



UO'T: 635.93:631.53:632.4

BANAN KO'CHATLARINI IN VITRO SHAROITIDA MIKROKLONLI KO'PAYTIRISH JARAYONIDA UNI IFLOSLANTIRADIGAN ZAMBURUG'LAR VA ULARGA ANTIBIOTIKLARNI TA'SIRI

Mashrabova Malika

Toshkent davlat agrar universiteti Biotexnologiya mutaxassisligi magistranti

Zuparov Mirakbar Abzalovich

Toshkent davlat agrar universiteti Biotexnologiya kafedrası professori

Bo'sinov Muxiddin Laziz o'g'li

Toshkent davlat agrar universiteti Biotexnologiya kafedrası katta o'qituvchisi

Annotatsiya. Banan o'simligining ko'chatlarini yetishtirish jaryonini in vitro sharoitida amlga oshirish bo'yicha tadqiqotlar olib borilgan, shuningdek tadqiqotda ko'chatlar uchun sun'iy oziqa muhitlari tayyorlangan. Oziqani tayyorlash va ekish jarayonida oziqaga turli yo'llar bilan tushadigan zamburug'larning o'simlik o'sishi uchun salbiy ta'siri hamda zamburug'larning tur tarkibi o'rganilgan. Tajribalar davomida zamburug'larga qarshi samarali antibiotiklar shuningdek ularni qo'llash bo'yicha maqbul sarf me'yorlari keltirib o'tilgan.

Kalit so'zlari: Zamburug', klonli ko'paytirish, Banan, in vitro, antibiotik, infeksiya

Аннотация. Проведены исследования по выращиванию рассады банана в условиях *in vitro*, а также в ходе исследования были приготовлены искусственные питательные среды для выращивания растений. Изучено негативное влияние грибов, попадающих в питательную среду различными путями в процессе её приготовления и посадки, на рост растений, а также их видовой состав. В ходе экспериментов были определены эффективные антибиотики против грибов и приведены оптимальные нормы их применения.

Ключевые слова. Грибы, клональное размножение, банан, *in vitro*, антибиотик, инфекция

Abstract. Studies were conducted on the in vitro propagation of banana plant seedlings, and artificial nutrient media for seedling cultivation were prepared during

AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLER KARANTINI

the research. The negative effects of fungal contamination introduced into the nutrient media through various routes during the preparation and planting processes on plant growth, as well as the species composition of the fungi, were investigated. During the experiments, effective antibiotics against fungal contamination and the optimal application rates for their use were identified and presented.

Keywords Fungi, clonal propagation, banana, *in vitro*, antibiotic, infection

KIRISH.

Banan yer yuzida yetishtiriladigan qadimgi ekin turlaridan biri hisoblanadi. Banan mevasi tarkibida uglevod, klechatka va kaliyga boyligi bilan ajralib turadi. Bundan tashqari bu meva dorivorlik xususiyatiga ega. Banan mevasining po'stlog'idan homashyo sifatida qog'oz ishlab chiqarishda va kosmetologiyada ishlatiladi. Bundan tashqari u yaxshi yoqilg'i bo'lib xizmat qiladi (Pareek, 2016). Shu sababli bananni ko'paytirishga bo'lgan talabni qondirishda bu ekin turini ko'chatlarini *in vitro* sharoitida yetishtirish bugungi kundagi eng samarali usul hisoblanadi (Kacar, Faber, 2012).

Banan ko'chatlarini *in vitro* sharoitida yetishtirishda uning unumdorligiga salbiy ta'sir qiluvchi omillardan biri, bu ular ko'paytiriladigan oziqa muhitlarini mikroorganizmlar bilan ifloslanishidir. Bunday mikroorganizmlar orasida zamburug'lar o'ziga xos o'rin tutadi. (Kassels, 2003, Alman, Byurun, Saxin, 2010).

O'simlik to'qimalarini *in vitro* sharoitida klonli mikroko'paytirishda ular endofit yoki rizosfera mikroorganizmlari bilan ifloslanishlari mumkin. Bu mikroorganizmlar *in vitro* sharoitida o'sib rivojlanayotgan o'simlikni va uning oziqasini to'liq qoplab oladi. O'simlik to'qimasining sirti dezinfeksiya qilinganda to'qima ichidagi infeksiya nobud bo'lmay saqlanib qolishi mumkin, lekin bu mikroorganizm o'simlik uchun tabiiy sharoitda patogenlik xususiyatini namoyon qilmasa ham *in vitro* sharoitida uning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi. Endofit zamburug' hujayrasi o'simlik uchun foydali, ya'ni ularni kasallikdan himoya qiladi (Gyan et al, 2005). Ammo o'simlikni yetishtirish davrida katta muammolarni yuzaga keltiradi. Bu davrda ularga qarshi sistemali ta'sir qiladigan fungitsidlarni qo'llash muhitdagi mikroorganizmlarni yo'qotish bilan bir qatorda eksplantni o'zini ham nobud qiladi. Kulturaning o'sishi va rivojlanish davrida zamburug' infeksiyasi o'zini namoyon qilmasligi mumkin, lekin qayta-qayta ekilgandan so'ng yo'ldosh zamburug'lar yuzaga chiqadi. Infeksiya bo'lishiga qaramasdan ba'zi eksplantlar yashab qoladi va ular muhitda zamburug' bo'lishiga qaramasdan o'sishda davom etadi. Zamburug' infeksiyasini rivojlanishining o'simlik materialiga jiddiy zarar yetkazadi.

Mikroorganizmlar shu jumladan zamburug'lar bilan *in vitro* sharoitida zararlangan o'simlikni o'sishi va rivojlanish qiyin kichadi. Bu endogen zamburug' infeksiyasini o'simlik kulturaga kirishi davrida aniqlanadi. Chunki ungacha ularni yorug'lik mikroskopi orqali oldindan aniqlashni iloji yo'q. O'simlik kulturasini boshqa oziqa muhitiga ko'chirib o'tkazilgandan so'ng bir hafta ichida zamburug'

AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

o'simlik va oziqa muhitini qoplab oladi. Bunday holatda zamburug' infeksiyasini aniqlash unga qarshi qo'llanadigan samarali antibiotikni tanlash onsonlashib qolmasdan, balki infeksiya manbalarini ham aniqlash mumkin bo'ladi.

Shu sababli biz in vitro sharoitida o'stirilgan banan kulturasini va uni ko'paytirish uchun ishlatiladigan oziqa muhitlarini ifloslantiradigan zamburug' turlarini aniqlash va ularga qarshi qo'llaniladigan antibiotiklarni tanlab olish maqsadida Toshkent davlat agrar universiteti "Biotexnologiya" kafedrasining laboratoriyasida tajribalarni amalga oshirdik.

MATERIALLAR VA USLUBLAR.

Bananni in vitro sharoitida kulturaga kiritishda Murasige-Skuga oziqa muhitidan (MS) foydalanildi. Uning tarkibida 3% saxaroza bo'lib, 3 ml kinetin va quyultirish uchun 0,2 % gellan, 1 ml 6-benzilaminopurin (BAP) qo'shildi. Sterillashdan oldin pH muhiti 5,8 ga keltirildi va oziqa muhiti 121⁰C va 118⁰ C, haroratda, 1 atm bosimda 15 daqiqa davomida avtoklavda sterillangan. Banan kulturasini 25⁰C haroratda, 16 fotodavr sharoitida 4 hafta davomida o'stirildi.

Banan kulturasini in vitro sharoitida 1-3 hafta o'stirish davrida ifloslangan shisha bankalardan zamburug'lar kartoshka qaynatmasi va pivo suslasidan tayyorlangan probirkalardagi agarli oziqa muhitlariga ekib sof kulturasini ajratib olingan zamburug'larni o'sishi uchun ular harorati + 24-26 ⁰C bo'lgan termostatlarga joylashtirildi va uchinchi kundan boshlab 10 kun davomida kuzatib borildi (1-2 rasm).



1-rasm

AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

**2-rasm**

Undan keyin ularning turi aniqlandi. Ajratib olingan zamburug'lar *Aspergillus flavus* Lk exFx., *A.niger* van Tieghem, *A.ochreus* Wilhelm, *A. terreus* Thom, *Penicillium.cavum* Sopp., *P.notatum* Westling, *P. soppi* Zaleski, *Cladosporinm herbarum* (Pers.) Lk exFr. turlariga mansub ekanligi ma'lum bo'ldi. Bu zamburug'larga nisbatan antibiotiklardan: penitsillin, tikarsillin va ampinsillin turli konsentratsiyalarini ta'siri qog'oz doiracha usuli yordamida o'rganildi. Bu usulning mohiyati shundan iboratki, filtr qog'ozdan yasalgan doirachalar tajriba uchun tanlab olingan antibiotiklarning turli konsentratsiyadagi suvli eritmasiga botirib olindi va Petri likobkasidagi agarli kartoshka oziqasiga ekilgan banandan ajratilgan zamburug'ning sof kulturasi sifatida terib chiqildi. So'ng bu Petri likobchalari zamburug'larni o'sishi uchun harorati + 24-26⁰ C bo'lgan termoststga 48-72 soatga joylashtirildi. Agar o'rganilayotgan zamburug'ga antibiotik ta'sir qilsa uning eritmasiga botirib olingan qog'oz doiracha atrofida zamburug' o'sishini cheklagan zona kuzatildi.

AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

1-jadval

Antibiotiklarni in vitro sharoitida o'stirilgan bananni iflostantiruvchi zamburug'larning sof kulturasiga ta'siri

№	Zamburug‘ turlari	Antibiotiklar								
		Penitsillin			Tikarsillin			Ampinsillin		
		Konsentratsiyasi, mg/l								
		50	100	200	50	100	200	50	100	200
		Zamburug‘ o‘sishini chegaralash, mm								
1	Aspergillus flavus	2+0.9	3+0.5	4+0.5	2+0.5	3+0.5	5+0.3	-	2+0.5	4+0.9
2	A.niger	2+0.5	4+0.9	6+0.2	2+0.5	3+0.5	4+0.2	2+0.5	3+0.9	5+0.3
3	A. ochraceus	2+0.2	3+0.2	5+0.5	-	2+0.2	3+0.9	-	-	2+0.5
4	A. Terreus Thom	2+0.5	3+0.5	4+0.9	-	2+0.9	4+0.9	-	2+0.5	3+0.5
5	Penicillium cavum Sopp	2+0.5	4+0.2	6+0.2	2+0.5	3+0.9	5+0.5	3+0.5	4+0.2	6+0.2
6	P. Notatum Westling	2+0.5	4+0.5	5+0.9	2+0.9	4+0.9	6+0.5	2+0.9	3+0.5	5+0.3
7	Q. Soppi Znleski	3+0.2	3+0.3	4+0.5	-	2+0.5	4+0.2	2+0.5	4+0.2	5+0.6
8	Cladosporium herbarum(pers)LkexFr	2+0.2	4+0.2	5+0.5	-	-	3+0.9	-	-	2+0.9

1-jadvaldan ko'rinib turibdiki sinalgan barcha antibiotiklar ajratilgan zamburug'larga nisbatan antogonistik xususiyatlarini namoyon qildi. Penitsillin antibiotikining sinalgan barcha konsentratsiyasi zamburug'larni o'sishini chegaralagan bo'lsa, tikarsillin va ampinsillin antibiotiklarining 200 mg konsentratsiyasiga barcha zamburug'larning o'sishini chegaralashi kuzatildi. Amalga oshirilgan tajriba natijalariga ko'ra bananni in vitro sharoitida iflostantiruvchi zamburug'larga qarshi penitsillin antibiotigini qo'llash yaxshi samara berishi mumkin.

Adabiy manbalar bilan tanishish davomida antibiotiklarni past konsentratsiyasi bananni in vitro sharoitida o'stirilganda uning o'sishi va rivojlanishiga ta'sir qilmasligini lekin bu meyorda uni zamburug' bilan ifloslanishini kuzatilganligi ta'kidlanadi. Agar antibiotikni konsentratsiyasi oshirilsa banan o'simligini in vitro sharoitida o'sishi va rivojlanishiga salbiy ta'sir qilishi aniqlangan (Teodosiy et al., 2012, Antar Nasr El-Banna et al, 2021; Sandip, Nitika, 2021). Xulosa qilib shuni aytish mumkinki bananni in vitro sharoitida o'stirilganda iflostantiruvchi zamburug'larga qarshi ishlatiladigan antibiotikni konsentratsiyasini to'g'ri tanlash muhim ahamiyatga ega.

ADABIYOTLAR

1. Antar Nasr El-Banna et al. Endophytic Bacteria in Banana In Vitro Cultures: Molecular Identification, Antibiotic Susceptibility, and Plant Survival. Horticulturae 2021, 7, 526. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120526>



AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

2. Altan, F.; Bürün, B.; Sahin, N. Fungal contamination observed during micropropagation of *Lilium candidum* (L.) and the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. *Afr. J. Biotechnol.* 2010, 9, 991–995.
3. Guan, SH., Sattler, I., Lin, WH., Guo, DA., Grabley, S. (2005). P-Aminoacetophenonic acids produced by a mangrove endophyte: *Streptomyces griseus* subspecies. *Journal Natural Products* 68: 1198 - 1200.
4. Kacar, Y.A.; Faber, B. Micropropagation of Banana. In *Plant Cell Culture Protocols*, 3rd ed.; Loyola-Vargas, V.M., Ochoa-Alejo, N., Eds.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2012; pp. 140–151.
5. Pareek S. Nutritional and Biochemical Composition of Banana (*Musa* spp.) Cultivars. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars.* 2016;49–81. Available: <https://doi.org/10.1016/b978-012-408117-8.00003-9>
6. Sandeep Sirohi et.al. Identification, characterization and antibiotic control of bacterial contamination during in-vitro propagation of banana. *Plant cell biotechnology and molecular biology* 22(71&72):676-682; 2021.
7. Theodosy Msogoya et al. Identification and management of microbial contaminants of banana in vitro cultures. *Journal of Applied Biosciences* 55: 3987– 3994. *Appl. Biosci.* 2012
8. Cassells AC. Contamination Detection and Elimination in Plant Cell Culture. *Encyclopedia of Cell Technology*; 2003. Available: <https://doi.org/10.1002/0471250570.spi052>