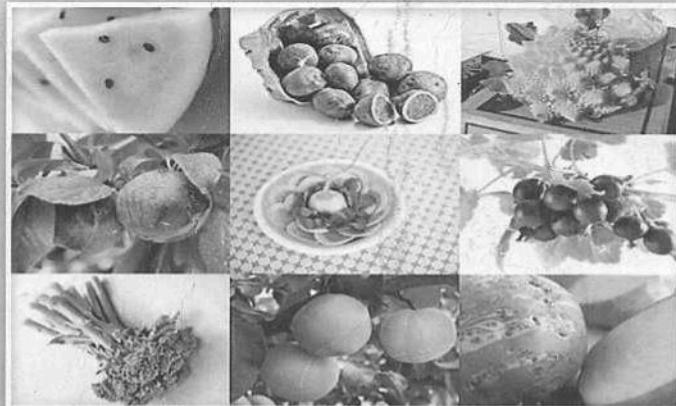


M.A.ZUPAROV, M.S.MAMIEV, U.X.RAXIMOV,
A.A.XAKIMOV, U.N.RAXMONOV, A.N.ALLAYAROV

Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi

laboratoriya mashg‘ulotlarini o‘tkazish uchun
o‘quv qo‘llanma



Toshkent – 2016

**M.A.Zuparov, M.S.Mamiev, U.X.Raximov,
A.A.Xakimov, U.N.Raxmonov, A.N.Allayarov**

Qishloq io‘jalik biotexnologiyasi

j

(Laboratoriya mashg‘ulotlarini o‘tkazish uchun o‘quv qo‘llanma)

Toshkent-2016

Ushbu amaliy mashg'ulotlar bo'yicha qo'mlanma "Qishloq xo'jaligi biotexnologiyasi" fani bo'yicha o'tiladigan laboratoriya mashg'ulotlarning mavzusi, uni o'tkazish uchun dastur, material va jihozlar, topshiriqlarning qisqacha mazmuni, topshiriqlami bajarish usuli val tartibi hamda olingen natijalami muhokama qilish bo'yicha tushuncha berilgan.

Ushbu o'quv qo'llanma i Bilim sohasi: 400000 - Qishloq va
suv xo'jaligi **Ta'lirn sohasi:** 410000 - Qishloq, o'rmon va baliq
xo'jaligi Ta'lim yo'nalishlari:
5111000 - Kasb ta'limi (5410200 - Agronomiya (dehqonchilik mahsulotlari bo'yicha)
5410200 — Agronomiya (dehqonchilik mahsulotlari bo'yicha)
5410300 - O'simliklar himoyasi va karantini 5410400 - Qishloq xo'jaligi ekinlari seleksiyasi va urug'chiligi 5410500- Qishloq xo'jalik rhahsulotlarini saqlash va dastlabki qayta ishlash texnologiyasi 5411000 - Meva-sabzavotchilik va uzumchilik
5420100— Qishloq xo'jaligida menejment mutaxassisliklari uchun mojallangan

Tuzuvchilar: M.A.Zuparov
M.S.Mamiev
U.X.Raximov
A.A.Xakimov
U.N.Raxmono
V
A. NAllayarov

Taqrizchilar:

F.M.Boyjigitov O'zbekiston O'simliklarni himoya qilish ilmiy tadqiqot instituti katta ilmiy xodimi, qishloq xo'jalik fanlari nomzodi
B. **Muxammadiev** ToshDAU:O'simliklami himoya qilish kafedrasi dotsenti

O'quv qo'llanma Botanika va agrobiteknologiya kafedrasi yig'ilishida (2016 yil 9 sentiyabrdagi 2-sonli bayonnomasi), Selekksiya, urug'chilik va o'simliklarni himoya qilish fakulteti o'quv uslubiy Kengashining 2016 yil 20 sentiyabrdagi 2-sonli yig'ilishida hamda ToshDAU o'quv uslubiy Kengashining 2016 yil 28-noyabr 2-sonli yig'ilishida ko'rib chiqilib, chop etishga ruxsat etildi.

KIRISH

Qadim davrdanoq biotexnologiya, undagi jarayonlar kishilarning kundalik ehtiyojlarini qondirish maqsadida foydalanib kelingan bo'lsada, amaliy fan sifatida XX asrda shakllandi. U hozirgi vaqtida insoniyatning eng asosiy dolzarb muammolaridan biri hisoblan mish - oziq-ovqat, energetik resurs, atrof-muhit ifloslanishiining oldini olish bilan bog'liq muammolari echimini topish zaruriyati tufayli yuzaga keldi.

Biotexnologik jarayonlar mikroorganizmlar, o'simlik va hayvon hujayralari, sun'iy oziqa muhitlarida o'stirilayotgan hujayra, to'qima va organlarni biosintetik potensialidan amaliy foydalanishga asoslanadi. Hozirgi vaqtida dunyoning ko'plab mamlakatlaria biotexnologiyaning taraqqiyotiga asosiy e'tibor qaratilmoqda, chunki boshqa texnologiya-larga qaraganda, biotexnologik jarayonlar energiya sarfning kamligi, deyarli chiqindisizligi, ekologik sofligi jihatidan bir qator afzalliklarga ega. Bundan tashqari bu texnologiyalar muayyan asbob-uskuna, texnik qurilma va preparatlardan foydalanishni talab qildi, Shuningdek, iqlim sharoitlariga qaramasdan kichik hajmnii egallaydigan maydonlarda ham tadqiqotlar o'tkazish mumkinligi bilan ajralib turadi.

Mamlakatimizda biotexnologiyani q'rganish va uning yutuqlaridan ilmiy - tadqiqot ishlarida foydalanish, sohada olib borilayotgan izlanishlarni shakllantirish 70-80-yillardan boshlangan.

Bugungi kunga kelib qishloq ho'jalilik biotexnologiyasi sohasidagi ko'plab ishlar, tadqiqotlar bir qator oliml; ar, mutaxassislarning izlanishlari bilan izchil davom etmoqda.

1 - ish. Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi laboratoriyasining tuzilishi, asbob- uskunalar va Iaboratoriyada ishlash qoidalari bilan tanishish

Asbob-uskunalar va materiallar. Biotexnologiya laboratoriya-sida foydalanimadigan asosiy asbob-uskunalar: laminar boks, avtoklav, termostat, quritish shkafi, sovutgichlar, sentrifugalar, avtomatik mikropipetkalar, elektroforez, Petri likobchasi, probirka hamda boshqa asboblar va idishlar.

Mavzuni tushuntirish. Bu darsda talabalar biotexnologik laboratoriyasini tashkil etish va unda ishlash qoidalari bilan tanishadilar. Biotexnologik laboratoriyasining asosiy asboblari va jihozlaridan foydalanish usullarini o‘rgariadilar.

Biotexnologiya laboratoriysi uchun ajratilgan xona yorug‘, keng, uning tabiiy yoritilganligi 110 lk dan kam bo‘lmasligi kerak. Laboratoriya xonasining tagiga oson yuviladigan linoleum to‘shalgan, stollaming sirti plastik materiallar bilan qoplangan bo‘lishi kerak. Xona devorlarini erdan 170 sm balandlikgacha kafel bilan qoplash yoki moy bo‘yoq bilan bo‘yash zarur. Biotexnologiya xonasidagi stollar laboratoriya tipida va u erda reaktiv hamda idishlarni qO‘yish uchun shkaf va peshtaxtalar bo‘lishi kerak. Stollar elektr va gaz tarmog‘iga ulangan manbaga ega bo‘lishi talab etiladi.

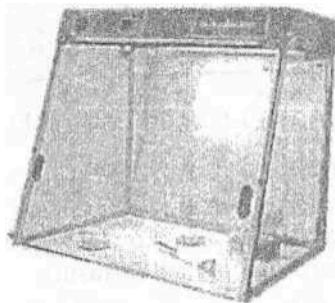
Biotexnologiya laboratoriysi asosiy xonadan tashqari avtoklav va quritish shkafi qo‘yiladigan xona, sterilizatsiya xonasi, boks, idish yuvadigan xona, sovutkich va termostat qo‘yiladigan, kulturalarni saqlaydigan xonalardan iborat bo‘lishi kerak. Boks-kulturalar ekiladigan unchalik katta boimagan xona bo‘lib, u ikkiga ajratilgan bo‘lishi zarur. Boksdagi asosiy ishlash xonasiga kichik xona, ya’ni tamburdan eshik orqali kiriladi. Bu holat eshik ochilganda tashqaridagi havo orqali mikroorganizmlarni to‘g‘ridan-to‘g‘ri kirib kelishini ma’lum darajada oldini oladi. Boks ichida bakteritsid lampa bo‘lishi kerak. Hozirgi vaqtida stolga joylashtiriladigan turli kattalikdagi, ichida steril havosi almashib turadigan laminar bokslar ham keng ishlatmoqda.

Biotexnologiya laboratoriyalarda o‘simglik kulturalari va mikroorganizmlar bilan ish olib boriladi. Qishloq xo‘jalik oliy o‘quv yurtlarining agronomiya yo‘nalishlarida biotexnologik tadqiqotlar asosan o‘simgliklar va mikroorganizmlar ustida olib boriladi, lekin mikroorganizmlar, orasida insonlarda kasallik qo‘zg‘atuvchi turlari ham bo‘lishi mumkin. Shuning uchun Iaboratoriyada xodim va talabalar

o‘zlariga ayrim kasalliklarni yuqtirmasliklari uchun ichki tartib qoidalariga qat’iy roya qilishSari zarur. Ular quyidagilardir:

- a) *dastalab birkitilgan joyda ishlash, faqat shu stoldagi asbob va reaktivlardan ishda foydalanish lozim.*
- b) *spirt lampalarni bir-biridan yondirmsadan, faqat gugurt orqali yondirish kerak.*
- v) *rozetkalarga metal va boshqa buywnlar bilan tegish taqiqlanadi. g) o‘qituvchidan yoki laborantdan ruxsatsiz elektr asboblari, uskunalar va boshqa jixozlarni ishga tushirmaslik kerak. d) kimyoviy va boshqa reaktivlar bilan ishlaganda ehtiylor choralarni ko‘rish kerak.*

Biotexnologiya iaboratoriyasida qo‘lianiladigan asboblар: **Laminar-boks**. Laminar-boks ajratilgan to‘qma, hujayraarni o‘stirish va boshqa sterii sharoitni talab etuvchi ishlarni bajarish uchun moMjallangan. **Bu** erdagи sterii sharoit laminar-boksga o‘matilgan havo o‘tkazadigan bakterial filtrlar yordamsida amalga oshiriladi (1-rasm).

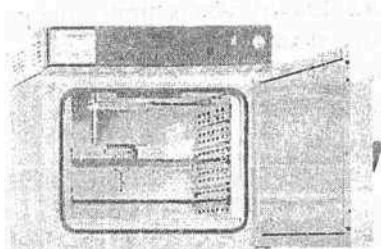


1 -rasm. Laminar boks

Termostat. Bu jihozda issiq harorat bir xil darajada saqlanib turriadi. Ko‘p mikroorganizmlarning ko‘payishi uchun qulay harorat 25-27°С liisoblanadi. Termostatlar quruq, havoli va suvli boiadi. Bulardan mikroorganizmlarni o‘stirish uchun foydalilanildi (2-rasm).

2-rasm. Termostat

Quritish shkafi (Paster pechi). SHisha, cbinni va metaldan yasalgan laboratoriya idishlari sterillash uchun mo‘ljallangan (3-rasm).



3-rasm. Quritish shkafi

Avtoklav. Mazkur jihoz bug¹ va bosim bilan sterillashga mo‘ljallangan. Biotexnologik laboratoriyalarda avtoldavlarning turli xillari (gorizontal, vertikal shakldagi, ko‘chirib bo‘lmaydigan va ko‘chirish mumkin bo‘lgan turlari) ishlataladi (4-rasm).



4-rasm. Avtoklav

Sovutkichlar. Oziqa muhitlarini, zardob va boshqa biologik jihatdan faol preparatlarni 4 C atrofida saqlash uchun foydalaniladi. Biopreparatlami O C dan past haroratda saqlash uchun past haroratli sovutkichlardan foydalaniladi. Bularda harorat -20 C va undan ham past bo'lishi mumkin.

Sentrifuga. Markazdan qochuvchi aylanma kuchdan foydalanib suyuqlikdagi turli solishtirma og'irlilikka ega moddalarni va qattiq moddalardan suyuq moddalarni ajratishda ishlatiladi (5-rasm). Sentrifugadagi aylanma harakat tufayli solishtirma og'irligi nisbatan yuqori bo'lakchalar chetga va aksincha kichik solishtirma og'irlilikdagi bo'lakchalar o'rtadagi o'q atrofida yig'iladi.

Ultratsentrifuga biotexnologiya laboratoriya amaliyotida keyingi tadqiqotlar uchun hujayra fraksiyalari, membrana, oqsil, nukiein kislotaish va boshqa makromolekulalarni ajratishda ishlatiladi. U1 tratsentrifuganing rotorani aylanishi bir daqiqada 80 ming va tezligi 106 q ga teng. Ultratsentrifugani bimchi bo'lib 1923 yili T.Svedberg kashf qilgan.



5-rasm. Sentrifuga

Avtomatik mikropipetkalar. Kichik hajmdagi [1-1000 mkl (jil)] .nyuqliklarni aniq va sifatli o'lchash uchun ishlatiladigan asboblar. Ular nologik va kimyoviy tadqiqotlarda keng qo'llaniladi (6-rasm).

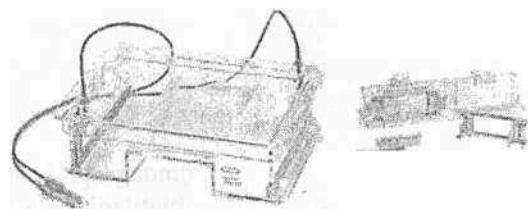
Mikropipetkalar konsentrangan kislotaish yoki emiruvchi eritmaiами 'li lin'ili uchun ishlatilgandan so'ng ularning boiaklari distillangan suv hImii yaxshilab yuvilishi va quritilishi kerak. To'liq quritilgan nil topipetka boiaklari yana o'z xolidek qilib yig'ib qo'yiladi. Emiruvchi 11111utL'triiling parlnrini uzoq ta'sirida mikropipetka bo'Maklari ishdan liiijr.lli mumkin. Hu f.sn ulaida suyuqliklarni hajmini noto'g'ri o'lhashga nimbi hi ho'liuli,

6-rasm. Avtomatik mikropipetkalar

Elektroforez (yunoncha so‘z bo‘lib, “ko‘chirib o‘tkazaman” degan ma’noni biidiradigan elektrokinetik xodisa bo‘lib, elektro-maydonning tashqi ta’sirida suyuq yoki gazli muhitda dispers faza (kolloid yoki oqsii eritmalarining) bo‘laklarini ko‘chishidir (7-rasm). Uni birinchi boiib Moskva universitetining professorlari P.I.Straxov va F.F.Reyslar 1809 yilda kashf qilishgan.

Eletroforez yordamida sirtning chuqur qismigacha kirib boradigan may da bo‘lakchalar yordamida yuzani qoplash mumkin.

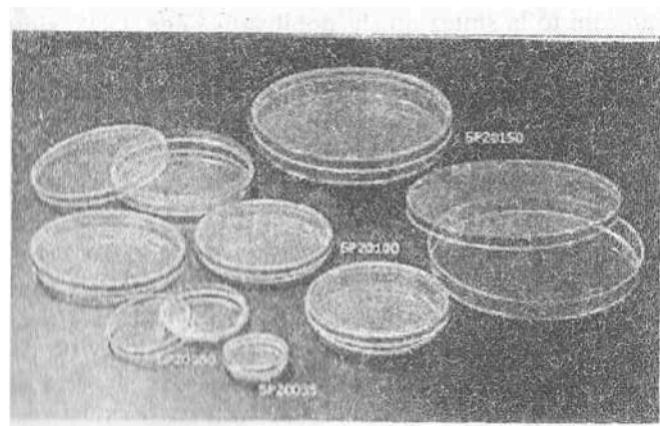
Eletroforez fizioterapiyada, kimyo sanoatida tutun va tumanlami tarqatishda hamda eritmalar tarkibini o‘rganishda tatbiq etiladi. Kimyo, biokimyo va molekulyar biologiyada elektroforez moddalamni ajratishda va ularning komponentlarini taxlil qilishda eng muhim usuilardan biri hisoblanadi.



7-rasm. Elektroforez

8- rasm. Biotexnologiya laboratoriyasining asosiy uskunalar

Petri likobchasi. Ikkita bir-biriga qopqoq bo'lib yopiladigan yassi, ciarnetri 8-10 sm bo'lgan yumaloq idish (9-rasm). Petri likobchasi shisha yoki tiniq plastmassadan tayyorlanadi va unda agarli oziqa muhitida mikroorganizmlar yoki o'simlik to'qimasi o'stiriladi. Petri likobchasi in-mis olimi R.Koxning shogirdi Yu.R.Petri tomonidan bиринчи bor 1887 vili mikroorganizmlami o'stirish uchun ishlatalig'an.



9-rasm. Petri likobchasi

Nazorat savollari:

- 1.Qishloq xo‘jalik biotexnologiyasi laboratoriysi qanday talablarga javob berish kerak?
- 2.Asbob uskunalar bilan ishiashda nimalarga e’tibor beriladi?
- 3.Steriilash jixozlariga ta’rif berib o‘ting.

2-ish: O‘simlik xisjayrasidan DNK ajratish

Asbob-uskunalar va materiallar. 4 g 14 kunlik g‘o‘za barglari, havoncha, sentrifuga, sentrifuga stakanlari, 2 ta kolba, 2 ta stakan, shisha tayoqcha, refraktometr, dializ qog‘ozi, magnitli aralashtirgich, spektrofotometr va muzlatgich.

Mavzuni tushimtirish. Transgen hujayradan sun’iy ravishda etuk organizm o‘stiriladi. Ushbu usuidan foydalanib o‘simlik, hayvon va mikroorganizmlar hujayralaridan transgen shakllar oiish rnumkin. Biotexnologiyaning bu sohasiga dastlabki qadamlar 1973 yil birinchi gen klonlangan vaqtadan boshlab qo‘yilgan edi (1-jadval).

Tirik organizmda oldindan mavjud qolip asosida yangi DNK molekuiasining yaratilishi nuklein kisiotalarining sintezi anish yo‘lidir. Mavjud DNK molekulasidan nusxa olish replikatsiya deb ataladi.

Replikatsiya jarayoni DNK-polimeraza I, II, III, DNK-ligaza va revertaza fermentlari yordamida amalga oshadi. rep-oqsil yordamida DNK qo‘sh zanjiri - ajraladi va DNKga bog‘lanadigan oqsi! molekulalari yordamida DNK ning ajralgan zanjirlari turg‘un holatda saqlanib turiladi. DNK-polimeraza III fermenti DNK ning 3' uchidan 5' uchigacha DNK ning bitta zanjirini to‘la sintez qilish qobiliyatiga ega. DNK sintezi faqat DNK ning 3' uchidan 5' uchiga qarab borishi tufayli DNK ning ikkinchi zanjiri praymaza, DNK-polimeraza I va DNK-ligaza fermentlari yordamida amalga oshadi.

Praymaza (revertaza) fermenti yordamida DNK ning ikkinchi zanjiri sintezi uchun praymer sintez qilinadi va DNK-polimeraza III fermenti yordamida prayner nukleotidlar ketma-ketligidan DNK sintezi boshlanadi va DNK-polimeraza I fermenti yordamida bu nukleotidlar ketma-ketligi bir oz uzaytiriladi. Ko‘plab hosil bo‘lgan DNK fragmentlari DNK-ligaza fermenti yordamida uianadi. Bu jarayon DNK ning ikkinchi zanjiri to‘la sintez bo‘lguncha davom etadi. YAngi DNK zanjiri tayyor DNKnirig nusxasiga, matritsasiga qarab tuziladi. Bu jarayonda matritsa vazifasini DNK qo‘sh zanjirining bir ipi bajaradi.

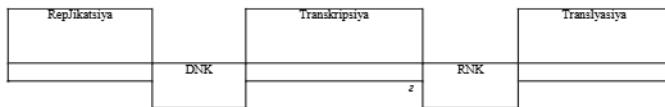
1 -jadval

Zamonaviy	biotexnologiyaning dastlabki asosiy bosqichlari
Kashf etilgan vaqtি	Bajarilgan ishlar
1973 yil	Birinchi gen klonlangan
1974 yil	Birinchi bakteriya geniarini klonlash ekspressiyasi amalga oshirildi
1975 yil	Birinchi gibridoma yaratilgan
1976 yil	Rekombinant DНK texnologiyasidan ishlab chiqarishda foydalanish boshlangan
1980 yil	Gen muxandisli usullari yordamida olingan mikroorganizm shtammlarini patentlash haqidagi qaror qabul qilingan :
1981 yil	Monokional antitella to'plamiaridan foydalanish mumkinligi to'g'risidagi qaror qabul qilingan. Birinchi marta genlarni avtomatik siritezatori sotuvga chiqarildi
1982 yil	Tibbiyotda rekombinant DНK - insulini va hayvonlar uchun birinchi rekombinant DНK dan foydalanishga ruxsat berildi
1983 yil	Birinchi marotoba gen ekspressiyasidan bir o'simlikdan boshqa turida foydalanish mumkinligi isbotlandi

RНK sintezi jarayoni transkripsiya deb **ataiadи**. Har uchala tipdagи UN Is. sintezi turli tipdagи RНK-polimraza (RНK-polimeraza 1,11,111) ь iiu ndan yordamida amalga oshiriladi. rRНK sintezi RНK-polimeraza I It niKMiti, iRНK RНK-polimeraza II fermenti va tRНK hamda kichik u'lchiimli yadro RНK si rnolekuialari RНK-polimeraza III fermenti vnidnmida amalga oshiriladi. Hamma RНK rnolekuialari sintezi uchun I چ IK ning bitta ipi matritsa vazifasini o'tayai.

*>i|sil sintezi ribosomalarda o'tadi. Ribosoma hujayra metabolizmi tn Inin /ihrur boMgan oqsillar sintezini DНK dan olingan inshaklsiya i и i'ii Koillash mexanizmiga nuivofiq amaiga oshiradi (10-rasm).

1*111', /nnjiriran olingan iRНK nukleotidlар tartibi shaklidagi hi ИиМмуи iihosoma yordamida oqsil molekulasi dagi aminokislotalar I MI 1111| I'll In'clil iliuli



I O-rasm. Biologiyaning asosiy qonuniyati

Oqsil sintezi jarayoni translyasiya deb ataiadi. Nuklein kislotalarda har bir aminokislotalarni taniyidigan va tanlab biriktirib olib tashishda vositachilik qiladigan birin-ketin uclita nukleotidlar kombinatsiyasi mavjudki, bu o‘z navbatida aminokislota kodi, oqsil kodi, kodon, keng ma’noda genetik kod deb yuritiladi.

Oqsil molekulasiiga kiradigan aminokislolar 20 ta bo‘lganligi uchun kodonlar soni harn 20 dan kam bo‘lishi mumkin emas.

Bunda hosil nobud bo‘ladigan kombinatsiyalar soni 64^{43} , kodlanadigan aminokislolar sonidan ancha ko‘p. Nima uchun degan savol tug‘i!adi? Ma’lum boiishicha, 20 ta aminokislordan 18 tasi bittadan ortiq, ya’ni 2 ta, 3 ta, 4 ta va 6 ta kodon bilan kodlana oiar ekan. Bundan tashqari, uchta kodon UAA, UAG, UGS aminokislotalarni kodlay olmaydigan va ularni paydo bo‘3ishi polipeptid zanjirining tugaganidan darak beradi. Shuning uchun ham ular terminatorlar “tugatuvchilar” deb ataladi.

Poliribosomaiarda oqsil sintezi iRNKnинг 5' oxiridan boshlanib 3' oxirida tugaydi. Oqsil sintezi tugagach iRNK ribospmadan ajralib chiqadi va ribosoma ikkita subparchalarga dissotsiatsiyalanadi.

DNK molekulasi strukturasini tashqi nomuqobU omillar ta’sirida o‘zgrrorishi muiatsiyim deyildaru

Mutatsiyaga uchragari DNK moiekulasida irsiy axborot o‘zgaradi va organizmning mo‘tadil holatda yashashiga keskin ta’sir ko‘rsatadi. Tirik organizmning mutant shakllari vujudga keladi, Boshqa organizmlardan farqli o‘Maroq o‘simplik va mikroorganizmlaming xo‘jalik ahamiyati yuqori bo‘lgan mutant shaldilaridan xalq xo‘jaligida keng ko‘lamda foydaliladi (2-jadval).

Inson organizmidagi mutatsion o‘zgarishlar og‘ir kasalliklarni kelib chiqishiga sabab nobud bo‘ladi (oq qon kasalligi).

2-jadvai

Auksotrof mutantlar yordamida L-aminokislolarining birlamchi metabolitlarini olinishi

Amino-kislota	Produtsent	Tansiq rnodda	Substrat	Kultural suyuqlikda aminokislolar miqdori, g/1
L-lizin	<i>Brevibacterium flavurn</i>	Treonin, metionin yoki	Glyukoza. saxaroza	60-100
L-trionin	<i>Escherichia coli</i>	Lizin, metionin, izoleysin	Glyukoza	20
L-ornitin	<i>Coryneobacterium glutamicum</i>	Arginin	Glyukoza	26
L-fenil-alanin	<i>Arthrobacter parafineus</i>	Tirozin	n-alkaniar	15
L-tirozin	<i>Coiyneobacterium sp.</i>	Fenilalanin	n-alkanla.r	19
L-valin	<i>Coryneobacterium glutamicum</i>	Izoleysin	Glyukoza	11

Mutatsiyaga uchragan DNK molekulasi as! holatiga qaytish jarayoni ‘ I > N K repara tsiyasi deyiladi.

Rcparatsiya jarayoni DNKaza, DNIC-poiimeraza II va DNK-ligaza li i nicnllari ishtirokida amalga oshiriladi. Bu fermentlar tizimi yordamida I >111. slruktilarasi dastlabki mo“tadil holatiga qaytadi.

Mulung boristii.

i I r Iwg havonchada suyuq azot yordamida kukun holiga kelguncha iitnydalnnadi.

¹ . "I mini 50 ml bufer B bilan birga kolbaga solinadi va 20 daqiqa >It*\.
‘inulii aralashtirib turiladi.

¹ ml iniol qo'shiladi va yana aralashtiriladi (30 daq.).

¹ i 'I'."iliilugasida 10°C da 5000 ayl/daq. teziikda 1 soat aylantiriladi.

^{II}hi UI > | i.i in loza kolbaga olinib teng miqdorda fenol-xloroform mhiIh 11111ыни 'olinib, Mdnqiqa aralashtiriladi.

'I-ши11 jo" s da 5000 ayl/daq. teziikda sentrifugalanadi.

7. Ustki qisrnini olib teng miqdorda xloroform qo'shib, 10 daqiqa aralashtiriladi va yana sentrifugalash yoii bilan fazalarga bo'linadi (11- rasm).
8. Suyuq qismi 2 miqdor etil spirti solingan stakanga asta sekinlik bilan aralashtiriib rnuzlatgichga qo'yiladi. "Meduza" hosil bo'lgandan so'ng tayoqchaga o'rabi olinib 10 ml DNK erituvchi (TE) buferida stakanda eritiladi.
9. DNK eritmasiga etidiy brcrnid 0,2 mg/ml va 1,55 g/mi seziy xlor solinadi (sinish ko'rsatkichi 1,3860).
10. Suyuqlik sentrifuga probirkaiariga solinadi va tenglashtirib og'zi mahkamlangandan so'rig 20 soat 50000 ayl/daq. tezlikda (15°C) sentrifugalanadi.
- 11.UF nurlari ostida DNK shprits yordamida tortib olinadi.
12. DNK ni etidiy bromididdan izoamii spirtida 5 marta ekstraksiya qiiib tozalanadi.
13. DNK ni seziy xlordan TE buferida 10° C da 24 scat magnitii aralashtirgichda buferni bir riecha marta almashtirib dializ qilish yo'li bilan tozalanadi.
14. DNK miqdorini spektrofotometrda 260 nm to'lqin uzunligida kvarsli kyuyvetada o'lchanadi.

B buferi:

- 0, 2 MNaCl
- 0, 05 M HC1 pH 8,0
- 0, 0 i MEDTA
- 0, 01 M DDT
- 0, 2% SDS

Fenol, 0,1 M NaCl; 0,1 M tris HC1; pH 8,0; 0,01 M EDTA bilan to'yintirilgan.

Xloroform: izoamii spirti (24:1)

TE buferi 10 mM tris HC1, pH 8,0.

1 mM EDTA

4,5 seziy xlоридning TE buferda eritmasi

Etidiy bromid eritmasi 10 mg/ml

Dializ uchun bufer: 10 mM tris pH 8,0; 1 mM EDTA.

MUNDARIJA

Kirish		3
	I -ish Qishloq xo'jalik biotocnoiogyasi laboratoriyasining tuzilishi, asbob-	
	uskunalarini va laboratoriyada ishiash qoidaiari bilan tanishish	4
2-	ish	
	0'simlik xujayrasidan DNK ajratish	10
3-	ish	
	Bakteriya hujayrasidan piazmid DNK sini ajratish	
	15	
4-	ish	
	Agarozali gelda DNK elektroforezi	19
5-	ish 0'simlik hujayra va to'qmalarini o'stirish uchun oziqa muhitlarini	
	tayyorlash	
	22	
6-	ish Biotexnologiyada streillash usuilar	
	27
7-	ish In	
	<i>vitro</i> sharoitida o'simliklanti klonli mikroko* paytirish	31
7.1-	ish Steri! o'simtalar o'stirish	
 35	
7.2-	ish	
	Kartoshkaning apikal meristemasini ajratish vao'stirish	38
8-	ish	
	Kartoshkadan mikrotuganaklar olish	
	41	
9-	ish	
	Fitoregulyatorlar yordamida kartoshka tuganaklarini tinim holatiga o'tishi va	
	uyg'onishini boshqarish	
	43	
10-	ish Tuganak bakteriyalami sof kulturasini	
	olish va ular asosida preparatlar tayyorlash	
 44	
	SI-ish Nitragin, azotobakterin va fosforobakterin preparatlarini olish	
	texnologiyasi	47
11.1-	ish	
	Nitragin pieparatini olish texnologiyasi	47
11.2-ish	Azotobakterin oiiish texnologiyasi	56
11.3-ish	Fosfobakterin olish texnologiyasi	
	59
12-	ish	
	Entomonatogen mikroorganizmiami ajratish va ular asosida preparatlar olish	