

Klonli Mikroko'paytirish Yordamida Akila O'simligini Ko'paytirish

Karimova Gulsevar Erkinjon qizi

Namangan davlat texnika universiteti 1-kurs magistri

Abstract: Ushbu maqolada o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi usuli - klonli mikroko'paytirish usuli, hususan ekzogen omillar ta'siri asosida o'simlik hujayrasidan bir butun o'simlik organizmi paydo bo'lishi mumkinligi haqida bayon etilgan. O'simliklarni ko'paytirishning in vitro usuli bir qator afzalliklarga ega ekanligi bilan boshqa usullardan farq qiladi. Laboratoriya sharoitida akila o'simligini klonli mikroko'paytirib ko'p miqdorda, yuqori sifatli, genetik bir xil, virussiz ekish materiallari olish to'g'risidagi ma'lumotlar keltirilgan.

Kalit so'zlar: Hujayra, to'qima, seleksiya, ozuqa muhiti, in vitro, ildiz, poya, barg, yetuk o'simlik.

Аннотация: В данной статье объясняется, как новый метод вегетативного роста растений представляет собой метод клонной микрофлюидности, который может производить весь растительный организм из растительной клетки под воздействием экзогенных факторов. Метод размножения растений in vitro имеет ряд преимуществ, но он отличается от других методов. Лаборатория предоставляет информацию о получении высококачественного, генетически идентичного, не содержащего вирусов посадочного материала с клонированием микроэлементов.

Ключевые слова: клетка, ткань, селекция, питательные среды, in vitro, корень, лист, зрелое растение.

Annotation: This article explains how the new method of vegetative plant growth is a method of clone microfluidity, which can produce the entire plant organism from a plant cell under the influence of exogenous factors. The in vitro plant propagation method has several advantages, but it differs from other methods. The laboratory provides information on obtaining high-quality, genetically identical, virus-free planting material with the cloning of trace elements.

Key words: Cell, tissue, selection, nutritional media, in vitro, root, leaf, leaf, mature plant.

O'simliklarni vegetativ ko'paytirishning zamonaviy usuli - klonli mikroko'paytirish usuli ekzogen omillar ta'siri asosida o'simlik hujayrasidan bir butun o'simlik organizmi paydo bo'ladi. Bu usul bir qator afzalliklarga ega ekanligi bilan boshqa usullardan farq qiladi. Birinchidan samarali va iqtisodiy foydalidir, chunki ko'paytirish jarayonida har bir kallus hujayrasidan kulturalashning qulay sharoitida o'simlik paydo qiluvchi tasofidiy kurtaklar shakllanishi mumkin. Ikkinchidan, ba'zi hollarda o'simliklarni to'qimalar kulturalashidan ko'paytirishning yagona usulidir. Uchinchidan bu usul orqali olingan o'simliklar genetik va morfofiziologik farq qilishi tufayli seleksionerlarda qiziqish uyg'otadi. Bu seleksionerlarga ho'jalik ahamiyati muhim bo'lgan xususiyatli o'simliklarni tanlash va ularni dala sharoitlarida o'sishini baholash imkoniyatini beradi.

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishda birinchi muvaffaqiyat o'tchil o'simliklarning apikal meristemasini o'ziga xos ozuqa muhitida kulturalab, regenerant o'simlik olish bilan bog'liq. Ammo mikroko'paytirishni qo'llash sohasi xilma-xil va kun sayin rivojlanib bormoqda. Bu birinchi navbatda daraxtlarni, ayniqsa, ninabarglilarni in vitro texnikasidan foydalanib dorivor o'simliklarning nodir va yo'qolib borayotgan turlarini saqlab qolish bilan bog'liq [1].

O'simliklarni klonli mikroko'paytirishda qo'llaniladigan asosiy usul, bu o'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni rivojlanishini apikal dominantlikni to'xtatilishi hisobiga faollashtirishdir.

Bunga ikki xil yo'l bilan erishish mumkin: a) poyani uchki meristemi olib tashlanadi va novda in vitro gormonsiz muhitda mikroqalamchalanadi; b) oziqa muhitiga tsitokinini tipi ta'siriga ega moddalar qo'shish orqali ko'plab ichki bo'shliqdan chiqqan novdalarning rivojlanishi indutsirlanadi.

Ozuqa muhitiga tsitokininlar sifatida 6-benzilaminopurin (BAP) yoki 6-furfurilaminopurin (kinetin), shuningdek 2-izopentiladenin (2ip) va zeatindan foydalaniladi. Shunday usulda olingan nihollar birlamchi eksplantidan ajratiladi va ichki meristemalar proliferatsiyasini stimullovchi va nihollarni paydo bo'lishini oshiruvchi yangi tayyorlangan ozuqa muhitida yana kulturalanadi.

O'simlikda mavjud bo'lgan meristemalarni rivojlanishini faollashtirish usulini qo'llash orqali gullarni bitta meristemadan bir yilda 10^5 o'simlik olish mumkin, shuningdek bu texnologiya yordamida probirkalarda qimmatli, virussiz urug'lik materiallar yetishtirish ko'zda tutilmoqda [2].

Klonli mikroko'paytirishning yana bir usuli – eksplant to'qimalarida tasodifiy (adventiv) kurtaklar induksiyasini amalga oshirishga qaratilgan.

Bu usul alohida ajratilgan o'simlik qismlarini qulay ozuqa muhit sharoitida kulturalab, unda yetishmayotgan a'zolarini tiklash orqali yetuk o'simlik regeneratsiya qilishga asoslangan.

Hozirgi kunda Namangan viloyati hokimligi huzuridagi «Gulchilikni rivojlantirish markazi» DUK tasarrufidagi «Biotexnologiya» ilmiy-amaliy laboratoriyasida turli o'simliklarning to'qimalarini qulay sharoitda o'stirib yetuk o'simlik qismlarini ajratib, so'ng yangi tayyorlangan ozuqa muhitlarda barg va ildiz hosil bo'lgunga qadar kulturalash ishlari olib borilmoqda. Bu jarayonni istalgancha davom ettirib ko'p miqdorda, yuqori sifatli, genetik bir xil, virussiz ekish materiallari olish mumkin ekanligi tajribada yaqqol namoyon bo'lmoqda.

Laboratoriyada bir qancha o'simliklar, hususan akila o'simligi in vitro usulida klonal mikroko'paytilmoqda. Akila o'simligi boshqa gullardan o'zining chiroyli gullari, baquvvat poyasi, turli sharoitlarga chidamliligi bilan farq qiladi. Bu o'simlik suvli muhitni yoqtirganligi sababli mikroklonli ko'paytirishda tezroq natijaga erishish mumkin.

Akila o'simligidan ajratib olingan hujayra va to'qimalarni in vitro kulturlash texnikasi qo'yidagicha: Ajratilgan to'qimalar kulturasi bilan ishlashning asosiy sharti sterillikka qat'iy rioya qilishdir. Oziqa muhitining boy tarkibi mikroorganizmlar o'sishi uchun ham yaxshi substrat hisoblanadi. Oziqa muhitda kulturalanayotgan o'simlik qismlarini (eksplantlar) mikroorganizmlar oson zararlaydi. SHuning uchun eksplant ham, oziqa muhiti ham sterillangan bo'lishi shart. Ajratilgan to'qimalar bilan olib boriladigan barcha ishlar (kulturaga o'tkazish, yangi oziqa muhitiga ko'chirish) steril xonalarda, (laminar bokslarda) steril asboblar yordamida amalga oshiriladi, ajratilgan to'qimalarni o'stirish davrida ham sterillikni saqlash lozim, chunki harorat pasayganda, yoki namlik yuzaga kelganda idishning nam tiqini orqali probirka ichiga mikroorganizmlar kirishi mumkin.

Laminar-boks sterilizatsiyasi: Laminarning ish olib boriladigan ichki yuzasi 70%-li spirt bilan artiladi. So'ng laminarga spirtovka, gugurt, 96% spirtli stakan, sterillangan idishlar, asboblar va sterillangan suvli kolba joylanadi. Meristemalar ajratishda laminarga binokulyar lupa ham qo'yiladi. Ishlashdan oldin 2 soat davomida laminar boks bakteriotsid ultrabinafsha lampasi bilan nurlantiriladi. Ishlashdan ikki soat oldin laminarning ichki yuzasi 70%-li spirt bilan yana artiladi. Ish boshlashdan avval qo'llarni yaxshilab sovun bilan yuvib, spirt bilan artiladi va sterillangan xalat kiyiladi, og'izga steril niqob tutiladi.

Idishlarni sterillash: Idishlar quritish shkaflarida quruq issiqda yoki nam bug'da avtoklavda sterillanadi. Sterillashdan oldin idishlarni yaxshilab yuvib, quritish kerak. Idish yuvish uchun turli idish yuvish vositalari va xrompik (kaliy bixromatning sulfat kislotasidagi eritmasi) ishlatiladi. Yuvilgan idishlarni distirlangan suvda chayib, quritish shkafiga quritiladi. Sterillashdan avval xavodan infeksiya tushishining oldini olish uchun probirkalar, kolbalar og'zi paxta tiqinlar bilan yopiladi va qog'ozga o'raladi. So'ngra idishlarni quritish shkaflariga joylab 2 soat 160°C da qizdiriladi, Bunday qizdirishda bakteriyalargina emas, balki ularning sporalari ham o'ladi. Quritish

shkafidagi xaroratni 175°C dan oshirish mumkin emas, chunki paxta tiqinlar sarg'ayib ketadi idishlar o'ralgan qog'oz esa sinuvchan holga kelib qoladi. Avtoklavda bosim ostida bundan ham yaxshiroq sterillashga erishish mumkin, chunki namli issiqlikda qizdirilganda mikroorganizmlar va ularning sporolari yana ham yaxshi o'ladi. Turli xil stakanlar, Petri likobchalari, pipetkalar, distillangan suvli kolbalar avtoklav qilinadi. Idishlar folga yoki o'rash qog'ozlariga o'ralgan holda 25-30 daqiqa 2 atmosferada avtoklavlanadi. Pipetkalarini avtoklavlashda ularning yuqori qismiga paxta tiqib, alohida-alohida qilib o'raladi.

Asbob-uskunalarni sterillash: Asbob uskunalari, skalpel, pinset, ignalar va hokozolar quritish shkafida 12 soat davomida 140°C quruq issiqlikda yoki suvda qaynatib sterillanadi. Temirdan yasalgan asboblari avtoklavda sterillanmaydi, chunki nam bug' ta'sirida ular zanglaydi va o'tmaslashadi. Ish boshlashdan avval va ish davomida asboblari chinni stakanlarga solinib, 96%-li etil spirtida sterillanadi va spirtovka alangasida qizdirib olinadi. Spirtovka alangasida lansetlar, pinsetlar va mikrobiologik ilmoqlar qizdiriladi va steril qog'ozlar orasida saqlanadi. Sterillangan asboblari faqatgina bir marta ishlatiladi, qayta ishlatilganida ular yana spirtida sterillanadi va alangada qizdiriladi. Igna va pakkilar spirtga solib sterillanadi.

Materiallarni sterillash: Tajribada ishlatiladigan paxta, doka, paxta tiqinlar, filtr qog'ozlari, xalatlar va ro'mollar avtoklavda 2 atmosferada 25-30 daqiqa sterillanadi.

Asosan o'simliklarni mikroklonal ko'paytirishda poyasidan, barglaridan, urug'idan eksplantlar olib tarkibidagi moddalarni turli hil nisbatlarda qo'shib tayyorlangan ozuqa muhitlarida o'stirib kuzatiladi. Har bir o'simlik o'zining optimal ozuqa muhitiga ega.

Akila gulini laboratoriya sharoitida in vitro usulida o'stirish uchun, dastavval yashil poyasidan 2-5 sm bo'g'imli qismini kesib olib distillangan suvda yuviladi, so'ng natriy gipoxloridning 1 foizli eritmasida 20 daqiqa davomida sterillanadi. Sterillangan o'simlik qismini distillangan suvda chayib laminar boksda quritiladi.

Eksplant va urug'lar 5-20 min sterillovchi eritmada sterillanib, so'ng bir necha marta steril suvda yuviladi. Sterillash vaqti eksplantni tabiatiga va sterillovchi eritmaning faolligiga bog'liq. Urug'lar 10 –20 min, vegetativ qismlar esa 5-10 min sterillanadi. Kulturalash uchun olingan o'simlik eksplantlari oldin sovunli suvda ishqalab yuviladi va distillangan suvda chayiladi, so'ng bir necha sekundga 70 % li etanolga solinadi, urug'lar esa 1-2 minut spirtga solib qo'yiladi. Spirt to'qimalarni sterillash bilan birga asosiy sterillovchi eritmaning sterillash samarasini ham oshiradi. Spirtidan so'ng to'qimalar steril suvda ham chayiladi. O'simliklarning turli hil organlarini sterillash qo'yidagi 1-jadvalda ko'rsatib o'tilgan [2].

1-jadval

O'simlik materiallarini sterillash (R.G.Butenko 1990)

Ob'yekt	5-7 % li (Na,Ca) gipoxloridlar yordamida sterillash vaqti (daqiqa)
Urug'lar qurug'i	15-20
Ivtilgani	10 – 15
Ildiz, tugunaklarining to'qimalari	15-20
Yog'ochlangan poyalar	20-25
Barglar	3-6
Apekslar	3-15

Tashqi sterillash faqat tashqaridagi infeksiyalardan holi qiladi. Agar eksplantida ichki infeksiya mavjud bo'lsa, u holda antibiotiklar bilan ishlov berish zarur. Asosan tropik va subtropik o'simlik

to'qimalari ichki infeksiyalarga boy bo'ladi. Zamburug' yoki bakteriyalar bilan zararlangan kulturani ekilganidan 1-14 kundan so'ng aniqlash mumkin. Mikroorganizmlar bilan zararlangan kulturalarni xonaga tarqalib havoni ifloslantirmasdan ularning oldini olish zarur.

Oziqa muhitlari avtoklavda 120⁰S haroratda 0,75 –1 atm bosimda 20 minut davomida sterillanadi. Agar oziqa muhit tarkibiga yuqori haroratda parchalanib ketuvchi moddalar kiritilgan bo'lsa, u holda bu moddalar maxsus bakterial filtrlardan o'tkazib tozalanadi, so'ng avtoklavlangan va 40⁰S ga cha sovitilgan asosiy oziqa muhitga qo'yiladi.

Ajratilgan hujayra va to'qimalarni kulturalash uchun ozuqa muhitlari tarkibida o'simlik uchun zarur bo'lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kalsiy, magniy, oltingugurt, temir) mikroelementlar (bor, marganets, rux, mis, molibden va boshqalar) shuningdek vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularning analoglarini tutishi zarur. Ba'zi ozuqa muhitlarga kazein gidrolizati, aminokislotalar ham qo'shiladi. Bundan tashqari, hujayraning temirga bo'lgan talabini qondirish uchun ozuqa muhitlar tarkibiga EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uning natriyli tuzi kiritiladi [3].

Apikal meristemalardan olingan virussiz o'simliklar sun'iy ozuqa muhitlarida ko'paytiriladi. Buning uchun akilani in vitro sharoitida o'stirish uchun bir necha hil ozuqa muhitlari bilan tajribalar o'tkazildi.

I-fitogarmonli

II-vitaminli+oqsil

III-fitogarmonsiz

Bizga yuqoriroq, tezroq natija olish uchun I-fitogarmonli ozuqa muhiti yahshi deb topildi.

Gullarni ko'paytirishning keng tarqalgan usuli bu probirkadagi kulturada o'simlikning qalamchalanishidir. Buning uchun o'simlik probirkalarga bo'linadi. Har bir qalamcha Murasige-Skuga ozuqa muhiti novdaning o'sish nuqtasini olib tashlash yo'li bilan apikal ustunlikni kamaytirib, yon meristemalarning faollanishiga asoslangan. Qalamchanning yon kurtagini ozuqa muhitiga o'tkaziladi va uni inkubatsiyaga joylanadi, undan novda o'sib chiqadi. Keyingi qalamchalash har 14-21 kundan so'ng olib boriladi. Bitta o'simlikdan 5-8 qalamcha olinadi. 3 oy mobaynida qalamchalash yo'li bilan 3-5 ming o'simlik, 7 oy ichida esa ko'payish koeffitsientini 1:30-40 mingga etkazish mumkin. So'ngra, sog'lomlashtirilib ekiladigan materiallarni ko'paytirishning keyingi bosqichi, ya'ni adaptatsiya xonaga olib boriladigan bosqichiga o'tiladi. Bunda probirkadagi o'simliklar agarli ozuqa muhiti bilan birgalikda tuproqli tuvaklarga ekiladi [4].

Ozuqa muhitida tsitokin yoki uning auksin bilan 10:1 yoki 100:1 nisbatdagi aralashmasi, auksin sifatida ko'pincha β -indolil-3 sirka kislota (ISK) yoki α -naftil sirka kislota (NSK), 0,1 – 0,5 mg/l 6-BAP tutuvchi Murasiga va Skuga ozuqa muhitida o'stiriladi [4]. Kulturalashning 3-4 haftasidan so'ng, tasofidiy kurtaklar shakllanayotgan meristema o'simtalari rivojlanadi. Ular tez o'sib yangi kurtaklar paydo qiladi. Kalta novdalarda barglar paydo bo'ladi, pastki qismida yangi adventiv kurtaklar shakllanadi. Bu kurtaklar ajratiladi va yangi ozuqa muhitiga ko'chirib o'tkaziladi. Tsitokin tutuvchi ozuqa muhitda yon novdalarning paydo bo'lishi davom etadi, gormonsiz ozuqa muhitda esa 4-6 hafta davomida bargli, ildizli normal o'simlik paydo bo'ladi. Qo'yidagi 1-rasmda akila o'simligining laboratoriya sharoitida in vitro usulida klonli mikroko'paytirilayotgan va undan so'ng yetuk o'simlik ko'rinishidagi holati aks ettirilgan.



1-rasm. Akila o'simligining laboratoriya sharoitidagi va yetuk holdagi ko'rinishlari

Shunday qilib, laboratoriya sharoitida in vitro usulida o'simliklarni vegetativ ko'paytirishning yangi usuli - klonli mikroko'paytirish usuli orqali bir boshlang'ich o'simlik hujayrasi (poyasi, bargi va xokazo)dan bir butun o'simlik organizmi paydo bo'lishi qolaversa laboratoriya sharoitida ko'p miqdorda, yuqori sifatli, genetik bir xil, virussiz ekish materiallari olish mumkinligi aniq bo'ldi.

Foydalanilgan Adabiyotlar:

1. Zuparov M.A. va boshqalar. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi (laboratoriya mashg'ulotlarini o'tkazish uchun o'quv qo'llanma). ToshDAU nashriyoti, 2016 y.
2. Artikova R., Murodova S. Qishloq xo'jalik biotexnologiyasi. O'quv qo'llanma. Toshkent, "Fan va texnologiya" nashriyoti, 2010 y.
3. Burxanova X.K., Inogamova.M. – Mikrobiologiya va virusologiya asoslari. O'quv qo'llanma. Toshkent., 1983.
4. Davranov Q.D. Biotexnologiya: ilmiy, amaliy va uslubiy asoslari. T.: 2008.