www.wordlyknowledge.uz Volume: 1, Issue: 2, 2023

MURASEGA-SKUGA OZUQA MUHITINI TAYYORLASHNING O‘ZIGA XOS XUSUSIYATLARI

Y.U.Abdullayeva, G.R.Rasulova va S.A. Abdullayeva
Samarqand davlat veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universteti
Biotexnologiya kafedrasi mustaqil tadqiqotchisi va magistrlari.

Annotatsiya: Izolyatsiyalangan apikal meristemalar kulturasi, o‘simliklarni mikroklonal ko‘paytirish uchun ekiladigan virussiz materiallar olishda foydalaniladi. Virussiz material olish usuli kasal o‘simlikning o‘sish nuqtasiga yo‘nalishi bilan viruslarning miqdori kamayishiga asoslangan.
Kalit so‘zlar: meristema, didefferensiya, mikroko‘paytirish, eksplant, elita, termoterapiya, xemoterapiya, in vitro.

Аннотация:Изолированные культуры верхушечной меристемы, растения используется для получения безвирусного культурального материала для микроклонального размножения. Метод получения безвирусного материала основан на снижении количества вирусов по мере достижения больным растением точки роста
Ключевые слова: меристема, дифференцировка, микроразмножение, трансплантация, элита, термотерапия, химиотерапия, in vitro.

Annotation: Isolated cultures of the apical meristem, plants used to obtain virus-free culture material for micropropagation. The method of obtaining virus-free material is based on a decrease in the number of viruses as the diseased plant reaches the growth point.
Key words: meristem, differentiation, micropropagation, transplantation, elite, thermotherapy, chemotherapy, in vitro.

Kirish. Izolyatsiyalangan apikal meristemalar kulturasi, o‘simliklarni mikroklonal ko‘paytirish uchun ekiladigan virussiz materiallar olishda foydalaniladi. Virussiz material olish usuli kasal o‘simlikning o‘sish nuqtasiga yo‘nalishi bilan viruslarning miqdori kamayishiga asoslangan. Odatda apikal meristema viruslardan umuman xolidir. Xususan viruslardan xoli apikal meristema faol bo‘linuvchan, uzunligi 0,1 mm, eni 0,25 mm bo‘lgan konus shaklidagi hujayralardan iboratdir. Asosan meristemani jaroxatlarsiz bo‘laklarga ajratish qiyin bo‘lganligi sababli, uni 1-2 barg primordiylar (o‘lchami 100-250 mkm apekslar) bilan ajratib olinadi. O‘simliklarni sog‘lom o‘shtirish uchun yuqori meristemalar usuli termoterapiya va kimyoterapiya bilan birgalikda olib borish oziqa muhitlariga viruslarni ingibirlovchi moddalar qo‘shilishiga asoslangan. Apikal meristemalardan oziqa muhitda apikal virussiz o‘simliklar olinadi, ular ko‘paytirilib, issiqxonalarga qayta ekiladi va virussiz urug‘lik materiallar olinadi.

Material va metodlar. Mahalliy sharoitda Murasega-Skuga ozuqa muhitini tayyorlashning o‘ziga xos xsusiyatlari quyidagilardan iborat:

Bir litrli kimyoviy stakanlar (4ta), boshlang‘ich eritmalarni saqlash uchun og‘zi zich yopiladigan shisha idishlar (1 litrli 3 dona, 100 ml li 1 dona), penitsillin idishlari (10 dona), 1 - 10 ml li pipetkalar, texnik va analitik tarozilar, elektroisitgich, turli xil kimyoviy moddalar (4 - 5 jadvallarga qaralsin). O‘simlikdan ajratilgan hujayra va to‘qimalar o‘stiriladigan oziqa muhitda o‘simliklarga kerakli hamma makroelementlar: azot, fosfor, kaliy, kalsiy, oltingugurt, magniy, temir va mikroelementlar: bor, rux, mis, kobalt, marganets, yod, molibden,

www.wordlyknowledge.uz Volume: 1, Issue: 2, 2023

shuningdek vitaminlar, uglevodlar, karbon suvlar, fitogormonlar bo‘lishi kerak. Ba’zi bir oziqa muhitlari tarkibida esa kazein gidrolizati va ayrim aminokislotalar bo‘lishi kerak. Bundan tashqari, oziqa muhiti tarkibiga, hujayralarning temirga bo‘lgan ehtiyojini turli pH ko‘rsatgichlarda qondirish uchun EDTA (etilendiamin-tetrasirka kislotasi) yoki uning natriyli tuzi kiritilishi kerak. Ajratilgan hujayra va to‘qimalar o‘stiriladigan oziqa muhitning asosiy tarkibiy qismini uglevodlar tashkil qiladi, chunki hujayra va to‘qimalar avtotrof oziqlanish qobilyatiga ega emas.

Ko‘pincha uglevod manbai sifatida saxaroza yoki glyukozaning 20-40 g/l eritmasi qo‘llaniladi. Uglevodli oziqa manbai sifatida polisaxaridlar ishlatilmaydi, chunki ba’zi to‘qimalar, asosan usmalar faol gidrolitik fermentlarga (amilaza va boshqalar) ega bulib, kraxmal eritmasi bor oziqa muhitlarida o‘sishi mumkin. O‘sish regulyatorlari huyayralar didifferentsirovkasi va hujayra to‘qimalari induktsiyasi uchun zarurdir. Shuning uchun kallusli to‘qimalar olishda oziqa muhitlari tarkibiga auksin (hujayra dedifferentsirovkasini yuzaga keltiruvchilar) va sitokinin (didifferentsiyalangan hujayralarning bo‘linishini induksiyalovchi) kiritish kerak. Poya morfogenizi induksiyasida oziqa muhiti tarkibida auksinning miqdori kamroq bo‘lishi yoki umuman bo‘lmasligi mumkin.

Ikkala gormonlarga yoki ularning bittasiga nisbatan avtonomlik shu hujayralarning gormon ishlab chiqarish qobilyatiga bog‘liq. Auksin manbai sifatida oziqa muhitlarda 2,4 dixlor fenoksisirka kislotasi (2,4-D) 110 mg/ml; indolil sirka kislotasi (ISK) 1-30 mg/l; a- naftil sirka kislotasi (NSK) - 0,1-2 mg/l kabilar ishlatiladi. Ko‘pincha 2,4-D ishlatiladi. ISK 2,4-D ga nisbatan 30 marta kam faollikka egadir. Kallusning rivojlanishi uchun ko‘pincha auksinning yuqori miqdori ishlatiladi, to‘qima keyingi qayta ekilganda auksinning miqdori bir necha marta kam bo‘lganda xam to‘qima o‘sishi davom etaveradi. Sun ‘iy oziqa muhitlarida sitokinin manbai sifatida kinetin, 6-benzil aminopurin (6-BAP) va zeatin (0,001-10 mg/l) qo‘llaniladi. To‘qimalarning o‘sishida va orgonogenez induktsiyasida 6-BAP kinetinga nisbatan yuqori faollikni namoyon qiladi. Ba’zi oziqa muhitlari tarkibiga adenin kiradi.

Auksin va sitokininlardan tashqari ba’zi oziqa muhitlari tarkibiga gibberal kislotasi (GK) qo‘shiladi. Oziqa muhitida GKning bo‘lishi shart bo‘lmasa xam, ba’zi xollarda u izolyatsiyalangan to‘qimalarning o‘sishini tezlashtiradi. Birlamchi kallus induktsiyasini va uning o‘sish faoliyatini tezlashtirish uchun oziqa muhitiga o‘simlik ekstraktlari yoki sharbatlari qo‘shiladi. Kokos suti - kokos yong‘og‘i suyuq endospermi o‘sish tezligini oshirish xususiyatiga ega.

Qattiq oziqa muhitni tayyorlashda dengiz suv o‘tlaridan olinadigan polisaxarid, agar-agardan foydalaniladi. “Bacto agar” nomli bakterial agarda keraksiz qo‘shimchalarning miqdori kamroq bo‘ladi. Bunday agarlarni qattiq oziqa muhit tayyorlashda tozalamasdan ishlatish mumkin. Odatda qattiq oziqa muhiti tayyorlashda 5-7% agardan foydalaniladi. Vaqtdan unumli foydalanish uchun makro-mikrotuzlar va vitaminlarning eritmalari yuqori miqdorda boshlang‘ich eritma xolda tayyorlanib, ularni ko‘p marta suyultirib ishlatish mumkin. Kontsentrlangan eritmalar muzlatgichda saqlanadi, vitaminli eritmalar minusli xaroratda saqlanadi.

Makrotuzlar eritmalari 10-20 marta ko‘p miqdorda, mikrotuzlar eritmalari100-1000 marta ko‘p miqdorda, vitaminlar eritmalari esa 1000 marta ko‘p darajali miqdorda tayyorlanadi. Xar-xil turlarga mansub o‘simliklar hujayralari, to‘qimalari va organlarini o‘stirishda turli tarkibdagi oziqa muhitlaridan foydalaniladi. Ko‘pincha Murasiga-Skuga (3-jadval), Uayt (4-jadval), Gamborga (V-5) (3-jadval) oziqa muhitlari ishlatiladi. Murasiga-Skuga oziqa muhitlaridan turli modifikatsiyalar bilan apikal meristemalar o‘stirishda va o‘simliklarni mikroko‘paytirishda foydalanish mumkin.

www.wordlyknowledge.uz Volume: 1, Issue: 2, 2023

Natijalar va ularning tahlili. Kartoshka apikal meristemalarini o‘stirish uchun moslashtirilgan (modifikatsiyalangan) Murasiga-Skuga oziqa muhitlarini tayyorlash. Oziqa muhitlari tarkibi 4-5 jadvallarga berilgan. Avvalo makro - mikrotuzlar va vitaminlarning boshlang‘ich eritmalarini tayyorlash kerak. Odatda, Murasiga va Skuga oziqa muhitlari quyidagi birikmalardan tayyorlanadi.
1. NH_4NO_3, KNO_3, KH_2PO_4, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ($MgSO_4$ ni cho‘kmaga tushishini oldini olish uchun, qizdirmasdan oxirida solinadi;
2. $CaCl_2$ eritmasi;
3. Temir xelati eritmasi ($FeSO_4$ va Na_2EDTA eritmasi birgalikda qaynagunga qadar qizdirilganda temir xelati xosil bo‘ladi
4. Mikro elementlar eritmasi. Boshlang‘ich eritmalar uchun kerakli tuzlar miqdori va boshlang‘ich eritmalarning oziqa muhit uchun kerakli miqdorlari 3-jadvalda keltirilgan.

Tayyorlangan eritmalarni og‘zi zich yopiladigan idishlarga solib, qog‘oz yorliq yopishtirib, muzlatgichda saqlash lozim. Temir xelati to‘q rangli shisha idishda saqlanadi.

Vitaminlarning o‘ta to‘yingan eritmalari alohida-alohida tayyorlanadi va penitsillin idishlarida saqlanadi. Eritmalar tayyorlash uchun vitaminlar o‘n martalik og‘irlikda o‘lchanib 10 ml suvda eritiladi. Shu eritmaning 1 ml miqdori 1 litr Murasiga-Skuga eritmasini tayyorlash uchun yetarlidir. Endi boshlang‘ich eritmalardan foydalangan holda keyingi amaliy ishlar kartoshka va qulupnay apikal meristemalarini o‘stirish uchun oziqa muhitlari tayyorlash kerak. Ulchami 1 litrli kimyoviy stakanga saxaroza solib idishning yarmigacha distillangan suv quyib isitiladi, saxaroza erigandan so‘ng, xona haroratigacha sovitiladi va unga makro-, mikroelementlarning boshlang‘ich eritmalari va vitaminlar kerakli miqdorda solinadi. Kartoshka apikal meristemasini o‘stirish uchun oziqa muhitga aktivlangan

Murasiga-Skuga bo‘yicha boshlang‘ich eritmalar tayyorlash

1-jadval

Moddalarning tarkibi	Oziqadagi moddalar miqdori	Oziqa muhiti miqdori mg/l	1L eritma oziqa hajm, ml	Oziqa muhitini saqlash, °C
Makroelemetlar				
KNO_3	1,88·10-2	19 000	100	+4
NH_4NO_3	2,06·10-2	16 500		
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,50·10-3	3 700		
$CaCl_2$	3,00·10-3	4 400		
KH_2PO_4	1,25·10-3	1 700		
Mikroelementlar				
$MnSO_4 \cdot 7H_2O$	9,99·10-5	2 230	10	+4
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	2,99·10-5	860		
H_3BO_3	1,00·10-4	620		
KJ	5,00·10-6	83		
Mikroelementlar				
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	1,00·10-7	25	1	+4
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	1,00·10-6	250		
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	1,00·10-7	25		
Temir manbayi				
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	1,00·10-4	2 780	10	+4
$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	1,00·10-4	3 730		
Uglevodlar manbayi				

www.wordlyknowledge.uz Volume: 1, Issue: 2, 2023

Saxaroza	8,80·10-2	-	30 g/l	-
Vitamin va organik moddalar				
Mezoinozit	4,90·10-4	10 000	10	-20
Glisin	3,00·10-5	200		
Tiamin-HCI	3,00·10-7	500	1	
Pirodoksin-HCI	2,40·10-6	500		
Nikotin kiclota	4,66·10-6	500		

ko‘mir va regulyatorlar: GK, kinetin, adenin solinadi. Gibberal kislotasi bir necha tomchi spirtga eritilib, ozgina suv qo‘shiladi va oziqa muhitga solinadi. Sitokininlar suvda yaxshi erimaydi, balki ishqorda yoki etil spirti va etil efiri eritmalarida yaxshi eriydi. Sitokinin eritmalari tayyorlash uchun gormonlarga ozgina (3-5 ml) distillangan suv, 0,51 ml 0,1 N KOH qo‘shib aralashtiriladi va eriguncha isitilib, so‘ngra oziqa muhitga solinadi. So‘ng albatta eritmaning pH o‘lchanadi, pH ko‘rsatgichi 5,5-5,6 atrofida bo‘lishi kerak. Eritma pH normaga to‘g‘ri kelmagan xollarda oziqa muhitga 0,1 M HCl eritmasidan qo‘shiladi. Bir vaqtning o‘zida boshqa stakanga agar-agar eritiladi. Buning uchun suvda ivitilgan agar (7 g) elektroisitgichda to‘liq erigunga qadar qizdiriladi va harorat 50°C ga tushguncha saqlab turiladi.

Xulosa. tuzlar, vitaminlar va saxaroza bilan birga idishga solib, eritmaning hajmini suv bilan 1 litrga yetkazish kerak. Oziqa muhitini probirkalarga solib (taxminan 1/3 hajmda), probirkalar og‘zi paxta tiqinlar bilan yopiladi. Oziqa muhitlari avtoklavda 1 atm bosimda 20 daqiqa davomida sterillanadi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro‘yxati

1.Дитченко Т.И. Культура клеток тканей и органов растений. Минск БГУ. стр.20.

2.Анварова М. Морфо-физиологический особенности регенерации картофеля in vitro. Автореферат на соиск. уч.степ. канд. биол. наук. 1998, Душанбе.

3. Нгуен Тхань Хай – Полученые in vitro клеточных и тканевых культур подсолнечника (Hellianthus annus L) устойчивых к Sclerotina Sclerotiozum. Автореферат дисс. На соиск. уч.степ.канд. биол.наук. М. 2008 стр.5-6.

4.Тезекбаева Б.К. Калиева А.А, Малохова Н.П.- Получения новых засухоустойчивых линий картофеля методом клеточной селекции. Известия. Национальной академик наук Респ. Казахстан. N 1 2016 стр.146.

5. Шевелуха В.С. и другие – Сельскохозяйственная биотехнология М.2008 Учебник дел. С-х.вузов.

6. Циринов В.Ж. – Основы биотехнологии: Культивирование и изолированных клеток и тканей. Улан- Удэ, 2003. стр 29-30

7. Шираков А.И, Крюков Л.А. - Основы биотехнологии растений. Эл. Учеб. Нижний Новгород 2012, стр. 20.

8. Тимофеева О.А, Румянцева Н.И Культура клеток и тканей растений. Уч. пособие Казань 2012, стр 3.

9. Анохина В.С и др. Генетические основы селекции растений. Том 3. Биотехнология в селекции растений. Клеточная инженерия/Минск: Белорусская наука, 2012, 490 с. ISBN 978-985-08-1392-3