

CHARACTERIZATION OF ENZYMES INVOLVED IN TOMATO FRUIT RIPENING AND ENHANCING FRUIT QUALITY BY ALTERING ENZYME ACTIVITY VIA GENETIC ENGINEERING

Murodov Anvarjon Adxamjon ugli¹, Ayubov Mirzakamol Sobitjonovich²,
Mamajonov Bexzod O'rijfon ugli³, Yusupov Abdurahmon Nodirjon ugli⁴, Obidov
Nuridinjon Shuhratjon ugli⁵, Bashirxonov Ziyodulloxon Hakimullo ugli⁶, and
Buriev Zabardast Tojiboyevich⁷

1. PhD Student, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
2. Senior Researcher, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
3. Junior Researcher, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
4. Junior Researcher, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
5. PhD Student, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
6. Junior Researcher, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
7. D.Sc., Professor, Center of Genomics and Bioinformatics, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

Email: murodov95anvar@gmail.com

Abstract. Fruit ripening is a sequence of irreversible biochemical reactions involving numerous enzymes. Each enzyme activates during a specific stage of fruit development, leading to changes in color, firmness, taste, and aroma. The suppression or reduction of these enzymatic activities causes significant morphological and physiological changes in the fruit. Utilizing this data in

biotechnology allows for the improvement of critical biological indicators of fruit quality.

Keywords: *Solanum lycopersicum*, fruit ripening, cell wall, ethylene, polygalacturonase, pectin methylesterase, CRISPR/Cas9, RNA interference, shelf life.

ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕРМЕНТОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В СОЗРЕВАНИИ ПЛОДОВ ТОМАТА, И ПОВЫШЕНИЕ КАЧЕСТВА ПЛОДОВ ПУТЕМ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Муродов Анваржон Адхамжон угли¹, Аюбов Мирзакамол Собитжонович²,
Мамажонов Бехзод Урижфон угли³, Юсупов Абдурахмон Нодиржон угли⁴,
Обидов Нурдинжон Шухратжон угли⁵, Баширхонов Зиёдуллохон Хакимулло
угли⁶ и Буриев Забардаст Тожибоевич⁷

1. Докторант (PhD) Центра геномики и биоинформатики АН РУз
2. Старший научный сотрудник Центра геномики и биоинформатики АН РУз
3. Младший научный сотрудник Центра геномики и биоинформатики АН РУз
4. Младший научный сотрудник Центра геномики и биоинформатики АН РУз
5. Докторант (PhD) Центра геномики и биоинформатики АН РУз
6. Младший научный сотрудник Центра геномики и биоинформатики АН РУз
7. Д.б.н., профессор Центра геномики и биоинформатики АН РУз

Email: murodov95anvar@gmail.com

Аннотация. Созревание плодов представляет собой последовательность необратимых биохимических реакций, протекающих при участии множества ферментов. Каждый фермент активируется в определенный период развития плода, вызывая изменения его цвета, твердости, вкуса и аромата.

Прекращение или снижение активности этих ферментов приводит к важным морфологическим и физиологическим изменениям в плодах. Использование этих данных в биотехнологии позволяет улучшить ключевые биологические показатели качества плодов.

Ключевые слова: *Solanum lycopersicum*, созревание плодов, клеточная стенка, этилен, полигалактуроназа, пектинметилэстераза, CRISPR/Cas9, РНК-интерференция, срок хранения.

POMIDOR MEVALARINING PISHISHIDA ISHTIROK ETUVCHI FERMENTLARNING TAVSIFI VA GENETIK MUHANDISLIK ORQALI MEVA SIFATINI OSHIRISH.

Murodov Anvarjon Adxamjon o'g'li¹, Ayubov Mirzakamol Sobitjonovich²,
Mamajonov Bexzod O'rijfon o'gli³, Yusupov Abdurahmon Nodirjon o'g'li⁴,
Obidov Nurdinjon Shuhratjon o'g'li⁵, Bashirxonov Ziyodulloxon Hakimullo o'g'li⁶
va Buriev Zabardast Tojiboyevich⁷

1. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi tayanch doktortant
2. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi katta ilmiy hodim
3. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi kichik ilmiy hodim
4. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi kichik ilmiy hodim
5. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi tayanch doktortant
6. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi kichik ilmiy hodim
7. O'zRFA Genomika va Bioinformatika markazi b.f.n professor.

email: murodov95anvar@gmail.com.

Annotatsiya. Mevalarning yetilishi qaytarib bo'lmaydigan biokimyoviy reaksiyalar majmuasi bo'lib, ushbu jarayon ko'plab fermentlar ishtirokida kechadi. Har bir ferment meva rivojlanishining o'ziga xos davrida faollashib, meva rangi, mustahkamligi, ta'mi va hidining o'zgarishiga sabab bo'ladi. Ushbu fermentlar faolligining to'xtashi yoki kamayishi mevalarda muhim morfologik va fiziologik o'zgarishlarga olib keladi. Biotexnologiyada ushbu ma'lumotlardan foydalanish mevalarning muhim biologik ko'rsatkichlarini yaxshilash imkonini beradi.

Kalit so'zlar: *Solanum lycopersicum L.*, meva yetilishi, hujayra devori, etilen, poligalakturonaza, pektinmetilesteraza, CRISPR/Cas9, RNA interferensiya, saqlash muddati.

Kirish. Pomidor (*Solanum lycopersicum L.*) dunyoda kartoshkadan keyin eng ko'p yetishtiriladigan sabzavot ekindir(1). Pomidor yetishtirish hajmi yildan-yilga oshib, 2023-yilda 200 mln tonnaga yetdi(1). Shuningdek, pomidor mevasi tarkibida inson salomatligi uchun foydali vitaminlar, antioksidantlar va karotinoidlar mavjud(2). Pomidor mevasi klimakterik bo'lgani uchun, uning rivojlanishi meva xomligida yig'ib olinganda ham davom etishi mumkin. Bu esa uni tashishda qulaylik yaratadi.

Mevalarning yetilishida ko'plab kimyoviy va fiziologik o'zgarishlar ro'y beradi: meva rangi o'zgaradi, shakar to'planishi hisobiga ta'mi shakllanadi va efir moylari sintezlanishi natijasida o'ziga xos hid tarata boshlaydi. Meva po'sti hujayralarining fermentlar yordamida parchalanishi natijasida meva yumshaydi. Etilen sinteziga javobgar genlarning faollashishi natijasida mevalarda etilen gazi sintezi kuchayadi, shuningdek, etilenni tashqi muhitdan sezish qobiliyati ortadi. Etilen gazi meva yetilishida eng dastlab faollashuvchi modda bo'lib, barcha yetilishga doir fermentlarni boshqaradi. Ushbu gormon hujayra devorlaridagi polisaxaridlar va glikoproteinlarni parchalovchi poligalakturonaza (PG), alfa-mannozidaza va

pektat-liaza kabi fermentlarni faollashtiradi. Karotinoidlar va invertazalar faoliyati natijasida meva rangi va ta'mi o'zgaradi(3,4).

Pomidor mevasi yetilganda so'ng qisqa muddat ichida o'zing mustahkamligini yo'qotadi. Bunga sabab yuqorida sanab o'tilgan fermentlar orasida meva hujayra devoridagi polisaxardalar va glikoproteinlarni parchalashi natijasidir (5,6). Ushbu fermentlarning faolligini genom tahrirlash usullari yoki RNA interferensiya orqali pasaytirish orqali meva saqlanish muddatini oshirish mumkin.

Mevalarning yetilishini boshqaruvchi fermentlar. Pomidorning pishishi — bu meva to'qimalarining yumshashi, rangining o'zgarishi (xlorofillning parchalanishi va likopin hosil bo'lishi) hamda ta'mining shakllanishi bilan kechadigan jarayondir (7). Ushbu jarayonlar fermentlarning boshqaruvi ishtirokida boradi. Steinhauser pomidorning yovvoyi *Solanum pennellii* va madaniy *Solanum lycopersicum* 'M82' navlarida mevaning rivojlanishida 22 dan ortiq fermentlarning ishtirokidan borishini o'rgangan (8). Faurobert va jamoadoshlari "cherry" pomidor navida keng miqiyosda proteomik tahlili o'tkazishi natijasida 90 ga yaqin fermentlarni ishtirikoda borinishini aniqlangan. Shuningdek ulardan 15 tasi uglevodlar metabolizmida, 5 tasi fotosintez va nafas olish jarayonida, 9 tasi aminokislotalar almashinuvida va har bir bir vitamin va lipid metabolizmi uchun bittadan ferment ishtirok etishi kuzatilgan. Ko'pchilik fermentlar meva rivojlanishning ma'lum vaqtida faollik ko'rsatishi keyin esa biosintezi pasayishi yoki to'xtashi kuzatilgan. Oqsillar va aminokislotalar sintezida qatnashadigan fermentlar asosan meva rivojlanishini dastlabki davrlarida, fotosintez va hujayra devori tarkibiga kiruvchi oqsillar meva o'sish fazasida, uglevodlar parchalanishida va hujayra devori gidrolizida qatnashuvchi fermentlar esa meva rivojlanishining oxirgi yetilgan bosqichida yuqori miqdorda bo'lishi kuzatilgan (9).

Pomidor mevasi klimatik mevalar qatoriga kirganligi uchun uning yetilishi etilen garmonini sintezi kuchayishi va mevada gazlar almashunuvi ortishi bilan boradi. Etilen asosiy boshqaruvchi garmon bo'lib, uning sintezi quyidagi ikki fermentlar: 1- aminotsiklopropan-1-karboksilik kislota sintazasi (ACS) va 1-

aminotsiklopropan-1-karboksilik kislota oksidazasi (ACO) ishtirokida kechadi (7). Mutatsiyalar natijasida ACS2 fermenti faolligi birinchi holatda kuchaygan. Natijada pomidor juda tez rivojlangan, tez pishgan va tez yumshagan. Ikkinchi holarda esa ushbu fermentning faolligi susaygan, natijada, meva pishishi, yetilishi muddati uzayishi kuzatilgan (10).

Pomidor mevasi rangining o'zgarishiga javobgar fermentlar. Mevalarning sifatini va to'liq pishib yetilganligini ko'rsatuvchi muhim belgilardan biri ularning rangini o'zgarishidir. Mevalar yetilgani sari xlorofil parchalanishi boshlanib, karotinoidlar biosintezi kuchaya boradi (11). Xlorofil b reduktaza fermenti yordamida xlorofil parchalanishi boshlanadi va magniy atomlari ajraladi (12). Xlorofil parchalanishi karotinoidlar sintezi bilan boradi. Mevaning pishish jarayonida karotinoidlar izopentenil difosfatning polimerlanishi natijasida geranil-geranil pirofosfat (GGPP) hosil bo'lishi orqali sintezlanadi. Bu GGPP molekulasi bir qator fermentlar ishtirokida o'zgarishga uchrab ko'plab karotinoidlar uchun dastlabki material bo'lib hizmat qiladi. Fitoen sintaza (PSY) tomonidan katalizlanadigan birinchi reaksiya ikki molekula GGPPdan rangsiz fitoenni sintezlaydi (13). Bu ferment karotinoidlar sintezi yo'lining asosiy bosqichi bo'lib, uning funksiyasi mutatsiya natijasida yo'qotishi meva rangini qizildan sariqqa o'zgarishiga olib kelgan (14). Fitoen degidrogenaza (PDS), ζ karotin degidrogenaza (ZDS), ζ karotin izomeraza (Z-ISO) va karotin izomeraza (CRTISO) fermentlari katalizi ostida fitoen degidrogenatsiya va izomerizatsiya reaksiyalariga uchraydi. Natijada pomidor mevasining asosiy karotinoidi bo'lgan likopin hosil bo'ladi (15). So'ngra *likopin epsilon siklaza* (LCYE) va *likopin beta siklaza* (LCYB) fermentlari ta'sirida likopin mos ravishda α -karotin va β – karotinlarga o'zaradi (16).

Pomidor mevasining yumshashiga sabab bo'luvchi fermentlar. Mevalarning butunligi, mustahkamligi va zararlanmaganligi istemolchilar tomonidan mevalarni tanlashdagi asosiy etibor beradigan jihatlaridir. Pomidor va boshqa mevalarning yetilgan vaqtida yumshashiga hujayra devori tarkibidagi moddalarning tarkibi va

miqdori o'zgarishi natijadir. Meva hujayra po'sti asosan pektin, selluloza, gemiselluloza va bir qator murakkab polimer moddalardan iborat. Ushbu moddalarning fermentlar ishtirokida parchalanishi meva yumshashiga sabab bo'ladi (17). Hujayra devorida pektin eng ko'p miqdorda uchraydigan polimer bo'lib, meva yumshashi asosan shu moddani parchalanishi bilan borishi o'rganilgan. Poligalakturonaza (PG) fermenti tasirida pektin moddasi parchalanadi (18). Pektin metiltransfereaza fermenti ham pektinni parchalanishida ishtirok etib metil guruhlarini olib tashlaydi, bu esa pektinni fermentlar ta'sirida parchalanishini osonlashtiradi (19).

Hujayra devori tarkibida ko'p miqdorda selluloza moddasi ham uchraydi va u β -glyukozidazalar (β -Glu) fermenti ta'sirida selluloza tarkibidagi β -glikozid bog'lari gidrolizlanadi, natijada sellulozani parchalanishi ro'y beradi (20).

Glikoproteinlar ham hujayra devori tarkibiga kiruvchi moddalar bo'lib ularning gidrolizlanishi natijasida erkin N-glikanlar hosil bo'ladi va meva po'sti yumshashida ishtirok etadi. α -mannosidaza va β -Heksosaminidaza fermentlari glikoproteinlar gidrolizlanishida ishtirok etishi kuzatilgan va bu fermentlar ham meva yetilish davrida faolligi kuchaygani kuzatilgan (21).

Zamonaviy biotexnologiyada fermentlar faolligini boshqarish yordamida meva xususiyatlarini yaxshilash.

Poligalakturonaza (PG) fermenti biosinteziga javobgar genni RNAi va CRISPR/Cas9 usullari yordamida faolligi pasayirilganda mevalarda saqlanish muddati ortganligi kuzatilgan. Dunyoda birinchi bo'lib genetik modifikatsiya qilingan oziq-ovqat mahsuloti — "**Flavr Savr**" pomidori aynan shu genni RNAi texnologiyasi yordamida faoliyati pasaytirilgan (22). Pektin metil transferaza fermenti ham antisense RNA texnologiyasi yordamida faoliyati pasaytirilganda pektinni parchalanishi kamayishi va meva saqlanishi yaxshilangani kuzatilgan (19).

Genom tahrirlashning yangi usuli xisoblangan CRISPR/Cas9 genlari faoliyatini o'rganishga katta yordam bermoqda. Ko'plab genlar qatori mevalar yetilshida ishtirok etuvchi fermentlarni kodlovchi genlarni ushbu CRISPR/Cas9 texnologiyasi yordamida o'zgartirib pomidor mevasi xususiyatlari yaxshilangan liniyalari olinmoqda. Xususan pektinni parchalanishihida qatnashuvchi fermentlar guruhiga mansub bo'lgan pektin liaza fermentini CRISPR/Cas9 yordamida faoliyatini to'xtatish orqali mevasi saqlanish muddati uzaygan va kasalliklarga chidamliligi ortgan pomidorning liniyasi olingan (23). Shunigdek Poligalakturonaza (PG) fermenti biosinteziga javobgar genni (*SlPG2*) ham CRISPR/Cas9 yordamida faoliyatini to'xtatilgan o'simliklar olingan natijada mevada yetilish muddati uzayganligi kuzatilgan (24).

Jadval 1. Fermentlarning faoliyatini o'zgartish natijasida mevada yuz bergan o'zgarishlarga oid bajarilgan ishlar.

Ferment nomi	Qo'llanilgan usul (Genetik modifikatsiya)	Mevadagi asosiy o'zgarishlar	Referens (DOI yoki Muallif)
Poligalakturonaza (PG)	Antisense RNA (Flavr Savr)	Pektin parchalanishi sekinlashgan, meva transportga chidamli bo'lgan, lekin yumshash to'liq to'xtamagan.	Sheehy et al., 1988
Pektinmetilesteraza (PME)	Antisense RNA	Pektin demetillanishi kamaygan, meva mustahkamligi saqlangan va sharbat viskoziteti (qayishqoqligi) oshgan.	Tieman et al., 1992
Pektat-liaza (PL)	CRISPR/Cas9 (Knock-out)	Hujayra devori mustahkamligi sezilarli oshgan, meva uzoq muddat chirimasdan saqlangan va patogenlarga chidamlilik ortgan.	Ulusik et al., 2016
β -Galaktozidaza (β -Gal)	RNA interferensiya (RNAi)	Meva pishishining dastlabki bosqichlarida yumshash 40% gacha sekinlashgan.	Smith et al., 2002
Ekspansin (Exp1)	Antisense	Hujayra devori polimerlarining bo'shashishi kamaygan, meva pishganda juda qattiq bo'lib qolgan.	Brummell et al., 1999
α -Mannozidaza	RNAi	Meva yumshashi 30 kunga	Meli et al.,

(α –Man)		kechikkan, mevaning hayotiyliigi va sifati saqlangan.	2010
ACS2 va ACO1 (Etilen sintezi)	CRISPR/Cas9	Etilen ishlab chiqarish bloklangan, meva faqat tashqi etilen berilgandagina pisha boshlaydi (saqlash uchun ideal).	Sharma et al., 2021

Xulosa va Kelajakdagi Istiqbollar

Zamonaviy genom tahrirlash texnologiyalari (CRISPR/Cas9) an'anaviy seleksiyadan farqli o'laroq, mevaning ta'mi va ozuqaviy qiymatiga zarar yetkazmagan holda, faqat saqlash muddatiga mas'ul genlarni nuqtali tahrirlash imkonini beradi. Bu esa oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlash va eksport salohiyatini oshirishda muhim bosqichdir.

Foydalanilgan adabiyotlar.

1. Statistics [Internet]. [cited 2025 Dec 27]. Statistics | FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available from: <http://www.fao.org/statistics/en>
2. Gibon Y, Beckles DM, Osorio S, Ezura H. Tomato. J Exp Bot. 2025 Nov 25;76(21):6201–3.
3. Tieman D, Bliss P, McIntyre LM, Blandon-Ubeda A, Bies D, Odabasi AZ, et al. The Chemical Interactions Underlying Tomato Flavor Preferences. Curr Biol. 2012 Jun;22(11):1035–9.
4. Liu L, Shao Z, Zhang M, Wang Q. Regulation of Carotenoid Metabolism in Tomato. Mol Plant. 2015 Jan;8(1):28–39.
5. Smith CJS, Watson CF, Ray J, Bird CR, Morris PC, Schuch W, et al. Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. Nature. 1988 Aug;334(6184):724–6.
6. Giovannoni JJ, DellaPenna D, Bennett AB, Fischer RL. Polygalacturonase and Tomato Fruit Ripening. In: Janick J, editor. Horticultural Reviews [Internet]. 1st ed. Wiley; 1992 [cited 2025 Dec 24]. p. 67–103. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470650509.ch2>

7. Giovannoni J, Nguyen C, Ampofo B, Zhong S, Fei Z. The Epigenome and Transcriptional Dynamics of Fruit Ripening. *Annu Rev Plant Biol.* 2017 Apr 28;68(1):61–84.
8. Steinhauser MC, Steinhauser D, Koehl K, Carrari F, Gibon Y, Fernie AR, et al. Enzyme activity profiles during fruit development in tomato cultivars and *Solanum pennellii*. *Plant Physiol.* 2010 May;153(1):80–98.
9. Faurobert M, Mihr C, Bertin N, Pawlowski T, Negroni L, Sommerer N, et al. Major proteome variations associated with cherry tomato pericarp development and ripening. *Plant Physiol.* 2007 Mar;143(3):1327–46.
10. Sharma K, Gupta S, Sarma S, Rai M, Sreelakshmi Y, Sharma R. Mutations in tomato 1-aminocyclopropane carboxylic acid synthase2 uncover its role in development beside fruit ripening. *Plant J.* 2021 Apr;106(1):95–112.
11. Klee HJ, Giovannoni JJ. Genetics and Control of Tomato Fruit Ripening and Quality Attributes. *Annu Rev Genet.* 2011 Dec 15;45(1):41–59.
12. Horie Y, Ito H, Kusaba M, Tanaka R, Tanaka A. Participation of Chlorophyll b Reductase in the Initial Step of the Degradation of Light-harvesting Chlorophyll a/b-Protein Complexes in Arabidopsis. *J Biol Chem.* 2009 Jun;284(26):17449–56.
13. Zhu F, Wen W, Cheng Y, Fernie AR. The metabolic changes that effect fruit quality during tomato fruit ripening. *Mol Hortic.* 2022 Dec;2(1):2.
14. Chen L, Meng J, He XL, Zhang M, Luan YS. *Solanum lycopersicum* microRNA1916 targets multiple target genes and negatively regulates the immune response in tomato. *Plant Cell Environ.* 2019 Apr;42(4):1393–407.
15. Cazzonelli CI, Pogson BJ. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends Plant Sci.* 2010 May;15(5):266–74.
16. Diretto G, Frusciante S, Fabbri C, Schauer N, Busta L, Wang Z, et al. Manipulation of β -carotene levels in tomato fruits results in increased ABA content and extended shelf life. *Plant Biotechnol J.* 2020 May;18(5):1185–99.
17. Goulao L, Oliveira C. Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends Food Sci Technol.* 2008 Jan;19(1):4–25.
18. Bird CR, Smith CJS, Ray JA, Moureau P, Bevan MW, Bird AS, et al. The tomato polygalacturonase gene and ripening-specific expression in transgenic plants. *Plant Mol Biol.* 1988;11(5):651–62.
19. Tieman DM, Harriman RW, Ramamohan G, Handa AK. An Antisense Pectin Methylesterase Gene Alters Pectin Chemistry and Soluble Solids in Tomato Fruit. *Plant Cell.* 1992 Jun 1;667–79.

20. Li L, Liu H, Liu T, Mi J, Cai R, Xu H. β -Glucosidase: Progress from Basic Mechanism to Frontier Application. *Fermentation*. 2025 Oct 13;11(10):588.
21. Meli VS, Ghosh S, Prabha TN, Chakraborty N, Chakraborty S, Datta A. Enhancement of fruit shelf life by suppressing *N*-glycan processing enzymes. *Proc Natl Acad Sci*. 2010 Feb 9;107(6):2413–8.
22. Sheehy RE, Kramer M, Hiatt WR. Reduction of polygalacturonase activity in tomato fruit by antisense RNA. *Proc Natl Acad Sci*. 1988 Dec;85(23):8805–9.
23. Fumelli L, Ilyas M, Olivieri F, Farinon B, Forniti R, Botondi R, et al. Knockout of a pectate lyase in tomato increases fruit firmness and reduces foliar susceptibility to pathogens. *Plant Sci*. 2026 Feb;363:112868.
24. Nie H, Shi Y, Geng X, Xing G. CRISRP/Cas9-Mediated Targeted Mutagenesis of Tomato Polygalacturonase Gene (SlPG) Delays Fruit Softening. *Front Plant Sci*. 2022 May 19;13:729128.