирилган бўлади. Масалан, акрил кислотаси ҳосилалари асосида пайдо бўлган гелда, унинг миқдорига қараб, 50 дан 90% гача сув бўлиши мумкин.

Ферментларни гелда иммобилизация қилишнинг икки усули бор. Биринчиси, фермент мономер эритмасида эритилади сўнгра полимеризация қилинади. Бундай эритмага кўпчилик ҳолларда бифункционал агентлар ҳам қўшилади.

Иккинчиси, П.Бертфельд ва Дж.Уэнлар ишлатган N-N' метилен-бисакриламидни полимеризация қилиш асосида олинадиган иммобилизацияланган ферментлар.

Гельга киритиш йўли билан иммобилизация қилиш усули ўзининг соддалиги билан ажралиб туради. Бу усул билан ферментни хоҳлаган геометрик конформацияда (сферик заррачалар ва х.к.) олиш ва ферментни ташувчи ичида бир текис тарқалишига эришиш мумкин.

Кўпчилик полимер геллар ўзларининг механик ва кимёвий иссиққа чидамлилиги билан ажралиб туради. Бу хусусиятлар эса ферментларни бир неча маротаба ишлатиш имконини беради. Бу усул универсал усул бўлиб нафақат барча хилдаги ферментлар, балки полифермент тизимлар, хужайра

ва хужайра фрагментларини иммобилизация қилиш учун ҳам тўғри келади. Бу усулни ижобий томонларидан яна бири - уни ферментга мўтадиллик бериш имкониятидир. Ва нихоят бу усулда иммобилизация қилинган фермент, бактериологик зарарланишдан қўрқмайди чунки, фермент молекуласидан катта бўлган бактериялар гелни ичига кира олмайдилар.

Усулнинг энг катта камчилиги баъзи бир ҳолатда полимер матрикслари субстратни диффузиясиги ҳалақит беради ва шу туфайли ферментни фаоллиги паст бўлиши мумкин. Шундай экан, субстрат сифатида юқори молекулали моддалар ишлатилганда бу усулдан бутунлай фойдаланиш мумкин эмас.

#### 15. Ярим ўтказгич мембраналар ёрдамида иммобилизация қилиш

Бу усул кичик молекулали субстратни сувдаги эритмаси, катта молекулага эга бўлган фермент эритмасидан ярим ўтказгич мембрана ёрдамида ажралиб туришига асосланган. Ярим ўтказгич мембрана субстратни осон ўтказди, фермент эса мембранадан ўта олмайди. Бу усулни ҳар хил модификацияси, ярим ўтказгич мембраналарни олиш ва уларни табиати асосида яратилгандир.

Микрокапсулалаш - усули биринчи бўлиб, 1964 йилда Т.Чанг томонидан яратилган. Бу усул - ферментни сувдаги эритмасини микрокапсулалар ичига жойлаштиришдан иборат. Майда тешикли полимер плёнкалардан ташкил топган кичик коптокчалар ичидаги ферментларни ташқарига чиқиши белгилаб қўйилган. Капсулаларни олиш усулига қараб, уларни ўлчами ҳал хил бўлади (10 дан 100 микрометрча).

Микрокапсулалар олишнинг икки усули мавжуд бўлиб, биринчисида ферментни сувдаги эритмаси ПАВ (сирт фаол моддалар) сақловчи диэтилэфири билан кучли аралаштириш натижасида дисперс ҳолатга ўтказилади. ПАВ - бу ерда эмульгатор вазифасини бажаради. Хосил бўлган эмульсияга, тўхтатмасдан полимернинг эфирдаги эритмаси қўшиб борилади.

Полимер (нитрат целлюлоза), сувда эримаслиги сабабли эмульсияга теккан жойда юпқа мембрана микрокапсула хосил қилади. Тайёр бўлган микрокапсула центрифуга ёрдамида ёки филтрлаш йўли билан ажратиб олинади.

Микрокапсула хосил қилишнинг иккинчи йўли - икки модданинг фазалараро поликонденсация қилишига асосланган. Моддалардан бири сувнинг майда эмульсияларида иккинчиси эса органик фазада эриган бўлади. Кўп тарқалганлардан бири полиамид микрокапсуласи.

Бу микрокапсула 1,6-гексаметилендиамин (сув фазаси) ва себацин кислотасининг хлор гидриди (органик фаза) асосида олинади. Бу усул фақатгина юқори рН га чидамли бўлган (диамин эритмаси) ферментлар учун ишлатилиши мумкин. Микрокапсула хосил қилиш учун ишлатиладиган фермент эритмаси 10% атрофида инерт оксил моддаси (гемоглобин) сақлаши лозим. Бу оксил капсула ичида керакли босим бўлишини ҳамда ферментни мўтадиллигини таъминлайди. Ферментни мўтадиллигини ошириши учун

глутаральдегид билан ишлов беради, баъзида эса адсорбция ёки гелга киритиш йўли билан иммобилизация қилинади.

Баъзи ҳолатларда иммобилизация қилиш учун молекулалари ковалент боғланган оқсиллардан ташкил топган мембраналардан ҳам фойдаланилади.

Иккиламчи эмульгирлаш. Бу йўл билан иммобилизация қилганда, аввало ферментни сувдаги эритмасини органик полимердаги эмульсияси тайёрланади. Тайёр эмульсияни яна бир бор сувда дисперсия қилинади. Натижада, ферментни сувдаги эритмасини сақлаган органик моддани (полимерни) эмульсияси ҳосил бўлади. Вақт ўтиши билан органик эритма қотади, ва иммобиллашган фермент сақловчи полимер заррачалари ҳосил бўлади.

1972 йилда С.Мэй ва Н.Ли лар бу усулни модификация қилдилар ва мембрана ҳосил қилувчи материалар сифатида сувда эримайдиган полимер ўрнига катта молекуляр массага эга бўлган суюқ углеводородлардан фойдаланишни тавсия қилдилар. Бу усул суюқ мембраналарда иммобилизация қилиш деб аталди. Бундан ташқари толага киритиш, липосомага киритиш, микроэмульсия ҳосил қилиш каби бир қатор усуллар мавжуд.

#### 16. Ферментларни иммобилизация қилишининг кимёвий усуллари

Кимёвий усулларни бошқа усуллардан асосий фарқи кимёвий таъсир натижасида фермент билан ташувчи орасида қўшимча ковалент боғи пайдо бўлади. Бу усулда иммобилизация қилинган ферментларни камида иккита устунлиги бор. Биринчидан, фермент ва ташувчи орасидаги ковалент боғ, ҳосил бўлган конъюгатни юқори мустахкам қилади. Бошқача қилиб айтганда фермент иштирокида ўтадиган реакцияларни рН, ҳарорати ва бошқа кўрсаткичларини ўзгартириш, ферментни десорбциясига, шу туфайли олинадиган маҳсулотни ифлосланишига олиб келмайди.

Бу эса айниқса медицина, озиқ-овқат маҳсулотлари, аналитик ишлар учун реактивлар олишда ўта муҳим аҳамият касб этади. Иккинчидан, кимёвий модификация ферментни фаоллигини ва мўтадиллигини оширишига олиб келади. Фақатгина кимёвий йўл билан, кўп нуқталиқ боғланишлар натижасида ферментни мўтадиллигини ошириш мумкин. Бу усулни камчилиги, баъзи-бир ферментлар кимёвий модификация жараёнида ўз фаоллигини йўқотиб қўядилар.

## 2-қисм. ХУЖАЙРА ИНЖЕНЕРИЯСИ (ўсимликшунослик асосида)

### 6-мавзу. ХУЖАЙРА ВА ТЎҚИМА ИНЖЕНЕРИЯСИ

Режа:

1. Хужайра биотехнологияси ҳақида тушунча;

2. Хужайралар ва тўқималарни биотехнологик ажратишнинг йўналишлари;

3. Хужайра ва тўқималарни ажратишнинг усуллари.

### Хужайра биотехнологияси

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

Биотехнология узок - узоқлардан маълум бўлсада, алоҳида амалий фан сифатида ўтган асрни иккинчи ярмидан бошлаб, инсоният энг аввало ўзи учун ўта зарур бўлган яъни озиқ-овқат, энергетика, захира (ресурс), атроф – мухитни муҳофазаси ва х.к. муаммоларни тубдан янги асосда ечиши зарурлигини сезганидан кейин мужассамлана бошланди. Биотехнологик жараёнлар сунъий озуқа мухитида ўстирилган микроорганизмлар, ўсимлик ва хайвон тўқималари, хужайралари ва органларидан фойдаланишга асосланади. Хозирги вақтда дунёни кўплаб мамлакатларида биотехнологияни ривожланишига алоҳида эътибор берилмоқда. Бунга асосий сабаб, биотехнологияни бошқа технологияларга нисбатан бир қатор устунликка эгаллигидир. Масалан, биотехнологик жараёнлар жуда кам энергия талаб қиладилар, деярли чиқиндисиз, экологик тоза ва х.к. Шунинг билан бир қаторда, биотехнология стандарт жихозлардан ва препаратлардан фойдаланади ва иқлим шароитига қарамасдан ҳамда кўп майдон эгалламаган ҳолда жараёнларни йил бўйи ўтказишга асосланади. Айтиб ўтилган устунликлар, ўсимликларни ва хайвонларни хужайралари, тўқималари ва органларига ҳам тегишлидир.

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

Биринчи йўналиш ажратиб олинган ўсимлик хужайрасини тиббёт, ветеринария, косметика ва бошқа соҳалар учун зарур бўлган иккиламчи метаболитлар : алколоидлар, стероидлар, глюкозидлар, гормонлар, эфир мойлари ва бошқа биологик фаол моддалар синтез қилиш имконияти билан боғлиқ. Маълумки, иккиламчи метаболитлар қаттиқ (агарли) ёки суюқ озуқа мухитида ўстирилган каллус тўқималардан олинади. Хужайра технологияси асосида диосгенин – диоскоре хужайрасидан; аймолин – илон рацвольфи хужайрасидан; умумий куч берувчи моддалар – женьшен хужайрасидан; ва х.к. ажратиб олинади ва тиббиёт ҳамда парфюмерияда ишлатилади. Шунинг эътиборга олиш керакки, ўстириладиган хужайраларни ҳосилдорлиги, бутун ўсимликни ҳосилдорлигидан анча баланд. Бундай усул билан иккиламчи метаболитлар ажратиб олишни яна

бир устунлик томони шундаки, муайян шароитда ўсимликни ўзини ўстириш имконияти бўлмаган шароитда (совуқ ёки иссиқ иқлимли минтақаларда), уларни хужайраларини бутун йил мабойинида ўстриш мумкин.

Иккинчи йўналиш – ажратиб олинган хужайраларни, ўсимликлар селекциясида ишлатиш ва шу орқали тез ривожланувчи, хар хил ташқи мухит таъсирига чидамли (иссиққа, совуққа, шўрланишга, оғир металлларга, қурғоқчиликка, касалликка ва х.к.) ўсимликлар яратиш. Шунинг билан бирга бу йўналиш, ажратилган протопластларни кўшилиши орқали янги ўсимликлар яратиш ҳамда ножинсий (сомотик) гибридлар олишни ҳам ўз ичига олади. Ажратиб олинган протопластларга ген мухандислиги методлари ёрдамида бегона генларни киритлиши, кейинчалик янги, мерос қоладиган хоссаларга эга бўлган ўсимлик яратишга ҳам олиб келади. Ажратиб олинган чангдон ва уруғ куртакни сунъий озуқа мухитида ўстириш, гаплоидлар, олиш имконини берса, муртакларни ўстириш – ўсаолмайдиган (эндоспермаси ёмон ривожланган) ўсимликлардан гибрид уруғларетиштириш имконини беради.

Учинчи йўналиш – ажратиб олинган тўқималарни кўпайтириш ва экув материалларини вируслар ва бошқа патогенлардан соғломлаштириш мақсадида ишлатиш. Бу усул, ўсимликларни клонал микрокўпайтириш дейилади ва битта медистемадан йилига юз минглаб ўсимлик олиш имконини беради.

Хужайра ва тўқималар культураларини ишлатишдаги натижалар биринчи навбатда хужайраларни бўлиниши, уларни табақаланиши ва улардан ўсимлик ўсиб чиқишини белгиловчи, физиологик жараёнларни оптимизациясига боғлиқ. Энг мураккаб томон бу алохида хужайрадан ўсимлик регенерация қилиш. Биринчи навбатда бу бошоқли ўсимликларга тегишли. Шунинг учун ҳам *in vitro* шароитда морфогенез регенерация ва уларни асосида ётган жараёнларни механизмларини аниқлаш, энг мухим ахамиятга эгадир.

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

- I-босқич (1892 – 1902 йиллар) – Хаберландт, Фехтинг, Рехтигер каби немис олимларини номлари билан боғлиқ. Улар сахароза эритмасида хар хил ўсимликлар тўқималарини ўстиришга уриниб кўришган, аммо ўсимликларни ўсиши кузатилмаган. Фақатгина қоқи ўтини ва тол дарахтини пояларини сигментлари учун бирламчи каллус олинган ва каллусгенезга айланиши мумкин бўлган сегментин энг кичик размери аниқланган. Экспериментал муваффақиятларга етаолмасдан бу олимлар қатор ғоя ва гипотезалар яратганлар. Бу ғоя ва гипотезалар анча кечирок ўз тасдиқини топган. Масалан, Харерландт хар қандай тирик ўсимлик хужайрасини тотипотентлиги яъни хужайраларни маълум шароитда



ўстирилганда ўзини ривожланиш потенциалини намоён қилиши ва бутун ўсимлик хосил бўлишига бошлаши ҳақида гипотеза эълон қилган эди.

- II-босқич (1902-1922 йиллар) – хайвон тўқималарини ўстириш учун биринчи озуқа мухити яратилганлиги билан нишонланади. Бу озуқа мухитлари табиий бўлиб, таркибида қон плазмаси (қонни суюқ қисми) ва куртак суюқлиги сақлаган. Ажратиб олинган ўсимлик тўқималарини ўсимлик экстрактлари сақлаган сунъий озуқа мухитида ўстириб кўриш мувоффақиятсиз чиққан, чунки экспериментларда юксак ўсимликларни ўсиш фаоллигини намоён қилишга тўғри келмайдиган хужайра ва тўқималаридан фойдаланилган.
- III-босқич (1922 – 1932 йиллар). Бу даврда бир-бирлари билан боғлиқ бўлмаган ҳолда Америкалик олим В.Робинс ва немис олими Котте қаттиқ озуқа мухитида помидори ва маккажўхори илдизи учигаги меристемаларни ўстириш мумкин эканлигини намоёни қилганлар. Аммо, маълум вақт ўтгач, ўсимлик тўқималари кўнғир рангга кириб, ҳалок бўлганлар. Ўсимликларни тўқималарини ўстириш методи ривожланиши – 1932 йилдан бошланган.
- IV-босқич (1932 – 1940 йиллар), француз олими Р.Готре номи билан боғлиқ. У, *in vitro* шароитида ўсимлик тўқималарини вақти- вақти билан тоза озуқа мухитига кўчириб туриш орқали узоқ вақт ўстириш мумкинлигини намоёни қилган. Бу янгилик, тўқималар технологиясини ривожланишига катта ҳисса қўшди ва ўстиришга қўйиладиган ўсимликлар сони жуда ҳам кпайди.
- V-босқич (1940 – 1960 йиллар). 1955 йилда янги синфга мансуб фитогормон – цитокининларни ихтиро қилиниши, (хусусан кинетинни) хужайраларни бўлинишини кучайтириш имконини яратади. Ўсишни кучайтирувчи моддаларни миқдори ва уларни нисбатига қараб, эксплант хужайрасини бўлинишини кучайтириш, каллус тўқималарни ўсишини муҳофаза қилиш, морфогенезни мндуцироват қилиш мумкин эканлиги намоёни этилди.Шу даврда какос ёнғоғини, каштан, маккажўхори ва бошқа ўсимликлар эндоспермаларини хужайрани ўсиши, моргенез жараёнлари (каллус тўқима ва хужайра суспензиясида)га ижобий таъсир кўрсатиши аниқлашган.
- VI-босқич (1960 – 1975 йиллар). Бу даврни энг муҳим воқеаси Ноттинген университети профессори Э.К.Коккинг томонидан ферментатив йўл билан помидорини илдизи ва мевасидан протопластлар олиниши ва уларни назорат қилиниб турилган шароитда ўстирилганлиги бўлган. Кейинроқ шу лабораторияда Пауэр ўзини шогирдлари билан протопластларни сунъий кўшилиш шароитларини яратишган. Бу эса, соматик гибридлар яратишда янги йўл бўлиб хизмат қилган. Ўша даврда яратилган яна бир усул – бу ўсимликларни *in vitro* шароитида меристин культуралар ишлатиб микро кўпайтиришдир. Дастлаб бу усул француз олими Ж.Морел томонидан орхидей ўсимлигини соғлом кўчатини олиш мақсадида яратилган.
- VII-босқич – (1975 йилдан ҳозирги вақтгача). *In vitro* техникасини жадаллик билан ривожланиши ўстириладиган манбаларни биологиясини

Ўрганиш давом этмоқда ажратилган протопластларни электроковуштириш усуллари ишлаб чиқилмоқда, мутагенез ва хужайра селекцияси усуллари, гаплогидли ўсимликлар яратиш усуллари, хужайраларни ажратилган протопластлар ва Ti ва Ri Agrobacterium tumefaciens ва Agrobacterium rhizogenes асосида тайёрланган Ti ва Ri плазмид векторларни ишлатиб суяқликда ўстириш усуллари мукамаллаштирилмоқда. Ген мухандислиги усуллари ёрдамида икки паллали ўсимликларни генларини кўчириб ўтказишни самарали усуллари ишлаб чиқилди.

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

## 7-мавзу. АЖРАТИБ ОЛИНГАН ХУЖАЙРА ВА ТЎҚИМАЛАРИНИ ЎСТИРИШ ТЕХНИКАСИ

Режа:

1. Тўқималар билан ишлашнинг асосий шартлари ва шароитлари;
2. Озуқа мухитлари ва уларни тайёрлаш;
3. Ўстириш шароитлари.

Ажратиб олинган тўқималар билан ишлашни асосий шарти – стерилликга қатъий риоя қилишдир. Таркиби бой бўлган озуқа мухити микроорганизмларни ривожланиши учун ҳам жуда яхши субстрат ҳисобланади, ўсимликлардан ажратиб олинган фрагментлар (эксплантлар) озуқа мухити билан аралаштирилганда микроорганизмлар таъсирига тез учрайдилар. Шунинг учун ҳам эксплантни ҳам, озуқа мухитини ҳам стерилизация қилиш керак. Ажратилган хужайралар ва тўқималар билан қилинадиган барча нозик ишлар (манипуляция) асептик шароитда (ламинар-боксларда) стерилланган ускуналар ёрдамида бажарилади. Ажратилган тўқималарни ўстириш даврида ҳам стерилликни сақлаш керак, айниқса харорат ва намлик ўзгарганда, чунки пробиркаларни пахта-бинтдан тайёрланган тикинчалари намланади ва ундан микроорганизмлар осон ўтишади.

Эксплантни стерилизацияси, шунингдек уруғлар ҳам 5-20 минут давомида стерилизация қилувчи эритмада ушлаб туриш, кейин эса стерил сув билан ювиб ташлаш орқали амалга оширилади. Стерилизация даври эксплантни характериға ҳамда эритмани стерилизация қилиш хусусиятиға боғлиқ. Одатда уруғ 10-20 мин, вегетатив қисмлар эса 5-10 мин. давомида стерилизация қилинади. Стерилизация қилувчи эритмаларға мисоллар 3.1-жадвалда кўрсатилган.

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

3.1-жадвал.

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

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

Стерилизация кейин ўсимлик объектлари стерилланган сув билан тозалаб ювиб ташланиши керак. Сиртки стерилизация эксплантни фақат ташқи инфекциядан озод қилади. Агар эксплант тўқималари ички инфекцияға эга бўлсалар, уларға антибиотиклар билан ишлов беришға тўғри келади. Айниқса ички инфекцияға йирик томирли тропик ва субтропик ўсимликлар бой бўлишади. Культураларни замбуруғлар ёки бактериялар билан ифлосланиши экилгандан 1-14 кун ўтганда кўзга ташланади. Ёруғлик хонасидаги хавони ифлосланишдан сақлаш учун, ифлосланган культурани дархол йўқотиш керак.

Озуқа мхитларини автоклавда, 120<sup>0</sup>С да 0.75 – 1,0 атм. босимда 20 минут давомида стерилизация қилинади. Агар озуқа мухити таркибига юқори

хароратда парчаланадиган моддалар кирса, уларни алохида совук стерилизация қилинди. Уларни тешиклар диаметри 0,22–0,45 мкм, бўлган бактериал филтрлардан ўтказилади ва автоклавдан чиққан озуқа мухитини 40<sup>0</sup>С гача совутиб, кейин уларни аралаштирилади. Олдиндан фольгача ёки ўрайдиган қоғозга ўралган идишларни куруқ иссиқ билан, қуритгич шкафларида 160<sup>0</sup>С да икки соат давомида стерилизация қилинади.

### Озуқа мухити

Ажратиб олинган хужайралар ва тўқималарни ўстириш учун мўлжалланган озуқа мухитлари, ўсимликларни яхши ўсиши учун керак бўлган барча макроэлементлар (азот, фосфор, калий, кальций, магний, олтингугурт ва бошқалар) ва микроэлементлар (бор, марганец, рух, мис, молибден ва бошқалар) ҳамда витаминлар, углеводлар, фитогормонлар ёки уларни синтетик аналогларини сақлаши керак. Баъзи озуқа мухитлари аминокислоталар, казсин гидролизоти, ЭДТА (этилендиаминтетрасирка кислота) ёки уни натрийли тузи (бу туз темирни хужайра киришига ёрдам беради) ва бошқа керакли моддалар сақлайди.

Каллус тўқима олиш учун, алохида холларда озиқа мухитига кокос ёнғоғини (какос сути), каштан дарахтини эндоспермасини қўшилади. Карбон сувлар озуқа учун энг керакли компопенентлар хисобланади. Бунга сабаб, кўп холларда ажратиб олинган хужайра ва тўқималарни автотроф озиқланишга қурблари етмайди. Карбон сув сифатида кўпроқ 2-3 % ли сахароза ёки глюкоза эритмасидан фойдаланилади.

Фитогормонлар хужайраларни табақаланиши (дедифференцировки) ва хужайра бўлинишини кучайтириш (индукция) учун керак. Шунинг учун ҳам каллусли тўқималар олиш учун мўлжалланган озуқа мухити таркибида албатта ауксинлар (хужайра бўлинишини кучайтирувчи) бўлиши шарт. Поя морфогенезини индукция қилганда мухит таркибидаги ауксинлар миқдорини камайтириш ёки бутунлай олиб ташлаш мумкин.

Гормон сақламайдиган озуқа мухитида шиш ва «ўрганган» тўқималар ўсади. Хар икки гурух гормонларига ёки улардан бирортасига автономлик, бу хужайраларни ўзларини гормон синтезқилиш хусусияти билан боғлиқ.

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

Сунъий озуқа мухитига қўшиш учун, цитокинин манбаи сифатида, кинетин, 6-бензиламинопури (6-БАП) ва зеатин ишлатилади. 6–БАП ва зеатин ажртилган тўқималарни ўсишига оргоногенезни индукциясига кинетинга нисбатан фаолроқ таъсир кўрсатади. Баъзи бир озуқа мухитлар таркибига аденин ҳам қўшилади.

Хозирги пайтда жуда кўп сонли озуқа мухитларни таркиби аниқ бўлсада, ажратиб олинган ўсимлик тўқималарини *in vitro* шароитида ўстириш учун Т.Мурасига ва Ф.Скуга мухитлари ишлатилади. Бу мухитни таркиби биринчи марорта 1962 йилда эълон қилинган ва у жуда яхши балансланган

озуқа моддалари таркибига эга ва бошқалардан аммонийли ва нитратли азотни нисбати билан фарқ қилади (3.2-жадвал).

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

3.2-жадвал.

Ўсимликларни ажратиб олинган тўқималарини ўстириш учун ишлатиладиган озуқа мухитларини таркиби

Озуқа мухити компонентлари	миқдори, мг/л			
	Мурасига-Скуга	Гамборга	Шенка - Хильдебрандта	Грессхофф-Доу
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650	2500	2500	-
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	-	-	300	-
$\text{KNO}_3$	1900	-	-	1000
$\text{CaCl}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	440	150	200	150
$\text{Mg SO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	370	250	400	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	130	-	-
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170	-	-	-
$\text{Na}_2\text{ЭДТА}$	37,3	37,3	20,0	37,3
$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,95	27,85	15,0	27,8
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	-	150	-	90,0
$\text{H}_3\text{BO}_3$	6,2	3,0	5,0	3,0
$\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$	22,3	10,0	10,0	10,0
$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	8,6	2,0	1,0	3,0
KI	0,83	0,75	1,0	0,75
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,25	0,25	0,1	0,25
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,2	0,25
$\text{CoU}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	0,025	0,025	0,1	0,25
Глицин	2,0	-	-	2,0
Мезоинозит	100	100	1000	10
Никотин кислотаси	0,5	1,0	5,0	1,0
Пиридоксин- $\text{HCl}$	0,5	1,0	0,5	0,1
Тиамин $\text{HCl}$	1,0	10,0	5,0	-
2,4–	-	0,1-1,0	-	-
Кинетин	-	0,1	0,1	-
Глутамин	-	-	-	2,0
Сахароза	30000	30000	30000	20000

Ўстириш шароити

Ўсимликлардан ажратиб олинган хужайралар ва тўқималарни яхши ўстириш учун, ўстиришни маълум шартларига роия қилиш кера. Кўпчилик каллус тўқималари ёруғликга эҳтиёжи йўқ, чунки уларни хлоропластлари бўлмасдан, гетеротроф озиқланадилар. Баъзи – бир яшил рангдаги каллус тўқималар бундан мустасно. Баъзи бир ҳолатларда каллус тўқималар автотроф озиқланишига қобилиятли эмас, буларни доимий ёруғлик шароитида ўстирилади, бу эса мувоффақиятли морфогенез учун мажбурий шароитдир кўпроқ каллус тўқималар қоронғиликка олинади.

Морфогенезга аниқланган (детерминированъе) тўқималар ёруғликга ўтказилиб, кейин 1000-4000 лк ёруғликда ўстирилади. Ажратиб олинган меристемлар ва уларни микрокўпайтириш ҳам ёруғликда ўтади. Ёруғ уйчани ёруғлиги 1000–10000 лк бўлиши керак ва ёруғликни кучи ўсимликни хусусиятларига боғлиқ. Ўстриладиган объектни фото даврини ҳам ҳисобга олиш керак.

Ўстриладиган хонада намлик 60-70 % бўлиши керак. Ундан куруқроқ ҳаво озиқа мухитини қуритиб юборади, агар пробирка пахтали тикин билан бектилган бўлса, озуқа моддаларни концентрацияси ўзгариб, ўстириш шароити бузилади.

Кўпчилик тўқималарни ўстириш учун оптимал ҳарорат 25-26<sup>0</sup>С. Агар тропик ўсимликларни тўқималари бўлса 29-30<sup>0</sup>С да ўстирилади. Морфогенез индукция қилинганда ҳарорат 18-20<sup>0</sup>С гача туширилади. Одатда климатик камералардан фойдаланилади.

## 8-мавзу. КАЛЛУС ТЎКИМАЛАР КУЛЬТУРАСИ

Режа:

1. Умумий ҳолати;
2. Каллусли хужайраларни ўзига ҳослиги;
3. Каллус хужайралари генетикаси;
4. Гормонларга боғлиқ бўлмаган ўсимлик тўқималари;
5. Хужайра суспензиялари культураси;
6. Ягона хужайралар культураси;
7. Каллусли тўқималарда морфогенез.

### Умумий ҳолати

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

*In vitro* шароитида каллус тўқима, асосан оқ ёки сарикроғ жуда хм кам ҳолатларда оч-яшил рангда бўлади. Каллус хужайралар қариганда, тўқ қўнғир рангга кирадилар, бунга сабаб уларда фенол бирикмаларини

тўпланиши билан боғлиқ. Вақт ўтиши билан феноллар оксидланиб, линонга айланадилар. Улардан кутулиш мақсдида озуқа мухитига антиоксидантлар қўшилади.

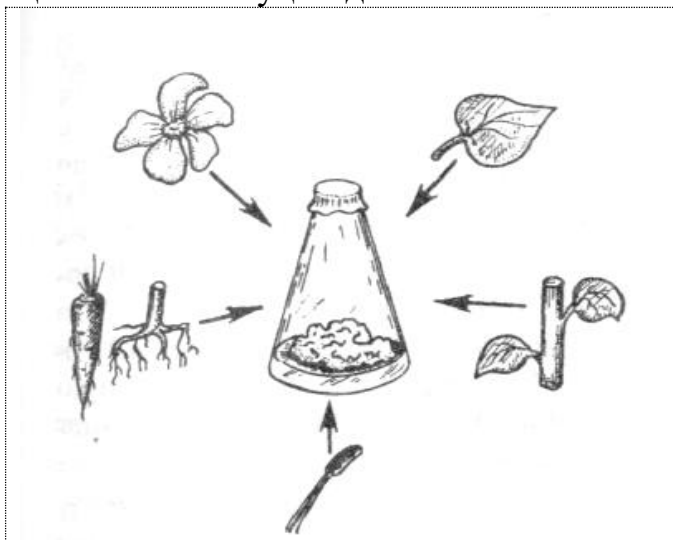
Каллус тўқималар аморф бўлиб, маълум бир анатомик тузилишга эга эмаслар, аммо келиб – чиқиши ва ўстириш шароитига қараб, ҳар хил консистенцияга (суюқ - қуюқ ва х.) эга бўладилар:

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

Ўсимлик хужайрасини табасизланиши ва уни каллусга айланиши учун шарт бўлган шароит-бу озуқа мухити таркибида икки фитогормонларни яъни ауксинлар ва цитокининларни бўлишидир. Ауксинлар хужайраларни табақасизланишини (дедифференцировка) чақирса уларни бўлинишига тайёрлайди, цитокининлар табақасизланган хужайраларни бўлинишига (тролифорция) олиб келади. Агар таркибида гормон сақламаган озуқа мухитига поя, барг ёки илдизни бир қисмини тикиб қўйилса, хужайраларни бўлиниши амалга ошмайди ва каллус тўқима ҳосил бўлмайди. Бу табақалашган хужайраларни бўлинаолмаслиги билан боғлиқдир (3.1-расм).



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



3.1-расм.

Турли хил эксплантлардан каллус  
тўқимаси культура-ларини олиш:

Хар бир хужайра ўсишни уч босқичда ўтади:

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

Озуқа мухити таркибида цитокининларни бўлмаслиги тамаки ўсимлигини ўзак қатлами паренхимасида хужайра циклини тўсиб қўяди. Шунинг учун ҳам агар озуқа мухити таркибида фақатгина ауксин бўлса, хужайра бўлинмайди ва тўрт кунлик даврдан кейин чўзилиб, ўсишга ўтади.

Ауксинларсиз, фақат цитокининларни ўзлари ҳам гормон сақламаган озуқа мухитига ўхшаб, ўсимликни қаришига олиб келади. Тамаки ўсимлиги мисолида келтирилган далиллар бирта гормон сақлаган озуқа мухитида каллусли тўқима ҳосил бўлишини барчасини тушунтира олмайди. Бунга зид бўлган мисоллар ҳам бор.

Масалан, буғдойни етилмаган куртакларида цитокининсиз 2,4-Д сақлаган озуқада каллус ҳосил бўлиши ёки кунгабоқарни уруғ палласида цитокинин сақлаган ауксин сақламаган озуқада каллус ҳосил бўлиши ва ҳ.к. Кузатиладиган натижалар кўпроқ эндоген гормонларга, аниқроғи у ёки бу

эксплантни хужайрасида сақланадиган гормонлар билан яъни хужайрани гормонал статуси билан боғлиқ эканлиги исботланган.

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

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

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

Хужайрани *in vitro* шароитида дифференциалланган ҳолатдан дидефференциалланган ҳолатга ва хужайрани фаол бўлинишга ўтиши, генларни фаоллигини ўзгариши билан бошланади. (Эпигеномли ўзгарувчанлик). Бир генни фаоллашуви ва иккинчисини репрессияга учраши хужайрадаги оксил таркибини ўзгаришига олиб келади. Каллусли хужайраларда ўзига хос бўлган оксиллар пайдо бўлади ва бир вақтнинг ўзида баргнинг фотосинтез қилувчи хужайраларида оксиллар миқдори пасаяди. Икки паллали ўсимликларда дидефференциалланган генларни репрессия ва депрессия жараёнлари нисбатан осон ўтади.

Дедифференциалланган хужайраларни каллус тўқималар ҳосил бўлишига олиб келувчи тартибсиз кўпайишга ўтиши билан биокимёвий ва цитологик ўзгаришлар содир бўлади. Захирадаги моддаларни ишлатилиши ва ихтисослашган хужайра органеллаларини парчаланиши билан дедифференциалланиш бошланади. Дедифференцияни индукциясидан 6-12 соат ўтгандан кейин хужайра қобиғи ғоваклашиб шишади, мустақил рибосомалар сони кўпайиб, Гольджи аппарати элементлари сони ҳам ошади. Бу ўзгаришлар бўлинишдан олдин бошланади.

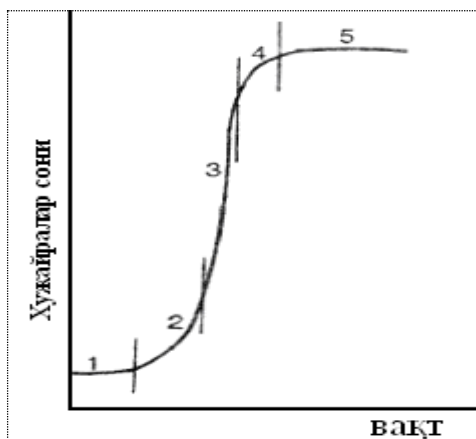
Ўстиришга қўйишдан олдин, эксплантлар хужайрасининг метаболизмида ўзгаришлар содир бўлишини, у эса дедифференция ёки травматик синтез билан боғлиқ бўлишини ҳисобга олиб қўйиш зарур. Бундай жараёнларни ажратиш мақсадида эксплантларни гормонлар сақламайдиган муҳитда 3-6 сутка давомида преинкубация қилиш тавсия этилади.

Каллусли хужайра ўзини ривожланиш циклига эга бўлиб, ҳар қандай хужайрани ривожланишини қайтаради: бўлиниш, чўзилиш ва дифференция ва ундан кейин қариш ва хужайрани ўлиш даври. Каллусли дифференцияни иккиламчи деб атаса бўлади, аммо уни морфогенез асосида ётувчи хужайраларни иккиламчи дифференцияси билан аралаштириб юбормаслик керак.

Каллус хужайралари нобуд бўлиб қолмаслиги учун уларнинг бўлинишга бўлган қобилятларини йўқотмасликлари учун, эксплантларда пайдо бўлган бирламчи каллус, 4-6 хафтадан кейин янги тайёрланган озуқа мухитига ўтказиб турилади. Бу операцияни – пассирлаш деб аталади. Ўз вақтида бу жараён ўтказиб турилса, каллус хужайралари ўн йиллаб ўз бўлини хусусиятини йўқотмаслиги мумкин.

Каллус хужайраларни ўсиш чизиғи 3.2-расмдан кўриниб турибдики, S-симон шаклга эга, ўсиши беш фаздан иборат:

- 1–латент ёки лаг-фаза даврида хужайра сони ёки оғирлиги ўзгармайди. Хужайралар бу даврда бўлинишга тайёргарлик кўрадилар.
- 2-фаза логарифмик ёки экспоненциал ўсиш фазаси энг кўп митодик фаоллик билан ва каллус культуранинг массасини ошиши билан ҳамда тезлик билан ўсиш кузатилиши билан характерланади.
- 3-фаза тўғри чизиқли (линейка), бунда хужайраларни ўсиш тезлиги доимийдир.
- 4-фаза ўсишни секинлашув фазаси бошланади, бу босқичда хужайранинг митотетик фаоллиги кескин пасаяди.
- 5-фаза ўсиш чизиғи (стационар) бир текис ҳолатга келади. Бу даврда хужайралар парчаланади, аммо хужайра сонини ошиши билан баробарланишади; умуман олганда бу босқичда, хужайра массасини кўтарилиши нолга тенг бўлади. Стационар фазадан кейин хужайраларни деградацияси бошланади ва бу даврда тирик хужайраларни сони ва массаси тобора камайиб бораверади.



3.2-расм. Каллус тайёриладиган вақтнинг ўсиш даври  
 тайёриладиган вақтнинг ўсиш даври  
 босқичининг эгри чизиғи.  
 Ўсиш босқичлари:  
 1-латент; 2-логарифмический; 3-линейный;  
 4-замедление; 5-стационарный

### Каллусли хужайраларни ўзига хослиги

In vitro шароитида каллусли хужайралар ўсимликлар организмидаги оддий хужайраларга хос бўлган кўплаб физиологик ва биохимик хусусиятларни сақлаб қолади. Улар, иккиламчи метаболитлар синтез қилиш қобилятини йўқотмайдилар. Совуққа чидамлилиги хусусияти каллусли хужайраларда, ўсимликлардагидек қайтарилади. Бундай хусусият, тропик

ёки субтропик ўсимликлардан олинган каллус тўқималарда бўлмайди. Каллусли тўқималарга фотодаврйлик реакцияси ҳам хос, бу фитохрон фаоллигини сақлаб қолинганлиги билан боғлиқдир.

Ўсимликларни нормал ва каллусли тўқимлари учун умумийлик яна қатор белгиларда намоён бўлади, хусусан, юқори хароратга чидамлилик, осмотик фаол моддаларга, шўрланишга чидамлилик ва х.к. Шунинг билан бирга, каллусли тўқималарни нормал тўқималардан фарқли томонлари ҳам бор. Уларда специфик оксиллар пайдо бўлади ва умумий оксил миқдори, хусусан баргда фотосинтез жараёнида қатнашадиган оксиллар камаяди ёки бутунлай йўқолади. Каллусли хужайралар улкан генетик гетерогенлиги ва физиологик синхронликни бузулганлиги билан фарқ қилади.

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

Очиқ тупроқда ўсувчи ўсимликга нисбатан, каллусли хужайраларни хужайра цикли узунроқдир.

Каллусли хужайра ўзига хос томонларидан яна бири-уларни ёшини хар хиллиги (гетерогенлиги). Каллус тўқима бир вақтни ўзида ёш хужайралар (G-фазадаги), қари ( $G_2$ ) ва S – фазалар иштирок этадилар.

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

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

➤ Пастер эффекти деганда, бижғишни кислород иштирокида нафас олиш билан босишни тушунилади.

Нафас олиш субстратлари ўзгармаган шароитда, нафас олиш коэффицентини кўпайиши, нафас олиш бижғишни тўхтатаолмаётганлигини ва ҳатто кислородли шароитида ҳам каллусли хужайраларда нафас олиш билан бир қаторда, углеводларни кислородсиз парчаланиши бижғиш жараёни содир бўлаётганлигидан хабар беради. Тартибсиз ўсишда углеводларни кислородсиз парчаланишига мисол қилиб, бўлинадиган хужайраларда этил спиритини тўпланишини кўрсатиш мумкин. Илмий адабиётларда бундай мисолларни кўплаб топса бўлади.

Каллус хужайраларни митохондриялари, меристем хужайраларга ўхшаб, жуда паст ривожланган уларда кристаллар кам, бу эса аэроб нафас олишга таъсир кўрсатмасдан қолмайди. Пастер эффектини бузилиши кўпроқ хайвонларни шиш хужайраларида кузатилади. Бу ходиса Варбург томонидан аниқланган бўлсада ҳозиргача аниқ тушунтира олинганча эмас. Пастер

эффектини бузилиши оқибатида келиб чиқадиган анаэроб гликолиз (углеводларни кислородсиз парчаланиши), кислород иштирокида шишли хужайраларни углеводлар истеъмол қилишини кескин (19 маротабага) ошириб юборади.

Каллусли хужайраларни нафас олиш характерини ўзгариши билан бир қаторда углеводларни кислородсиз парчаланишини кучайиши йўналишида, бўлинадиган хужайралар учун зарур бўлган пентозофосфат йўли томон силжиш намоён бўлади.

#### Каллус хужайралари генетикаси

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

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

Плоид хужайралар қисқа лаг фазага эга бўлганлиги сабабли, диплоид хужайраларга нисбатан бўлиниши тезроқ ўтади. Бунинг оқибатида, улар кейинги кўчириб ўтказиш жараёнларда устунликка эга бўлиб қоладилар. Ҳар ҳолда икки сабаб ҳам ўринли деб ҳисоблаш мумкин.

Плоидликни ўзгаришидан ташқари ўсимлик хужайра ва тўқималарини *in vitro* ўстирилиши, хужайрада хромосомали абберациялар ҳосил бўлишини чақиради. Бу эса ўстириладиган тўқималарни биологик хусусиятларига таъсир кўрсатади, уларни (тўқималарни) ташқи кўриниши, модда алмашинуви, ўсиш тезлиги ўзгаради.

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

Ўстириладиган хужайраларни генетик мўътадил эмаслиги сабаблари нималардан иборат? Бундай сабаблар бир нечта. Энг аввало – дастлабки

материални генетик бир хил бўлмаганлиги (эксплантларни гетерогенлиги). Кўпчилик ўсимликларда табақалашган тўқималар, ҳар хил пloidли хужайраларга эга бўладилар ва фақатгина тўқимани онтогенези даврида фаол кўпаядилар, юқори меристемалар, камбийлар ва бошқалар эса доимодипloid холатда қолади. Бошқа бир сабаб – бу тўқима ва хужайраларни узоқ муддат экилиши, ўз навбатида бундай шароитда улардаги генетик ўзгаришлар, жумладан ploidликни бир хил бўлмаган ўзгариши содир бўлади.

Ўсимлик тўқималарини бир қисмини ажратиб олиб, уларни озуқа мухитига ўтказишда бир бирига мос алоқаларни бузилиши ҳам хужайраларни генетик мўътадилликдан чиқишига олиб келади. Шунга ўхшаш натижалар озуқа мухити таркибидаги фитогормонларни хужайранинг генетик аппарати таъсири оқибатида намоён бўлиши мумкин. Каллус ҳосил бўлиши учун гормон сифатида албатта озуқа мухити таркибида ауксинлар ва цитокининлар киритилади.

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

Цитокининлар хусусан кинетик хужайраларда полиploидия содир бўлишига ёрдам берадилар.

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

### 3.4. ГОРМОНЛАРГА БОЎЛИҚ БЎЛМАГАН ЎСИМЛИК ТЎҚИМАЛАРИ

Каллусли хужайралар фақат озуқа мухити таркибида гормонлар бўлгандагина бўлинадилар. Аммо узоқ муддатда ўстирилганда, баъзан улар гормонсиз мухитда ҳам ўсиш хусусиятига эга бўладилар, яъни ауксин ва цитокининларга нисбатан автоном бўлиб қоладилар. Баъзан «мослашган» хужайралар томонидан яратилган тўқималарни кимёвий шишлар ҳам деб юритилади. «Мослашган» тўқималар, шиш тўқималарига ўхшаб, кўп холатларда нормал регенерация бўла олмайдилар ва фақат тератомлар ҳосил қиладилар. Илмий адабиётларда жуда кам бўлсада, улардан нормал регенерантлар ҳосил бўлганлиги ҳақида ахборотлар бор.

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

Хозрча «мослашув» сабабларини аниқ жавоби йўқ. Балки, у хужайраларни табақасизланмайдиган ёки фаол пролиферация (хужайра ва тўқималарни кўпайиши йўли билан янгидан ҳосил бўлиши) холатида ушлаб турувчи гормонларни хужайрага узоқ муддатда таъсир этиши билан боғлиқ бўлса керак, деген тахминлар бор.

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

Ўсимликларни «мослашган» ва шиш тўқималрини умумий хусусияти уларни гормонга эҳтиёжсизлигидир, бошқача айтганда ҳар иккала тўқима ҳам гормон сақламаган муҳитда ўса оладилар. Бу хусусият уларнинг каллули тўқималардан фарқи томонидир. Маълумки, каллусли тўқимларни табақалашмаганлиги ва пролеферацияси учун озука муҳити таркибида гормон сақлаши шарт.

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

«Мослашган» хужайраларда ўзгариш эпигеномли ёки генотипик асосга эга эканлигини аниқлаш учун хужайра-ўсимлик-хужайра қаторида гормонга муҳтож бўлмаслик хусусияти сақланиб қолиши ёки қолмаслигини назорат қилиш керак бўлиши учун «мослашган» тўқимада регенерант олиниб, кейин регенерация қилинган ўсимликдан олинган эксплант бутунлай гормонсиз ёки гормонларни бирортаси бўлмаган муҳитда хужайра бўлинса, яъни гормондан автоном бўлса, гормонга муҳтожсизлик хусусияти авлоддан-авлодга ўтади, демак у генетик асосга эга деб айтиш мумкин.

Агар гормонсиз муҳитда хужайра бўлинмаса ва каллусли тўқима пайдо бўлмаса, яъни гормонга муҳтожсизлик наслдан-наслга ўтмаса, ўзгаришни эпигеномли характерга эгаллиги ҳақида ҳулоса чиқариш мумкин. Аммо, бу йўл билан фақатгина регенерация хусусиятини юқотган «мослашган» хужайраларни текшириш мумкин ҳалос. Маълумки, кўпчилик «мослашган» хужайралар регенерацияга бўлган имкониятларини йўқотадилар, бу эса юқоридаги усулни гормонга муҳтожсизликни табиатини аниқлашни қийинлаштиради.

Шиш тўқималарда гормонларни синтези – ўсимлик ўтказилиши билан боғлиқ. Ўтган асрни 40-йилларида Ф.Уайтнинг ўқувчиси, Браун корончатогалли шиш тўқима культураси агробактерия йўқлигида (уларни

юқори хароратда ўлдирилгандан кейин ҳам) ҳам ишишлик хусусиятини сақлаб қолишини кузатган эди.

Гормон сақламаган сунъий озуқа мухитида, бактерия сақламаган корнчатли галл тўқимаси фаол пролиферацияни давом эттираолган. Бу тўқималар, оддий тўқимага қараганда юқори миқдорда ауксинлар ва бирнеча цитокининлар сақлайдилар. Ўзи ўтказган тажрибалар асосида Баун, ўсимлик хужайралари *Agrobacterium tumefaciens* таъсиридан кейин қандайдир йўл билан шиш хужайраларга айланадилар деган фикрга келган эди.

Агробактериялар ўсимлик хужайрасига *Ti*p (Tumor inducing principle) киритади, у эса 36соатда оддий хужайрани шиш хужайрага айлантиради деб тахмин қилинган эди. Кейинчалик *Ti*p ДНК эканлиги ва агробактерияларни катта плазмидасида сақланиши аниқланди ва *Ti* плазмидида деб аталди. Онкоген фаоллик бактерия хужайрасидан *Ti* плазмидани бутунлай ёки уни маълум бир қисмини ажратиб олинганда йўқолиши исботланган.

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

Шундай қилиб, *Ti* плазмидани сигменти (Т-ДНК) хромосомага интеграция қилинади ва ўсимликни трансформацияланган (шиш) хужайрасини ирсий аппаратини бир қисми бўлиб хизмат қилади. Агробактерияларни *Ti* плазмидани Т-ДНК сини ўсимликлар хромосомасига интерграцияси шиш пайдо бўлишига ва шиш хужайрасини сунъий озиқа мухитида гормонга мухтожиз равишда ўсишга олиб келади. Бу ҳар икки ходиса бир бири билан ўзаро узвий боғлиқ, чунки ауксин ва цитокининларни синтезини назорат қилиб турувчи генларни экспрессияси оқибатида гормонга мухтожсизлик келиб чиқади ва у хужайраларни табақасизланишига ва пролиферациясига олиб келади.

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

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

Опинлар аминокислоталар, ҳар хил кетокислоталар ва шакарларни ҳосилаларидир. Улар янги типдаги биологик фаол моддалар ҳисобланадилар ва фақатгина ўсимликларни корнчатўй галли тўқималарида учрайдилар,



шунинг учун ҳам уларни корончатўй галларни биокимёвий мархори сифатида қараш мумкин. Опинлар агробактериялар учун озуқа модда хисобланадилар, аммо шиш тўқималар опинлар стерил шароитда агробактериялар бўлмаган шароитда ҳам синтез қилаверадилар. Опинларни уч типи маълум: нопалин, актопин ва агропин. Агробактерияларни бир штамми октопинсинтез қилувчи шишларни индукция қилса, бошқа штамми нопалинсинтез қилувчисини индукция қилади.

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

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

«Мослашган» тўқималар ҳам одатда нормал ўсимликга айланаолмайдилар, уларни хужайралари иккиламчи дифференцировкага ва морфогенезга бўлган қобилятларини йўқотадилар. Аммо, баъзида, озуқа мухити таркибини ўзгартириш орқали, «мослашув» чегарсини орқага суриш мумкин. Демак, узоқроқ пассаж қилинган культуралар тўқималаридан ҳам регенерация қилаоладилар ўсимлик олиш имкониятлари ҳам йўқ эмас.

### 3.5. ХУЖАЙРА СУСПЕНЗИЯЛАРИ КУЛЬТУРАСИ

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

Хужайра суспензиясини тайёрлаш учун энг зарур шароит – бу домий равишда аралаштириб ёки чайқатиб туришдир. Агар хужайра суспензияси кимираммай турса, ундан бўлиниш натижасида каллусли тўқималар ҳосил бўлади.

Суспензион хужайраларни бўлиниши ауксинлар ва цитокининлар, яъни каллус хужайраларни ўсиши ва индукцияси учун зарур бўлган гормонлар ёрдамида химоя қилиб турилади. Шундай қилиб, суспензияли хужайралар

каллус хужайраларни ўзгинаси бўлиб, уларда бундай хужайраларга хос бўлган барча хусусиятлар намоён бўлади.

Суспензия 2,4-Д сақлаган мухитда ҳосил бўладиган пўкак хужайрадан яхшироқ ҳосил бўлади. Мухит таркибидан кальций олиб ташланса, суспензия ҳосил бўлиши енгиллашади. Озуқага пектиназа ферменти аралаштирилса (бу фермент озуқа таркибидаги алохида хужайраларни бир-бирига боғлаб тувчи пекрат кальцийни парчалайди) суспензия янада енгилроқ ҳосил бўлади.

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

Суспензион культуралардан иккиламчи метаболитлар продуценти сифатида фойдаланилганда, даврий ёки оқова усулида очиқ ёки ёпиқ тизимда хужайраларни кўпайтириш усуллари ишлатилади. Ёпиқ тизимда хужайра суспензиясига тоза озуқа мухити киритилмайди, тизимда домий режимда ўстирилганда эса озуқа мухити тозасига алмаштириб турилади.

Даврий режимда ҳам, оқова режимда ҳам очиқ тизимда, ўстирилганда хужайралар озуқа мухитида, уни (озуқа мухитини) алмаштирилганда ҳам қолади. Аммо, очиқ тизимда ўстирилганда, озуқа мухити алмаштирилганда (домий ёки даврий режимда) суспензион хужайрани бир қисми мухит билан бирга ўтади.

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

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

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

Суспензияни сифати, хужайраларни агрегация даражасига боғлиқ. Агрегатлар 10-12 хужайрадан кўп бўлмаслиги керак. Шунинг учун ҳам йирикроқ агрегатлардан қутулиш мақсадида суспензияни марля, найлон ёки метал филтрдан ўтказилади. Бу операция бир вақтни ўзида эксплантлар

қолдиғидан ёки каллус тўқималарни бўлакчаларидан қутулиш имкони беради.

Иккиламчи синтез маҳсулотларини саноат шароитида олиш учун катта ҳажмдаги (20 м<sup>3</sup> ва ундан ҳам каттароқ) ферментерлардан фойдаланилади ва хужайралар доимий режимда ўстирилади. Суюқликда ўстиришни энг кўп тарқалган режими хужайра суспензиясини ёпиқ даврий тизимда ўстиришдир. Суспензияни аэрацияси ва аралаштирилиши учун (качалка) тебратгичлардан фойдаланилади. Шунингдек бу мақсадда механик ёки магнит аралаштиргич ўрнатилган ферментлардан, ёки барбатация (хаво ёрдамида аралаштириб туриш) дан ҳам фойдаланса бўлади.

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

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

### 3.6. ЯГОНА ХУЖАЙРАЛАР КУЛЬТУРАСИ

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

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

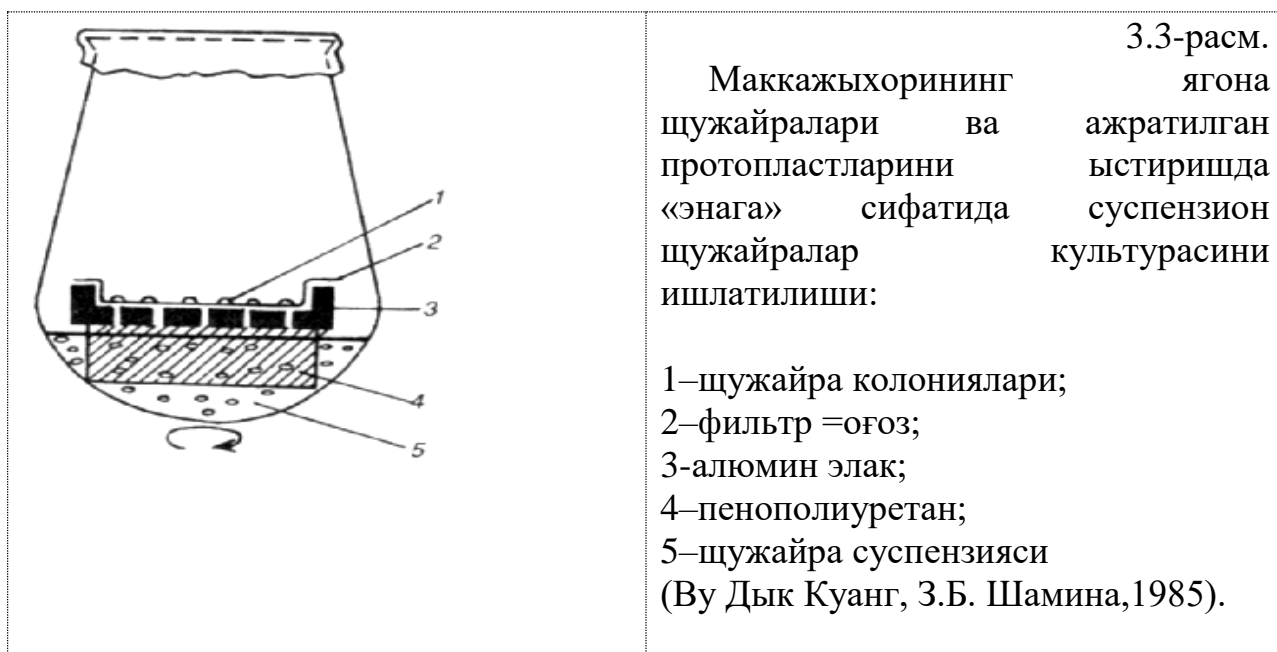
Бир хужайрали фракция олиш учун баъзида суспензион культурани қолбада 15-30 мин тиндириб қўйиш кифоя бўлади. Бунда йирик агрегатлар чўкмага тушадилар. қолдиқ устки суюқликда эса фақат бир хужайрали культура ёки кичик агрегатлар бўладилар. Агар бу йўл билан бир хужайрали фракция олиш имконияти бўлмаса,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

градиетиди центрифуга қилиш ёки ҳар хил элақлардан ўтказиш усулларидадан фойдаланилади.

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

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

Ягона хужайраларни бўлинишини кучайтириш учун «озиклайдиган қават»дан фойдаланиш мумкин. («Озикланадиган қават»- ягона хужайра олинган ўсимлик турини фаол бўлинувчи хужайра суспензияси) (3.3-расм.).



Хужайрани бўлиниши муҳитни кондицирлаш ҳам тезлатади, бунинг учун унга (муҳитга) тез бўлинадиган хужайра культуросини озуқа муҳити қўшилади. Кондиция қилувчи фактор хужайра суспензиясини ўсишни экспоненциал фазасида бактериал филтёрдан ўтказиш даврида пайдо бўлади (олинади). Моҳияти бўйича юқорида зикр этилган барча усуллар ҳам бўлинадиган хужайралардан чиқадиган кондиция қилувчи фактордан фойдаланишга асосланган.

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

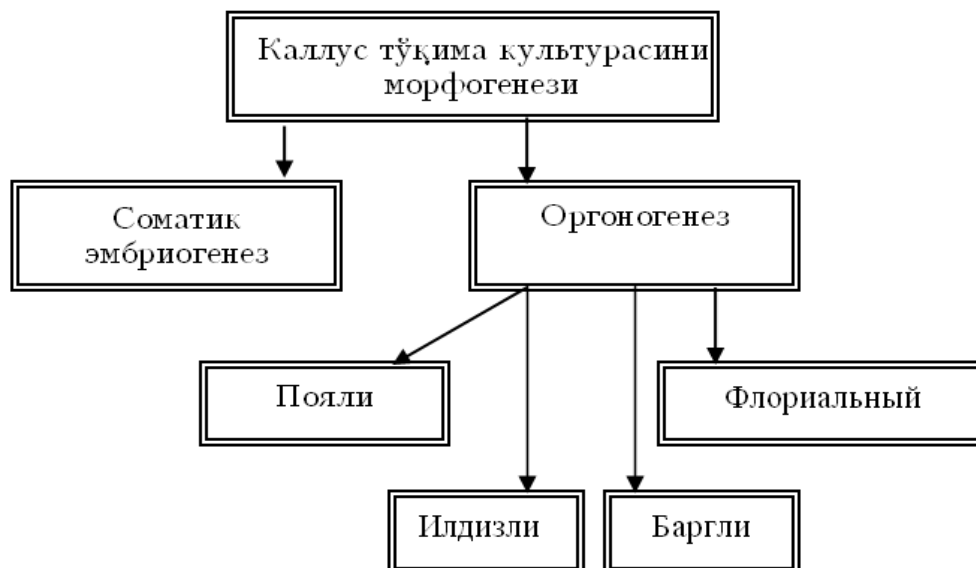
### 3.7. КАЛЛУСЛИ ТЎҚИМАЛАРДА МОРФОГЕНЕЗ

Хужайра ривожланишини табақасизлангандан кейин ўтадиган бир неча йўли маълум. Биринчи йўл – бу бутун ўсимликни қайта регенерацияси, балким, хужайра, тўқима, органлар даражасида табақаланиш. Иккинчи йўл хужайрани қайта табақаланиш хусусиятини йўқолиши ва ўсимликни регенерацияси, мустахкам табақасизланиш, гормонсиз мухитда ўсиш хусусияти, яъни шишга айланиш. Бундай хоссалар эски (қари) кўчат культураларга хос. Учинчи йўл – каллусли хужайрани нормал ривожланиш цикли, уни қариб, нобуд бўлиши билан тугайди. Бу ҳолатда хужайра иккиламчи табақаланишга учрайди ва бўлинишдан тўхтади (ўсишни стационар фазаси). Аммо бундай табақаланиш морфогенезга олиб келмайди ва унда қариган каллус хужайралари хоссаларини мустахкамлайди.

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

Каллусли тўқималар культурасида морфогенез деб хужайраларни ташкил бўлмаган массасидан тўлақонли структуралар ҳосил бўлишига айтилади. Морфогенезни икки асосий йўли маълум (3.4 -расм).

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



3.4 –расм. Каллус тўқима культурасини морфогенез типлари

Алохида олинган соматик хужайраларни ўз ривожланиш дастурини тўлиқ бажара олиши ва бутун ўсимлик организми ўсиб чиқиши учун асос яратиб бериш хусусияти, ўсимлик хужайрасини тотипотентлиги деб аталади. Ўсимликни ҳар қандай хужайраси бир хил потенциал имкониятларга эга, чунки барча керакли генлар тўпламига эга, демак, хужайра зиготага ҳос бўлган ривожланиш дастурига эга. Шунинг учун ҳам агар гул барги хужайрасидан ёки пояни ўзаксимон паренхима ёки ҳар қандай хужайра тўқималардан каллус олинганда умуман хужайрани ҳар қандай тўқимасидан бутун ўсимлик олиш мумкин. Аммо, тотипотентлик хоссалари ҳамма вақт ҳам намоён бўлавермайди, чунки ҳар хил типдаги хужайраларни потенциал имкониятлари бир хил намоён бўлавермайди. Улардан баъзи бирларида генлар кучли репрессия ҳолатида бўладилар ва шу сабабли ҳам тотипотентликни намоён бўлиши чегараланган бўлади.

Ўсимлик хужайраларида тотипотентлик ғояси биринчилардан бўлиб, 1902 йилда Г.Хаберлант томонидан илгари сурилган бўлсада, тажрибалар билан исботланган эмас эди.

«Ўсимликни ҳар қандай хужайраси янги организм пайдо бўлишига асос бўла олади, фақатгина ўсимлик организми хужайрани ривожланиш потенциясини босиб қўйган ҳолатдагина бундай бўлмаслиги мумкин» -деган эди Хаберлант. Ўсимликдан хужайрани алохида ажратиб олиш мана шу потенцияларни намоён бўлишига ёрдам беради.

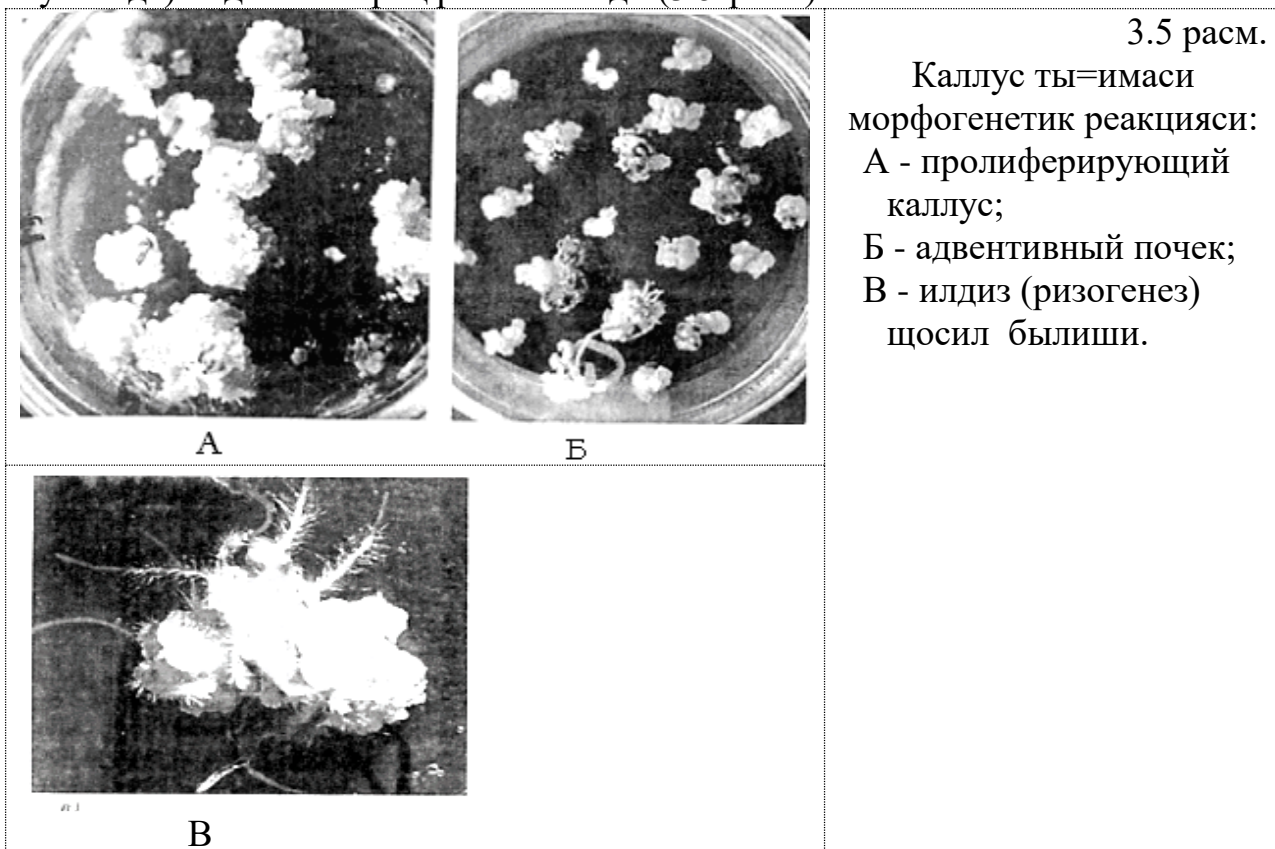
Морфогенезни хужайра асосини цитодифференцировка ташкил қилади. Ўсимликни регенерацияси хужайрани иккиламчи табақаланишидан бошланади. Бунда, табақасизланган хужайра бошқатдан ихтисослашган хужайрани структураси ва функциясини эгаллайди.

Каллусли хужайраларни иккиламчи дифференцировкаси ҳар доим ҳам ўсимликни регенерацияси ва морфогенез билан тугалланавермайди. Баъзида у фақат тўқима ҳосил бўлишига олиб келади ҳалос (гистодифференцировка).

Шу йўл билан каллусли хужайра флоэмли ёки ксилемли элементларга айланиши мумкин. Иккиламчи табақаланишга бошқа бир мисол бўлиб, табақасизланган фаол проферация қиладиган хужайрани – эски (қари) бўлинмайдиган каллусли хужайрага айланиб қолиши хизмат қилиш мумкин (ривожланишни стационар фазаси).

Барча кўринишдаги иккиламчи табақаланишдан энг катта қизиқиш уйғотадигани, бу морфогенездир, чунки у каллусли хужайрадан бутун ўсимлик яратиш имконини беради.

Табақаланиш ва морфогенезни асосида хар хил генларни бирин-кетин кўшилиши ётади, яъни хужайрани табақаланиши генларни табақалашган фаоллиги билан аниқланади. Структура генларини фаоллигини ўзгариши уларни дерепрессияси (уйғониши), репрессияси ёки амплификацияси (кўпайиши) билан боғлиқ. Бу жараёнда фитогормонлар катта роль ўйнайдилар. Каллусли тўқималарни морфогенезини бошқариш мумкин. Ўсимликларни алохида ажратиб олинган хужайраларини морфогенезга бўлган қобилиятларига ха ички, хам ташқи фактторлар таъсир кўрсатадилар. Ички факторларларга: дастлабки ўсимликни қайси турга мансублиги, эксплант олинган орган, эксплантнинг ёши киради. Ташқи факторларга эса, энг аввало озук мухити таркиби, харорат, ёруғлик (уни интенсивлиги ва фотодаврнинг узунлиги) киради. Морфогенезни энг кучли индуктори – озук мухити таркибига кирувчи цитокинин ва ауксинларнинг ўзгариши хисобланади. Бунини стимул ёки морфогенезни сигнали деб хам юритилади. Ауксинга нисбатан цитокинилар микдори кўпроқ бўлганда, поя органогенези бошланади, тескари бўлганда эса (ауксин цитокининга нисбатан кўпроқ бўлганда) илдиз яхшироқ ривожланади (3.5-расм).



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

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

Ауксин > цитокинин = илдиз → каллусли тўқима

Цитокинин > ауксин = поя → новда → илдиз → ўсимлик

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

Соматик эмбриогенезни гормонга мухтожсизлиги, Хаберландт фикрига, кейинроқ эса Стэвард томонидан илгари сурилган «хужайрани ажратиш жараёнини ўзи, улардаги тотипотентликни намоён бўлишини кучайтиради, яъни морфогенезга ўтказади» деган фикрига аргумент бўлиб хизмат қилади.

Шундай қилиб, морфогенез учун асосий стимул бўлиб, озуқа мухит таркибидаги гормонларни бир-бирига нисбати ва ўсимлик хужайрасини организмдан ажратиб олиш хизмат қилади. Каллусли тўқималар культурасида морфогенезида кўшимча стимул бўлиб, озуқа мухити таркибига қўшилган кумуш нитрат, аммоний нитрат, баъзи-бир аминокислоталар (проин, тирозин, баъзида серин), полиаминлар (путресцин ва спермидин) хизмат қиладилар.



Баъзи бир ҳолатларда морфогенез жараёнини манний ва сорбий ҳам кучайтиради.  $\text{NO}_3$  ионлари каллус тўқималарда ҳосил бўлган тартибли структураларни ривожланиши ва таъсир кўрсатади, уларни индукциясини эса  $\text{NH}_4$  иони кучайтиради. Гибберел кислотаси пояни ўсишини кучайтирса, абсциз кислотаси соматик куртакларни дифференциясини кучайтиради.

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

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

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

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

Каллусли культуралар тўқималарини морфогенезга ўтиши, нафас олиш метаболизмини ўзгариши билан олиб борилади. Умуман нафас олиш ( $\text{CO}_2$  бўйича) кучаяди, аммо уни характери пентозофосфат йўлини кучайиши томон ўзгаради. Нафас олиш ферментларини фаоллиги ошади.

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

Меристематик учоқни хужайраларини ваглобуляр проэмбриони синтетик фаоллигини ошиши, уларни озуқа мухитидаги моддалар интиладиган аттрагир (озуқа мухитини фитогормонлар микдори кўпроқ бўлган органга йўллантирувчи) марказга айлантириб қўяди. Бундай ҳолатда атрофдаги каллусли хужайралар емирилиб, ҳосил бўлган эмбрионидлар каллусли хужайралар массасидан осон тушиб кетади.

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

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

## 9-мавзу. ЎСИМЛИКЛАРНИ КЛОНАЛ МИКРОКЎПАЙТИРИШ

Режа:

1. Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш ҳақида тушунча;
2. Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари;
3. Меристемаларни фаоллаштириш усулини;
4. Тўқима культурасида эмбрионидларни пайдо бўлиши босқичлари.

### Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш

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

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

- Биринчидан, кўпчилик турлар (навлар) хаттоки, ювенил босқичда ҳам вегетатив усулда керакли самара билан кўпаявермайди (эман, тилоғоч, ёнғокдошлар ва бошқалар);
- иккинчидан, ўсимликларни кўпчилик дарахт навларини 10-15 ёшдан кейин, қаламча ёрдамида кўпайтириш мумкин эмас;
- учинчидан, ҳар доим ҳам стандарт экиш материали олиш мумкин эмас (юқумли касалликлар тўпланиши ва ўтиши мумкин);
- тўртинчидан, пайванд қилиш орқали катта ёшли (ёғочли) ўсимликларни кўпайтириш жуда ҳам қийин ва мураккаб; бешинчидан, йил давомида бир хил генетик материални олиш учун ишлаб чиқилган технологиялар самарадорлигининг ўта пастлигидир.
- Хужайра ва тўқималар культуралари бўйича эришилган ютуқлар вегетатив кўпайишни тубдан янги бўлган усулини клонал микрокўпайтириш *in vitro* шароитида (пробиркада), жинсий бўлмаган

йўл билан, ўсимликларни дастлабки нусхаси билан генетик бир хил бўлган навини яратиш).

Бу усул асосида ўсимлик хужайраларига хо бўлган ноёб хусусият, тотипотентлик, яъни ташқи таъсирини бутун ўсимлик организми ҳосил бўлишига туртки бўлиши ётади. Албатта, бу усулни бошқа анъанавий усуллардан устунлик томонлари жуда ҳам кўп:

- генетик бир хил экиш материалнинг олиниши;
- меристема тўқималари культуралари ишлатилиши ҳисобига ўсимликларни вирусли ва бошқа юқумли касалликлардан холи бўлиши;
- кўпайиш коэффициентининг юқорилиги (ўтчил ва гулли ўсимликлар учун  $10^4$ - $10^5$ ; нинабаргли ўсимликлар учун  $-10^4$ );
- селекция даврининг қиқариши;
- ўсимлик ривожланишсини ювенил даврдан репродуктив фазага ўтишини тезлашиши;
- анъанавий йўллар билан қийин кўпаядиган ўсимликларни кўпайтириш;
- ишни йил давомида ташкил этиш имкониятларининг мавжудлиги ва кўчат материаллари ўстириш учун керак бўлган майдонни тежаш;
- ўстириш жараёнини автоматлаштириш имкониятлари ва х.к.

Клонал микрокўпайтиришни дастлабки муваффақиятлари ўтган асрнинг 50-йиллари охирида француз олими Жорж Морел орхидея ўсимлигининг регенерантини яратганда эришилган эди. Бу муваффақиятга ўшў вақтларда яратилган, *In vitro* шароитида ўсимликларни апикал меристемаларини кўпайтириш техникаси ўз хиссасини қўшган. Одатда олимлар бирламчи эксплант сифатида ўтчил ўсимликларни устки меристемаларидан фойдаланадилар, ва озуқа мухити таркибини ўсимликни регенерация ва пайдо бўлиш жараёнларига таъсирини ўрганадилар. Худди шу мақсадда чиннигул, хризантема, кунгабоқар, нўхат, маккажўхориқоқит ва бошқа ўсимликлар ўрганиб чиқилган эди.

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

Ҳосил бўлган (етилган) протокормларни бўлиш ва кейин алоҳида мустақил равишда янги тайёрланган озуқа мухитида барг ва илдиз пайдо бўлгунча ўстириш мумкин бўлган эди. Натижада у, бу жараён чегарасиз эканлигини ва юқори сифатли генетик бир хил, вируссиз экиш материални жуда ҳам кўп миқдорда тайёрлаш мумкинлигини кузатган эди.

Россияда клонал микрокўпайтириш профессор Р.Г.Бутенко номи билан боғлиқ. К.А.Темиряев номидаги ўсимликлар физиологияси институтида бу

олима ўз шогирдлари билан, картошка, қанд лавлаги, чиннигул ва бошқа гулларни клонал кўпайтириш шароитларини ишлаб чиққан.

Мамлакатимизда бу усул илмий лабораторияларда синаб кўрилмоқда. Хусусан, Тошкент Давлат аграр университети биотехнология кафедраси илмий лабораториясида картошкани клонал микрокўпайтириш усуллари орқали касалликларга, иссиққа, шўрланишга чидамли навларини яратиш бўйича илмий изланишлар олиб борилмоқда.

Шуни ҳам эслатиб ўтиш ўринлики, микрокўпайтиришдан фойдаланиш доираси жуда кенг бўлиб, кундан кунга янада ошиб бормоқда. Энг аввало бу *in vitro* шароитида ўсимликларни ёғочли турларини, айниқса, ингибиторлар ва бу усулни йўқолиб кетаётган ўсимликлар ҳамда доривор ўсимликларни кўпайтириш учун ишлатилганда катта самара беради.

Ёғочли (дарахтларни) ўсимликларни тўқима култураси бўйича биринчи илмий ишлар 1920 йилларда чоп этилган бўлиб, француз олими Готре номи билан боғлиқ. Бу мақолаларда тилоғоч дарахти камбиал тўқималарини *in vitro* шароитида каллусогенезга имкониятлари (қобилиятлари) борлиги хабар қилинган. 1960 йилларда Матес деган олим биринчи марта ОСИН дарахти регенерантини олишга эришган ва уни тупроққа экишгача етказган. Нина баргли ўсимликларни *in vitro* шароитида ўстириш узоқ вақт тажриба сифатида ишлатилиб келинди. Бу ўсимликдан ажратиб олинган ювенил айниқса, катта ёшли тўқималарни ўсишида ўзига хос қийинчиликлар борлиги билан боғлиқ.

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

Ўсимликларни клонал микрокўпайтиришни усуллари ва босқичлари

Клонал микрокўпайтириш жараёнини 4 га босқичга бўлиш мумкин:

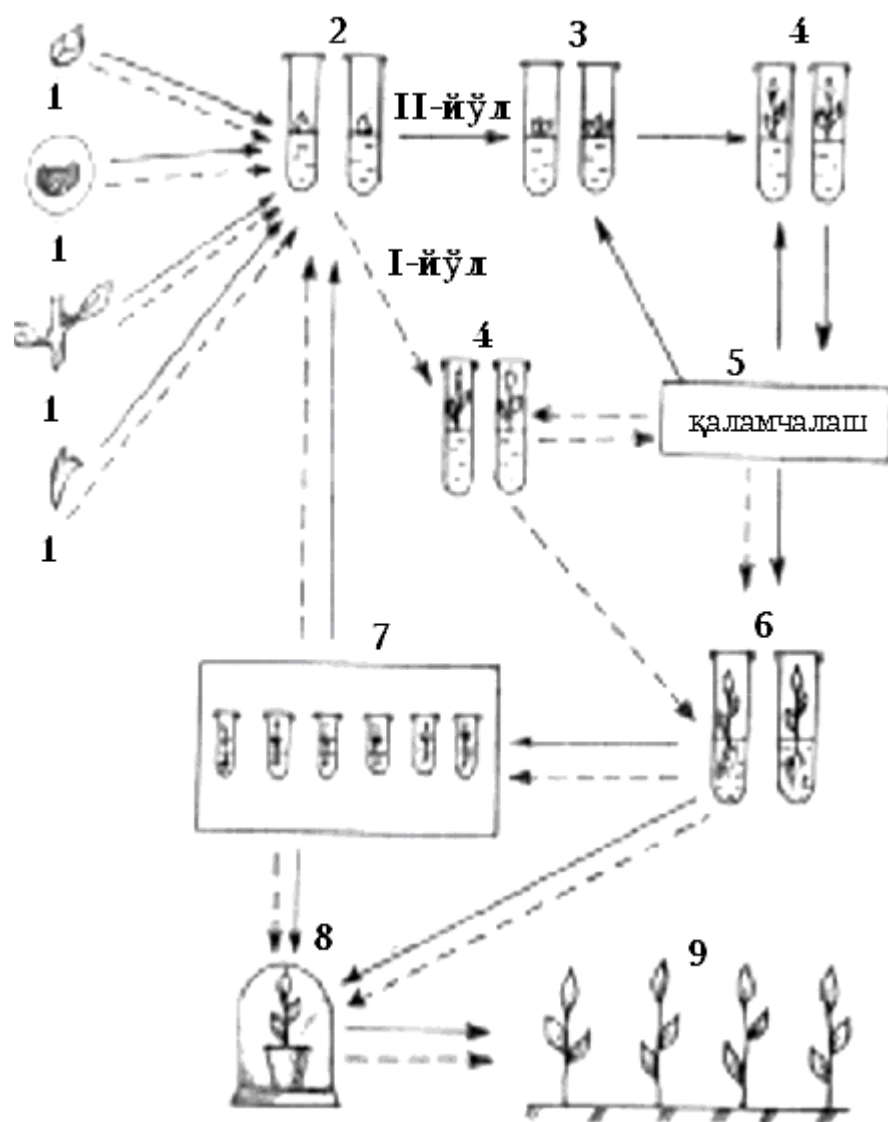
- биринчи – донор ўсимликни танлаш, эксплантларни ажратиш ва яхши ўсадиган стерил культура олиш;
- иккинчи – микрокўпайтиришни ўзи, бунда мериклонларни энг кўп (максимал) миқдорини олишга эришилади;

- учинчи – кўпайтирилган навдани илдиз олиши ва уларни тупрок шароитига мослаштириш, керак бўлганда регенерант – ўсимликларни совуқ хароратда ( $+2^0$ ,  $+10^0$ ) сақлаш;
- тўртинчи – ўсимликни иссиқхона шароитида ўстириш ва уларни майдонга чиқариб экиш ёки сотишга тайёрлаш (3.8-расм).

Клонал микрокўпайтиришни кўп усуллари маълум. Кўплаб муаллифлар эксплантларни ўстиришга шароитни морфогенез жараёнига таъсирини ўргана бориб, ўстириш шароитини ўзгаришига хар хил мофогенетик реакция бўлишини кузатганлар, бу эса клонал микрокўпайтириш методларини янги классификациясини яратишига олиб келди.

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

- ўсимликда бор бўлган меристемаларни ривожланишини жадаллаштириш (поя апекси, пояни куртаклари);
- эксплантлар тўқималарида тўғридан - тўғри адвентив куртаклар хосил бўлишини индукция қилиш;
- соматик эмбриогенезни индукция қилиш;
- бирламчи ва кўчат олувчи каллусли тўқималарда адвентив куртакларни табақалаштириш.



3.8-расм. Ўсимликларни клонал микроўпайтириш

1-йўл – бор меристемаларни ривожланишини фаоллаштириш усули;

2-йўл- эксплантда адвентив куртаклар хосил бўлишини индукция қилиш.

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

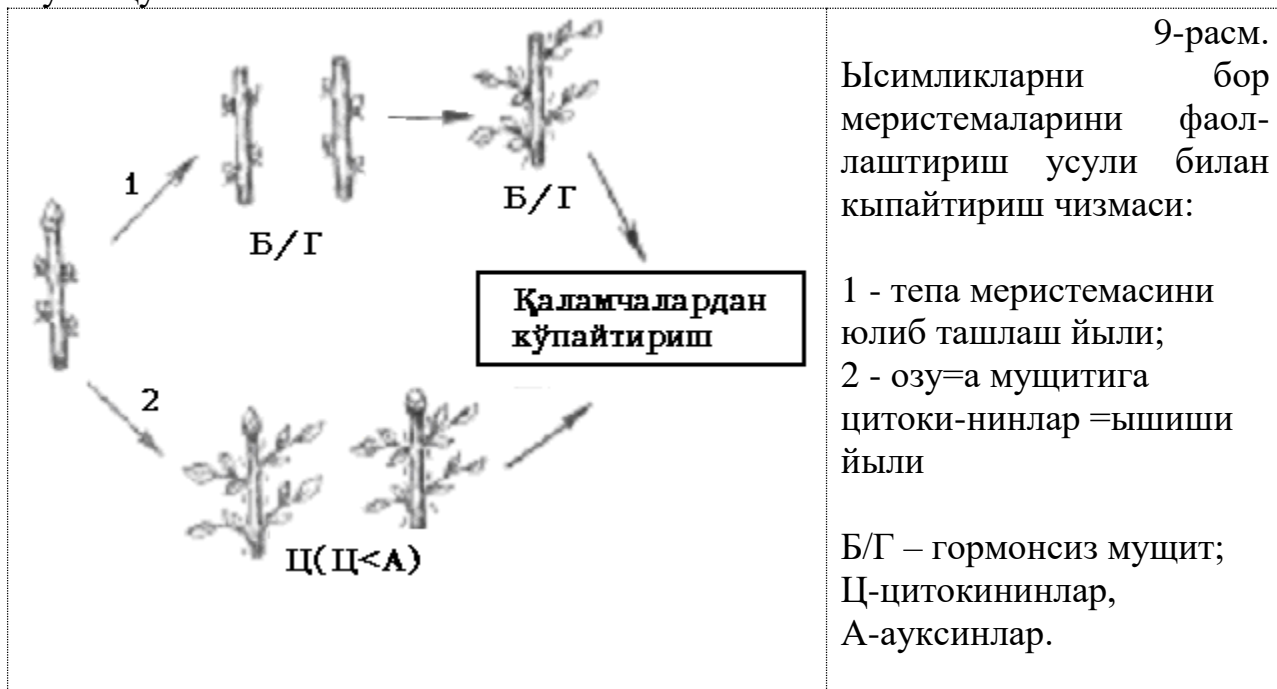
Ўсимликларни клонал микроўпайтиришда ишлатиладиган асосий усул – бу ўсимликларда бор бўлган меристемаларни ривожланишини фаоллаштириш бўлиб, у апикал устиворликни (доминирования) олиб ташлашга асосланган (3.9-расм).

Бунга икки йўл билан эришиш мумкин:

- пояни тепа меристемасини олиб ташлаш ва кейин наведани in vitro шароитида гормон сақламаган мухитда микрокаламчалаш;
- озука мухитига цитокинин таъсирига эга бўлган моддалар қўшиш (наведани ўсишини кучайтириш).

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

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



Баъзи бир қишлоқ хўжалик ўсимликлари учун (масалан, картошка ўсимлиги) клонал микроқўпайтириш технологияси саноат даражасига кўтарилган. Ўсимликларда бор бўлган меристемаларни фаоллаштириш усулини ишлатилиши бир йилда бир дона картошка меристемасидан  $10^5$  дона ўсимлик етиштириш имконини беради, бундай технология пробиркада микро туганаклар - қимматбаҳо вируссиз уруғлик яратишни ўз олдига қўйган (3.10-расм.).

Иккинчи усул – Бу эксплант тўқималарида тўғридан-тўғри адвентив куртаклар пайдо бўлишини кучайтириш (индукция қилиш). Бу усул ўсимликни ажратиб олинган қисмини қулай озука мухитида етишмаган



қисмини (органларини) хосил қилишига асосланган, шундай қилиб, бутун ўсимлик ренерация (хосил) қилиш.

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

Аммо, материал захарланмаган (юқумли касалликлардан холи) бўлиши шарт. Бу жараён, одатда алохида цитокинин ёки уни ауксин билан аралашмаси (10:1 ёки 100:1) сақлаган озуқа мухитида амалга ошади. Ауксин сифатида кўпроқ  $\beta$ -индолил-3-сирка кислота (ИУК) ёки  $\alpha$ -нафтилсирка кислота (НУК) ишлатилади.

Бу микроўпайтиришни энг кенг тарқалган усули бўлиб, шу усул билан илдиз мевали гуллар (нарцисса, лилия, гиацинт, гладиолус, лолақизғалдоқ); Brassica авлодига мансуб ўсимликлар (рангли карам) шунингдек пиёз, саримсоқпиёз, помидор ва бошқа бир қатор ўсимликлар кўайтирилган (3.11-расм).

3.10-расм.  
Ысимликларни in vitro шароитида бор былган  
меристемаларни ысишини фаоллаштириш  
усули:

а – стахис; б – анор; в – картошка.



а)

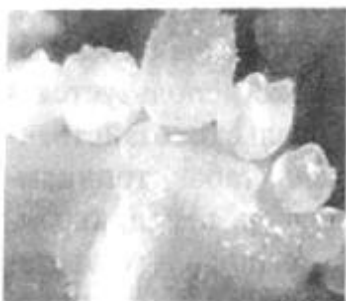


б)



в)

3.11-расм.  
Ысимликларни адвентив куртакни  
индукция =илиш ор=али кыпайтириш:  
а- буғдой; б- орхидея; в- сосна.



а)

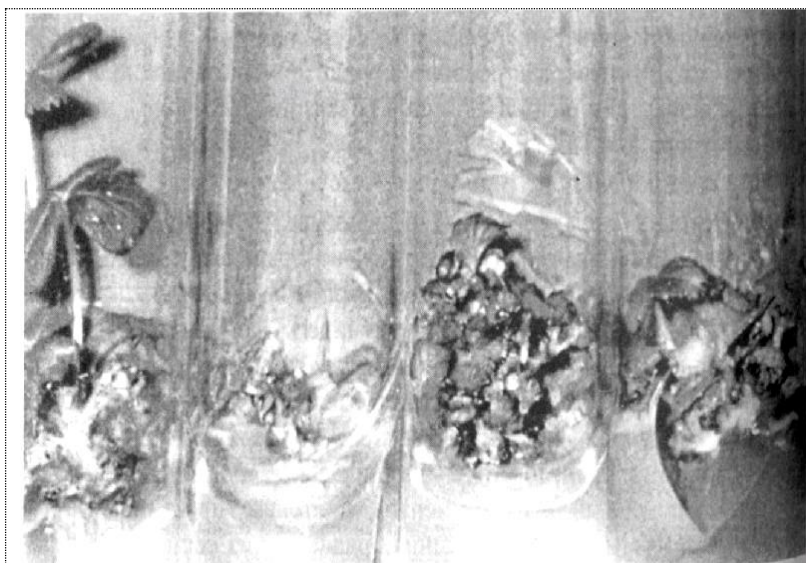


б)



в)

Ер тути (земляника) ўсимлигини апикалли меристемаларини ўстиришга асосланган клонал микрокўпайтириш технологияси ҳам яхши йўлга қўйилган (3.12-расм.).



3.12-расм.  
Ер тутини клонал  
кўпайиши

а- микрокўпайишни ызи;  
б— адаптация былган  
ысимлик.

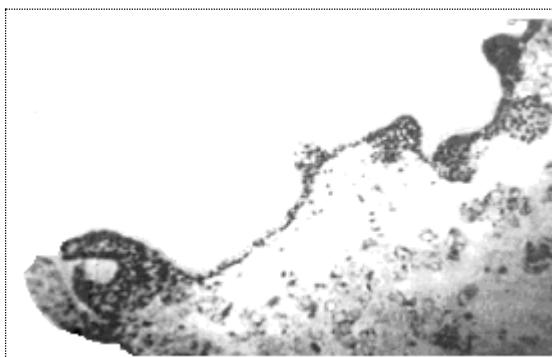
Ёш ва вирус билан касалланмаган, соғлом ўсимликни юқори меристемасини ажратиб олиб, уни Мурасига ва Скугани модификация қилинган озика мухитида ўстирилади. Озуқа мухити 0,1-0,5 мг/л 6-бензиламинопурин (БАП) сақлаши керак. 3-4 хафта ўтгандан кейин меристема майсага айланади ва уни асосида адвентив куртаклар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

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

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

Шунингдек, адвентив куртаклар меристематик хужайраларни юқори қатламидан пайдо бўлиши ҳам кўрсатиб ўтилган. Сосна дарахти мисолида адвентив куртакни куртакни уруғпалласини ва субэпидермал қаватларида пайдо бўлиши кузатилган ва бу жараён сосна учун ишлатиладиган цитокининларга боғлиқ эмаслиги кўрсатиб ўтилган (3.13-расм).

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



3.13-расм.  
Эксплантни эпидермал ва  
субэпидермал шужайра =аватида  
адвентив куртакларни шосил  
былиши

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

Тўқима культурасида эмбрионидларни пайдо бўлиши икки босқичда амалга ошади:

- Биринчи босқичда хужайра эксплантлари озуқа мухити таркибига солинган акусинлар, энг аввало 2,4 – дихлорфеноксирка кислотаси (2,4 -Д) хисобидан эмбрионалга айланади.
- Иккинчи босқичда хосил бўлган хужайраларни эмбрионидларгача ривожланишига мажбур қилиш керак бу эса, озуқа мухит таркибидаги ауксинларни миқдорини камайитириш ёки уларни бутунлай чиқариб ташлаш орқали амалга оширилади.

Соматик эмбриогенезни тўғридан – тўғри бирламчи эксплантлар тўқималарида, ҳамда каллусли культураларда куштиш мумкин. Шунинг ҳам таъкидлаб ўтиш лозимки, каллусли культуралардан клонал микроўпайтиришда фойдаланиш камроқ самара беради, чунки шу йўл билан тайёрланган эквивалент материаллари (кўчатлар) донор – ўсимликка нисбатан генетик турғун (муштахкам) бўлмайди. Кўпинча, каллусли хужайраларни суюқ озуқа муҳитида ўстирилганда, соматик эмбриогенез келиб чиқади ва энг қийин операциялардан ҳисобланади. Бунга сабаб, ҳар доим ҳам хужайраларга ҳос бўлган тотипотентлик амалга ошавермайди.

#### АДАБИЁТЛАР:

1. Бакай С.М. Биотехнология обогащения кормов микроальбумином. Киев. Урожай 1987.
2. Бўков В.А. и др. Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов. – М. Высшая школа, 1987.
3. Гаврилова Н.Н. Липиды микроорганизмов для кормовых целей. М., ВНИИСЭНТИ, 1985.
4. Глележа А.А. и др. Микробные ферменты в народном хозяйстве – Вильнюс: Мокслас, 1985.
5. Давронов К. Микроблар дунёси. Тошкент: ТошДАУ, 2001.
6. Давронов К., Хўжамшукуров Н. Умумий ва техника микробиология. Тошкент, ТошДАУ, 2004.
7. Бабаев А.А. – Биотехнология. М., Наука, 1984.
8. Беккер М.Е. – Введение в биотехнологию. М., Пихевая промышленность, 1978
9. Бич Г., Бест Д., Брайерли К и др. Биотехнология, Принципы приложения. М., Мир, 1988.
10. Артамонов В.И. Биотехнология агропромышленному комплексу. Москва. Наука. 1989, 165с.
11. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. М., «Агропромиздат» 1991. 240 с.
12. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн. /Под ред. Н.С.Егорова.,

- В.Д.Самуилова. Кн. 6: Микробиологическое производства биологически активнѐх веществ и препаратов/ Бѐков В.А., Крѐлов И.А., Манаков М.Н. и др. - М.: Вѐсп. шк., 1987. - 143 с.
- 13.Грачева И.М., Гаврилова Н.Н., Иванова Л.А. Технология микробнѐх белковѐх препаратов, аминокислот и жиров. - М.: Пихевая промѐшленность, 1980. 448 с.
  - 14.Грачева И.М. Технология ферментнѐх процессов. М., 1975.
  - 15.Колунянц К.А., Голгер Л.И. Микробнѐе ферментнѐе препаратѐ. М., 1979.
  - 16.Колунянц К.А., Голгер Л.И. Ферментѐ медицинского назначения /Под ред. А.А. Терлишна./ Л. 1975.
  - 17.Перт С.Дж. Основѐ культивирования микроорганизмов и клеток/ Пер. с англ. М., 1978.
  - 18.Рубан Е.Л. Микробнѐе липидѐ и липазѐ. М., 1977.
  - 19.Варфагомев С.Д., Калюжнѐй С.В. Биотехнология. Кинетическая основѐ микробиологических процесов М., Вѐсшая школа, 1990.
  - 20.Воробѐева Л.И. Промѐхеленная микробиология. М., Изд-во МГУ, 1989.
  - 21.Еликов П.П. Основѐ биотехнологии. С.п.б. Иф. «наука», 1995.
  - 22.Контере В.М. Теоритические основѐ технологии микробиологических производств. М., «Агропромиздат», 1990.
  - 23.Тутов И.К, Ситьков В.И. Основѐ биотехнологии ветеринарнѐх препаратов – Ставрополь, 1997.
  - 24.Физические основѐ испособѐ микрофилтрации и ее применение в технологии производства ветеринарнѐх иммунобиологических препаратов Ч. IV. «Микрофилтрация» (Воронин Е.С, Тихонов И.В и др) М., МГАВМи Б.им.К.И. Скрыбина, 2000.
  - 25.Красота В.Ф., Завортяев Б.П. и др. Биотехнология в животноводстве. М., Колос, 1994.
  - 26.Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. – Основѐ технологии производства ветеринарнѐх биологических препаратов. М., Россельхозакадемия, 2000.

## МУНДАРИЖА

№	Мавзу номи	ажратил- ган соат	бет
1-қисм. ФЕРМЕНТ ИНЖЕНЕРЛИГИ			
1	Ферментлар ва уларнинг халқ хўжалигидаги ахамияти	2	3
2	Ферментлар иѐеаа чиқадиѐ ТаѐНіѐіаияѐи	2	9
3	ФерментаТиВ продуцентларни ѐѐТиѐиѐ уѐѐѐѐади	4	15
4	İіѐđĩđāаНіçіѐаđāаН фермент іđāіадаТѐадиНи ааѐдаТиā іѐиѐ ѐѐѐѐади	4	19
5	Фермент ва хужайралар иммобилизацияси	4	30

2-қисм. ХУЖАЙРА БИОТЕХНОЛОГИЯСИ			
6	Хужайра ва тўқима инженерияси	2	40
7	Ажратиб олинган хужайра ва тўқималарини ўстириш техникаси	2	43
8	Каллус тўқималар культураси	6	47
9	Ўсимликларни клонал микрокўпайтириш	2	63
Адабиётлар			71