UDK: 634.8:631.53 **DOI: 10.56292/SJFSU/vol29_iss1/a209**

IN VITRO TEXNOLOGIYASI ASOSIDA MAXALLIY UZUM NAVLARINI KO‘PAYTIRISH

РАЗМНОЖЕНИЕ МЕСТНЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА НА ОСНОВЕ ТЕХНОЛОГИИ IN VITRO

PROPAGATION OF LOCAL GRAPE VARIETIES BASED ON IN VITRO TECHNOLOGY

Qosimova Sharifa Shuxratjon qizi[1], Darmanov Muxtor Muhammadovich[2]

[1]Qosimova Sharifa Shuxratjon qizi – Farg‘ona Davlat universiteti, Biotexnalogiya yo‘nalishi magistranti

[2]Darmanov Muxtor Muhammadovich – O’zbekiston Respublikasi fanlar akademiyasi Genomika va bioinformatika markazi bo‘ldim mudiri

Annotatsiya

Ushbu maqolada in vitro sharoitida uzum navlarini mikroklonal ko‘paytirish bo‘yicha olib borilgan tadqiqotlar natijalari sharxi keltirilgan. Tadqiqotda uzum navlarini mikroklonal ko‘paytirish uchun turli xil ozuqa muxitlari, in vitro uzum ko‘chatlarini nostreril sharoitga moslashtirish, orginal genotiplarni ko‘paytirish va saqlash bo‘yicha ma’lumotlar keltirilgan. Natijada tanlab olingan uzum navlarini in vitro sharoitida ko‘paytirish uchun eng maqbul bo‘lgan usullar va ozuqa muxiti aniqlangan.

Аннотация

В данной статье рассмотрены результаты иссле дований по микроклональному размножению сортов винограда in vitro. В исследовании представлены сведения о различных питательных средах для микроклонального размножения сортов винограда, адаптации саженцев винограда in vitro к ностерильным условиям, размножения и сохранения исходных генотипов. В результате были определены наиболее оптимальные способы и питательная среда для размножения in vitro выбранных сортов винограда.

Abstract

This article reviews the results of research on microclonal propagation of grape varieties in vitro. The study provides information on various nutrient media for microclonal reproduction of grape varieties, adaptation of in vitro grape seedlings to nosteril conditions, reproduction and preservation of original genotypes. As a result, the most optimal methods and nutrient medium for in vitro propagation of selected grape varieties were determined.

Kalit so‘zlar: *In vitro texnologiyasi, uzumchilik, uzum navlari, uzumchilikning ahamiyati, in vitro texnologiya laboratoriyasi.*

Ключевые слова: *технология in vitro, виноградарство, сорта винограда, значение виноградарства, лаборатория технологии in vitro.*

Key words: *In vitro technology, viticulture, grape varieties, importance of viticulture, laboratory of in vitro technology.*

KIRISH

Respublikada uzumchilikni rivojlantirish va sifatli uzum mevalari eksport hajmini oshirish uchun nafaqat uzumzorlarni kengaytirish, balki uzum ko‘chatchilik tarmog‘iga yangi innovatsion texnologiyalarni ilmiy asoslangan uslublarini joriy qilishni talab etadi. O‘zbekiston Respublikasi prezidentining “2022-2026 yillarga mo‘ljallangan yangi O‘zbekistonning taraqqiyot strategiyasi” to‘g’risidagi farmoni 30-bandida “Qishloq xo‘jaligini ilmiy asosda intensiv rivojlantirish orqali dehqon va fermerlar daromadini kamida 2 baravar oshirish, qishloq xo‘jaligining yillik o‘sishini kamida 5 foizga yetkazish” ko‘rsatib o‘tilgan. Farmonning ushbu bandida uzum ko‘chatlarini ko‘paytiruvchi in vitro laboratoriyalarini qurish va 50 ming gektarda yangi uzumzorlar barpo etish chora-tadbirlari belgilangan.

Ushbu dolzarb mu’ammolarni hal etish uchun uzum in vitro texnologiyasi bo‘yicha tadqiqotlarni olib borish muhim hisoblanadi.

Uzumning to‘qima va organlarini izolyatsiya qilingan sharoitda sun‘iy oziqlantiruvchi muhitda yetishtirish orqali ko‘paytirish "in vitro" usulida ko‘paytirishdir. To‘qima va organlarini in vitro usulida ko‘paytirish uchun sterill sharoit va ozuqa muhitlari kerak bo‘ladi. To‘qimalarni yetishtirish usullari XX asrning 30-yillarida, fransuz olimi R.Gotr va amerikalik F.Uayt o‘simliklarning ayrim to‘qimalari (eksplantlari) bo‘laklarining mustaqil rivojlanishini ta’minlaydigan murakkab ozuqa muhitini yaratishga muvaffaq bo‘lgan paytda ishlab chiqilgan. Shu bilan birga, madaniy idishlar, ozuqa substratlari, operatsiya xonalari, asboblar va eksplantlarning o‘zlari uchun steril sharoitlar majburiy talab bo‘lishi kerak.

Hozirgi vaqtda ko‘plab mamlakatlar olimlari ma'lum hujayralarni qayta tiklash qobiliyatini isbotladilar. To‘qimalarni ekish usullari nafaqat ona o‘simlikdan ajratilgan organlar, to‘qimalar yoki hujayralardan, balki alohida protoplastlardan ham yangi organizmlarni olish imkonini beradi.To‘qimalarni ekish, sterillikdan tashqari, optimal nazorat qilinadigan sharoitlarni va har bir ob'ektga mos keladigan, ba'zan 20 yoki undan ortiq komponentlardan (makro- va mikroelementlar, uglevodlar, vitaminlar, o‘sish regulyatorlari, aminokislotalar, agar-agar) iborat bo‘lgan ozuqa muhitining tarkibini talab qiladi.

To‘qimalarni in vitro usulida ko‘paytirish alohida turlarga va hatto o‘simlik navlariga xosdir. Qoidaga ko‘ra, "in vitro" ekishdan so‘ng (probirkada, kolbada va boshqalarda) o‘simliklar nosetiril sharoitda yani ochiq yerga moslashtiriladi.

To‘qimalarni in vitro usulida ko‘paytirish seleksiya samaradorligini oshirish, gibrid embrionlarni sun'iy yetishtirish, virussiz o‘simliklarning genetik jihatdan bir xil materialini olish, navlarning yangi shakllarini tezlashtirilgan ko‘paytirish va boshqalar uchun amaliy maqsadlarda qo‘llaniladi.

Uzum (Vitis spp..) dunyodagi eng ko‘p o‘sadigan mevali ekinlar qatoriga kiradi, butun dunyoda yetishtiriladi va qaryib 7,43 million gektar maydonni egallaydi, bu esa uzum yetishtiruvchi mamlakatlar iqtisodiyotiga ta’siri katta (Reynolds, 2017, FAOSTAT, 2009). Uzumning taxminan 60 turi dunyoda tan olingan va odatda ularni o‘zaoro muvaffaqiyatli chatishtirilish mumkin (Hancock, 2004).

Ko‘chat materiallarini ko‘paytirishning mavjud usullarining unumdorligi yetarli emasligi sababli, yangi navlarni ishlab chiqarish jarayonlari uzoq vaqt talab qilmoqda. Shuni hisobga olgan holda uzum navlarini ko‘paytirishning yangi usullarini ishlab chiqish va joriy etish zarurati tug‘iladi. Muammoni hal qilishning eng samarali usullaridan biri bu uzumni klon mikroklonlash texnologiyasi. Mikroklonlash seleksiya jarayonining davomiyligini kamaytirishga va yangi navlarni ishlab chiqarishga joriy etishni tezlashtirishga xizmat qiladi.

Uzumchilikda klon reproduksiya - bitta umumiy onalik organizmidan vegetativ ko‘payish natijasida genetik jihatdan bir xil organizmlarning ketma-ket nasllarini olish an’anaviy hisoblanadi. Mikroklonal ko‘paytirishda bu an’ana saqlanib qoladi, ammo vaqt birligida vegetativ ko‘payish koyeffitsiyenti sezilarli darajada oshadi. Mikroklonal ko‘paytirish yana bir qator afzallik va xususiyatlarga ega, ya’ni: atrof muhitning turli omillari ta’sirini istisno qiladigan laboratoriya sharoitida amalga oshiriladi, ko‘payish tezligi yuqori, viruslar va bakterial saratonga qarshi sog‘lom materiallarini ishlab chiqarishga imkon beradi; ko‘chatlarni yil davomida ko‘paytirishga imkon beradi, ildizlatish qiyin bo‘lgan navlarni ko‘paytirish mumkin bo‘ladi, maydon birligi bo‘yicha o‘simliklarning maksimal sonini olish, seleksionerlarga kerakli genofondni saqlab qolish imkoniyatini beradi, yangi navlar tezda ko‘paytirish va fermer xo‘jaliklarida intensiv yetkazib berishda katta ahamiyatga ega.

In vitro usulida uzum ko‘chatlarini ko‘paytirishda ozuqa muhiti.

Barcha o‘simliklarni in vitro usulida ko‘paytirish jarayonida turli xil ozuqa muhitlaridan foydalaniladi. Oziqlantiruvchi muhitning muhim va ajralmas tarkibiy qismlaridan biri bu o‘sishni tartibga soluvchi vositalardir. [K.Z. Hamburg, 1990].

Ajratib olingan hujayralar va to‘qimalarni o‘stirish uchun mo‘ljallangan oziqa muhitlari, o‘simliklarni yaxshi o‘sishi uchun kerak bo‘lgan barcha makroelementlar (azot, fosfor, kaliy, kalsiy, magniy, oltingugurt va boshqalar) va mikroelementlar (bor, marganets, rux, mis, molibden va boshqalar) hamda vitaminlar, uglevodlar, fitogormonlar yoki ularni sintetik analoglarini saqlashi kerak. Ba'zi oziqa muhitlari aminokislotalar, kazsin gidrolizoti, EDTA (etilendiamintetrasirka kislota) yoki uni natriyli tuzi (bu tuz temirni hujayra kirishiga yordam beradi) va boshqa kerakli moddalar saqlaydi.

Fitogormonlar hujayralarni tabaqalanishi (dedifferensirovki) va hujayra bo‘linishini kuchaytirish (induksiya) uchun kerak. Shuning uchun ham kallusli to‘qimalar olish uchun mo‘ljallangan oziqa muhiti tarkibida albatta auksinlar (hujayra bo‘linishini kuchaytiruvchi) bo‘lishi shart. Poya morfogenezini induksiya qilganda muhit tarkibidagi auksinlar miqdorini kamaytirish yoki butunlay olib tashlash mumkin.

Auksin manbai sifatida oziqa muhitiga 2,4-dixlorfenoksi sirka kislota (2,4-D), indolil3-sirka kislota (IUK), L-naftil sirka kislota (NUK) qos‘hiladi. Yaxshi o‘suvchi kallus olish uchun ko‘proq 2,4D dan foydalaniladi, chunki IUK, 2,4D ga nisbatan 30 marotaba kuchsizdir.

Sun'iy oziqa muhitiga qo‘shish uchun, sitokinin manbai sifatida, kinetin, 6-benzilaminopurin (6-BAP) va zeatin ishlatiladi. 6BAP va zeatin ajrtilgan to‘qimalarni o‘sishiga orgonogenezni induksiyasiga kinetinga nisbatan faolroq ta'sir korsatadi. Ba'zi bir oziqa muhitlar tarkibiga adenin ham qo‘shiladi.

Hozirgi paytda juda ko‘p sonli oziqa muhitlarni tarkibi aniq bo‘lsada, ajratib olingan o‘simlik to‘qimalarini in vitro sharoitida o‘stirish uchun T.Murasiga va F.Skuga muhitlari ishlatiladi. Bu muhitni tarkibi birinchi marotaba 1962 yilda e'lon qilingan va u juda yaxshi balanslangan oziqa moddalari tarkibiga ega va boshqalardan ammoniyli va nitratli azotni nisbati bilan farq qiladi

Tajribalar ko‘rsatdiki, ekstraksiya qilingan meristema kurtaklari regeneratsiyasi barcha 6-benzilaminopurin (6-BAP) konsentrasiyalarida sodir bo‘lgan. 6-BAP 0,5-1,0 mg/l konsentratsiyasida

ijobiy ta’sirga ega bo‘lgan. Mikroildizchalarning o‘sishini tezlashtirish uchun gibberellik kislotaning 6-BAP bilan birgalikdagi turli konsentrasiyalardagi ta’siri 0,5 mg/l 6-BAP + 1,0 mg/l GK kombinatsiyasi eng yaxshi natijalarni ko‘rsatgan. Ushbu kombinatsiya o‘simlik bo‘g‘inlarining o‘sishini tezlashtirgan va ikki hafta o‘tgach, kurtaklar 25-26 mm hajmga ega bo‘ldi (Batukayev A.A., Batukaev M.S., 2018).

Minal va boshqalar (2000) BAP-dan foydalanish uzumda ildiz hosil bo‘lishini muvaffaqiyatli boshlaganligi haqida xabar berishdi. BAP yordamida uzumni ko‘paytirishni in vitro ko‘paytirishni rag‘batlantiradi, Li va Vetstshteynga [1990], lar BAPning yuqori darajadagi stimullovchi ildizni ko‘paytirishni to‘g‘risida e’lon qilgan. Shu bilan birga, Hamed va boshqa olimlar (2007) turli xil o‘sish regulyatorlari va turli xil konsentratsiyalarning rezavor mevali o‘simliklarda ildiz uzunligiga ta’sirini o‘rganib chiqdilar va BAP ning 2,0 mg/l darajasida eng yuqori ildiz uzunligini berganligini kuzatdilar.

L.S. Yerbolova va boshqalar (2012) ikki xil ozuqa muhitida: meristematik massani boshlash va saqlash uchun MI muhiti va tarkibida 4,4 mkm benzilaminopurin (BAP) bo‘lgan MS muhiti va 0,05 mkm naftalinuksus kislota (NUK) larda Yevropaning bir necha uzum navlari mikroklonal ko‘paytirish samaradorligi o‘rganilgan.

In vitro usulida ko‘paytirilgan uzum ko‘chatlarini nosteril sharoitga moslashtirish

Tabiiy sharoitda in vitro uzum ko‘chatlarining moslashishi va rivojlanishi ma’lum bir tur va navning genotiplarining o‘ziga hos xususiyatlari bilan bog‘liq. Shu bilan birga, regenerant o‘simliklar yangi o‘stirilayotgan muhitga alohida talablar qo‘yadi (Burgutin A.B.1988, Zlenko V.A.2005). Uzum mikro ko‘chatlarini tabiiy mineral oziqlanish sharoitlariga o‘tkazishda in vitro o‘simliklarning ildiz tizimi tuproqdan ozuqa moddalarini singdirish funksiyasini bajaradigan ildiz tuklari yo‘qligi bilan ajralib turishini hisobga olish kerak. Yangi sharoitlarga moslashish odatda 13-18 kunni tashkil etadi (xilma-xillikdan) va o‘sish jarayonlarining faollashuvi bilan ajralib turadi. Regenerant o‘simliklarni yex vitro ko‘chirishda mavjud bo‘lgan ozuqa moddalarining yetishmasligi moslashish vaqtini sezilarli darajada oshiradi, o‘sish va rivojlanishni sekinlashtiradi, shuning uchun rizogenezning dastlabki bosqichlarida mineral oziqlanishning maqbul darajasi asosiy ahamiyatga ega.

Yex vitro o‘simliklarni moslashish bosqichida lignogumatning ijobiy ta’siri o‘rganilgan. Uzum ko‘chatlari ildizlari ekishdan oldin suvli eritmaga solingan. Ekilgandan so‘ng darhol substrat shu eritma bilan sug‘orilgan. Optimal ta’sirni o‘rnatish uchun turli xil dori konsentratsiyalari o‘rganildi. Nazorat qiluvchi omil sifatida distillangan suv ishlatilgan. Lignogummatning barcha konsentratsiyasi o‘simliklarga ijobiy ta’sir ko‘rsatdi. Lignogummat barglar hajmini ko‘paytirgan va 1,0 g/l konsentratsiyasida o‘simliklarning balandligi sharoitga moslashgandan keyin 30-kunda oshganligi aniqlandi (Batukayev A.A., Batukaev M.S., 2018).

L.S. Yerbolova va boshqalar (2012) tadqiqotlarida MI muhitida olingan uzum ko‘chatlari, in vitro dan yex vitro ga ko‘chirishda paytida omon qolish MS muhitiga qaraganda bir necha baravar yuqori bo‘lgan. Svetla Yancheva va boshqalar (2018) maxsus optimallashtirilgan mikroklonal ko‘paytirish tizimidan foydalanib, 2500 dan ortiq uzum genotiplari in vitro holda muvaffaqiyatli ko‘paytirildi va Yex vitro sharoitlariga moslashtirildi.

Original genotiplarni ko‘paytirish va saqlash.

Virusli, mikoplazmal kasalliklardan va bakterial saratondan holi o‘simliklar o‘stirish muammosini turli usullar yordamida hal qilish mumkin. Sog‘lom o‘simliklarni vizual tarzda seleksiya qilish va sinovdan o‘tkazishda termo-kimyoterapiya va suv terapiyasidan va o‘simliklarning apikal meristemalardan foydalaniladi. O‘simliklar meristemadan apikal uchlarini olish va biologik faol moddalar yordamida mikroklonal ko‘paytirish natijasida virusdan holi o‘simlik navlarini ko‘paytirish mumkin. [A.B. Burgutin, 1983, 2011]. Apikal meristema - balandligi 0,2 -0,4 mm bo‘lgan faol ravishda bo‘linadigan hujayralar konusidir [M. Carre, 1979].

In vitro ko‘paytirish uzumlarni ko‘paytirishning muqobil usuli hisoblanadi. In vitro ko‘paytirish (mikroklonal yoki to‘qima kulturasi) uchun maxsus jihozlar, uskunalar va tajriba talab etiladi, ammo ko‘proq o‘simliklarni olish mumkin (Terregrosa va boshq, 2001). Uzumning in vitro ko‘paytirishning ko‘plab usullari tavsiflangan (Gray D.J. and Fisher L.C. 1986). Mikroklonal ko‘paytirishdagi umumiy tamoyillar barcha o‘simliklar uchun bir xildir, o‘simliklar uchun texnologiya detallari ko‘pincha farq qiladi (Vasil I.K. and Thorpe T.A. 2013). Uzum in vitro kultura to‘g‘risidagi birinchi ma’ruza Morel tomonidan elon qilingan (Morel G. (1944) va kallus to‘qima, somatik embrionlar, protoplastlar kulturasi, organogenez va ildiz uchlari va o‘zak to‘qimalar yordamida in vitro ko‘paytirish kabi ko‘plab tadqiqotlar nashr etilgan [Read P.E. 2004, Torregrosa L., 2001]. Bitta o‘zak kurtakcha yordamida amalga oshiriladigan uzumning to‘qima kulturasi an’anaviy usullarga nisbatan elita navlarini tezroq ko‘paytirish

imkoniga ega (Torregrosa L., 2001). Uzumzorlarni jadallik bilan ko‘paytirish o‘zak to‘qimalar kulturasi orqali erishildi (Nas M.N., Eskridge K.M. 2005). Birinchi somatik regeneratsiya adventiv organogenez, ya’ni yangi-kurtaklarning rivojlanishiga turtki berish yo‘li bilan olingan. (Barlass and Skene, 1978). Bunga parallel ravishda, ko‘plab Vitis genotiplari uchun ham somatik embriogenez ishlab chiqilgan (Martinelli va Gribaudo, 2001).

Ildiz organogenezi in vitro uzumining ko‘payishining muqobil usuli ekanligi isbotlangan (Jona va Vebb, 1978), ayniqsa mikroklonal ko‘paytirish samarali bo‘lmagan genotiplar uchun (Péros et al., 1998).

XULOSA

Bugungi kunda uzum navlarini ko‘paytirishda ko‘pchilik tadqiqotchilar *in vitro* usullarini qo‘llaydi. So‘nggi yillarda organogenez yoki embriogenez orqali mikroko‘payish va regeneratsiya sohasida muhim ilmiy yutuqlarga erishildi. Turli xil genotiplarni olish uchun hujayralar, to‘qimalar va organlar to‘qimalar kulturasiga jalb qilindi. *In vitro* tizimlarining rivojlanishi uzumning o‘sishi, rivojlanishi va metabolizmining o‘rganishda o‘ziga xos yondashuvlar uchun imkoniyatlar ochadi. *In vitro* texnologiyalari an'anaviy usullarni to‘ldirgan holda hozirda genetik takomillashtirish dasturlari va sog'lom navlarni ko‘paytirishda qo‘llanilmoqda. O‘simliklar bioxilma-xilligini havfsiz va arzon tarzda saqlash uchun *in vitro* texnologiyasidan foydalanish mumkin.

ADABIYOTLAR RO‘YXATI

1. Reynolds, A. G. (2017). The Grapevine, Viticulture, and Winemaking: A Brief Introduction. In Grapevine Viruses:Molecular Biology,Diagnostics and Management (pp. 3-29). Springer,Cham.
2. Torregrosa L., Bouquet A. and Goussard P.G. (2001). In vitro culture and propagation of grapevine. In: Molecular Biology and Biotechnology of the Grapevine. RoubelakisAngelakis, K. (ed.). Kluwer Academic Publishers, Amsterdam, pp195-240.
3. Vasil I.K. and Thorpe T.A. (2013). Plant cell and tissue culture. Kluwer Acad. Pub., Netherlands. 293-312.
4. Gifford, E.M. and W.B. Hewitt (1961) The use of heat therapy and in vitro shoot tip culture to eliminate fanleafvirus from the grapevine. Am. J. Enol. Vitic. 12: 129-135.
5. Galzy R. (1961) Confirmation de la nature virale du courtnoue de la vigne par des essais de thermotherapie sur des cultures in vitro. C.R. Acad. Sci. Paris 253: 706-708.
6. K.Z. Hamburg, N.I. Rekoslavskaya, S.G. Shvetsov, “Auxins plant tissues and cells”, Novosibirsk: Science, 1990, p. 243.
7. Batukayev A.A., Batukaev M.S., Palaeva D.O., Sobralieva E.A. / In Vitro Reproduction and Ex Vitro Adaptation of Complex Resistant Grape Varieties. Advances in Engineering Research, volume 151 International Conference on Smart Solutions for Agriculture (Agro-SMART 2018) Pg 895-899.
8. Minal M., Salunkhe C.K., Rao P.S. and Mhatre M. (2000). Micropropagation of Vitis vinifera L: towards an improved protocol. Scientia Horiculturae, 84(3-4), 357-363.
9. Lee N. and Wetzstein H.Y. (1990). In vitro propagation of muscadine grape By axillary shoot proliferation. J Amer Soc Hort Sci., 115(2), 32-329.
10. Hamed A.M., Ali E.A.M. and Ehab B.S. (2007). In vitro propagation of jackfruit (Artocarpus heterophyllus L.). J. appl. sci. res., 3(3), 218-226.
11. Yerbolova L.S., Ryabushkina N.A., Aubakirova K.P., Oleychenko S.N., Galiakparov N.N. Mikroklonalnoye razmnojeniye na razlichnыx pitatelnыx sredax // Vestnik, seriya biologicheskaya. –2012.–№1(53).–S.14-17.
12. Jona, R. and KJ. Webb (1978) Callus and axillary-bud culture of Vilis vinifera "Sylvaner Riesling". Sci. Hort. 9: 55-60
13. Peros, J.P., Bonnel, E., Roques, D., and F. Paulet (1994) Effect of in vitro culture on rust resistance and yield in sugarcane. Field Crops Res. 37: 113-119.
14. Barlass, M. and K.G.M. Skene (1978) In vitro propagation of grapevine (Vitis vinifera L.) from fragmented shoot apices. Vitis 17: 335-340.
15. Barlass, M. and K.G.M. Skene (l980a) Studies on the fragmented shoot apex of grapevine. I. The regenerative capacity ofleafprimordial fragment in vitro. J. Exp. Bot 31: 483-488.