

## **IN VITRO SHAROITIDA OLMA NAVLARINI YUZA STERILLASH VA KO'PAYTIRISH**

**Azamatov Shexrozjon Ubaydillo o'g'li**

Samarqand davlat veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti, Biotexnologiya kafedrasida assistenti. Mirzo Ulug'bek 77, O'zbekiston, Samarqand.

[azamatovshexrozjan@gmail.com](mailto:azamatovshexrozjan@gmail.com)

***Annotatsiya.** Daraxt ko'chatlarini yetishtiruvchi muassasalarda vegetativ ko'paytirilayotgan ekinlardan farqli ravishda in vitro sharoitida mikroklonal ko'paytirish asosida nasl olinadigan patogensiz navnamunalari bilan onalik ko'chatzorlari va bog'larni barpo etish iqtisodiy hamda ekologik xavfsizlik jihatidan ahamiyatlidir. Ushbu ish biz olmaning istiqbolli navlarini ko'paytirish maqsadida intraduktsiya qilingan, tashqi stress omillarga chidamli olma payvandtaglarini in vitro sharoitda mikroklonal ko'paytirish asosida patogensiz ko'chatlarini olish bo'yicha olib borilgan tadqiqotlar natijalari qisqa bayon qilingan. Olib borilgan tadqiqotlar uchun ob'ekt sifatida olmaning Samarqand viloyati tuproq-iqlim sharoiti uchun istiqbolli navlariga payvandtag tayyorlash uchun intraduktsiya qilingan yovvoyi olmaning tabiiy sharoitda ko'paytirilgan MM.106-yarim pakana bo'yi namunasi olindi.*

***Kalit so'zlar:** MM.106 olma payvandtag, mikroklonal ko'paytirish, in vitro, spirt, (NaOCl) 3-5% li eritma.*

### **1. Kirish.**

Jahon miqyosida aholining oziq-ovqat xavfsizligini ta'minlashda agrar sohaning o'рни va ahamiyati kundan-kunga oshib bormoqda. Jumladan, mamlakatimizda ham mavjud resurs va imkoniyatlardan oqilona foydalanib, aholini qishloq xo'jalik mahsulotlari bilan kafolatli ta'minlash, hosildorlik va

manfaatdorlikni yanada oshirish, sohaga ilm-fan yutuqlari hamda zamonaviy yondashuvlarni joriy etish dolzarb masaladir.

O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019 yil 20-martdagi PQ-4246-son «O‘zbekiston Respublikasida bog‘-dorchilik va issiqxona xo‘jaligini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to‘g‘risida»gi, O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020 yil 28 yanvardagi PQ-4575-son «O‘zbekiston Respublikasi qishloq xo‘jaligini rivojlantirishning 2020-2030 yillarga mo‘ljallagan strategiyasida belgilangan vazifalarni amalga oshirish chora-tadbirlari to‘g‘risida»gi qarorlarida yangi intensiv mevali bog‘larni tashkil etish vazifalari alohida belgilab berilgan. Bugungi kunda dunyo miqyosida olma yetishtirish yalpi hajmi 80,5 mln tonnadan ortiq bo‘lib, yetakchi o‘rinlarni Xitoy (mos holda 44,45 mln tonna), AQSh (4,65 mln tonna), Polsha (3,60 mln tonna) va Turkiya (2,93 mln tonna) egallab kelmoqda. Olma yetishtirish va uni eksport qilish bo‘yicha dunyoda birinchi o‘rinlarni egallab kelayotgan davlatlarda olma bog‘larining qariyb 90-95% past bo‘yli payvandtaglarga asoslangan intensiv bog‘larda yetishtirilmoqda.

## **2.Tadqiqot ob’yekti va metodi.**

**2.1.** Qayd etilganidek, bu ishda biotexnologik usullarda mikroklonal ko‘paytirish uchun olmaning MM.106-yarim pakana navining qo‘ltiq osti va uchki apikal kurtaklari tadqiqot ob’ekti bo‘lib xizmat qildi.

**2.2.** Харамильо Р.К. xrizantema ekplantlari uchun mart-aprel oylarida sterilizatsiya qiluvchi vosita sifatida 0,1% li sublimat (simob xlorid) eritmasidan barg ko‘chatlari va gulbarglari uchun 60 dan 120 sekundgacha, kurtaklar uchun esa 3 dan 4 minutgacha foydalanish maqbul ekanligini aniqladi. So‘ngra 3 marta steril distillangan suv bilan yuvib tashlash kerak. Ushbu sterilizatsiya usuli yordamida kallus to‘qimasini yanada ko‘paytirishga, qo‘shimcha kurtaklar hosil bo‘lishini induksiya qilishga yoki mavjud meristemalarning rivojlanishini faollashtirishga qodir bo‘lgan yaxshi o‘sadigan kulturalar olindi.



**1-rasm. O‘simlik mikroklonlash jarayonida yuza sterillash.**



**2-rasm. Ozuda muhiti tayyorlash.**

Майорова Ю.А. gilos to‘qimalari kulturasi bilan ishlaganda, simob xloridning 0,1% eritmasini 8 daqiqa sirt sterilizatsiya qilish kerakligini aytgan.

Biz ilmiy tadqiqotimizda Sterilizatsiya, matematik statistik tahlil, *in vitro*, *ex vitro*, klonlash metodlarimizdan foydalandik.

### **3.Natijalar.**

So‘nggi paytlarda tibbiyotda yangi usullar, o‘simliklarni mikroko‘paytirishda muvaffaqiyatli qo‘llanilishi mumkin bo‘lgan texnik yangiliklar paydo bo‘lmoqda. Masalan, steril kamerada lazer yordamida o‘simlikning meristematik uchlarini izolyatsiya qilish, *in vitro* kulturasiga eksplantlarni kiritishda to‘liq sterillikka erishish va ushbu texnologiyada qo‘l mehnati ulushini kamaytirish imkonini beradi.

Mevali ekinlarni klonal mikroko‘paytirishda qo‘llaniladigan sterilizatorlar ko‘pincha odamlar uchun toksik xususiyatga ega bo‘lib, muhitni tozalash va eksplantlarni ekish atrof-muhit infeksiyasidan butunlay ozod qilmaydi. O‘simlik to‘qimalari kulturalarini infeksiyalardan himoya qilish uchun antibiotiklardan foydalanish adabiyotlarda ham kam yoritilgan. Sterillikni saqlashning texnik vositalari, masalan, meristemani lazer bilan izolyatsiya qilish iqtisodiy jihatdan qimmatga tushadigan usullardir. Shunday qilib, eksplantlar va muhitlarni ekish va

atrof-muhit infeksiyasidan himoya qilish uchun sterilizatorlar va antibiotiklarni tanlash mevali ekinlarni, xususan vegetativ ravishda ko‘paytiriladigan olma ildizpoyalarini klonal mikroko‘paytirish samaradorligini oshirishning muhim elementidir.

Ilmiy izlanishlarning barchasi Samarqand viloyati, Jomboy tumanidagi **“BOG‘BON” Sag Agro *in vitro*** laboratoriyasida olib borildi. Olma payvandtaglari uchun tanlangan namunalarni sog‘lomlashtirish ishlari laminar boksda eksplantni sterilizatsiya qilish, to‘qimaga antibiotiklar bilan ishlov berishdan boshlandi. Ushbu jarayonda payvandtaglar bakteriya va zamburug‘ infeksiyalari hamda nematodalardan ozod qilinadi.

O‘simlik namunlarini *in vitro* sharoitda ko‘paytirishda sterillikka qat’iy e’tibor berish talab etiladi.

Olib borilgan tadqiqotlar davomida olma payvandtaglarining onalik namunalaridan olingan novdalarni barglaridan ajratib olindi va 1 soat davomida oqib turgan suvning tagida qo‘yildi. Novdalarni suvdan olib 96% li spirtda 3 sekund ushlab turildi. So‘ngra o‘simliklarni 800 ml suv hamda 200 ml 5 foizli natriy gipoxlorid sodasi aralashmasida 10, 15, 20, 25 minut magnitli aralashtirgichda aylantirildi. Avtoklavda +120<sup>0</sup>S harorat sharoitida distillangan toza suvda 3-4 marotaba barcha sterilizatsiyalashda ishlatilgan kimyoviy moddalar qoldiqlarini ketkazish uchun yuvib tashlandi.



**3-4 rasm. MM.106-yarim pakana navini kulturaga kiritish jarayoni**

Olma payvandtagligi uchun tanlangan namunalar *In vitro* sharoitida quyidagi tartibda ko‘paytirildi:

-Bo‘g‘im meristemalarini faollashtirish

-Birlamchi kallus to‘qmani hosil qilmasdan, adventiv kurtaklarni barg, novda, ter va ildiz to‘qimasi bilan induksiya qilish.

-Apikal dominantlikni saqlab qolgan novdalarni mikroko‘paytirish.

-Somatik embriogenez induksiyasi.

Birinchi va asosiy usul – bo‘g‘im meristemalarini faollashtirish. U apikal dominantlarni ajratish va o‘simlikda mavjud meristemalarni rivojlanishini faollashtirishdan iborat. Bu usul oddiy vegetativ ko‘paytirishda ham asosiy hisoblanadi. Olmada xam, klonlash hodisasida xam apikal meristemani olib tashlash yoki sitokininlar faolligi asosida erishiladi. Klonlashda sitokininlar (6-benzilaminopurin, Kinetin, meta-politen ) ozuqa muhitiga qo‘shilib, ko‘p miqdordagi bo‘g‘im novdalarini paydo bo‘lishiga sabab bo‘ldi.



### **5-rasm. Olmaning MM.106 payvandtagini steril muhitda mikroklonlash jarayoni**

Olma payvandtaglarini sterillashda natriy gipoxloridning (NaOCl) 3-5% li eritmalaridan foydalanildi (1-jadval). Turli konsentrasiyalari va turli ta‘sir ettiruvchi (sterillovchi vositalar) qo‘llanilganda o‘simliklardagi zararlanishlar soni va yashovchanligi ko‘rsatilgan.



## jadval-1

*In vitro* sharoitida olmaning MM.106-yarim pakana navini yuza sterillash

| №  | Yuza sterillash vositasi va konsentrasiyasi | Stelillash muddati (min.) | Kulturaga kiritilgan kurtaklar soni (dona) | Zararlangan kurtaklar foizi (%) | Yashab qolgan kurtaklar foizi (%) |
|----|---|---------------------------|--|---------------------------------|-----------------------------------|
| 1. | NaOCl - 3 %                                 | 10 min.                   | 20   | 72                              | 3                                 |
|    |   | <b>20 min.</b>            | <b>20</b>                                  | <b>25</b>                       | <b>60</b>                         |
|    |   | 30 min.                   | 20   | 32                              | 28                                |
|    |   | 40 min.                   | 20   | 42                              | 25                                |
| 2. | NaOCl - 5 %                                 | 10 min.                   | 20   | 80                              | 5                                 |
|    |   | <b>20 min.</b>            | <b>20</b>                                  | <b>15</b>                       | <b>74</b>                         |
|    |   | 30 min.                   | 20   | 45                              | 33                                |
|    |   | 40 min.                   | 20   | 53                              | 14                                |

**4.Xulosalar**

O'tkazgan tadqiqotimizda 3% li natriy gipoxlorid eritmasi bilan 20 daqiqa dizinfeksiya qilinganida, zararlangan kurtaklar 25% ni, yashab qolgan kurtaklar 60 foizni tashkil qildi. Eng past ko'rsatkich 10 daqiqa dezinfeksiya qilinganida zararlangan kurtaklar 72% ni va yashab qolgan kurtaklar 3 foizni tashkil qildi. Natriy gipoxloridning 5% li eritmasida eng yaxshi dizinfeksiyalovchi sifatida 20 daqiqa ishlov berilganda zararlangan kurtaklar soni 15 foiz va yashab qolgan kurtaklar soni 74 foizni tashkil qildi. Samarali dizinfeksiyalovchi 5% li NaOCl da yaxshiroq sterillash yaxshi ekanligi aniqlandi.

**Foydalanilgan adabiyotlar:**

1. Гранда,Х. Р.К. Идентификация «В» вируса хризантем и создание коллекции *in vitro* оздоровленного посадочного материала: дис. ... канд. с.-х. наук: 03.00.23 / Гранда Харамильо Роберто Карлос.–М.,2009.–105 с.
2. Гудвин,Т. Введение в биохимию растений / Т. Гудвин,Э. Мерсер. -Пер. с англ.–М.: Мир,1986.–Т. 2.–312 с.
3. Майорова,Ю.А. Оптимизация этапов клонального микроразмножения гибридов вишни на основе применения новых биологически активных веществ: автореф.дис. ... канд. биол. наук: 06.01.07 / Майорова Юлия Алексеевна.–Краснодар,2009.–25 с.
4. An engineering view to micropropagation and generation of true to type and pathogen-free plants. / Eli Khayat. Rahan Meristem Ltd. // Plant Biotechnology and Agriculture: Prospects for the 21st Century.–Israel–2012–P. 229-238.