

# Interdisciplinary Conference of Young Scholars in Social Sciences

## LIMON O'SIMLIGINI MIKROKLONAL KO'PAYTIRISHDA O'SISHNI BOSHQARUVCHI REGULYATORLARNI TA'SIRI

*Akad. M. Mirzaev*

*nomidagi bog'dorchilik uzumchilik va vinochilik ilmiy tadqiqot institute*

*Ibadulla o'g'li*

*Tayanch doktorant Ibadullaev Husniddin*

**Annotatsiya:** *Sitrus o'simliklaridan limonning etuk navda va kurtaklar segmentlaridan foydalangan holda in vitro mikroklonal rivojlanishi kuzatildi. 9  $\mu$ M BAP bilan o'zgartirilgan MS muhitida aksillar vositachilar uchun uchdan to'rttagacha kurtaklar paydo bo'ldi. Osimliklarning 3-4 baravar ko'payish tezligiga kurtaklarni subkulturalash orqali erishildi. Kurtaklar 38 oydan ortiq vaqt davomida kuchini yo'qotmasdan ko'paytirildi. O'simliklarni mikroklonal meristemasiidan ko'paytirilganda kurtaklarning yuz foizi ildiz otadi.*

**Kalit so'zlar:** *Mikroklonal, in vitro ildiz otish, in vitro, limon, etuk eksplant, tugun kurtaklari segmenti*

### **Kirish**

Rutaceae a'zosi bo'lgan sitrus limon L. (limon) muhim doim yashil va xushbo'y kichik daraxtdir. Uning mevalari inson oziqlanishi uchun S vitaminining muhim manbai hisoblanadi. Ularda uchuvchi moylar, limonen, a-terpinen, a-pinen, b-pinen, sitral kumarinlar, bioflavonoidlar, vitaminlar mavjud. Ular antiseptik, antirevmatik, antibakterial va antioksidant sifatida ham ishlaydi. Sitrus odatda payvandlash yoki qalamchalar orqali ko'payadi. Biroq, in vitro mikroko'paytirish texnologiyasi sitrusni yaxshilash va yetishtirishdagi ba'zi cheklovlarni engib o'tishi mumkin va meva sifati va kasalliklarga va atrof-muhit ta'siriga chidamliligini oshirishi mumkin.

### **Tadqiqot maqsadi va uslublar**

Yuqori sifatli meva beradigan, 15-20 yoshli urug'li limon o'simligi tanlangan. Oktyabr-noyabr-dekabr oylarida o'simlikning bir necha shoxlari kesilgan. Yangi novdalar keyingi yilning yanvar-fevral-mart oylarida yig'ib olindi va tugunli kurtaklar segmentlari eksplant sifatida ishlatilgan. Eksplantlarga 0,1% Bavistin va Tetratsiklin 15 daqiqa, so'ngra 0,1% HgCl<sub>2</sub> bilan 3-5 daqiqa davomida ishlov berildi. Avtoklavlangan suv bilan bir necha marta yuvib tashlangandan so'ng, sirt sterillangan eksplantlar MS muhitiga ekiladi.

Turli konsentratsiyalar (9 dan 23 mkM) sitokininlar (BAP va Kn) MS madaniy muhitiga kiritilgan. Shohlar (i) dastlabki eksplant(lar)ni takroriy o'tkazish - keyingi ko'chirishdan oldin ko'paytirildi; Dastlabki eksplantlarning tugunli hududidan qayta tiklangan kurtaklar tugun/bazal vositachilarga zarar yetkazmasdan eksiziya yo'li bilan yig'ib olindi va qaytadan foydalanildi - va (ii) in vitroda ishlab chiqarilgan kurtaklarning tugun kurtaklari segmentlarini subkulturalash. Ikkala holatda ham propagullar dastlabki o'zgartirilgan MS muhitiga o'tkazildi [normal MS muhitida NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> va KNO<sub>3</sub> konsentratsiyasining darajalari yarmiga kamaytirildi va 250 mg L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> qo'shildi]. Madaniy muhitda 3% tijorat shakari va 0,22  $\mu$ M BAP mavjud va 0,8% agar-agar bilan jelatinlangan. 25 × 150  $\mu$ M probirkalardagi kulturalar harorat (28 ± 2° C), yorug'lik (40-50  $\mu$ Mol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> SFP) 12 soatlik fotoperiod va 60% nisbiy namlik sharoitida nazorat ostida saqlandi.

# Interdisciplinary Conference of Young Scholars in Social Sciences

Kurtaklarning ildiz otishi Kurtaklar ildiz otishi ham agar-gellangan muhitda in vitroda, ham to'g'ridan-to'g'ri in vitroda ekilgan tuproqda madaniy idishlarda (balandligi  $135 \mu\text{M} \times 70 \mu\text{M}$ ) saqlangan. In vitro ildiz otish uchun kurtaklar kesilib, ajratildi va alohida to'liq, yarim, uchdan bir yoki to'rtidan bir MS muhiti + 0,1% faollashtirilgan ko'mirga 3% saxaroza va turli konsentratsiyalarda (2,46 dan  $27 \mu\text{M}$ ) IBAGA yoki NAA o'tkazildi. Bu kurtaklar tarqalgan yorug'lik ostida ( $10\text{-}20 \text{ m mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  SFP)  $28 \text{ dan } 30 \pm 2^\circ \text{C}$  gacha inkubatsiya qilindi. Shu bilan bir qatorda, kesilgan kurtaklar IBA, NAA yoki NOA ning turli konsentratsiyalari ( $0,98 \text{ dan } 2,68 \mu\text{M}$ ) yoki IBA+NOA yoki  $2,6 \mu\text{M}$  ferul kislotasining kombinatsiyasi (har biri  $0,98 \mu\text{M}$ ) bilan puls bilan (2-3 minut) ishlov berildi. Kurtaklar  $\frac{1}{4}$  MS bazal tuzlari bilan namlangan avtoklavlangan shoroitni o'z ichiga olgan maxsus idishlarga ekilgan. Bu shishalar bir vaqtning o'zida kurtaklarning ildiz otishi va o'simliklarning qattiqqlanishi uchun issiqxonada saqlangan. Limon kurtaklar ildizlari paydo bo'lgandan so'ng, shishalarning qopqoqlari bir hafta davomida asta-sekin bo'shatiladi va keyin olib tashlanadi. Iklimlashtirilgan mikropropagatsiyalangan o'simliklar organik o'g'it, bog 'tuprogi' va qum aralashmasini (1: 1: 1) o'z ichiga olgan polybaglarga o'tkazildi. Qattiqlashtirilgan o'simliklar dalaga ko'chirildi. Har bir davolash uchun o'n ikkita eksplant olindi va tajriba uch marta takrorlandi. Kuzatuvlar muntazam ravishda qayd etilgan.

## Olingan natijalar taxlili

Fevral-mart oylarida to'plangan qattiq tugunli ildiz qismlari (2-3 tugunli) maxsus ekish uchun eng mos bo'lgan. Kurtaklarning sinishi 10-15 kunlik ekilgandan keyin sodir bo'ladi. Eksplantlarning taxminan 85-90% MS +  $9 \mu\text{M}$  BAPda javob berdi. 1-jadvaldagi har bir tugundan tiklangan 3-4 kurtaklar - MS muhitida sitokinin (BAP, Kn) konsentratsiyasining sitrus limonining tugun kurtaklari segmentlaridan kurtaklar parchalanishiga ta'siri (kuzatish 4 haftadan keyin qayd etilgan).

Sitokinin konsentratsiyasi	Nisbati% da	Har bir eksplantidagi kurtaklar soni $\pm$ SD	Rasmga tushirish uzunligi (sm) +
BAP			
9.0	95	$3.40 \pm 0.54$	$1.62 \pm 0.39$
18.0	90	$1.00 \pm 0.00$	$0.72 \pm 0.20$
23.0	85	$1.00 \pm 0.00$	$0.62 \pm 0.16$
Kn			
9.3	0	0	0
18.6	35	$1.00 \pm 0.00$	$0.64 \pm 0.27$
23.2	40	$1.00 \pm 0.00$	$0.84 \pm 0.47$

Hisoblangan F:

BAP

Replikatsiya 1.0001ns 4.7536\*

Davolash 96.0005\*\* 46.552\*\*

Kn

Replikatsiya 1.7014ns 2.883ns

Davolash 17.0141\*\* 14.397\*\*

ns - ahamiyatsiz

\* - muhim ( $p < 0,05$ )

\*\* - juda muhim ( $p < 0.01$ )

# Interdisciplinary Conference of Young Scholars in Social Sciences

BAP ning yuqori konsentratsiyasida (18 va 23  $\mu\text{M}$ ) har bir tugunda hosil bo'lgan kurtaklar soni kamaydi. Kn unchalik samarali emasligi isbotlangan (1-jadval). BAP konsentratsiyasining oshishi kurtaklar soni va kurtaklar uzunligining pasayishiga olib keldi. Kn dan foydalangan holda shunga o'xshash o'sish turgunlar sonini doimiy ravishda ushlab turdi,  $\mu\text{Mo}$  o'simta uzunligining ortishiga olib keldi. ANOVA tahlillari shuni ko'rsatdiki, ikkala davolash ham kurtaklar soni va kurtaklar uzunligi uchun statistik jihatdan yuqori ahamiyatga ega.

## O'simliklarning ko'payishi

Kurtaklari uzilishidan so'ng, har bir tugunda 3-4 kurtaklari bo'lgan ona eksplantlari 0,2 $\mu\text{M}$  BAP bilan to'ldirilgan o'zgartirilgan MS muhitiga o'tkazildi. Ko'plab yangi tabaqalangan kurtaklardan faqat bittasi apikal ustunlik natijasida cho'zilgan. Turli o'simliklarning bir xil o'sishiga erishish uchun faqat bittasi apikal ustunlik natijasida cho'ziladi. Differentsial kurtaklarning bir tekis o'sishiga erishish va apikal ustunlikni yo'q qilish uchun etakchi kurtaklar nishlari kesilgan. O'zgartirish eksplantning har bir tugunidan 10-15 ta kurtaklar differentsiatsiyasiga yordam berdi. Bunday o'zgartirish, shuningdek, subkultura va ko'paytirish paytida o'simliklarning bir xil o'sishi uchun zarur deb topildi.

### 1- Rasm. Limon o'simligining ko'payish jarayonlari



Dastlabki eksplantlardan ko'paygan kurtaklar yig'ib olindi va dastlabki eksplant qayta tiklangan kurtaklar asosi bilan bir necha marta yangi muhitga o'tkazildi. Kurtaklarning yangi hosilini (har bir tugunda 12-13 kurtaklar; o'rtacha kurtaklar nish uzunligi 4,5 sm) 25-28 kun oralig'ida olti martagacha dastlabki eksplantdan yig'ib olish mumkin. Biroq, har bir tugundan hosil bo'lgan kurtaklar soni asl eksplantlarning keyingi takroriy ko'chirilishida kamaydi.

In vitro-qayta tiklangan kurtaklar turli xil muhitlarda subkultura qilinganda, odatda kuchli defoliatsiyani ko'rsatadigan turli xil javoblarni ko'rsatdi. MS muhitini keyingi o'zgartirish orqali kurtaklar ko'payish tezligining sezilarli o'sishiga erishish mumkin. Bunga  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  va  $\text{KNO}_3$  darajasini MS muhitining yarmigacha kamaytirish va 0,22, 0,44, 2,22 yoki 4,4  $\mu\text{M}$  tezlikda  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  va BAP qo'shilishi kiradi. 0,22 $\mu\text{M}$  BAP bilan o'zgartirilgan muhitda har bir eksplantdan 18-20 ta kurtaklar ajratiladi (har bir kurtak 8-11 sm o'lchanadi) (1-rasm). BAPning yuqori konsentratsiyasida 15 dan 16 gacha kurtaklar hosil bo'ldi;  $\mu\text{Mo}$ , bu kurtaklar bo'yi qotib, shishalangan (2-jadval). BAP konsentratsiyasining kurtaklar soniga ta'siri 95% da sezilarli bo'lsa, kurtaklar uzunligi uchun 99% da sezilarli edi. Kurtaklar har 4 haftada subkultura qilingan. Kurtaklar to'liq rivojlangan barglari bilan sog'lom edi (2-rasm). Ular madaniyatda 38 oydan ortiq vaqt davomida saqlanib kelinmoqda. Agar subkulturatsiya kechiktirilsa, madaniyatlar yomonlashdi. Bugungi kunga qadar 200 ga yaqin kurtaklar in vitroda hosil qilingan.

## Xulosa

Qishda ona o'simlikni kesish orqali sezgir nodal eksplantlar olingan. Bizning topilmalarimiz yog'ochli o'simliklarda, qattiq kesilgan o'simlikning kurtaklaridagi qo'ltiq osti meristemalari psixologik qayta tiklanishga ko'proq mos keladi va to'qimalar madaniyatiga yaxshi javob beradi.

MS muhiti ko'p sonli o'simlik turlarini, shu jumladan mevali o'simliklar mikroko'paytirish uchun tez-tez ishlatilgan. Biroq, C.limon kulturalari  $\mu\text{M}$ oniy sulfatning past konsentratsiyasi bilan o'zgartirilgan MS muhitida yaxshiroq o'sdi. BAP kurtak kurtaklarini faollashtirish va tugunli eksplantlardan bir nechta kurtaklar hosil qilish uchun kerak edi. BAP ning sitokinin sifatida Kn dan

# Interdisciplinary Conference of Young Scholars in Social Sciences

ustunligi ko'plab yog'ochli tizimlarda qayd etilgan. BAP boshqalarga qaraganda barqarorroq, arzonroq sitokinindir va avtoklavlanishi mumkin bo'lgan yagona moddadir. Sitokin meristemalarni faollashtirish orqali kurtaklarning parchalanishini keltirib chiqaradi va kurtaklar ko'payishiga olib keladi. Qo'ltiq osti kurtaklarining o'sishi kurtakdagi sitokin darajasi bilan yaxshi bog'liqdir. Sitokin qo'ltiq osti kurtaklarining o'sishini mustaqil ravishda tartibga soladi, deb taxmin qilinadi.

C.limonning mikroklonallangan kurtaklari NAA bilan davolashdan keyin ham in vitro, ham issiqxonada ildiz otadi. Bu IBA in vitro ham, in vivo ham yog'ochli o'simliklarning mikroko'paytirilgan kurtaklarini ildiz otish uchun kuchliroq auksin ekanligi haqidagi umumiy konsensusga ziddir. NAA IBA ga qaraganda tezroq tashiladi. Bu kombinatsiya asosiy in vitro bosqichini yo'q qiladi, shuning uchun ham ishlab chiqarish tannarxini, ham davomiylikni kamaytiradi. Ko'chatlarning qotib qolishi bilan bir vaqtda o'simliklarning in vitro ildiz otishi o'simliklarning omon qolishi nuqtai nazaridan yaxshiroq deb hisoblanadi. In vitro ildiz otishdan asosiy afzalligi shundaki, tuproqqa o'tish paytida ildizlarning shikastlanishi ehtimoli kamroq. Bundan tashqari, ildiz otish sodir bo'lganda, ildiz otish tezligi yuqori va ildiz sifati ko'pincha yaxshilanadi.

Xulosa qilib aytganda, C.limonning tanlangan kattalar o'simligining tugunli eksplantlari yordamida takrorlanadigan va affektiv mikroko'paytirish protokoli ishlab chiqilgan. O'simliklarning bir xil o'sishi va uzunligi bilan yuqori ko'payish tezligiga erishildi. Mikroklonallangan kurtaklar in vitroda ildiz otib, muvozanatli o'simliklarga aylanib, issiqxonaga muvaffaqiyatli ko'chirilish arafasida.

## Foydalanilgan adabiyotlar

1. R. G. Butenko, E. A. Sheveluxa In vitroda yuqori o'simliklarning madaniy hujayralari biologiyasi va ularga asoslangan biotexnologiya. Moskva: FBK-Press Moskva, 1960. 152 b.
2. Doroshchenok O.V. Citrus L jinsining ikki turining mikroklonal ko'payishi // Biologiya va ekologiyada fundamental va amaliy tadqiqotlar: mintaqa materiallari. int bilan. stud ishtiroki. ilmiy. konf. Perm, 2016 yil, 31-33-b. Арзуманов В.А., Маматов К.Ш. Результаты исследование устойчивости сортов винограда к мучнистой росе // Илмий-амалий конференция маърузалар матни. – Тошкент: 2013. 125-127 б.
3. Jayanthi M, Sarika N, Sujatha G, Mathur R. K, Rao C S and Mandal P K. 2013 Evaluation of SSRs (microsatellites) for detecting genetic variability in oil palm (*Elaeis guineensis*) clone. *Current Horticulture* 1(1): 3–6.
4. Саимназаров Ю.Б, Абдураманова С. *In vitro* шароитида гилоснинг кучсиз ўсувчи Gisela-5 пайвандтагини турли хил озуқа муҳитларида културага киритиш ва қайта културалаш // Агро илм 4(67)-сон – Тошкент 2020. 36-38 б.
5. Высоцкий В.А. Клональное микроразмножение и оздоровление плодовых растений и декоративных кустарников/ В.А Высоцкий// Сб. науч. тр./ ВНИИС им И.М.И.В. Мичурина – Мичуринск, 1989 – с.3-5.
6. S. Singh, B.K. Ray, S. Bhattacharyya, and P.C. Deka: In vitro propagation of Citrus reticulata Blanco and Citrus limon Burm: *HORTSCIENCE* 29(3):214-216. 1994.
7. Капсина М.А. О'сиб бораятган Ростов viloyatida sitrus ekinlari. Rostov n / a: Kitob. nashriyot uyi, 1953, 84 s.
8. Samarina L.S. In vitroda limonni mikroko'paytirish va saqlash usullarini optimallashtirish: muallif. dis. ... Cand. biol. fanlar. M., 2013. 23 b.